



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Correlación entre la hemoglobina glicosilada y la  
microalbuminuria en pacientes con diabetes mellitus  
no insulino dependiente**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTOR**

Francisco Javier Maria RAMIREZ CRUZ

**ASESOR**

Eduardo FLORES JUAREZ

Lima, Perú

2000



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## **Referencia bibliográfica**

---

Ramirez F. Correlación entre la hemoglobina glicosilada y la microalbuminuria en pacientes con diabetes mellitus no insulino dependiente [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2000.

---



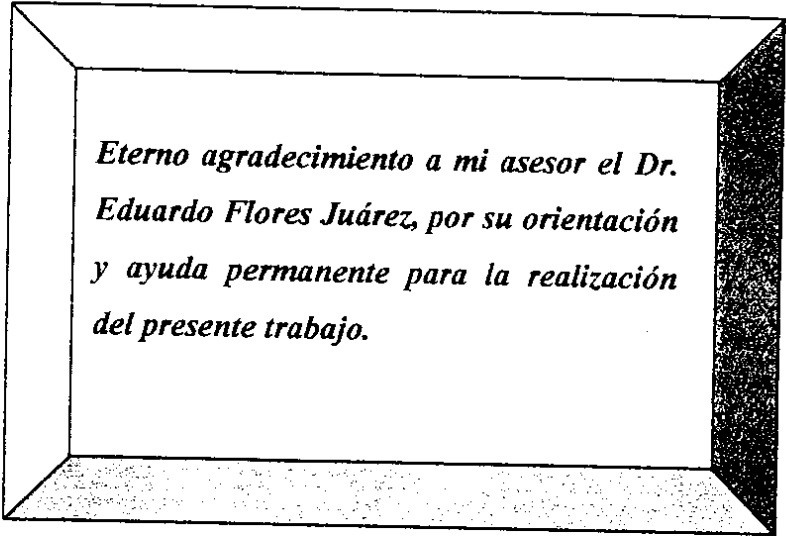
### **DEDICATORIA:**

- ◆ *A Dios por su perdón y benevolencia en todo momento de mi vida.*
- ◆ *A "Madeleine" y "Javichito" por su amor, comprensión y paciencia.*
- ◆ *A mis padres:  
Luz María y Juan José por su ejemplo de trabajo, honestidad y amor al prójimo.*
- ◆ *A mi hermana María de Lourdes, por su constante e invaluable ayuda.*
- ◆ *A mis profesores y amigos por su permanente aliento.*

***MI MÁS SINCERO AGRADECIMIENTO:***

*A los miembros del Jurado Examinador y Calificador.*

- ♣ Dra. Haydee Zúñiga Cáceres.*
- ♣ Mg. Juan Parreño Tipian.*
- ♣ Mg. Elena Benavides Rivera.*
- ♣ Q.F. Gustavo Guerra Brizuela.*



*Eterno agradecimiento a mi asesor el Dr.  
Eduardo Flores Juárez, por su orientación  
y ayuda permanente para la realización  
del presente trabajo.*

*Al personal del Servicio de Endocrinología del Hospital  
Dos de Mayo que colaboró en la realización de este  
trabajo.*

## SUMARIO

	<u>Pág.</u>
RESUMEN	
SUMMARY	
I- INTRODUCCION	01
II- GENERALIDADES	02
III- PARTE EXPERIMENTAL	26
IV- RESULTADOS	34
V- DISCUSION	52
VI- CONCLUSIONES	55
VII- RECOMENDACIONES	56
VIII-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57
ANEXOS	

## ABREVIATURAS

HbA1	Hemoglobina glicosilada.
GPA	Glucosa plasmática en ayunas
PTOG	Prueba de tolerancia oral a la glucosa
TG	Triglicéridos plasmáticos
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
ECC	Enfermedad cardíaca coronaria
CPC	Cascada de protein cinasa
AG	Albúmina glicada o glicosilada
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
MODY	Maturity Onset Diabetes Young (Diabetes juvenil de inicio en la madurez)
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor- $\beta$ (Factor $\beta$ de transformación del crecimiento)
AGEs	Advanced Glycosylation Endproducts (Productos finales de glicosilación avanzada)
HbG	Hemoglobina glicada
ANM	Albúmina inmodificada
CCr	Clearance (Depuración) de creatinina
LB	Lámina basal
GP	Glucosa plasmática



## RESUMEN

Una de las complicaciones crónicas frecuentes en la Diabetes Mellitus, es el daño renal. La microalbuminuria es el inicio progresivo de la aparición de proteínas en la orina; sin embargo, su determinación no es posible con los métodos de rutina de laboratorio. Nuestro estudio trató de establecer la correlación entre la hemoglobina glicosilada (HbA1) y la micro albuminuria en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2. Para tal fin se trabajó con una muestra poblacional de 70 pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 tomados al azar del Servicio de Endocrinología del Hospital 2 de Mayo y 30 personas aparentemente sanas. Para la determinación de la microalbuminuria hemos empleado un método inmunturbidimétrico y para la determinación de la hemoglobina glicosilada empleamos una resina de intercambio catiónico, de enlace débil. Los resultados nos muestran diferencias significativas en los parámetros observados, al comparar los resultados de las personas aparentemente sanas con los de los diabéticos. No encontramos una correlación significativa entre la hemoglobina glicosilada y la microalbuminuria. Se sugiere, al igual que otros autores, que el problema de la microalbuminuria obedece a un patrón genético.

**Palabras claves:** Hemoglobina glicosilada, microalbuminuria, diabetes mellitus tipo 2

## SUMMARY

One of the frequent chronic complications in the Diabetes Mellitus, is the renal damage. The microalbuminuria is the progressive beginning of the appearance of proteins in the urine; however, its determination is not possible with the methods of laboratory routine.

Our study tried to establish the correlation among the Hemoglobin glycosilated (HbA1) and the microalbuminuria in patient with Diabetes Mellitus type 2. For such an end one worked with a populational sample of 70 patients with Diabetes Mellitus type 2, taken chance of the Service of Endocrinologia of the Hospital May 2 and 30 seemingly healthy people. For the determination of the microalbuminuria we have used a method inmunturbidimetric and for the determination of the hemoglobin glycosilated we use a resin of exchange cationic, of weak connection. The results show us significant differences in the observed parameters, when comparing the results of seemingly healthy people with those of the diabetics. We don't find a significant correlation between the hemoglobin glycosilated and the microalbuminuria. It is suggested the same as other authors that the problem of the microalbuminuria obeys a genetic pattern.

Key words. Hemoglobin glycosilated, microalbuminuria, Diabetes Mellitus type 2.



## I. INTRODUCCION

En el Perú probablemente existe alrededor de un millón de pacientes con Diabetes Mellitus, entre diagnosticados y no diagnosticados, con una prevalencia entre 1 a 5 % (1), hasta 7 % (2, 3), y discretamente mayor en el sexo masculino (2).

El control de la glicemia y por ende el control del metabolismo del paciente diabético, permitirá un mejor manejo de la enfermedad y sus complicaciones, a nivel micro y macrovascular.

La nefropatía diabética es una de las mayores complicaciones y es causa importante de muerte en estos pacientes (2, 3); la que se observa después de los 10 años de enfermedad. En este estado se observa una proteinuria declarada.

La Microalbuminuria, cuantificada utilizando un método inmunoturbidimétrico, se puede diagnosticar precozmente, mucho antes de la macroalbuminuria, y esto sería importante para el tratamiento oportuno y así evitar un mayor daño renal (2, 4).

La hemoglobina glicosilada, determinada utilizando una resina de intercambio iónico, es un parámetro que nos informa del nivel de glicemia en las últimas 4 a 8 semanas previas a su determinación, constituyéndose en un adecuado marcador de pronóstico de pacientes con Diabetes Mellitus.

En diferentes estudios se reporta la posible relación entre la glicohemoglobina elevada y la microalbuminuria. En nuestro medio no hemos observado estudios al respecto, lo que nos ha motivado a realizar el presente trabajo de investigación.

### OBJETIVOS:

- 1.- Determinar los niveles de glucosa en sangre, HbA1 y microalbuminuria, en personas con Diabetes tipo 2 y en personas aparentemente sanas.
- 2.- Determinar la correlación entre la HbA1 y la microalbuminuria.

## II. GENERALIDADES

### 1.- Diabetes Mellitus (DM)

Es una enfermedad de origen genético que produce en el paciente trastornos metabólicos a nivel de los carbohidratos, grasas y proteínas; aunado a estos, una deficiencia relativa ó absoluta de secreción de insulina y además diferentes grados de resistencia a ésta.

Hoy en día la Diabetes no es sólo la elevación de glucosa, sino, es un síndrome en el cual, en grupos de pacientes vamos a observar diferencias en cuanto a etiología, patogenia, genéticas, ambientales e inmunológicas.

Para una clasificación útil de la diabetes además de bases etiológicas y patogénicas, se ha de tomar en cuenta aspectos de diagnóstico y tratamiento, epidemiológicos y de investigación.

En 1985 el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) revisó y estableció una clasificación de Diabetes Mellitus (Anexo 1). En ella se deja de lado los términos Diabetes tipo I y Diabetes tipo II, por los de Diabetes Mellitus Dependiente de Insulina (DMID) y Diabetes Mellitus no Dependiente de Insulina (DMNID), respectivamente (5).

En julio de 1997, aparece una nueva clasificación etiológica de la DM, realizada por el Comité Experto de la Asociación Americana de Diabetes (6) como podemos observar en el Anexo 2. En esta última clasificación los términos Diabetes Mellitus Dependiente de Insulina (DMID) y Diabetes Mellitus no Dependiente de Insulina (DMNID) se dejan atrás, empleándose las expresiones diabetes tipo 1 y tipo 2, respectivamente.

La hiperglicemia crónica de la diabetes está asociada con daño a largo plazo, disfunción y falla de varios órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos.

Los síntomas de hiperglicemia marcada incluyen poliuria, polidipsia, baja de peso, algunas veces con polifagia y visión borrosa (6).

Observamos en diabéticos una incidencia incrementada de enfermedad cardiovascular aterosclerótica, vascular periférica, y cerebro vascular. Asimismo, hipertensión, anormalidades del metabolismo de proteínas y enfermedad periodontal (6).

## **2.1. DIABETES TIPO 2 (DMNID)**

Representa aproximadamente el 90% de los diabéticos del mundo occidental. También está asociada a bases genéticas, expresadas en una mayor frecuencia familiar. Los factores ambientales y los estilos de vida tienen una gran influencia en el desencadenamiento y desarrollo de la enfermedad. Anteriormente, por el peso los subclasificaban en obesos y no obesos. La obesidad va acompañada con resistencia a la insulina. La hiperglicemia en ayunas y la curva de tolerancia a la glucosa suelen mejorar al corregir el sobrepeso. El diagnóstico mayormente se da en la edad media de la vida.

## 2.2. CRITERIO PARA EL DIAGNOSTICO DE DIABETES MELLITUS

1.- Síntomas de diabetes más concentración de glucosa plasmática casual (circunstancial)  $\geq 200$  mg/dL (11.1 mmol/L).

Casual es definido como algún momento del día sin considerar el tiempo desde la última comida. Los síntomas clásicos de diabetes incluyen poliuria, polidipsia e inexplicable baja de peso.

ó

2.-GPA $\geq 126$  mg/dl ( 7.0 mmol/L). **Ayuno es definido como no tomar ninguna caloría por lo menos 8 horas.**

ó

3.- GP2h $\geq 200$  mg/dl durante una PTOG. La prueba deberá ser desarrollada así descrita por WHO, usando una carga de glucosa conteniendo el equivalente de 75 g. de glucosa anhidra disuelta en agua.

---

En la ausencia de hiperglicemia inequívoca con descompensación metabólica aguda, este criterio será confirmado por repetición de la prueba en un día diferente. La tercera medida (PTOG) no es recomendable para uso clínico de rutina(6).

## 2.3. PREVENCIÓN EN DIABETES MELLITUS

A parientes de primer grado de personas con Diabetes tipo 2, es pertinente recomendar pruebas periódicas de tolerancia a la glucosa y en aquellos en que se observa alterada esta prueba, recomendarles mantener un peso ideal, observando la aparición de otros factores de riesgo para alteraciones cardiovasculares, tal como hipertensión e hiperlipidemia.

Genéticamente, en la mayoría de los casos el riesgo de recurrencia es empírico y va de 10 a 15% para diabetes clínica y de 20 a 30% para alteraciones en la tolerancia a la glucosa. En los pacientes con el subtipo MODY (Maturity Onset Diabetes Young), en quienes es consistente una forma de herencia autosómica dominante, el riesgo de recurrencia es por consecuencia de 50%.

En aquellas familias en que la DM obedece a mutaciones del gen de la insulina, tanto aquellas que modifican su estructura como las que alteran su maduración, el riesgo de recurrencia dependerá de si la mutación es de novo o si se heredó, previa caracterización molecular (5).

## **2.4. HIPERTENSION**

Diabetes e hipertensión son dos enfermedades que coinciden en aumentar el riesgo de aterosclerosis, que es a la vez el sustrato de la mayoría de los casos de cardiopatía isquémica, de enfermedad vascular cerebral y de insuficiencia arterial periférica. Además, ambas predisponen a la insuficiencia renal.

En pacientes que presentan ambas enfermedades se van a dar interacciones con posibles efectos aditivos de daño que van a generar problemas en la terapéutica.

Un estudio prospectivo llevado a cabo en Suecia en hombres durante 7 a 11 años reveló que 12.7% de los hipertensos desarrollaron diabetes, mientras que esto sólo ocurrió en 3.6% de los normotensos, con todas las demás variables bajo control (5).

Se ha encontrado que la hipertensión arterial esencial se encuentra 2 a 3 veces incrementada en la diabetes tipo 2, en ambos sexos (7).

Es recomendable mantener una presión arterial por debajo de 130-85 mm Hg (7).

El perfil de la presión arterial durante las 24 h en los individuos normotensos sanos y en los hipertensos se caracteriza por un intervalo alto durante el día (vigilia) y por uno bajo a partir de la medianoche, durante los periodos de sueño e inactividad (8).

## **2.5. OBESIDAD**

En los estudios con pacientes diabéticos o hipertensos es difícil delimitar la influencia de la obesidad sobre la diabetes tipo 2 y sobre la hipertensión arterial esencial. Se sabe muy bien que la mayoría de los pacientes con diabetes tipo 2 son obesos o lo fueron, y que la mayoría de los hipertensos también lo son, que la frecuencia de obesidad no asociada con diabetes o hipertensión es proporcionalmente baja, al igual que la hipertensión o diabetes sin obesidad, y que la reducción de peso puede disminuir tanto la hiperglucemia de los diabéticos, como la tensión arterial de los hipertensos. De ahí que para algunos investigadores se establezca la asociación (9):

### **DIABETES - OBESIDAD - HIPERTENSION**

## **2.6. RESISTENCIA A LA INSULINA**

Este concepto se usaba anteriormente para designar el estado en el cual los pacientes requerían más de 200 U diarias de insulina para poder controlarlos, pero en la actualidad se aplica cuando los efectos biológicos de la hormona son cuantitativamente menores de lo que se esperaría por sus niveles plasmáticos, en términos simples.

Tanto la diabetes tipo 2, como la obesidad, son estados reconocidos de resistencia a la insulina. En ambos hay hiperinsulinemia con menor efecto biológico de



la hormona, que se manifiesta en la primera por hiperglucemia y en la segunda por intolerancia a la glucosa.

La glucemia posprandial de los pacientes con hipertensión arterial esencial no parece diferente de la de los individuos normales, pero esto se logra a expensas de que los hipertensos secretan más insulina en respuesta a los alimentos, como un indicio en favor de que esta enfermedad también se acompaña de resistencia a la insulina.

Algunos estudios permiten suponer que, la resistencia a la insulina puede jugar un papel patogénico en la producción de hipertensión arterial(9). La resistencia a la insulina se caracteriza por hiperinsulinemia, algunos efectos farmacológicos de la insulina se relacionan con la posibilidad que cause elevación de la tensión arterial. Por ejemplo, la insulina incrementa la reabsorción de sodio en el túbulo renal, aumenta la reactividad vascular y también la actividad del sistema nervioso simpático.

Es posible, que la resistencia a la insulina sea un factor aterógeno adicional, pues se acompaña de un incremento en los triglicéridos plasmáticos (TG) y una disminución en la concentración de colesterol y en las lipoproteínas de alta densidad (HDL). La intolerancia a la glucosa, que es uno de los componentes de la resistencia a la insulina, es un factor de riesgo de aterosclerosis más o menos bien caracterizado.

Cabe mencionar que, hoy en día existe mayor evidencia de que la combinación de la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensatoria predisponen al individuo con Diabetes tipo 2 a un aumento de TG, una baja de HDL, tensión arterial elevada y desarrollo de enfermedad cardíaca coronaria (ECC). En 1988 esta agrupación de trastornos metabólicos se le designó como Síndrome X (9).



