



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Determinación de microalbuminuria por un método  
semicuantitativo y otro cuantitativo en diabetes  
mellitus tipo II**

**TRABAJO DE APTITUD PROFESIONAL**

**Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico**

**AUTOR**

**Manuel Jesus Muñoz Jauregui**

**ASESOR**

**Dr. Eduardo Flores Juarez**

**Lima, Perú**

**1997**



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**

---

Muñoz M. Determinación de microalbuminuria por un método semicuantitativo y otro cuantitativo en diabetes mellitus tipo II [Trabajo de aptitud profesional de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 1997.

---

A MIS PADRES,  
MOISES Y CONSUELO,  
QUIENES CON SU EJEMPLO,  
Y LAS VIRTUDES QUE LOS ENALTECEN,  
SON UN ESTIMULO PERMANENTE PARA MI  
DESARROLLO PERSONAL Y PROFESIONAL

A MIS HERMANOS MOISES,  
CONSUELO, ANA Y MARTIN POR BRINDARME  
SU FRATERNAL APOYO Y COMPRESION.

**AGRADEZCO,**

**A MI ASESOR: Dr. EDUARDO FLORES JUAREZ**

**MIEMBRO DEL INSTITUTO DE QUIMICA BIOLOGICA**

**MARCO ANTONIO GARRIDO MALO, DE LA U.N.M.S.M.,**

**POR SUS VALIOSAS ORIENTACIONES Y APOYO BRINDADOS**

**PARA EL DESARROLLO DEL PRESENTE TRABAJO.**

**A LOS MIEMBROS DEL JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR:**

**Dra. ELIZABETH GONZALES LOAYZA**

**Dra. HAYDEE ZUÑIGA CACERES**

**Dr. HUBERDINO ASTOCONDOR MATEO**

**POR SUS ORIENTACIONES Y CONSEJOS PARA LA**

**CULMINACION DE MI TESIS.**

## SUMARIO

### RESUMEN

#### I.-INTRODUCCION

##### OBJETIVOS

#### II.-GENERALIDADES

##### II.1.-LA DIABETES MELLITUS

##### II.2.-EL PROBLEMA RENAL EN DIABETES MELLITUS TIPO II

##### II.3.-BASES ETIOPATOGENICAS DE LA MICROVASCULOPATIA

##### II.4.-FASES EVOLUTIVAS DE LA NEFROPATIA EN DIABETES TIPO II

##### II.5.-ALTERACIONES DE LA MORFOLOGIA RENAL EN DIABETES TIPO II

##### II.6.-ESTRATEGIAS DE PREVENCION DE LA NEFROPATIA DIABETICA

##### II.7.-EVALUACION DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS

#### III.-PARTE EXPERIMENTAL

##### III.1.-MUESTRAS DE POBLACION

##### III.2.-CRITERIOS DE EXCLUSION

##### III.3.-DISEÑO DE ESTUDIO

##### III.4.-PRUEBA DE ORO PARA MICROALBUMINURIA(RIA)

###### III.4.1.-FUNDAMENTO

###### III.4.2.-EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

###### III.4.3.-PROCEDIMIENTO

###### III.4.4.-CALCULOS

##### III.5.-PRUEBA DE ESTUDIO PARA MICROALBUMINURIA (semicuantitativa)

###### III.5.1.-FUNDAMENTO

###### III.5.2.-INSTRUCCIONES

#### IV.-RESULTADOS

#### V.-DISCUSION

#### VI.-CONCLUSIONES

#### VII.-RECOMENDACIONES

#### ANEXOS:

ANEXO N°1. FICHA DE REGISTRO DE DATOS

ANEXO N°2 RESULTADOS

ANEXO N°3 CALCULOS Y CONTROL DE CALIDAD EN RIA

**ANEXO N°4 DETERMINACION DE CREATININA**

**ANEXO N°5 ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS**

**VIII.-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.**

## RESUMEN

En los diabéticos tipo II la nefropatía es mas prevalente que en los no diabéticos y conduce a una Insuficiencia Renal Crónica Terminal, cuya incidencia en este tipo de diabetes se ha visto incrementada en los últimos años.

La microalbuminuria representa un indicador predictivo en el desarrollo de la nefropatía y un elemento importante para la detección precoz en la etapa inicial reversible, que implica una excreción de albúmina urinaria de 20-200 mg/L.

Se cuantificó la microalbuminuria en 52 pacientes con diabetes tipo II, mediante el método de RIA(prueba de oro), encontrándose en una prueba semicuantitativa de estudio una elevada correlación y por tanto, confiabilidad y utilidad en el screening para determinar la etapa incipiente de la nefropatía diabética. Correspondiéndole una sensibilidad de 95,8%, una especificidad de 89,3% y una eficiencia de 92,3%.





## ABSTRACT

Nephropathies are more frequent in patients with type II diabetes than in healthy people and it promotes end-stage renal failure, which had increased its incidence over the last years.

Microalbuminuria (presence of small quantities of albuminuria : 20-200 mg/L) has predictive value for nephropathy development and is important for an early diagnosis during the time that disease is reversible.

In 52 patients with type II diabetes, we asses the microalbuminuria using radioinmunoassay(gold test). Our findings in a semiquantitative analysis showed that the screening for incipient diabetic nephropathy is both, useful and reliable, having a 95.8% of sensitivity, 89.3% of specificity and 92.3 % of efficiency.



## I.-INTRODUCCION

La Diabetes Mellitus tipo II es una de las enfermedades metabólicas mas frecuentes en nuestro medio. En estos pacientes se ha observado en los últimos años un incremento en la incidencia de la Insuficiencia Renal Crónica Terminal(IRCT) o Enfermedad Renal Terminal, en donde las únicas alternativas de rehabilitación lo constituyen la diálisis o el transplante renal, que representan un aumento en el consumo de los servicios de salud, siendo un problema social y económico que afecta la producción y el desarrollo del país.

La nefropatía clínica, la cual conduce a la IRCT, tiene en los diabéticos tipo II una mayor prevalencia y la microalbuminuria representa un indicador predictivo de su desarrollo y un elemento importante para la detección precoz en la etapa inicial y reversible.

El riesgo de mortalidad durante el periodo de diálisis y luego de realizado un transplante renal, es mas elevado en un paciente diabético tipo II que en un paciente no diabético.

La nefropatía constituye la segunda causa de muerte entre los pacientes con diabetes tipo II, es decir luego de la enfermedad coronaria y constituye la primera causa de mortalidad entre los diabéticos tipo I, sin embargo es de considerar la baja prevalencia de la diabetes tipo I en nuestro medio respecto a la que se presenta en otras partes del mundo, siendo mucho mayor la prevalencia de la diabetes tipo II .

Se ha encontrado una mayor prevalencia de la enfermedad renal terminal entre la población diabética mexicana-americana respecto a la de origen caucásico.

En el presente trabajo proponemos una nueva prueba de laboratorio para medir su capacidad de discriminación diagnóstica, con la finalidad de establecer su utilidad para el tamizaje de una nefropatía diabética incipiente, es decir en la etapa de microalbuminuria de 20-200mg/L, no detectable por métodos de laboratorio convencionales: con este propósito a 52 pacientes con diabetes tipo II,

se les determinó la microalbuminuria por medio de una prueba de oro de gran eficiencia como es el Radioinmunoensayo(RIA) y con la prueba en estudio, basada en métodos cromatográfico y enzimoimmunológico, comparándose los resultados para establecer la correlación de la prueba semicuantitativa con el RIA y obtener su coeficiente de correlación, sensibilidad, especificidad, y eficiencia para poder proponer su utilización o no en la detección de la nefropatía en su etapa inicial, en la evaluación de las terapias para revertirla y para controlar el mejoramiento o la evolución de dicha complicación.

## OBJETIVOS

1.- Determinar la utilidad de un método semicuantitativo y otro cuantitativo(RIA) para la determinación de microalbuminuria a fin de validar su uso en pacientes con DM tipo II.

2.- Determinar la sensibilidad, la especificidad, la eficiencia, los valores predictivos y las tasas de falsos positivos y falsos negativos de la prueba semicuantitativa comparándola con la prueba de oro (RIA).