## 2.7. COMPLICACIONES CRONICAS

Los diabéticos son más susceptibles de sufrir numerosas complicaciones, dependientes en gran medida de ciertos factores de riesgo que incrementan el daño macrovascular y microvascular como son hipertensión arterial, hiperlipidemia, hiperglucemia, sedentarismo y tabaquismo. Estos factores mayormente son más prevalentes en los pacientes con Diabetes tipo 2.

Los diabéticos son dos veces más propensos que los no diabéticos, en determinadas poblaciones, a morir de enfermedad arterial coronaria ( 5 ).

En el paciente diabético, la aterosclerosis acelerada compromete los vasos coronarios, cerebrovasculares y periféricos, ocurre a temprana edad de la enfermedad y es más frecuente que en los no diabéticos.

A largo plazo, el desarrollo de complicaciones podría deberse a la falta de un seguimiento adecuado del tratamiento antidiabético para normalizar el metabolismo por completo. El grado de hiperglucemia a través de los años aumenta el riesgo y gravedad de las complicaciones diabéticas. Sin embargo, siendo la hiperglucemia crónica un factor importante en la presentación de las complicaciones crónicas lo es también la susceptibilidad propia de cada individuo. Así, algunos pacientes sin un buen control metabólico pueden escapar a las complicaciones, mientras que otros con un buen control pueden desarrollar complicaciones tempranas.

Estudios recientes sobre las hipótesis genética y metabólica concluyen que la prevención temprana de las complicaciones diabéticas específicas pueden depender del mantenimiento de la glucemia lo más cercano al límite normal posible, de manera ideal desde el inicio del padecimiento ( 2, 3, 10 ).

## 2.8.COMPLICACIONES CRONICAS MAYORES

### A. Vasculares:

#### a. Macrovasculares

Aterosclerosis coronaria acelerada

Aterosclerosis cerebrovascular acelerada

Enfermedad vascular periférica acelerada

#### b. Microvasculares

Retinopatía

Nefropatía

### B. Neuropáticas

#### a. Neuropatía sensoriomotora

Bilateral simétrica en extremidades inferiores (más común)

Bilateral simétrica en extremidades superiores

Mononeuropatía

Úlcera neuropática

Amiotrofia diabética

Caquexia neuropática

#### b. Neuropatía autonómica

Gastroparesia

Diarrea

Vejiga neurógena

Impotencia (en el hombre)

Reflejos cardiovasculares alterados

### C. Enfermedades vasculares y neuropáticas combinadas

Úlceras de piernas

Úlceras de pies

## 2.9. NEFROPATIA DIABETICA

Es la primera causa de muerte en la diabetes mellitus (10). Para algunos investigadores (dependiendo del lugar), es la segunda causa de muerte después del infarto del miocardio(7).

Aproximadamente 30% de los pacientes con diabetes tiene el riesgo de presentar esta complicación (11), algunos opinan hasta 40 % en Diabetes tipo 1 (7). En los indios Pima, que tienen alta prevalencia de la enfermedad, dos terceras partes muestran glomeruloesclerosis en la autopsia.

Se observan por los menos dos tipos de patrones anatomopatológicos, pudiendo presentar uno o ambos. Estos patrones son el difuso y el nodular.

Los cambios renales evolucionan con síndromes clínicos característicos. Usualmente, la proteinuria es la primera indicación de enfermedad renal. Si se desarrolla insuficiencia renal, a la proteinuria le sigue un aumento progresivo de los niveles sanguíneos de úrea, nitrógeno ureico y creatinina sérica, pudiendo desarrollar síndrome nefrótico.

Lo que se observa más frecuentemente es el engrosamiento de la membrana basal glomerular con aumento generalizado de la matriz mesangial. Ambas estructuras están cada una compuestas de heparán sulfato, condroitina, proteoglicanos dermatán, laminina, fibronectina y colágeno tipo IV. Las células mesangiales, las células epiteliales viscerales glomerulares y las células endoteliales son las más probablemente responsables por la biosíntesis y mantenimiento de la matriz mesangial y la membrana basal glomerular. Un importante regulador para la biosíntesis de estas moléculas de matriz es el Factor beta de transformación de crecimiento (TGF-beta). Ciertos autores concluyen en sus investigaciones que las concentraciones de glucosa elevada estimulan la síntesis de fibronectina y que este efecto es mediado por inducción de TGF/beta (12,13,14). Así mismo, revelan que no se observan incrementos significativos de endotelina (13).

En la forma nodular, se depositan en los glomérulos grandes cúmulos de material PAS positivo; esta es la lesión de Kimmelstiel-Wilson. Puede presentarse hialinización de las arteriolas aferentes y eferentes, afección de la cápsula de Bowman, cúmulos de fibrina y oclusión del glomérulo. También ocurre depósito de albúmina y otras proteínas en el glomérulo y en los túbulos. La más específica de las lesiones de la glomerulosclerosis es la hialinización de las arteriolas aferentes y los nódulos de Kimmelstiel-Wilson (5). Un aumento de la producción de colágeno tipo IV y fibronectina, una reducción de la respuesta contráctil a angiotensina II, y una superproducción de eicosanoides vasorrelajantes fueron demostradas en células

mesangiales y glomerulares, de diabético cultivadas bajo condiciones de glucosa elevada. Funcionalmente, un incremento en la proporción de filtración glomerular, hiperfiltración glomerular, establecida en la fase inicial de la diabetes, se propuso estar relacionado al futuro desarrollo de nefropatía diabética. Estos cambios funcionales en glomérulo y células mesangiales en la diabetes son considerados ser causados por anomalías metabólicas en glomérulo y células mesangiales específicas para diabetes (14,15).

Recientes estudios indican que la Cascada de Protein Kinasa (CPC) es activada en varios tejidos de ratas diabéticas y en las células cultivadas bajo condiciones de glucosa elevada por un incremento en la síntesis de novo de diacilglicerol de la glucosa excesiva. La activación de CPC fue también encontrada en glomérulo diabético o células mesangiales glomerulares cultivadas bajo condiciones de glucosa elevada y fue propuesta a contribuir en el desarrollo de nefropatía diabética. Sin embargo, el mecanismo preciso de cómo la activación de PKC causó los cambios funcionales en glomérulo o células mesangiales no está completamente claro aún (16).

Desde el punto de vista funcional, la nefropatía diabética puede ser silenciosa durante 10 a 15 años.

La incidencia de enfermedad renal terminal en pacientes con Diabetes tipo 2 es menor que en diabetes tipo 1; pero existen poblaciones en las cuales la incidencia de nefropatía diabética entre diabetes tipo 1 y diabetes tipo 2 es muy similar (17).

## **2.10. MICROALBUMINURIA**

Al inicio de la diabetes los riñones pueden ser más grandes y desde el punto de vista funcional cursar con hiperfiltración hasta de 40% en algunos casos. El

siguiente estadio es la aparición de microproteinuria (microalbuminuria), con excreción de albúmina entre los valores:

30-300 mg/24h; 20-200 mg/L; 2-20 mg/dl; 20-200  $\mu$ g/min

En condiciones normales, un sujeto excreta menos de 30 mg/24h de proteína. Debido a que al inicio la microalbuminuria es transitoria, el diagnóstico debe hacerse cuando la excreción de albúmina supere 20  $\mu$ g/min (aproximadamente 30 mg/24h) en dos o tres muestras colectadas en un periodo de seis meses. La persistente pérdida de proteína mayor de 50 mg/24h es estadísticamente predictiva de macroproteinuria. Cuando la macroproteinuria se inicia, la función del riñón comienza a declinar, con disminución de la filtración glomerular. Habitualmente la elevación azoada se inicia en promedio a los 12 años de diagnosticada la diabetes.

El establecimiento de microalbuminuria se debe establecer en por lo menos 2 de 3 muestras recolectadas en un lapso de 6 meses (4,5).

La microalbuminuria es el más confiable marcador de nefropatía en pacientes con diabetes tipo 2 y también tipo 1 aunque su fisiopatología no está completamente clara (4, 18, 19, 20, 21). La albúmina filtrada en los glomérulos es grandemente reabsorbida en los túbulos proximales (+/- 90 %), lo cual sugiere que la excreción aumentada de albúmina es causada ó por un incremento en el clearance glomerular de albúmina o por una reducción en su reabsorción tubular. En personas diabéticas la fracción sérica de albúmina glicada (AG), más aniónica que la albúmina inmodificada (ANM), incrementa así la deteriorada tolerancia a la glucosa. La selectividad de carga juega un papel clave en el clearance glomerular y la reabsorción tubular de albúmina. Un deterioro de la selectividad de carga durante el clearance glomerular y la reabsorción tubular de albúmina han sido sugeridos como una causa de microalbuminuria (22). Entre los mecanismos de la reabsorción tubular descompensada se propone: Función mitocondrial deteriorada en la célula tubular,

glicación de proteínas estructurales en el túbulo renal, y una presión hidrostática intersticial aumentada debido a la filtración de albúmina de los capilares peritubulares (22).

La correlación significativa observada entre el nivel sérico de AG y CCr sugieren que la ANM sérica puede contribuir a hiperfiltración glomerular inducida por hiperglicemia en pacientes con diabetes (22).

En los pacientes diabéticos existen diversos factores que pueden afectar la función renal o agudizarla. Así tenemos que : a) un significativo número de pacientes diabéticos desarrollan hipertensión arterial, la que puede precipitar el inicio y acelerar después el proceso de insuficiencia renal; b) vejiga neurógena, predispone al paciente a retención urinaria aguda o moderada pero persistente nefropatía obstructiva, en este caso la insuficiencia renal puede acelerarse; c) infección y obstrucción urinaria, cuando ocurren simultáneamente, el riesgo de pielonefritis papilar se incrementa y suele resultar en disminución de la función renal, los pacientes típicamente presentan fiebre, dolor en flanco, anuria y pérdida rápida de la función renal: d) El infarto de médula renal y papila pueden haber derivado de una necrosis isquémica, infarto u obstrucción.

Así mismo, los fármacos nefrotóxicos, el abuso crónico de analgésicos y la utilización de medios de contraste para radiografía, son factores que pueden afectar la función renal (5).

En diabetes experimental en ratas, un excelente control glucémico por administración de insulina previno el desarrollo de lesiones funcionales y morfológicas. Estudios complementarios con trasplante de islotes redujeron a satisfacción el volumen del mesangio, con eliminación de los depósitos mesangiales de complejos inmunitarios y complemento, así como regreso a los niveles normales

de albuminuria. El engrosamiento de la membrana basal no se normalizó, pero tampoco avanzó más que en las ratas controles (15).

Investigaciones similares de la clínica Josli y del grupo danés sugieren con fuerza la relación entre los niveles sanguíneos de glucosa y el desarrollo de complicaciones (5).

Investigaciones recientes observan que la proteinuria de la diabetes puede ser influenciada por la hipertensión arterial, ya que el tratamiento antihipertensivo detiene el desarrollo y la progresión de la nefropatía diabética (23-36). Algunos autores afirman que sólo lo retarda (14). Cabe mencionar, que los inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA), mantuvieron la función renal normal de diabéticos tipo 2 normotensos con microalbuminuria (37,38).

La hiperinsulinemia fisiológica no afecta la permeabilidad de la albúmina sistémica en sujetos sanos o en pacientes con diabetes tipo 2 normoalbuminúricos. En contraste, en pacientes con diabetes tipo 2, pero no en sujetos sanos, la insulina incrementó la excreción urinaria de albúmina y proteínas marcadoras de función tubular proximal (39).

## **2.11. HISTOLOGIA RENAL – LAMINA BASAL**

El glomérulo está revestido por una lámina basal (LB), de cerca de 300 nm de espesor, constituida por tres capas. La capa densa media, llamada lámina densa, mide unos 100 nm de espesor y está constituida por colágena del tipo IV. A cada lado de la lámina densa se encuentran capas electrón densas, las láminas raras, que contienen laminina, fibronectina y un proteoglicano polianiónico rico en heparán sulfato. Algunos investigadores se refieren a una lámina rara interna, entre las células



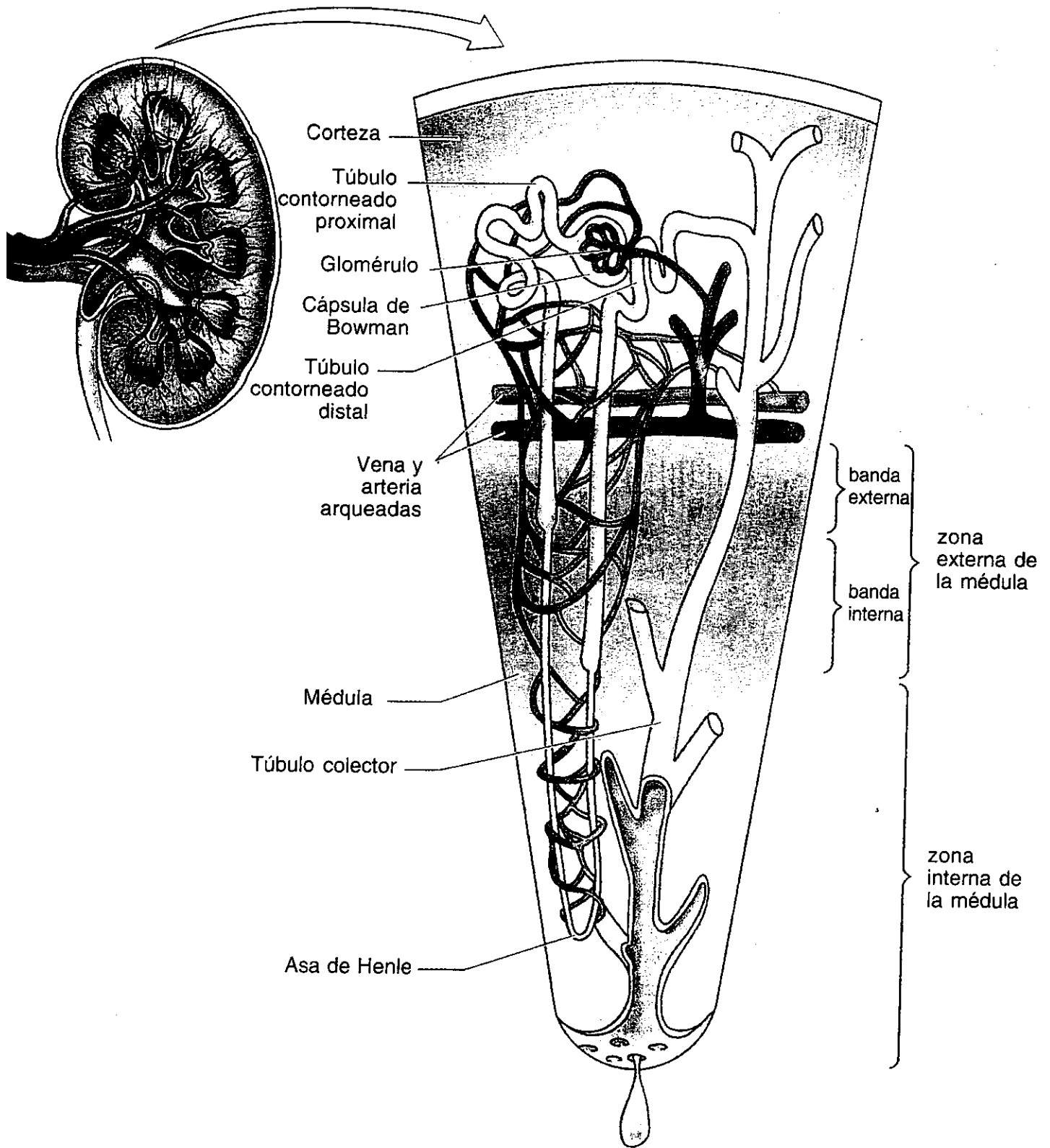
endoteliales del capilar y las de la lámina densa, y a la lámina rara externa, entre la lámina densa y la capa visceral de la cápsula de Bowman (figuras 1, 2)

La lámina lúcida consiste principalmente en las glucoproteínas extracelulares laminina y entactina, lo mismo que en las integrinas que se proyectan desde la membrana de la célula epitelial hacia la LB.

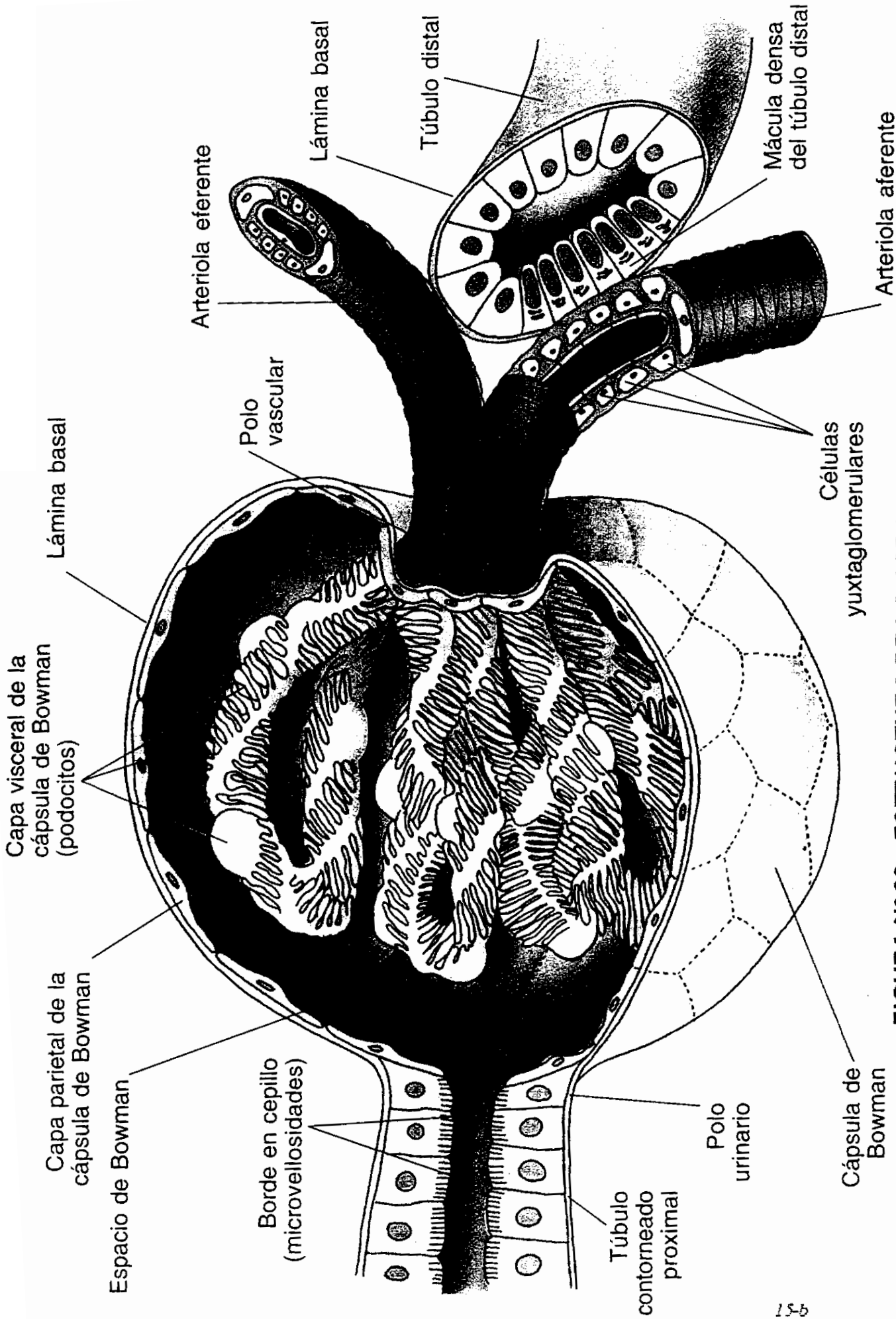
La lámina densa consiste en una malla de colágeno del tipo IV, que está cubierta en los lados tanto de la lámina lúcida como de la lámina reticular por el proteoglicano perlacano. Las cadenas laterales de heparán sulfato que se proyectan desde el centro proteínico del perlacano forman un polianión reticular de la lámina densa posee también fibronectina.

La laminina tiene dominios que se fijan a la colágena del tipo IV, al heparán sulfato y a las integrinas de la membrana celular epitelial, por lo que se fijan a la célula epitelial contra la LB. La lámina basal parece estar bien fija a la lámina reticular por diversas sustancias, entre ellas fibronectina, fibrillas de fijación (colágena del tipo VII) y microfibrillas (fibrilina) todas ellas elaboradas por los fibroblastos del tejido conectivo.

La lámina basal funciona como filtro molecular a la vez que como un sostén flexible firme para el epitelio suprayacente. El aspecto de filtración se debe no sólo a la colágena del tipo IV, cuya malla entretrejida forma un filtro físico con tamaños de poro específicos, sino también a las cargas negativas de su constituyente heparán sulfato, que restringe de manera preferencial el paso de moléculas de carga negativa.



**FIGURA Nº 01.- DIAGRAMA DEL RIÑÓN Y EL NEFRON**



Capa visceral de la cápsula de Bowman (podocitos)

Capa parietal de la cápsula de Bowman

Espacio de Bowman

Borde en cepillo (microvellosidades)

Túbulo contorneado proximal

Polo urinario

Cápsula de Bowman

Lámina basal

Arteriola eferente

Polo vascular

Lámina basal

Túbulo distal

Mácula densa del túbulo distal

Células yuxtaglomerulares

Arteriola aferente

**FIGURA Nº 02.- ESTRUCTURA DE LA CÁPSULA DE BOWMAN.**

Una función adicional de la lámina basal es dirigir la migración de las células a lo largo de su superficie, como sucede en la reepitelización durante la reparación de las heridas o en el restablecimiento de las uniones neuromusculares durante la regeneración de los nervios motores.

La fibronectina es un gran dímero compuesto por dos subunidades polipeptídicas similares, cada una de cerca de 220 000 daltons, unidas entre sí por sus extremos carboxilo mediante enlaces disulfúricos. Cada brazo de esta macromolécula en forma de V posee sitios de fijación para diversos componentes extracelulares (por ejemplo: colágena, heparina, heparán sulfato y ácido hialurónico) y para las integrinas de la membrana celular.

La laminina es una glucoproteína sumamente grande (950 000 daltons) compuesta por las tres cadenas polipeptídicas de gran tamaño A, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>. Las cadenas B se envuelven alrededor de la cadena A y forman un patrón de tipo cruzado de una cadena larga y tres cadenas cortas. Las tres cadenas se conservan en su posición mediante enlaces disulfúricos, la localización de la laminina se limita casi estrictamente a la lámina basal; por tanto, esta proteína tiene sitios de fijación para heparán sulfato, colágena del tipo IV, entactina y membrana celular.

La glucoproteína sulfatada entactina se fija a la molécula de la laminina en el sitio en el que se unen entre sí los tres brazos cortos de esa molécula. La entactina se fija también a la colágena de tipo IV, y por tanto facilita la fijación de laminina a la red de colágena.

La colágena del tipo IV no forma fibras, mas bien forma una red de moléculas de procolágena que están agregadas unas contra otras para formar un tapete de sostén de lámina basal, a diferencia de la colágena tipo I, II, III, V y tipo VII.

La colágena forma una fibra flexible cuya resistencia a la tensión es superior a la del acero inoxidable de diámetro equivalente. Constituye cerca del 20% de todas las proteínas del cuerpo. Existen por lo menos 15 tipos diferentes de colágena, según la secuencia de aminoácidos de sus cadenas alfa. Cada cadena alfa es codificada por un ARNm separado. Cada cadena alfa posee cerca de 1000 residuos de aa, en los que cada tercer aa es glicina, y la mayor parte de los restantes consisten en prolina, hidroxiprolina e hidroxilisina. Se cree que la lisina, a causa de su pequeño tamaño, permite la relación estrecha de las tres cadenas alfa; los enlaces de hidrógeno de la hidroxiprolina sostienen unidas entre sí a las tres cadenas alfa, y la hidroxiprolina permite la formación de fibrillas al fijar a las moléculas de colágena entre sí.

Los proteoglucanos tienen numerosas funciones. Al ocupar un gran volumen resisten a la compresión y retrasan el movimiento rápido de microorganismos y células metastásicas. De manera adicional, y en relación con la LB, forman fibras moleculares con tamaños de poros y distribuciones de carga variables que seleccionan y retrasan a las macromoléculas a su paso por ellos. Los proteoglucanos poseen también sitios de fijación para ciertas moléculas de señalamiento, como el TGF-beta. Al fijarse a estas moléculas de señalamiento, los proteoglucanos pueden impedir su función al evitar que las moléculas lleguen a sus destinos o incrementarlas al concentrarlas en una localización específicas (40, 41).

## 2.12. SÍNDROMES DE ORIGEN GENÉTICO LIGADOS A COLÁGENO

**S.de Ehlers-Danlos;** deficiencia de la enzima lisilhidroxilasa, que da por resultado enlace cruzado anormal entre las moléculas de tropocolágena. Los individuos afectados por esta anomalía tienen fibras de colágena anormales que dan por resultado articulaciones hipermóviles y piel que se puede hiperextender. En muchos casos la piel de los pacientes afectados se traumatiza con facilidad, y son proclives además a la luxación de las articulaciones afectadas (40).

**S. de Marfan;** la integridad de las fibras elásticas depende de la presencia de microfibrillas. Estos pacientes poseen un defecto genético en el gen situado en el cromosoma 15 que codifica a la fibrilina; por tanto, no se desarrollan normalmente sus fibras elásticas. Los individuos gravemente afectados por este trastorno están predispuestos a la rotura de la aorta(40).

## 2.13. GLICOSILACION

Allá por el año 1912, Maillard observó la formación de productos amarillo-parduzcos al mezclar en calor azúcares con aminoácidos, esta proporción variaba con la composición de las mezclas. Esta reacción llegó a ser conocida como pardeamiento no enzimático o la Reacción de Maillard.

Los compuestos formados por glicosilación poseen estructuras heterocíclicas complejas con propiedades espectrales variadas y uniones en cruz.

El producto químico final de estas reacciones de pardeamiento son pigmentos nitrogenados marrones denominados Melanoidinas. Algunas de estas reacciones no están bien caracterizadas.

A los químicos del alimento les sigue interesando estas reacciones por la formación de compuestos aromáticos, así como por la disponibilidad nutricional del alimento. Para nosotros es de interés por su relación con alteración de proteínas, remodelamiento de tejido, la diabetes y la edad.

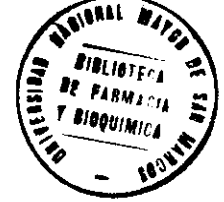
Existen alrededor de 30 proteínas estudiadas por procesos de glicosilación no enzimática, de ellas algunas están aumentadas en pacientes diabéticos (cuadro N° 1) (42, 43). Así encontramos fructosil-lisina en colágeno de tendón y en la mielina del nervio. Mientras que en proteínas de vida larga como en el colágeno de tejido conectivo, la membrana basal glomerular y las proteínas del nervio, los residuos de lisina son modificados por glucosa. Normalmente el nivel de producto de Amadori en diabéticos es de dos a tres veces mas grande que individuos no diabéticos, salvo que las proteínas sean obtenidas después de meses o años de hiperglicemia.

El aducto de Amadori está en equilibrio con la proteína no modificada, su concentración no se incrementa con el tiempo una vez que se ha obtenido el equilibrio, el cual se logra después de tres a cuatro semanas.

El producto fructosil-lisina de los productos de Amadori formados, puede conllevar a un reordenamiento adicional, oxidación, deshidratación y reacciones de polimerización. Los productos de estas reacciones han sido llamados productos finales de glicosilación avanzada o AGEs. Esto ocurre en proteínas de vida media larga. Muchos AGEs tienen en común una pigmentación amarillo parduzca, un espectro de fluorescencia característico y una habilidad para participar en uniones en cruz proteína – proteína.

Cabe precisar que mientras los productos de Amadori están en equilibrio con la glucosa, los AGEs están irreversiblemente unidos a la proteína.

En diversos trabajos se ha observado la relación de estos productos, como anteriormente mencionamos, con alteraciones como por ejemplo: en la opacificación



de los lentes cristalinos del ojo, la glicosilación aumentada de la mielina del nervio (11, 44) y su posible implicancia en el aumento susceptible de estas proteínas a la digestión proteolítica y la falta de habilidad para reparar áreas de demielinización. el envejecimiento acelerado del colágeno en diabéticos, su implicancia en el catabolismo de la LDL , el cual sería mas lento y su posible implicancia en la propensión del diabético para la arterioesclerosis. Las proteínas de la membrana del eritrocito del diabético. están glicosiladas en una mayor extensión, observándoseles una supervivencia relativamente corta y son menos deformables, asi como, tienen una adherencia aumentada a las células endoteliales en los cultivos y un fenómeno que los relaciona en enfermedad de los vasos pequeños asociadas con diabetes mellitus. También se ha observado recientemente como resultado de la hiperglicemia, en la enfermedad vascular diabética una permeabilidad endotelial aumentada a las proteínas séricas, que podría ser atribuida al menos en parte a la respuesta celular de las células endoteliales a los AGEs (45).

En los estudios histopatológicos también se conoce el depósito de inmunoglobulinas y albúmina en la membrana basal de los diabéticos, pudiéndose formar productos de glicosilación avanzada y a su vez convertirse en nuevos sitios de reacción para uniones covalentes de proteínas adicionales, mas aún , la inmunoglobulina atrapada iniciar la activación de complemento y subsecuente daño mediado por complemento. Estas afirmaciones son consistentes en estudios recientes.

Es interesante mencionar que en pacientes diabéticos con diálisis crónica , los niveles séricos de los AGEs cayeron a un nivel normal dentro de los cuatro días después de un trasplante renal. El endotelio vascular contribuye a la regulación de la presión sanguínea, por liberación de productos derivados de la célula endotelial específica que afectan el tono del músculo liso vascular (18). Un mediador



importante en este fenómeno es el factor relajante derivado del endotelio, el cual induce a una relajación y vasodilatación de la célula del músculo liso. El constituyente de este factor sería el óxido nítrico. Pues bien, se presume entre otros mecanismos que, las células endoteliales vasculares son separadas de las células del músculo liso subyacente, por un colágeno de tejido conectivo que progresivamente acumulan AGEs. El rol del óxido nítrico en las señales celulares, ha sido expandido para incluir una comunicación intracelular entre las neuronas, células hepáticas y mesangio del riñón.

Es importante mencionar, que una vez que las proteínas han sido expuestas a excesos de productos de Amadori durante períodos de severa hiperglicemia la restauración del control estricto de la glucosa no puede prevenir la progresión inexorable de la unión en cruz de la proteína mediada por glucosa.

### **2.13.1. GLICOSILACION DE LA HEMOGLOBINA**

La hemoglobina es la mayor proteína transportadora de oxígeno del organismo, con un peso molecular de 64500 daltons. La Hb del adulto (HbA) posee dos cadenas alfa y dos cadenas beta y la Hb fetal (HbF) que desaparece antes del año de edad posee dos cadenas alfa y dos cadenas gamma y se puede encontrar indicios en el adulto sano. Asimismo, se puede encontrar una hemoglobina compuesta por dos cadenas alfa y dos cadenas delta (HbA<sub>2</sub>), en un pequeño porcentaje 1-3% (4).

La cadena alfa posee 141 aa, siendo la valina el aminoácido con N-terminal y la arginina con C-terminal. La cadena beta posee 146 aa, con la valina como aa con N-terminal y la histidina como aa con C-terminal, todo esto comprendería la parte de la globina. A esto se deben agregar los cuatro grupos HEM, conteniendo cada uno al

centro el hierro, además cuatro anillos pirrol con extremo nitrogenado y 8 cadenas laterales: 4 metil, 2 vinil y 2 ácido propiónico (46).

La Hb es contenida por los eritrocitos, que poseen un tiempo de vida alrededor de 120 días . ( Figura Nº 03 ).

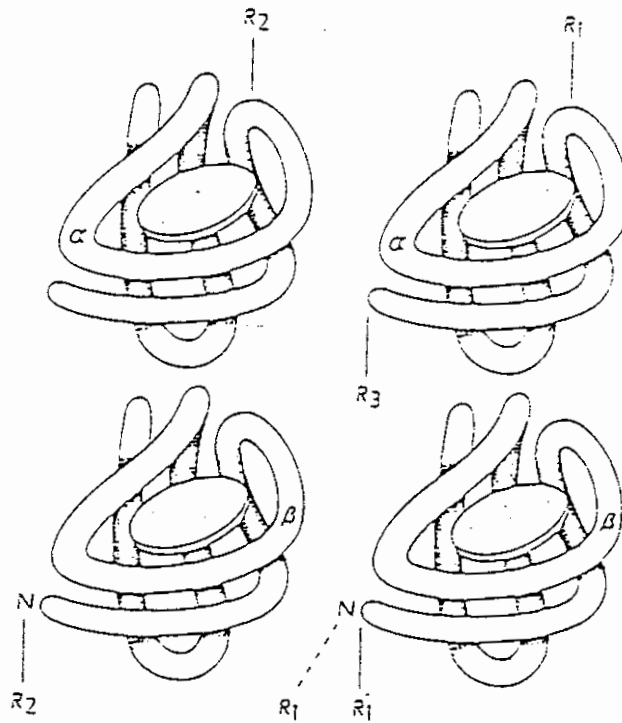
La molécula de la glucosa,  $C_6H_{12}O_6$ , puede presentarse en su forma piranosa poco reactiva; o en su forma lineal, de aldehído libre, siendo así reactiva frente a los grupos amino de las proteínas. Se le encuentra a una concentración de 5 mM (90mg/dl) entre ambos, dentro del eritrocito como del plasma. El eritrocito no depende de la insulina para el transporte de la glucosa.