3.- Determinar la correlación entre el método semicuantitativo de estudio y la prueba de oro.

4.- Determinar la correlación entre la microalbuminuria con la retinopatía no proliferativa, la neuropatía leve y la hipertensión controlada.



## II.-GENERALIDADES

### II.1.-LA DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus(DM) es una enfermedad crónica que se caracteriza por una disminución de la capacidad de las personas para utilizar la glucosa. El páncreas no produce suficiente cantidad de insulina o este no actúa eficazmente por lo cual la glucosa no se convierte en energía y aumenta en la sangre llevando complicaciones a corto y largo plazo.

En la Diabetes Mellitus podemos encontrar dos grandes grupos: la DM tipo I y la DM tipo II. La evaluación inicial de un paciente con Diabetes mellitus debe comenzar con la identificación del tipo de enfermedad para lo que es necesario establecer diferencias en base a:

La forma de inicio de la enfermedad: el primer caso se asocia a un déficit absoluto de insulina, el segundo caso a una resistencia a la insulina y por un hiperinsulinismo.

La edad de inicio para la diabetes tipo I puede ser antes de los 20 años (juvenil) y después de los 30 (adulto). La diabetes tipo II puede originarse antes de los 20 años (MODY), u originarse después de los 30 años en el adulto.

En el Perú la Diabetes Mellitus, en especial la Diabetes Mellitus tipo II. es ya un problema de salud pública, las consultas externas y las hospitalizaciones por esta causa abarcan hasta el 40% en los servicios de medicina del MINSA, IPSS y FFAA (1).

Se asume una prevalencia de la DM tipo II del 5% de la población, es decir aproximadamente un millón de peruanos serían portadores de esta enfermedad, pero sólo el 50% de ellos sabe que es diabético y el otro 50% es diagnosticado cuando ya tiene complicaciones (2). Este tipo de diabetes está representada por más del 95% de los casos de Diabetes Mellitus (3,4) y se han encontrado ciertos factores que inciden en su aparición en poblaciones predispuestas, tales como: la aculturización, el sedentarismo, y la dieta con exceso de calorías (5).

La diabetes mellitus tipo II varía en cuanto a su prevalencia a nivel mundial

de < de 1% en Papua(Nueva Guinea) a > 50% en los indios Pima (EEUU) (6) y es una de las principales causas de morbi-mortalidad en muchos países de las Américas (7).

## **II.2.-EL PROBLEMA RENAL EN LA DIABETES MELLITUS TIPO II**

### **Magnitud del problema:**

En los diabéticos existe una elevada prevalencia de complicaciones microvasculares crónicas y una de las principales lo constituye la nefropatía (2),.la cual conduce a la IRCT, que es la última fase de la insuficiencia renal crónica; cuyo tratamiento implica una hemodiálisis o trasplante renal

En las dos últimas décadas y a nivel mundial se ha presentado un incremento dramático en la incidencia de IRCT en pacientes con diabetes tipo II, esto se reflejó en 1991 en los EEUU con un total de 195 pacientes con IRCT por millón de habitantes, y 70 diabéticos con IRCT por millón de habitantes, es decir del total de pacientes con IRCT aproximadamente el 35% resultaron ser diabéticos. Si comparamos este valor con el de 1980 que fue de 18% se observará el notable incremento. Este incremento, así como el de las otras complicaciones, fue motivo de la reciente reunión de las Américas, auspiciado por la OPS/OMS y la International Diabetes Federation (IDF), en donde se emitió un pronunciamiento a favor de un mayor estudio y control de las complicaciones crónicas de la Diabetes Mellitus en la región.

Las observaciones epidemiológicas en EEUU y Europa han disipado perfectamente enfoques erróneos acerca de un pronóstico renal benigno en la diabetes tipo II, los que se habrían ocasionado a consecuencia de una mala clasificación realizada por nefrólogos de la incidencia y prevalencia de la IRCT por causa de la diabetes tipo II, reportando en el pasado a todo paciente tratado con insulina como diabético tipo I. Este incremento ha orientado un reciente interés en las etapas tempranas de la nefropatía en la diabetes tipo II.