La glucosa en su forma de aldehído libre puede reaccionar con la molécula de Hb en un número de sitios tal como en el N-terminal de la valina y en los grupos amino epsilon libres de la lisina, formando una base de Schiff o una aldimina. Como la glucosa tiene un hidroxilo en el carbono 2 puede sufrir un cambio en el enlace doble en el carbono 2, conociéndose esta vía como un "Reordenamiento de Amadori". La unión de la glucosa con la Hb, bajo la forma de aldimina estable es relativamente irreversible, permaneciendo así durante toda la vida del eritrocito circulante.

Los productos de Amadori forman sin mediación de enzimas, llegando a ser la reacción de la Hb y la glucosa un prototipo para estudios posteriores de glicosilación noenzimática. Ultimamente el término glicación es utilizado a menudo como sinónimo de glicosilación noenzimática.

Cabe mencionar que la glicosilación de la HbA para formar la HbA1c, ocurre 2.7 veces más rápido en los eritrocitos normales donados a receptores diabéticos; los cambios metabólicos en el diabético al parecer logran la glicosilación con mayor rapidez de lo que ocurre cuando los eritrocitos transfundidos circulan en un sujeto normal (47). Así mismo, cabe añadir, que la glicosilación puede darse no sólo por adición de glucosa sino también por adición de glucosa-6-fosfato, la cual

$R_1$  = Glucosa-aldimina ( lábil )  
 $R'_1$  = Glucosa-cetoamina ( estable )  
 $R_2$  = Glucosa-6-fosfato  
 $R_3$  = Fructosa-1, 6-difosfato



Tiempo de vida del Eritrocito en personas sanas ~ 120 días

Vida media del Eritrocito ~ 60 días

Hb F y las variantes de Hb (Ej: Hb S) tienen otras cadenas de globina con carga diferentes.

**FIGURA N° 03.- HEMOGLOBINA GLICATADA.**

posteriormente es desfosforilada. Hoy en día se sabe también que la fructosa 1,6-difosfato, se adiciona a la Hb produciéndose una glicosilación(5). Cabe precisar que cuando es glucosa la que se adiciona se le llama glucosilación. En el texto Medicina Interna Harrison, se emplea este término para señalar la adición enzimática de hexosas a proteínas y el de glucación para la adición no enzimática de hexosas a proteínas .

La glicosilación no enzimática de la Hb se ha observado que ocurre en varios sitios, sea en cadena alfa o beta (48, 49). Se puede observar en el N-terminal de ambas cadenas y en los grupos amino-epsilon de los residuos de lisina.

Existen datos que nos indicarían que el grado de glicosilación de las Hbs S,C y D, es similar al de HbA tanto en el rango normoglicémico como en el hiperglicémico (50).

Se ha observado que la D-glucosa-fosfato (G6P), rápidamente forma una unión covalente específicamente en el grupo amino terminal (NH<sub>2</sub>) de la cadena beta, mientras que la glucosa no lo hace, pudiéndose considerar a la HbG6P como un intermediario en la conversión de HbA a HbA<sub>1c</sub> (51).

La HbA constituye alrededor del 90% de la Hb de adultos e infantes por encima de los 6 meses de edad. Está constituida por tres componentes cargados negativamente, de movilidad rápida, son las hemoglobinas A<sub>1a</sub>, A<sub>1b</sub> y A<sub>1c</sub>, abarcan aproximadamente 1.6, 0.8 y 4% respectivamente de la Hb total. Está demostrado que estas hemoglobinas son modificaciones translacionales de la HbA(52,53,54). Para algunos investigadores, la HbA<sub>1c</sub>, la fracción mayor de la HbA<sub>1</sub>, representa alrededor del 80% de ésta. (52).

Los niveles de HbA<sub>1a+b</sub> y HbA<sub>1c</sub> disminuyeron en las 3 a 4 semanas siguientes a la realización de un control de glucosa sanguínea óptimo. Estos componentes menores, HbA<sub>1a+b</sub>, serían intermediarios en la formación de HbA<sub>1c</sub>. La hiperglicemia está



asociada y puede contribuir a hipercolesterolemia; este es un clásico factor de riesgo de enfermedad macrovascular, el cual se conoce está acelerado en el estado diabético. Las medidas de los niveles de Hb glicosilada nos pueden dar una certeza de la hiperglicemia a través de largos períodos de tiempo, debemos efectuarla cada 2 meses (53). Ciertas investigaciones apoyan la idea de que el nivel de HbA1c refleja el nivel de glucosa plasmática media sobrecargada a través de los 4 meses anteriores (54, 55, 56).

En individuos no diabéticos viejos se ha reportado glicosilación aumentada de la Hb. La mayoría de sujetos viejos sufren de desórdenes crónicos y consumen 1 o más medicamentos. Luego, que la glicosilación aumentada de Hb puede ser secundaria a otros factores diferentes al envejecimiento. En sujetos sanos, correlaciones no significativas ( $p > 0.05$ ), fueron observadas entre edad y GPA, HbG, PG ó AG. Por consiguiente, el aumento de la glicosilación de la Hb observada en estudios previos puede haber sido secundaria a otros factores diferentes. Existen reportes en los que sí se han observado correlaciones entre los parámetros mencionados en pacientes con Diabetes Mellitus. Por consiguiente este estudio demostró que la intolerancia a la glucosa puede no ser universal en toda la población vieja pero puede estar asociada con sujetos no saludables y enfermos así reflejada por la falta de influencia del envejecimiento en las concentraciones de GPA, HbG, PG y AG (57).

Otro estudio reporta un mayor incremento de Hb A1c dependiente de la edad en sujetos sanos con una historia familiar positiva de diabetes (58).

## CUADRO Nº 1

### PROTEINAS VALORADAS POR GLICOSILACION NOENZIMATICA

Proteínas plasmáticas  
  Albúmina  
  Inmunoglobulinas  
Apolipoproteínas A-I, A-II, B, C-1, E  
  Haptoglobina  
  Ferritina  
  Transferrina  
  Complemento C-3  
  Plasminógeno  
  Activador del plasminógeno  
  Fibrinógeno  
  Antitrombina III  
  Cofactor II de Heparina  
Proteínas de matriz extracelular  
  Colágeno  
  Mielina  
  Membrana basal  
  Cápsula del cristalino  
  Fibrina  
Proteínas celulares  
  Hemoglobina A  
  Lentes cristalinos  
  Ribonucleasa  
  Calmodulina  
Transportador de glucosa  
  Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa  
  Alcohol deshidrogenasa  
Proteínas de membrana  
  Eritrocitos  
  Plaquetas  
  Células endoteliales

### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

##### A. MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO

Los pacientes con diabetes mellitus (DM) tipo 2 fueron captados del Servicio de Endocrinología del Hospital Nacional 2 de Mayo.

Inicialmente se consideró una muestra poblacional de 90 pacientes, pero finalmente sólo se trabajó con 70; descartándose la diferencia por no llegar a tener la información necesaria.

Así mismo, se consideró una muestra poblacional de 30 personas aparentemente sanas, que se utilizó como grupo control, del entorno familiar.

Del total de pacientes con DM tipo 2: 46 fueron del sexo masculino. Con respecto al grupo control 14 fueron del sexo masculino y 16 fueron del sexo femenino. Las edades estaban comprendidas entre 30–73 años, en los diabéticos y 34–55 en las personas aparentemente sanas.

Al total de las muestras se les determinó los siguientes parámetros:

- Glucosa
- Hemoglobina glicosilada
- Microalbuminuria

##### B. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de sangre fueron recolectadas bajo las siguientes condiciones:

Estado de ayuno, en la mañana.

Se recibieron las muestras de sangre en viales conteniendo anticoagulante

EDTA-K<sub>2</sub>, 0.01 uL por 1 ml de sangre.

Las determinaciones de Glucosa y Hemoglobina glicosilada se realizaron en el Instituto de Química Biológica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, utilizando un espectrofotómetro DIGI Spec de HELENA LABORATORIES.

Las muestras de orina de los pacientes se recolectadas correspondieron a la primera orina de la mañana y fueron conservadas por un lapso aproximado de 07 días, para cuantificar la albúmina posteriormente en el Laboratorio del Servicio de Endocrinología del Hospital Dos de Mayo, empleando un espectrofotómetro SPECTRONIC GENESYS 2 de Milton Roy, que realizó los cálculos automáticamente.

### **3.2. DETERMINACION DE LA GLUCOSA**

#### **Fundamento del método**

Se basa en la reacción enzimática de la glucosa frente a la glucosa oxidasa.

Se forma un producto de color rosado, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra. Las lecturas de absorbancia se hacen a 500 nm.

#### **Materiales**

- Tubos de vidrio, micropipetas, pipetas, baño María, etc.

#### **Reactivos**

Se usó el kit de Diagnetest, que contiene:

- Reactivo enzimático
- Standard de glucosa

#### **Equipo**

Espectrofotómetro DIGI Spec de Helena Laboratories.



### Procedimiento

Preparar los tubos de vidrio, rotularlos y agregar en ellos, según el esquema siguiente:

	Blanco	Standard	Muestra
	(ml)	(ml)	(ml)
Standard	---	0.01	---
Suero	---	---	0.01
Reactivo reconstituido	1.0	1.0	1.0

Mezclar suavemente

Incubar a 37° C por 15 min

Leer la absorbancia a 500 nm contra el blanco. El color es estable por 20 min

### Cálculos

$$\text{Glucosa (mg/dl)} = \frac{\text{Abs muestra}}{\text{Abs standard}} \times 100$$

### Valores Normales:

Suero ó plasma : 65-115 mg/dl

## 3.3.DETERMINACION DE LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA

### Fundamento del método

Una cantidad de sangre total hemolizada es mezclada continuamente por 5 minutos con una resina de intercambio catiónico de enlace débil. Durante este tiempo, la HbA<sub>0</sub> se enlaza a la resina. Después del período de mezcla, usamos un filtro para separar el sobrenadante que contiene la glicohemoglobina de la resina. El porcentaje

de Hb glicosilada es determinado midiendo la absorbancia a 415 nm (rango aceptable 405-420nm) de la fracción de Hb glicosilada y la fracción total de la Hb. La relación de las dos absorbancias da el porcentaje de glicohemoglobina.

### **Materiales**

- Micropipetas, pipetas, tubos de vidrio, otros.

### **Set de Reactivos**

- Resina de intercambio catiónico, en buffer a pH 6.9, un frasco de 8 mg/ml
- Reactivo Lisado de glicohemoglobina, 10 mM de Cianuro de Potasio, con surfactante añadido, un frasco
- Standard de glicohemoglobina, un vial
- Separadores de suero

### **Equipo**

Espectrofotómetro DIGI Spec de Helena Laboratories.

### **Lectura**

Se efectuó a 415 nm

### **Procedimiento**

#### **A. Preparación del hemolizado**

1. Colocar 500 ul del Reactivo lizante en tubos marcados como st, control, muestras.
2. Trasvasar 100 ul de la muestra sanguínea bien mezclada, al st o al control en un tubo rotulado con reactivo lizante.
3. Dejar en reposo por 5 minutos

## **B. Preparación de la glicohemoglobina**

1. Colocar 3 ml de la resina de intercambio catiónico para glicohemoglobina en tubos de vidrio rotulados de 13x100 mm: st, control, muestras.
2. Antes de usar, mezclar la resina invirtiéndola por lo menos 10 veces. Agitar el frasco después de la adición a cada 5 tubos
3. Añadir 100 ul de hemolizado (de la parte A) al reactivo resina
4. Colocar los filtros separadores en los tubos de tal manera que el tapón de caucho esté aprox. 1 cm por encima del nivel del líquido.
5. Colocar los tubos en un agitador y mezclarlos por 5 min.
6. Sacar los tubos del agitador.
7. Empujar los filtros separadores dentro de los tubos hasta que la resina esté firmemente empacada.
8. Pasar el sobrenadante a la cubeta para medir la absorbancia.
9. Usando agua desionizada como blanco llevar el instrumento a 0 de absorbancia a 415 nm.
10. Leer y reportar los valores de absorbancia para el st, control, muestras. Estos valores son para glicohemoglobina.

## **C. Fracción Total de Hb**

1. Colocar 5 ml de agua desionizada en tubos de vidrio rotulados como st, control, muestras.
2. Colocar 20 ul del hemolizado (de la parte A) dentro de los tubos. Mezclar.
3. Llevar el instrumento a 0 de absorbancia con agua desionizada a 415 nm.
4. Leer la absorbancia para st, control, etc. Estas lecturas son para la Hb total.

## Cálculos

Los resultados para los desconocidos y los controles serán calculados como sigue:

Para cada muestra, calcular la relación (R) de la absorbancia de la glicohemoglobina a la absorbancia de la Hb total. Usar la siguiente ecuación para determinar las concentraciones desconocidas:

$$\text{Desconocido(\%)} = \frac{R(\text{muestra})}{R(\text{St})} \times \text{Conc St (\%)}$$

St=estándar ; Conc = concentración

$$R_{\text{St}} = \frac{\text{Abs glicohemoglobina}}{\text{Abs Hb total}}$$

**Valores Normales:** 6.0 a 8.3 %

## 3.4. DETERMINACION DE LA MICROALBUMINURIA

### Fundamento

En el presente método inmunoturbidimétrico, la orina es mezclada con la anti-albúmina humana y luego con el antisuero de cabra, produciéndose una aglutinación ocasionada por la reacción antígeno-anticuerpo. La turbidez se mide a una longitud de onda de 340 nm.

### Materiales

> Micropipetas, tubos de ensayo, otros.

## Reactivos

- R<sub>1</sub>: Buffer de reactivo, pH 7.6 (trihidroximetil aminoetano)
- R<sub>2</sub>: Antisuero de reactivo pH 7.6 20% anti-albúmina humana, antisuero de cabra, 100 mM tri-hidroximetil aminoetano
- Calibradores de microalbúmina: 0, 1, 5, 10 y 30 mg/dl

## Equipo

Espectrofotómetro SPECTRONIC GENESYS 2 de Milton Roy

## Procedimiento

1. Agitar los reactivos suavemente antes de usar.
2. Pipetear 750 ul del buffer reactivo (R<sub>1</sub>) en los tubos de ensayo marcados como blanco, st, control y muestras
3. Incubar de 3 a 5 min a 37° C
4. Agregar 25 ul al st (0, 1, 5, 10 y 30 mg/dl), control, muestra, en el tubo que contiene el reactivo R<sub>1</sub> y mezclar
5. Incubar a 37° C durante 5 min
6. Ajustar el espectrofotómetro a un longitud de onda de 340 nm
7. Llevar a cero con el blanco
8. Lectura y registro de las absorbancias correspondientes

## Cálculos

El equipo utilizado realiza automáticamente los cálculos con la lectura obtenida y los imprime

**Valores normales:** Microalbuminuria 2-20 mg/dl

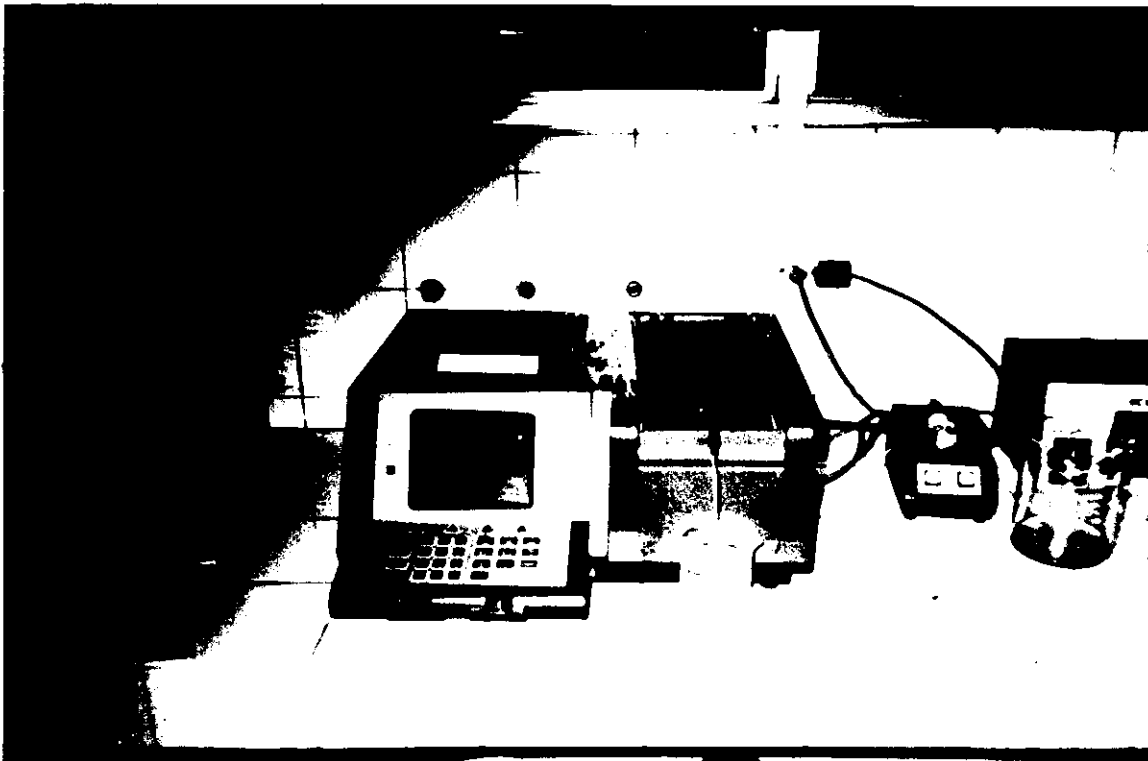


FIGURA N° 04.- Espectrofotómetro SPECTRONIC GENESYS 2.

#### IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos de los dos grupos:

- a) Pacientes con diabetes tipo 2 (n= 70), y
- b) Personas aparentemente sanas (n=30)

los presentamos en las siguientes tablas y gráficos:

En la tabla Nº 01-A y 01-B se presentan los datos y parámetros de los pacientes con diabetes tipo 2 y en la tabla Nº 02 los de las personas aparentemente sanas.

Ambos grupos fueron ordenados según su captación en el Servicio de Endocrinología del Hospital 2 de Mayo y en ellos se puede apreciar los siguientes parámetros: Edad, Sexo, Tiempo de enfermedad, Glucosa, HbA1 y Albúmina.

En la tabla Nº 03 podemos observar la estadística comparativa entre los pacientes diabéticos y las personas aparentemente normales.

En la tabla Nº 04 observamos la estadística de sujetos control y pacientes diabéticos según rangos de albuminuria y HbA1.

En la tabla Nº 05 podemos observar la correlación entre los parámetros edad, tiempo de enfermedad, HbA1, Alb, glucosa según condición y sexo.

En las fig Nº 05-A y 05-B observamos la relación entre albuminuria (microalbuminuria y macroalbuminuria) y glucosa de los pacientes diabéticos.

En la fig Nº 06-A observamos la relación entre microalbuminuria y edad, y en la fig. Nº 06-B la relación entre macroalbuminuria y edad, en los pacientes diabéticos.

En la fig N° 07-A observamos la relación entre microalbuminuria y tiempo de enfermedad, y en la fig. N° 07-B entre la macroalbuminuria y tiempo de enfermedad, en los pacientes diabéticos.

En la fig. N° 08-A observamos la relación entre HbA1 y tiempo de enfermedad. Así mismo, en la fig. N° 08-B la relación entre HbA1 elevada y tiempo de enfermedad.

En la fig N° 09-A observamos la relación entre HbA1 normal y la edad en pacientes con diabetes Tipo 2. Asimismo, en la fig. 09-B la relación entre HbA1 elevada y la edad de los pacientes diabéticos.

En la fig N° 10-A observamos la relación entre HbA1 normal y glucosa; en la fig. 10-B la relación entre HbA1 elevada y glucosa en los pacientes diabéticos.

En el gráfico N° 01-A observamos la distribución de acuerdo al sexo de los pacientes con diabetes Tipo 2, con HbA1  $>$  8.5 % y en el gráfico N° 01-B la distribución de los pacientes con HbA1 normal.

En el gráfico N° 02-A observamos la distribución según sexo de los pacientes diabéticos y en el gráfico N° 02-B de las personas aparentemente sanas.

En el gráfico N° 03 observamos los valores promedio de glucosa y albúmina, de pacientes diabéticos tipo 2 y personas aparentemente sanas.

En el gráfico N° 04 observamos el valor promedio de HbA1 en pacientes diabéticos tipo 2 y personas aparentemente sanas.



**TABLA N° 01-A**  
**PACIENTES CON DIABETES TIPO 2**

<b>N°</b>	<b>EDAD (años)</b>	<b>SEXO</b>	<b>T.ENF. (años)</b>	<b>HBA1. (%)</b>	<b>ALBUM (mg/dL)</b>	<b>GLUCOSA (mg/dL)</b>
1	64	M	6	11.8	3.08	176
2	58	M	3	13.2	9.1	156
3	46	M	16	7.8	6.32	124
4	65	M	15	8.5	1.47	124
5	48	F	15	6.6	3.6	98
6	53	M	1	7.8	7.93	102
7	50	F	4	4.9	14.54	95
8	52	M	3	6.8	8.49	100
9	55	M	6	15.7	55.12	149
10	54	M	3	16.6	8.25	134
11	53	M	5	10.8	70.96	98
12	60	M	15	13.2	68.36	183
13	48	M	2	15.6	60.23	125
14	42	M	6	11.01	10.33	120
15	56	M	12	9.2	21.59	134
16	57	M	2	17.1	128.24	185
17	34	M	5	17.8	78.3	149
18	56	F	6	28.9	98.03	160
19	57	M	3	16.08	126.3	100
20	50	F	9	12.41	97.69	88
21	50	F	30	21.1	36.91	149
22	65	M	10	13.3	86.04	74
23	30	F	1	18.4	34.26	77
24	73	M	10	7.4	28.3	64
25	52	M	10	17	13.69	71
26	47	F	1	22.3	61.55	80
27	51	M	6	11.9	3.57	140
28	53	F	6	11.3	34.26	107
29	48	F	2	22.4	116.28	78
30	45	M	4	22.7	14.48	155
31	56	F	1	21.2	6.28	120
32	58	M	18	22.2	11.75	233
33	49	M	1	17.5	8.34	252
34	67	F	20	13.7	8.58	66
35	58	M	10	13.9	106.48	69

TABLA N° 01-B

PACIENTES CON DIABETES TIPO 2

N°	EDAD (años)	SEXO	T.ENF. (años)	HBA1. (%)	ALBUM (mg/dL)	GLUCOSA (mg/dL)
36	59	M	20	11.1	96.93	210
37	49	M	5	9.8	52.29	81
38	52	M	6	9.4	10.82	210
39	65	F	8	7.3	82.03	91
40	39	M	2	12.6	8.35	295
41	57	M	3	8.1	15.21	95
42	66	M	11	9.1	58.72	61
43	52	M	4	7.8	7.36	251
44	65	M	3	7.7	9.01	221
45	60	M	15	11.0	17.1	62
46	55	M	10	8.8	57.55	79
47	65	M	3	12.9	16.4	132
48	63	M	32	8.7	5.8	153
49	58	M	18	9.7	15.42	157
50	62	F	10	10.6	3.95	136
51	63	M	2	9.8	23.38	100
52	66	M	5	9.6	23.9	78
53	64	M	2	11.6	9.86	58
54	35	F	2	9.9	32.12	78
55	64	M	2	10.4	28.4	120
56	38	F	2	11.2	16.48	95
57	47	F	20	12.8	65.4	73
58	65	M	10	10.9	15.3	109
59	53	F	6	16.3	117.12	120
60	56	M	1	14.2	3.96	76
61	49	M	20	12.5	23.58	380
62	65	M	16	22.5	26.1	83
63	35	F	12	14.4	62.2	102
64	58	F	1	8.5	26.08	67
65	38	F	2	10.5	12.8	56
66	54	F	2	18.6	11.7	146
67	64	F	12	9	33.56	72
68	42	F	24	22.4	138.1	67
69	65	F	3	9.5	9.92	62
70	60	M	10.0	10.0	97.26	100

TABLA N° 02

PERSONAS APARENTEMENTE SANAS

N°	SEXO	EDAD (años)	Hb A1 (%)	Album. (mg/dL)	Glucosa (mg/dL)
1	F	51	7,05	0,08	82,20
2	M	48	7,73	0,12	92,10
3	F	36	7,15	0,16	85,40
4	M	43	7,91	0,19	98,48
5	M	46	7,82	0,09	102,35
6	F	49	7,94	0,09	106,20
7	M	51	7,17	0,15	94,54
8	F	36	7,16	0,11	97,64
9	F	49	7,60	0,13	94,68
10	M	40	6,99	0,20	109,10
11	F	35	6,26	0,07	103,49
12	M	38	6,58	0,09	105,79
13	M	44	6,99	0,16	101,14
14	F	44	5,83	0,15	96,75
15	M	37	7,51	0,18	94,68
16	F	47	7,24	0,09	98,76
17	M	38	5,84	0,13	97,11
18	M	42	6,34	0,14	99,12
19	M	47	6,69	0,13	95,52
20	F	53	7,85	0,14	94,72
21	F	50	6,37	0,13	93,57
22	F	55	6,45	0,13	99,14
23	M	52	7,24	0,18	96,48
24	F	42	6,15	0,18	106,98
25	M	45	6,39	0,15	104,37
26	M	34	7,41	0,14	103,26
27	F	49	6,99	0,15	102,55
28	F	43	5,85	0,13	99,16
29	F	41	6,54	0,13	105,18
30	F	50	6,90	0,14	107,46

**TABLA N° 03**

**ESTADISTICA COMPARATIVA CON RESPECTO  
A LA DIABETES (30 NORMALES, 70 DIABETICAS)**

		Media	DE	ES	IC 0.95	
					LI	LS
Edad	Control	44.5	5.89	1.08	42.3	46.7
	Diabético	54.4	9.24	1.10	52.2	56.6
	p	< 0.001				
Tiempo de Enfermedad (Años)	Control	0	0	0	0	0
	Diabético	8.16	7.18	0.86	6.44	9.87
	p	< 0.001				
Glucosa (mg/dl)	Control	98.9	6.21	1.13	96.6	101.2
	Diabético	123.0	61.11	7.30	108.4	137.6
	p	< 0.05				
HbA <sub>1c</sub> (%)	Control	6.93	0.638	0.116	6.69	7.17
	Diabético	13.10	4.97	0.594	11.92	14.29
	p	< 0.001				
Albúmina (mg/dl)	Control	0.135	0.0332	0.0061	0.123	0.148
	Diabético	38.33	37.70	4.51	29.34	47.32
	p	< 0.001				

Las medias de controles y de diabéticos difieren significativamente para todas las variables.

La desviación estándar expresa la dispersión de los datos y el error estándar de la media, la dispersión de las medias.

El intervalo de confianza de 0.95, I.C. 0.95, es un par de valores entre los cuales se tiene la probabilidad 0.95 de localizar la media poblacional.

No se observó correlación significativa entre HbA<sub>1c</sub> y albúmina para controles ni para diabéticos.

**TABLA N° 04**

**ESTADISTICA DE SUJETOS CONTROL Y PACIENTES DIABETICOS SEGÚN RANGOS DE ALBUMINURIA Y HbA1**

	EDAD (AÑOS)	TIEMPO ENFERMEDAD (AÑOS)	HbA <sub>1</sub> %	ALBUMINURIA (mg/dl)	GLUCOSA (mg/dl)
SUJETOS CONTROL (n = 30)					
MEDIA			8.931	0.135	98.93
DE			0.638	0.033	6.209
ES			0.116	0.006	1.134
CV%			9.199	24.52	6.276
PACIENTES DIABETICOS ALBUMINURIA < 20 mg/dl (n = 34)					
MEDIA	54.79	7.353	12.24	9.694	134.7
DE	8.398	7.269	4.574	4.371	81.27
ES	1.44	1.247	0.784	0.75	10.51
CV%	15.33	98.96	37.37	45.14	45.48
PACIENTES DIABETICOS ALBUMINURIA = > 20 mg/dl (n = 38)					
MEDIA	54.03	8.917	13.92	55.21	112
DE	10.07	7.117	5.25	34.95	59.7
ES	1.878	1.188	0.875	5.828	9.95
CV%	18.63	79.82	37.72	53.8	53.32
PACIENTES DIABETICOS HbA <sub>1</sub> = < 8.5% (n = 11)					
MEDIA	58.00	6.09	7.40	18.55	118.91
DE	7.96	5.17	1.03	22.70	60.51
ES	2.40	1.56	0.31	6.95	18.24
CV%	13.73	94.82	13.90	122.40	50.88
PACIENTES DIABETICOS HbA <sub>1</sub> > 8.5% (n = 59)					
MEDIA	53.73	8.54	14.17	41.91	123.78
DE	8.38	7.47	4.68	39.75	61.70
ES	1.22	0.97	0.61	5.04	8.03
CV%	17.42	97.45	33.01	92.45	49.85

**TABLA N° 05**

**CORRELACION ENTRE EDAD, TIEMPO DE ENFERMEDAD, HbA1, ALB, GLUCOSA  
SEGÚN CONDICION Y SEXO**

**PACIENTES DIABETICOS (n = 70)**

	T.ENFERMEDAD	HbA1	ALB	GLUCO
EDAD	0.1805	-0.2488 <sup>a</sup>	-0.0952	-0.0931
T.ENFERMEDAD		0.0164	0.0842	0.1033
HbA1			0.3548 <sup>b</sup>	0.1018
ALB				-0.1822

**SUJETOS APARENTEMENTE SANOS (n = 30)**

		HbA1	ALB	GLUCO
EDAD		0.2181	-0.0476	-0.2059
HbA1			0.0080	-0.1808
ALB				0.0858

**SUJETOS SANOS Y PACIENTES (n =100)**

		HbA1	ALB	GLUCO
EDAD		0.1038	0.1665	0.0236
HbA1			0.3605 <sup>c</sup>	0.1992 <sup>a</sup>
ALB				-0.0347

**HOMBRES (n = 60)**

		HbA1	ALB	GLUCO
EDAD		0.1680	0.2697 <sup>a</sup>	-0.1029
HbA1			0.3730 <sup>b</sup>	0.2556 <sup>a</sup>
ALB				-0.0270

**MUJERES (n =40)**

		HbA1	ALB	GLUCO
EDAD		0.0833	0.0607	0.1082
HbA1			0.6732 <sup>c</sup>	0.2727
ALB				-0.0418

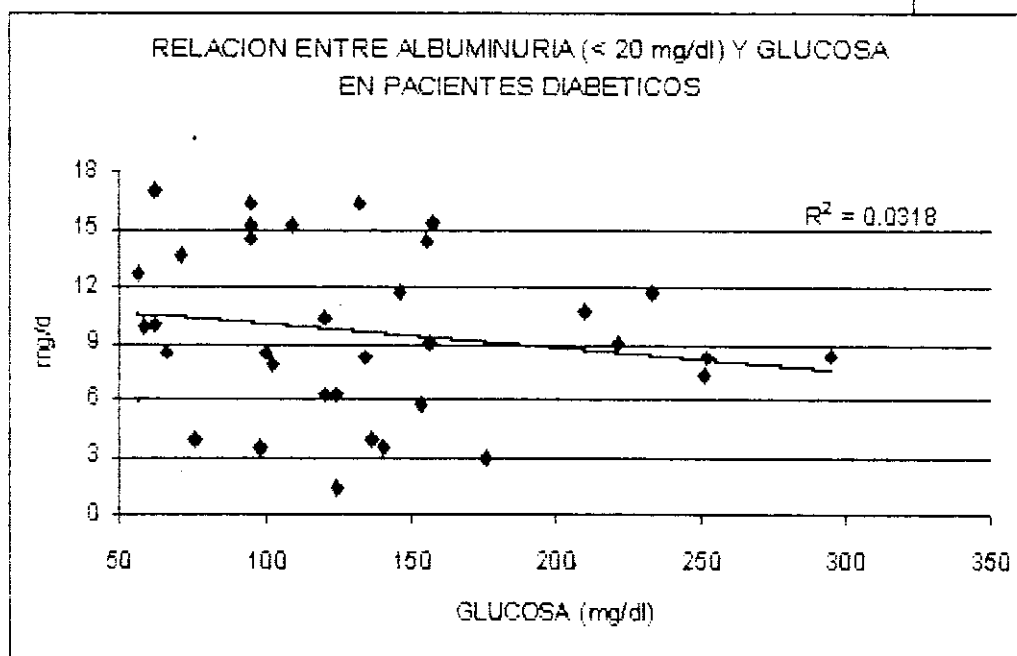
Se calculó el coeficiente de correlación lineal de Pearson entre cada dos variables. El signo positivo indica una relación directa, y el negativo, una relación inversa. El grado de asociación entre cada dos variables es tanto más estrecho, cuanto más cerca de 1 en valor absoluto está el coeficiente de correlación. Así, entre HbA1 y edad en mujeres se observó un coeficiente de correlación de 0.0833, una relación directa, pero no significativa. El nivel de significancia está denotado por los superíndices:

- a)  $p < 0.05$
- b)  $p < 0.01$
- c)  $p < 0.001$

Cuanto más pequeña es la probabilidad, mayor es la significancia.

FIGURA N° 05

A



B

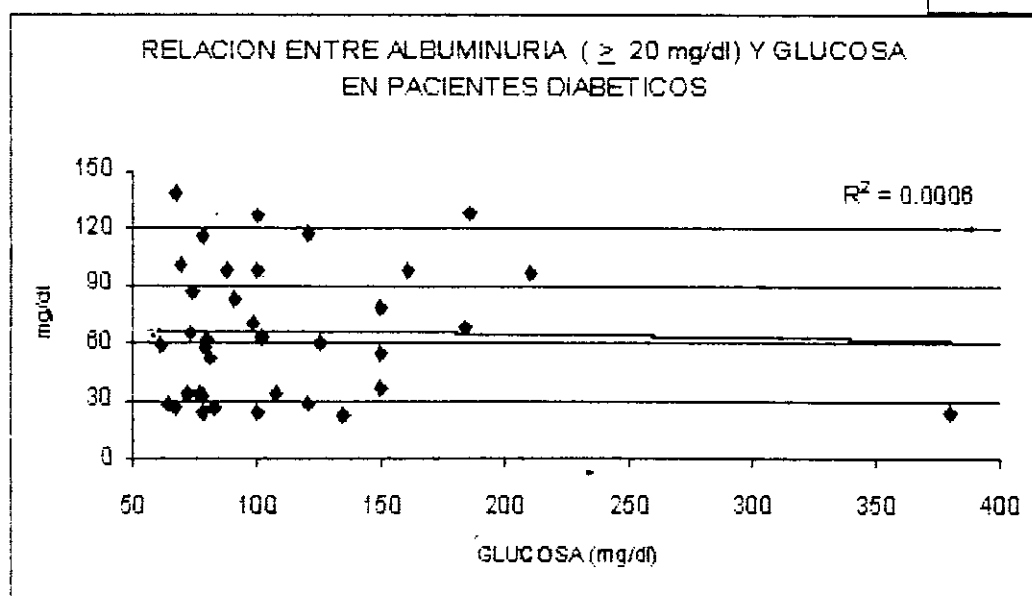






FIGURA N° 07

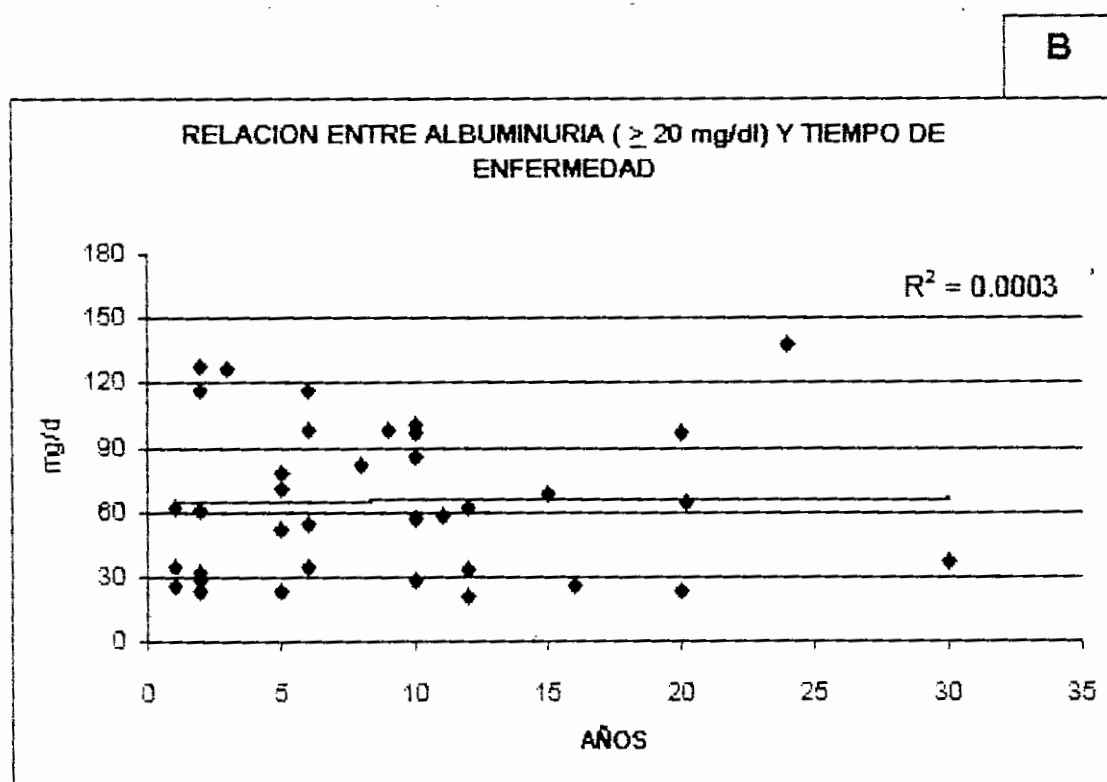
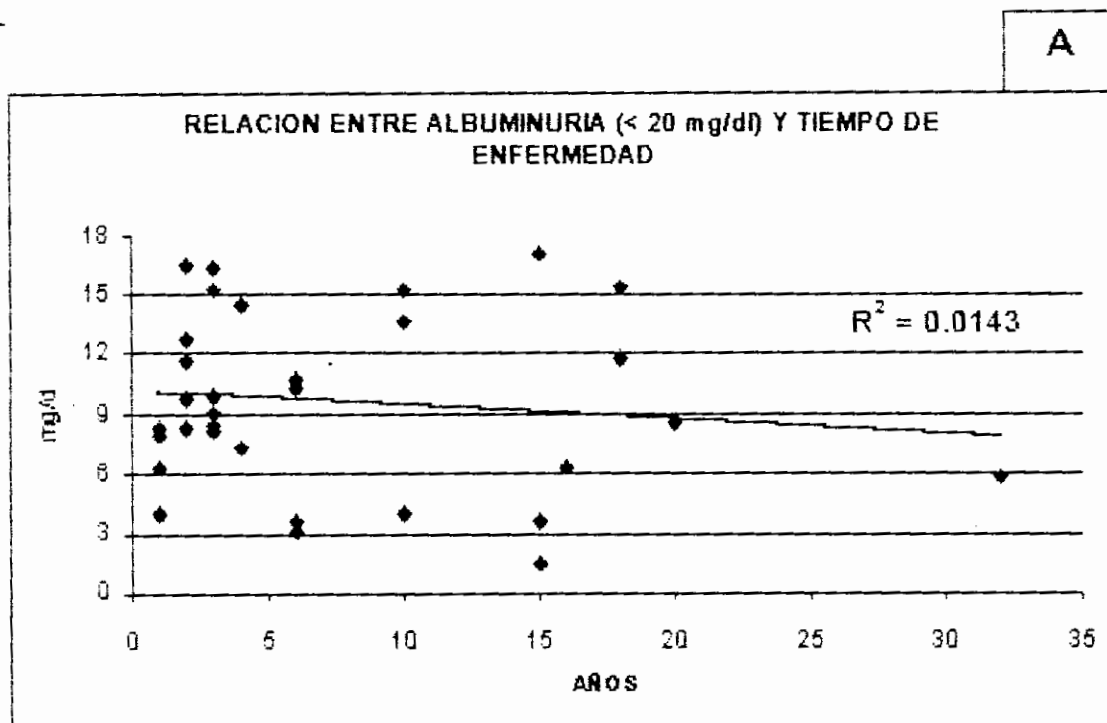
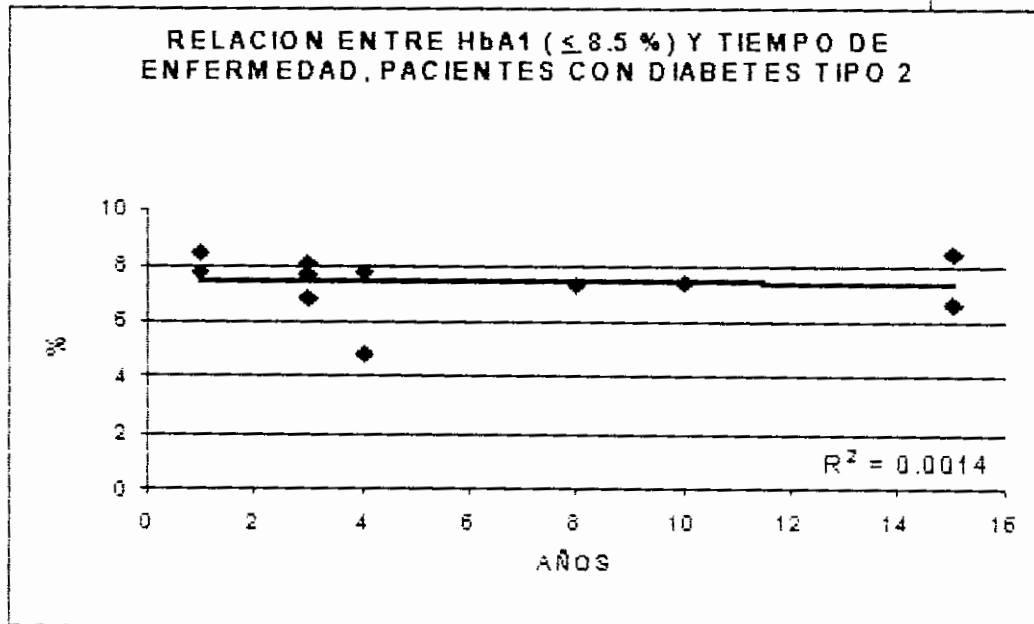


FIGURA N° 08

A



B

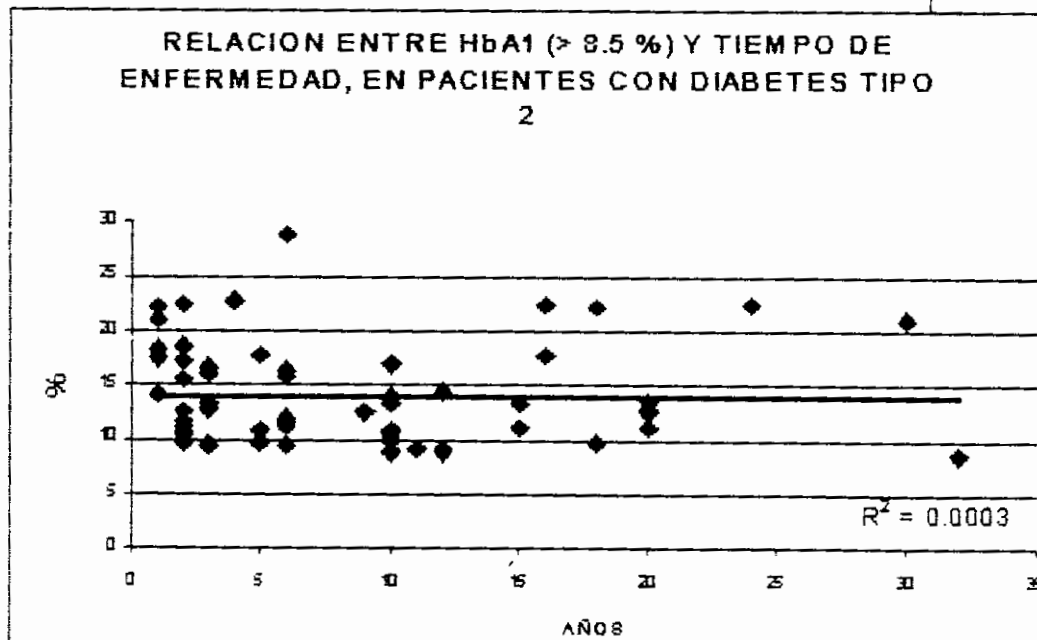


FIGURA N° 09

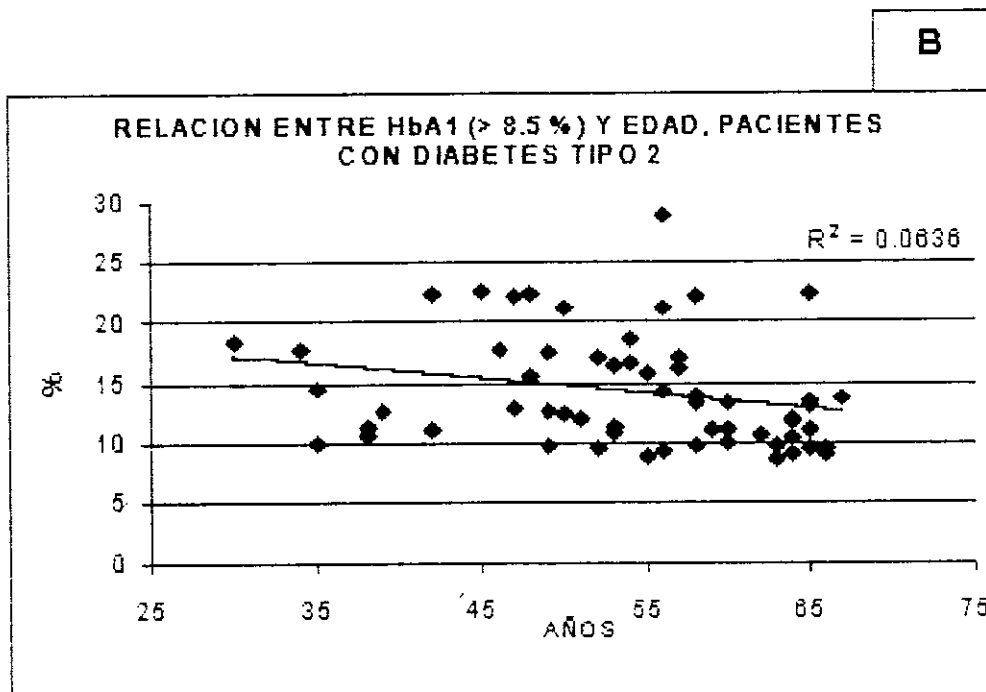
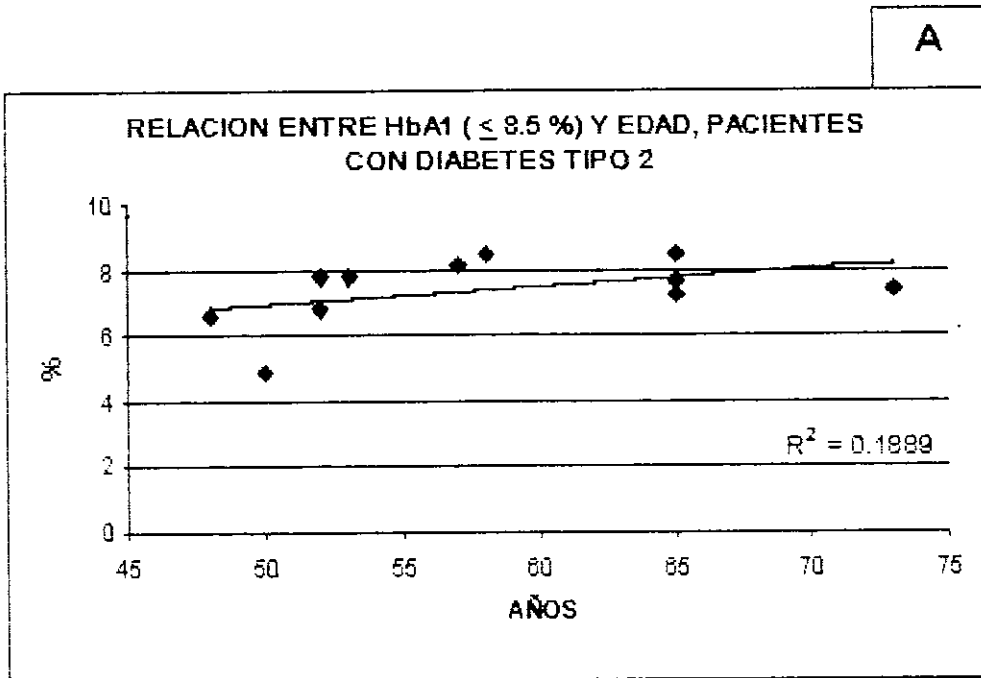
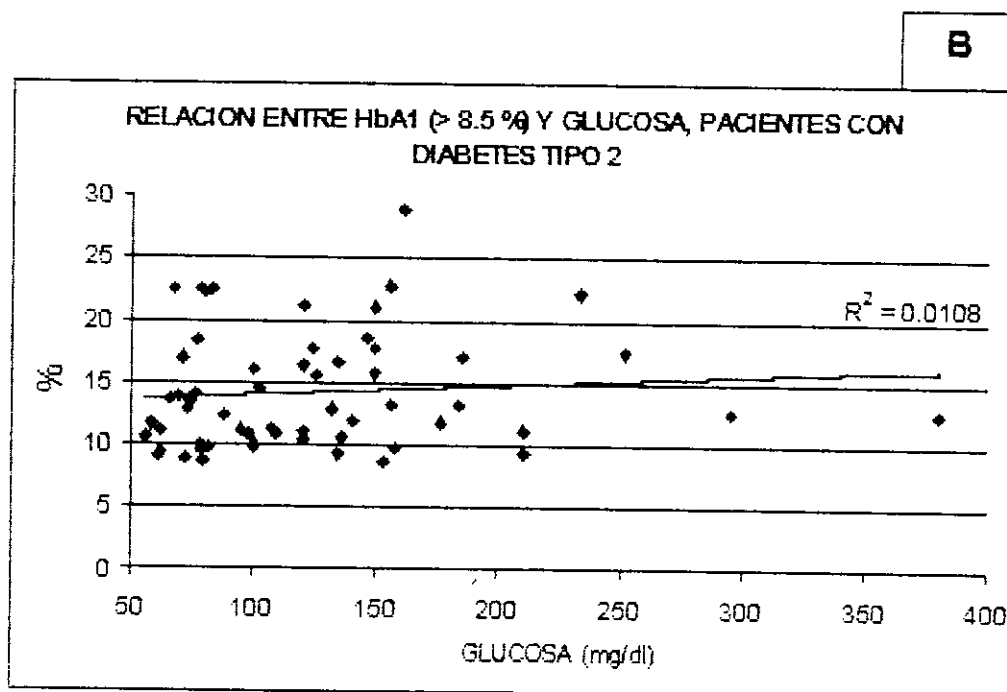
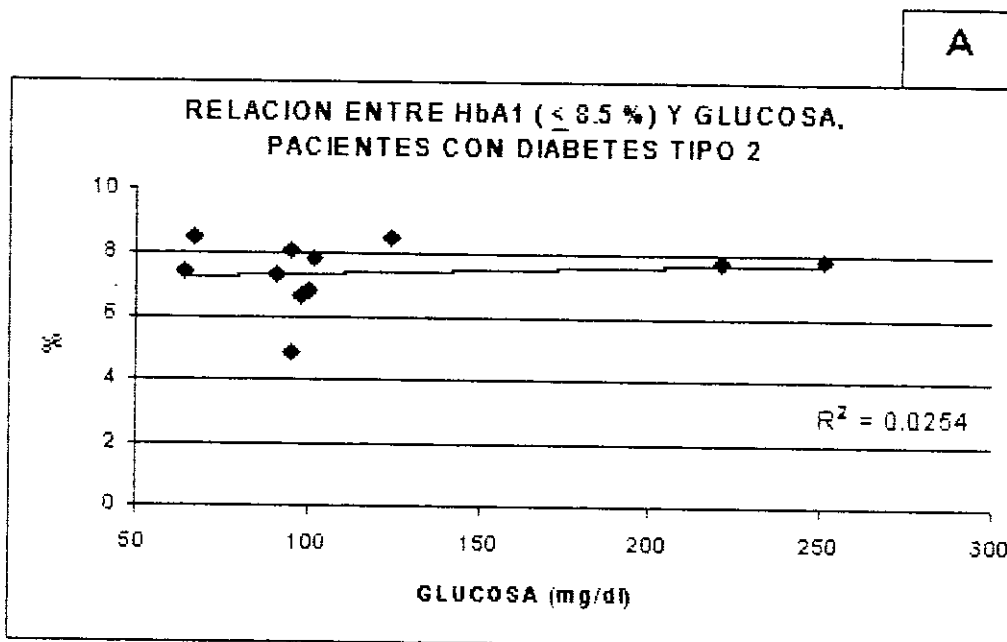


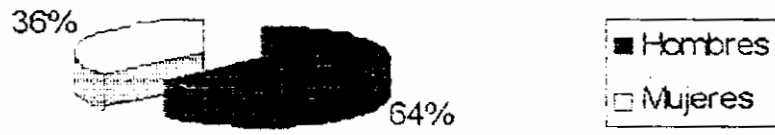
FIGURA N° 10



# GRAFICO N° 01

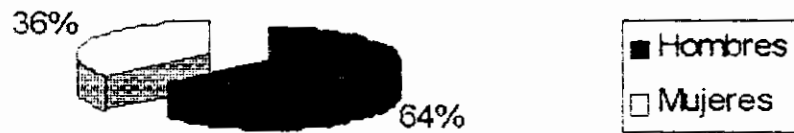
A

DISTRIBUCION DE PACIENTES DIABETICOS CON  
HbA1c  $\leq$  8,5 % SEGUN SEXO



B

DISTRIBUCION DE PACIENTES DIABETICOS CON  
HbA1c  $\leq$  8,5 % SEGUN SEXO

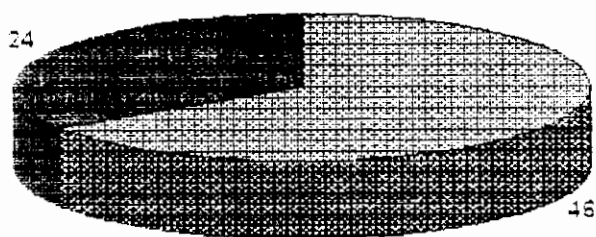


## GRAFICO N° 02

DISTRIBUCION DE PACIENTES DIABETICOS Y PERSONAS APARENTEMENTE SANAS

A

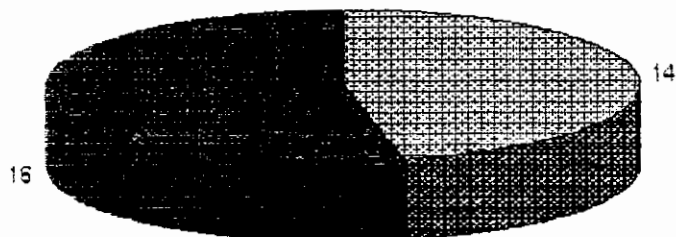
DIABETICOS N=70



MASCULINO  
FEMENINO

B

PERSONAS APARENTEMENTE SANAS  
N=30



MASCULINO  
FEMENINO

# VALORES PROMEDIO DE PACIENTES DIABETICOS TIPO 2 Y PERSONAS SANAS

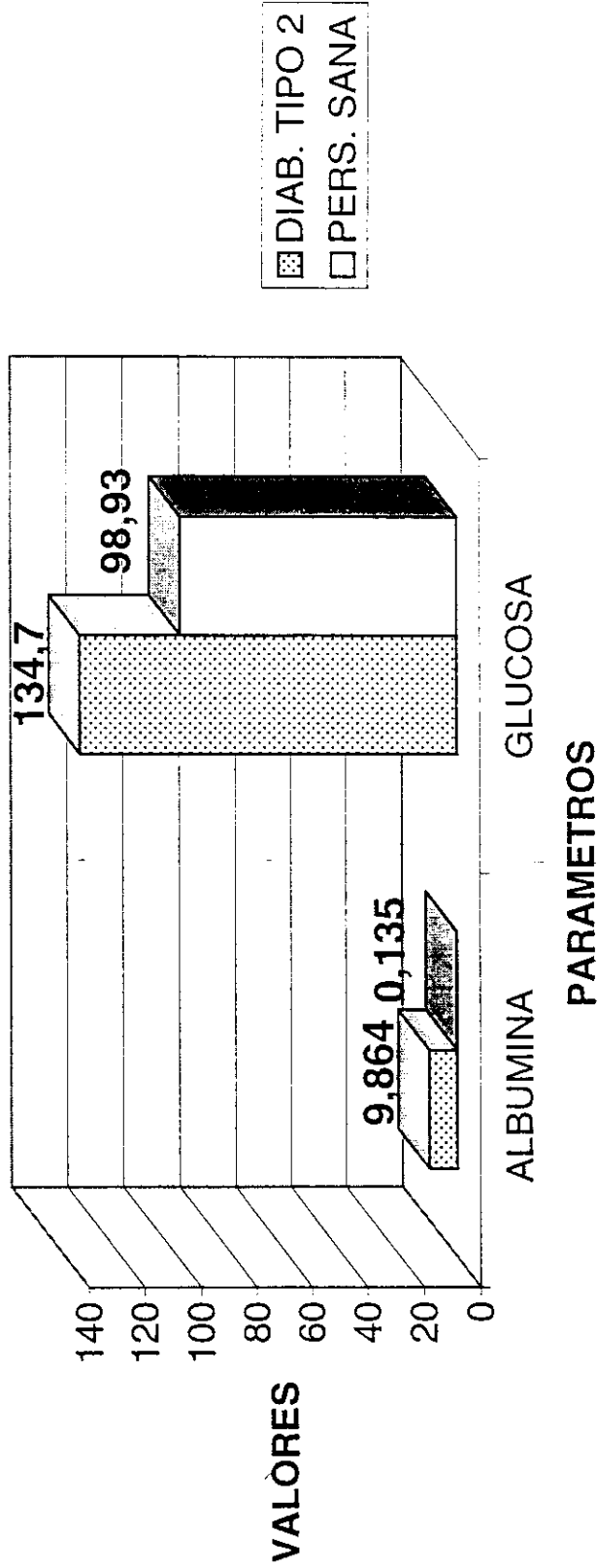


GRAFICO N° 03

VALORES PROMEDIO DE PACIENTES DIABETICOS TIPO 2 Y  
PERSONAS SANAS (HbA1c)

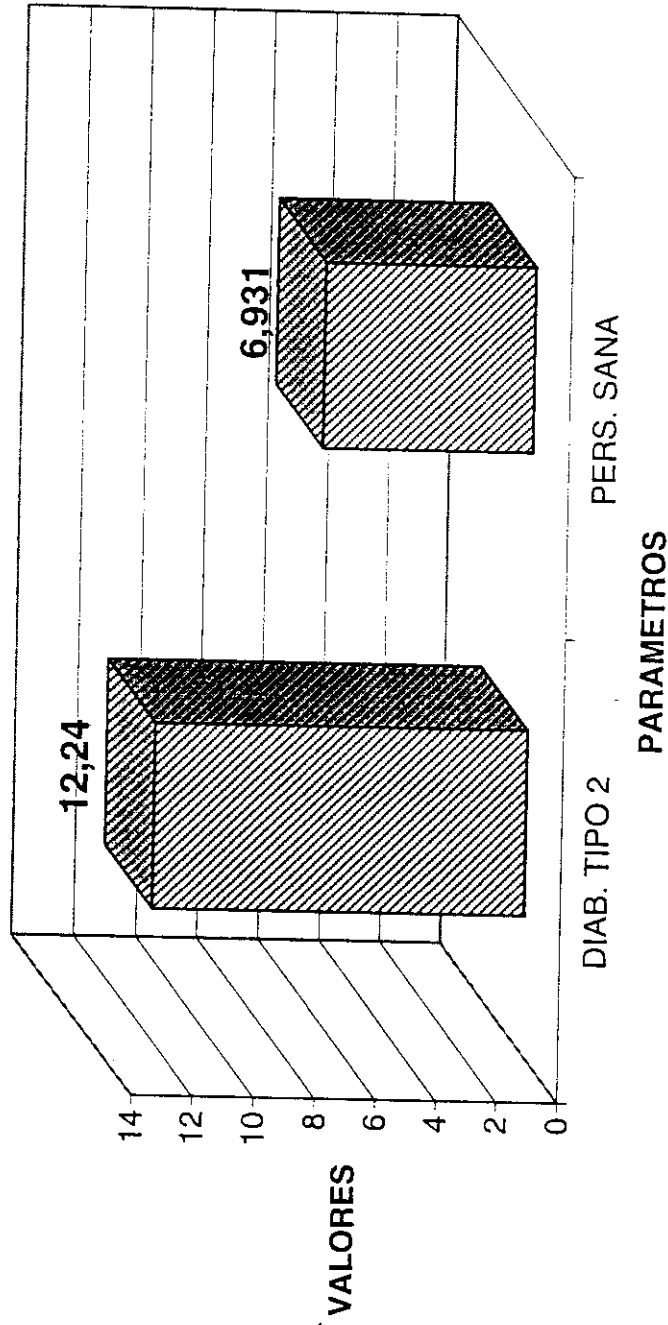


GRAFICO N° 04



## V. DISCUSION

Obtenidos los resultados de Albuminuria (A), se agrupó a los pacientes diabéticos tipo 2 en: microalbuminúricos ( $A < 20$  mg/dl) y macroalbuminúricos ( $A > 20$  mg/dl).

Observando los niveles de glucosa obtenidos podemos comprobar que las personas sanas tienen una media de  $98.9 \pm 6.21$  mg/dl, valor que se encuentra dentro del rango normal y en los pacientes diabéticos microalbuminúricos observamos un valor medio de  $134.7 \pm 61.27$ .

Los valores de HbA1c fueron de  $6.93 \pm 0.64$  % y  $12.24 \pm 4.58$  para personas sanas y pacientes diabéticos tipo 2, respectivamente.

Podemos comprobar que los pacientes diabéticos tienen un incremento en glucosa de 36.2% y en HbA1c un incremento de 76.62%. Esto nos permite afirmar que el metabolismo de los pacientes con diabetes tipo 2 ha estado descompensado durante los últimos 2-4 meses y que la media de glucosa ha estado más elevada, pues sabemos que el valor de HbA1c depende de la glicemia y es estable, una vez que se forma se mantiene en el eritrocito durante su tiempo de vida.

Muy por el contrario sucede con el nivel de glucosa, el cual se ve influenciado por diversos factores, entre otros: dieta, ayuno, ejercicio, por lo que varía en tiempos muy cortos (horas) ( 62 ).

Observando los valores de albuminuria de personas sanas y pacientes diabéticos tenemos valores de 0.135 +/- 0.33 mg/dl y 9.684 +/- 4.37 mg/dl, respectivamente.

Existen factores que podrían influenciar en el nivel de excreción de albúmina, como son: ejercicio físico, presión arterial, infecciones de las vías urinarias, consumo de agua, ingestión de AINEs, ingestión de inhibidores ECA, factor dietario, obesidad, entre otros ( 62, 63 ).

Cabe mencionar que para nuestro trabajo de investigación el factor principal tomado en cuenta es la "Hiperglicemia".

Analizando los valores promedios obtenidos de glucosa y HbA1 de los pacientes con Diabetes Tipo 2 y los comparamos con la tabla de conversión de Pointe Scientific, Inc. (Anexo N° 03), se observa que no se ajusta el valor de glucosa para el de HbA1 obtenido. Así, para un valor de glucosa de 134.7 mg/dl se obtiene un valor de HbA1 de 12.24 y según la tabla (Anexo N° 03) para ese valor de HbA1 le correspondería alrededor de 263 mg/dl, esto confirma que el nivel de glucosa ha estado más elevado y que ha ido disminuyendo. Lo cual reafirma la importancia de la determinación de la HbA1.

También podemos observar que el valor de HbA1 obtenido es algo menor de su valor real, esto podría deberse a la presencia de hemoglobinopatías: Hb S, Hb C, Beta-Talasemia, anemia hemolítica, etc.



El tiempo de seguimiento y muestreo de los pacientes no ha sido adecuadamente extenso. Existen parámetros que hay que controlar por más tiempo para precisar si influyen o no.

El problema de la microalbiminuria obedece a un patrón genético (un patrón similar al observado en el síndrome de Ehlers-Danlos y en el de Marfán). Además, complicaciones crónicas en unos pacientes no se repiten con la misma frecuencia que en otros, por eso es que no se encontraría una correlación estadística entre las variables estudiadas.

## VI. CONCLUSIONES

1. Del estudio efectuado, partiendo de una muestra de 70 pacientes con diabetes tipo 2, sólo 34 (49%) presentaron microalbuminuria ( $\text{Alb} < 20 \text{ mg/dl}$ ).
2. Los valores promedio hallados en los pacientes diabéticos tipo 2 fueron Glucosa  $134.7 \pm 61.27 \text{ mg/dl}$ , HbA1  $12.24 \pm 4.574 \%$  y Alb  $9.684 \pm 4.371 \text{ mg/dl}$ ; los cuales son mayores y difieren significativamente de los valores hallados en personas sanas.
3. No se encontró una correlación entre HbA1 y microalbuminuria.

## VII. RECOMENDACIONES

- 1.- Implementar obligatoriamente la prueba de HbA1, paralela a la determinación de glucosa, para un mejor control metabólico del paciente.
- 2.- Determinar la prueba de la microalbuminuria para detectar la nefropatía diabética en su etapa inicial y evitar o retardar el progreso de esta complicación vascular con sus secuelas ya conocidas.
- 3.- Ampliar la casuística, no sólo en cantidad sino en el tiempo de control, repitiendo secuencialmente las pruebas realizadas. Hacer un seguimiento exhaustivo de otras complicaciones concomitantes: dermatológicas, neurológicas, retinopatía, cardiopatía, etc.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Seclén Santisteban S. Avances en el tratamiento de la Diabetes Mellitus. Diagnóstico 1996; 35 N(4): 26-33
2. Calderón R, Peñaloza J. Diabetes Mellitus en el Perú. 1ra Ed Lima;1996.
3. Villena J. Tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 . Diagnóstico 1998;37: 95-101.
4. Anderson S, Cockayne S. Química Clínica. Interamericana Mc Graw Hill; México D.F. 1993.
5. Islas S, Lifshitz A. Diabetes Mellitus. 1ª Ed. Interamericana Mc Graw Hill; México D.F. 1993.
6. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, from the ADA. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1997; 20: 1183-1195.
7. Shihabi Z, Konen J. Albuminuria vs urinary total protein for detecting chronic renal disorders. Clin. Chem. 1991; 37: 621-624.
8. Salud Publications International Inc.El Hospital 1993;49: 22-29.
9. Reaven GM. El Síndrome X: seis años después. Lipid Digest-Latinoamerica 1996; Vol 2 N 1.
10. Gall MA, Borch-Johnsen k, Hougaard P, Nielsen FS, y Parving HH. Albuminuria and Poor Glycemic Control Predict Mortality in NIDDM. Diabetes 1995; 44: 1303-1309.
11. Green D, Lattimer S, Ulbrecht J, Carroll P. Glucose-induced Alterations in Nerve Metabolism: Current Perspective on the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy and Future Directions for Research and Therapy. Diabetes Care 1985; 8: 290-299.

12. Van Det N, Verhagen N, Tamsma J, Berden Jo, Bruijn J, Daha M, et al. Regulation of Glomerular Epithelial Cell production of Fibronectin and Transforming Growth Factor-beta by High Glucose, Not by Angiotensin II. *Diabetes* 1997; 46: 847-853.
13. Sharma k, Zidayeh F, Alzahabi B, Mc Gowan T, Kapoor S, Kumik B, "et al." Increased Renal Production of Transforming Growth Factor-beta1 in Patients with Type II Diabetes 1997;46: 854-859.-
14. Sharma K, Zidayeh F. Hyperglycemia and Diabetic Kidney Disease. *Diabetes* 1995; 44: 1139-1146.
15. Tilton R, Chang K, Pugliese G, Eades D, Province M, Sherman W, "et al". Prevention of Hemodynamic and Vascular Albumin Filtration Changes in Diabetic Rats by Aldose Reductase Inhibitors. *Diabetes* 1989; 37: 1258-1270.
16. Haneda M, Araki S, Togawa M, Sugimoto T, Isono M, Kikawa R. Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade Is Activated in Glomeruli of Diabetic Rats and Glomerular Mesangial Cells Cultured Under High Glucose conditions. *Diabetes* 1997; 46: 847-853.
17. Pugh J, Medina R, Cornell J, Basu S. NIDDM Is the major Cause of Diabetic End-Stage Renal Disease. *Diabetes* 1995; 44: 1375-1380.
18. Bloomgarden Z. The 32<sup>nd</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 1997; Vol 20 N 8.
19. Tooke J. Microvascular Function in Human Diabetes. *Diabetes* 1995; 44: 721-726.
20. Viberti G. Etiology and prognostic Significance of Albuminuria in Diabetes. *Diabetes Care* 1988, 11: 840-845.
21. Viberti G. Recent Advances in Understanding Mechanisms and Natural History of Diabetic Renal Disease. *Diabetes Care* 1988; 11 (Suppl. 1): 3-9.
22. Ishibashi F. Microalbuminuria in NIDDM Is Caused by Increased Excretion of Unmodified Albumin. *Diabetes*, 1996; 45: 731-735.

23. Mosconi L, Ruggenenti P, Perna A, Mecca G, Remuzzi G. Nitrendipine and Enalapril improve albuminuria and glomerular filtration rate in non insulin dependent diabetes. *Kidney Int Suppl*, Jun 1996; 55: 91-93.
24. Pinol C, Cobos A, Cases A, Esmatges E, Soler J, Closas J, et al. Nitrendipine and Enalapril in the treatment of diabetic hypertensive patients with microalbuminuria. *Kidney Int Suppl*, Jun 1996; 55: 85-87.
25. O'Hare JP. Practical problems in the management of hypertension in the diabetic patient. *J Diabetes Complications*, May-Jun 1996; 10: 163-9.
26. Chan JC, Yeung VT, Leung DH, Tomlinson B, Nicholls MG, Cockram CS. The effects of enalapril and nifedipine on carbohydrate and lipid metabolism in NIDDM. *Diabetes Care*, 1994; 17 : 859-62.
27. Sato Y, Iwase M, Wakisaka M, Yoshizumi H, Nunoi K, Yoshinari M, et al. Renoprotective Effect of enalapril in nephrectomized spontaneously hypertensive rats with neonatal streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, Sep 1995; 29 (3): 153-61.
28. Josefsberg Z, Ross SA, Lev-Ran A, Hwang DL. Effects of enalapril and nitrendipine on the excretion of epidermal growth factor and albumin in hypertensive NIDDM patients. *Diabetes Care* 1995; 18: 690-3.
29. Chan JC, Nicholls MG, Cheung CK, Law LK, Swaminathan R, Cockram CS. Factors determining the blood pressure response to enalapril and nifedipine in hypertension associated with NIDDM. *Diabetes Care*, Jul 1995; 18: 1001-6.
30. Sasaki H, Naka K, Kishi Y, Ohoshi T, Hagihara T, Matsuo H, et al. Nifedipine may impair glucose metabolism in hypertensive diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*. Nov 1994; 26 : 67-75.
31. Shamiss A, Carroll J, Peleg E, Grossman E, Rosenthal T. The effect of enalapril with and without hydrochlorothiazide on insulin sensitivity and other metabolic abnormalities of hypertensive patients with NIDDM. *Am J Hypertens*, Mar 1995, 8 : 276-81.





32. Perico N, Amuchastegui CS, Malanchini B, Bertani T, Remuzzi G. Angiotensin-converting enzyme inhibition and calcium channel blockade both normalize early hyperfiltration in experimental diabetes, but only the former prevents late renal structural damage. *Exp Nephrol*, Jul-Aug 1994, 2(4): 220-8.
33. Sano T, Kawamura T, Matsumae H, Sasaki H, Nakayama M, Hara T," et al." Effects of long-term enalapril treatment on persistent micro-albuminuria in well-controlled hypertensive and normotensive NIDDM patients. *Diabetes Care*, May 1994; 17: 420-4.
34. Stornello M, Valvo EV, Scapellato L. Persistent albuminuria in normotensive non-insulin-dependent (type II) diabetic patients: comparative effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and beta-adrenoceptor blockers. *Clin Sci(Colch)*, Jan 1992, 82 (1): 19-23.
35. Chan JC, Cockram CS, Nicholls MG, Cheung CK, Swaminathan R. Comparison of enalapril and nifedipine in treating non-insulin-dependent diabetes associated with hypertension: one year analysis. *BMJ*, Oct 24 1992; 305 (6860): 981-5.
36. Allen T, Cao Z, Youssef S, Hulthen UL, Cooper Mark. Role of Angiotensin II and Bradykin in Experimental Diabetic Nephropathy. *Diabetes* 1997; 46: 1612-1618.
37. Ravid M, Neumann L, Lishner M. Plasma lipids and the progression of nephropathy in diabetes mellitus type II: effect of ACE inhibitors. *Kidney Int*, Mar 1995; 47 (3): 907-10.
38. Hallab M, Gallois Y, Chatellier G, Rohmer V, Fressinaud P, Marre M. Comparison of reduction in microalbuminuria by enalapril and hydrochlorothiazide in normotensive patients with insulin dependent diabetes. *BMJ*, Jan 16 1993; 306 (6871): 175-82.
39. Catalano C, Muscelli E, Quinonez A, Baldi S, Masoni A, Gibb I, et al. Effect of Insulin on Systemic and Renal Handling of Albumin in Nondiabetic and NIDDM Subjects. *Diabetes* 1997; 46: 868-875.

40. Gartner L, Hiatt J. Histologia, Texto y Atlas. 1ª Ed. En español. Mc Graw Hill Interamericana. México D.F. 1997
41. Cormack D. Histología de Ham. 9ª Ed.. Harla. México. D.F. 1988.
42. Bucala R, Cerami A. Advanced Glycosylation: Chemistry, Biology and Implications for Diabetes and Aging. Advances in Pharmacology, Academic Press 1992, 23: 1-34.
43. Hall P, Cook JGH, Sheldon J, Rutherford S, Gould BJ. Glycosylated hemoglobins and Glycosylated Plasma Proteins in the Diagnosis of Diabetes Mellitus and Impaired Glucose Tolerance. Diabetes Care 1984; 7: 147-150.
44. Malone J, Lowitt S, Korthals J, Salem A, Miranda C. The effect of Hyperglycemia on Nerve Conduction and Structure Is Age Dependent. Diabetes 1996; 45: 209-215.
45. Meng J, Sakata N, Takebayashi S, Asano T, Futata T, Araki N. Advanced Glycation End Products of the Maillard reaction in Aortic Pepsin-Insoluble and Pepsin-Soluble Collagen From diabetic Rats. Diabetes 1996; 45: 1037-1043.
46. Lehninger A. Bioquímica, Ediciones Omega. Barcelona. 1991.
47. Harper HA. Manual de Química Fisiológica.. Editorial El Manual Moderno; México. 1980.
48. Nathan D, Singer D, Hurxthal K, Goodson J. The Clinical Information Value of the Glucosylated Hemoglobin Assay. The New England Journal of Medicine 1984; 310: 341-346.
49. Flückiger R, Woodtli T, Berger W. Quantitation of Glycosylated Hemoglobin by Boronate Affinity Chromatography. Diabetes 1984; 33: 73-76.
50. Sosenko J, Fluckiger R, Platt O, Gabbay k. Glycosilation of Variant Hemoglobins in Normal and Diabetic Subjects. Diabetes Care 1980; 3: 590-593.
51. Haney D, Bunn F. Glycosylation of hemoglobin in vitro: Affinity labeling of hemoglobin by glucose-6-phosphate. Pro. Natl. Acad. Sci. Biochemistry 1976; 73: 3534-3538.

52. James T, Davis J, Mc Donald J, Santiago J, Ladenson J. Comparison of hemoglobin A1c and Hemoglobin A1 in Diabetic patients. Clin. Biochem. 1981, 14: 25-27.
53. Gabbay KH, Hasty K, Breslow JL, Ellison R, Bunn HF, Gallop PM. Glycosilated hemoglobins and Long-Term Blood Glucose Control in Diabetes Mellitus. J Clin Endocrinol Metab; 1977;Vol 44: 859-864.
54. Gonen B, Rubenstein AH, Haemoglobin A1 and Diabetes Mellitus. Diabetologia 1978; 15: 1-8.
55. Tahara Y, Shima K. Kinetics of Hba1c, Glycated Albumin, and Fructosamine and Analysis of Their Weight Functions against Preceding Plasma Glucose Level. Diabetes Care 1995; 18: 440-447.
56. Aleyassine H, Gardiner RJ, Tonks DB, Koch P. Glycosylated Hemoglobin in Diabetes Mellitus: Correlations with Fasting Plasma Glucose, Serum Lipids, and Glycosuria. Diabetes Care 1980; 3: 508-514.
57. Kabadi UM. Glycosylation of Proteins Lack of Influence of aging. Diabetes Care 1988, 11: 429-432.
58. Hashimoto Y, Futamura A, Ikushima M. Effect of Aging on HbA1c in a Working Male Japanese Population. Diabetes Care 1995; 18 : 1337-1339.
59. Gruden G, Cavallo-Perin P, Olivetti C, Repetti E, Sivieri R, Bruno A, "et al". Albumin excretion rate levels in non diabetic offspring of NIDDM patients with and without nephropathy. Diabetologia 1995; 38: 218-1222.
60. Sakane N, Yoshida T, Yoshioka K, Nakamura Y, Umekawa T, Kogure A, "et al".  $\beta_3$ -Adrenoreceptor Gene Polymorphism: a Newly Identified Risk Factor for Proliferative retinopathy in NIDDM Patients. Diabetes 1997;46:1633-1636.
61. Carlsson PO, Jansson L, Östensow CG, Källskoj Ö. Islet Capillary Blood Pressure Increase Mediated by Hyperglycemia in NIDDM GK rats. Diabetes 1997;46:947-952.

62. Palomino R, Rojas A. "Determinación de hemoglobina glicosilada y parámetros hematológicos por el método automatizado en pacientes con Diabetes Mellitus no insulino dependientes". T.A.P. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM, Lima 1997
63. Muñoz M. "Determinación de Microalbiminuria por un Método Semicuantitativo y otro Cuantitativo en Diabetes Mellitus Tipo II". T.A.P. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM, Lima 1997.

## ANEXO 1

### Clasificación de la Diabetes Mellitus y otras categorías relacionadas. Comité de Expertos de la OMS, 1985.

---

#### A.- CLASES CLINICAS

##### DIABETES MELLITUS

- Diabetes mellitus dependiente de insulina (DMID)
- Diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNID)
  - No obeso
  - Obeso
- Diabetes mellitus relacionada con mal nutrición (DMRM)
- Diabetes pancreática fibrocalculosa
- Diabetes relacionada con desnutrición con deficiencia proteica
- Diabetes asociada con otras situaciones o síndromes
  - Enfermedad pancreática
  - Enfermedad de etiología hormonal
  - Inducida por sustancias químicas o fármacos
  - Anormalidades de la molécula de insulina o sus receptores
  - Ciertos síndromes genéticos
  - Misceláneos
- Diabetes mellitus gestacional (DMG)
  
- Anormalidad de la tolerancia a la glucosa
  - No obeso
  - Obeso
  - Asociada con otras situaciones o síndromes

#### B.- CLASES CON RIESGO ESTADISTICO \*

- Anormalidad previa de tolerancia a la glucosa
- DM ó ATG previas, sin alteración bioquímica presente
- Anormalidad potencial de la tolerancia a la glucosa

---

\* Sujetos con tolerancia a la glucosa normal, con riesgo aumentado de desarrollar diabetes.

## ANEXO 2

### Clasificación etiológica de Diabetes Mellitus

---

- i. Diabetes Tipo 1\* (destrucción de células, usualmente conlleva deficiencia absoluta de insulina)
  - A. Mediación Inmune
  - B. Idiopática
- ii. Diabetes tipo 2\* (puede fluctuar de predominantemente resistencia de insulina con deficiencia relativa de insulina a un predominantemente defecto de secreción con resistencia de insulina).
- iii. Otros tipos específicos
  - A. Defectos genéticos de la función de la célula-beta
    - 1. Cromosoma 12, HNF-1aifa (anteriormente MODY3)
    - 2. Cromosoma 7, glucocinasa (anteriormente MODY2)
    - 3. Cromosoma 20, HNF-4aifa (anteriormente MODY1)
    - 4. DNA mitocondrial
    - 5. Otros
  - B. Defectos genéticos en la acción de la insulina
    - 1. Resistencia de la insulina tipo A
    - 2. Liprecaunismo
    - 3. Síndrome Rabson-mendennail
    - 4. Diabetes lipoatrófica
    - 5. Otros
  - C. Enfermedades del páncreas exocrino
    - 1. Pancreatitis
    - 2. Traumatismo-pancreatectomía
    - 3. Neoplasia
    - 4. Fibrosis cística
    - 5. Hemocromatosis
    - 6. Pancreatopatía fibrocalculosa
    - 7. Otros
  - D. Endocrinopatías
    - 1. Acromegalia
    - 2. Síndrome de Cushing
    - 3. Glucagonoma
    - 4. Feocromocitoma
    - 5. Hipertiroidismo
    - 6. Somatostatinaoma
    - 7. Aldosteronoma
    - 8. Otros
  - E. Inducida por drogas o químicos
    - 1. Vacor
    - 2. Pentamidina
    - 3. Acido nicotínico
    - 4. Glucocorticoides

5. Hormona tiroidea
6. Diacóxido
7. Agonistas beta-adrenergicos
8. Tiazidas
9. Dilantín
10. Alfa-interferón
11. Otros

F. Infecciones

1. Rubéola congénita
2. Citomegalovirus
3. Otros

G. Formas no comunes (raras) de diabetes de mediación inmune

1. Síndrome Hombre-Rígido
2. Anticuerpos de receptores antiinsulina
3. Otros

H. Otros síndromes genéticos asociados algunas veces con diabetes

1. Síndrome de Down
2. Síndrome de Klinefelter
3. Síndrome de Turner
4. Síndrome de Wolfram
5. Ataxia de Friedreich
6. Corea de Huntington
7. Síndrome Lawrence Moon Beidel
8. Distrofia miotónica
9. Porfina
10. Síndrome Prader Willi
11. Otros

IV. Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)

---

\* Pacientes con alguna forma de diabetes pueden requerir tratamiento de insulina en algún estado de su enfermedad. Tal uso de insulina no está, de por sí, clasificando al paciente.  
The Expert Committee on The Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus From The American Diabetes Association.

### ANEXO 3

## CONVERSION DE GLICOHEMOGLOBINA (%) A GLUCOSA SANGUINEA (mg/dl.)

Pointe Scientific, Inc.

---

G%	mg/dl	G%	mg/dl	G%	mg/dl	G%	mg/dl
6.5	58	8.4	123	10.3	193	12.2	263
6.6	59	8.5	127	10.4	197	12.3	266
6.7	61	8.6	131	10.5	200	12.4	270
6.8	65	8.7	134	10.6	204	12.5	274
6.9	68	8.8	138	10.7	207	12.6	277
7.0	72	8.9	142	10.8	211	12.7	281
7.1	76	9.0	145	10.9	215	12.8	285
7.2	79	9.1	149	11.0	219	12.9	288
7.3	83	9.2	153	11.1	222	13.0	292
7.4	87	9.3	156	11.2	226	13.1	295
7.5	90	9.4	160	11.3	230	13.2	299
7.6	94	9.5	164	11.4	233	13.3	304
7.7	98	9.6	167	11.5	237	13.4	309
7.8	101	9.7	171	11.6	241	13.5	314
7.9	105	9.8	175	11.7	244	13.6	320
8.0	109	9.9	178	11.8	248	13.7	326
8.1	112	10.0	182	11.9	252	13.8	331
8.2	116	10.1	186	12.0	255	13.9	337
8.3	120	10.2	189	12.1	259	14.0	342