Además la rapidez del incremento de la IRCT en pacientes con diabetes tipo II ha sido mayor, que la IRCT originada por otras causas.

La DM. Tipo II es la tercera causa de la IRCT según un estudio realizado en

el Hospital Rebagliati y en las clínicas de hemodiálisis de Lima. El 30% de pacientes con IRCT resultaron ser diabéticos tipo II. La carga económica que esto significa para la seguridad social es muy grande ya que cada sesión de diálisis, a la que son sometidos los pacientes diabéticos con dicha Enfermedad Renal Terminal, tiene un costo de S/.140 y el paciente requiere un mínimo de 13 sesiones por mes con un costo de casi \$10000 dólares por año. Además es fundamental considerar que la prevalencia de nefropatía diabética clínica en la DM tipo II varía del 5 al 16% (2).

Sin intervención específica, el 20-40% de diabéticos tipo II con microalbuminuria progresan a nefropatía establecida.(8)

En los EE.UU.el 33% de los casos de IRCT son atribuibles a la Diabetes Mellitus (nefropatía diabética). De todos los pacientes con IRCT a causa de la Diabetes Mellitus, el 60% tienen DM tipo II y el 40% presentan la DM tipo I, esto porque, aún cuando la nefropatía(que conlleva irreversiblemente a enfermedad renal terminal) es mas frecuente en DM tipo I, del total de pacientes con Diabetes Mellitus el 90-95% presentan DM tipo II (9). Además en los EEUU. cada año cuesta US\$ 36000 el tratamiento de un diabético con enfermedad renal en etapa terminal, se sabe también que en 1991 el costo para ese año del tratamiento de los pacientes diabéticos con enfermedad renal, superó los 2 billones de dólares (10).

### **Causas del incremento de la IRCT en diabetes tipo II en los últimos años**

Son en orden de importancia:

a.- La diabetes, principalmente la de tipo II ha incrementado su prevalencia. Como una muestra de ello, en Alemania, la prevalencia de diabetes se incrementó del 1% de la población en 1965 al 4% en 1988.

b.- La sobrevida o la sobrevivencia de los pacientes con diabetes tipo II y particularmente los de alto riesgo, es decir con diabetes tipo II y proteinuria ha progresado considerablemente en los últimos años. Como una prueba de lo mencionado, en Alemania la tasa de sobrevivencia 5 años después del ataque de proteinuria fue del 35% entre 1966 y 1975, en comparación con el del 75% entre

1976 y 1985.

c.- La presencia de nuevos programas de tratamiento para la IRCT en pacientes diabéticos (el mejor control del paciente diabético con IRCT anémico o con osteoporosis aumentaron la sobrevida).

d.- El gran riesgo de muerte por enfermedad arterial coronaria en la población anciana con diabetes tipo II, podría impedir en una proporción aún no conocida del total de estos casos el progreso de nefropatía incipiente a IRCT(8). Según se pudo encontrar en la anterior Alemania del Este, en donde el tratamiento antihipertensivo y el cuidado apropiado de la enfermedad coronaria fueron aprovechados solamente por un grupo privilegiado, por lo que el 45% de los pacientes fallecieron a los 4 años luego del diagnóstico de diabetes tipo II(11).

En vista de este incremento:

1.- Las estrategias para el diagnóstico y control de la diabetes deben ser mas efectivas.

2.- La lesión renal diabética debe ser diagnosticada mas tempranamente.

**Causas de las marcadas diferencias en la incidencia de la IRCT en la diabetes tipo II entre las naciones y regiones en general**

**1.- Variabilidad racial/étnica:**

Es de gran consideración determinándose que la prevalencia de diabetes es mas grande entre los africanos-americanos, mexicanos-americanos, nativos-americanos, chinos y japoneses que en caucásicos. La enfermedad renal terminal con diabetes es tres veces mas prevalente en africanos-americanos, cuatro veces mas prevalente en chinos y japoneses, seis veces mas prevalente en mexicanos-americanos, 8 veces mas prevalente en africanos-americanos, que en blancos no hispánicos (9). Además que el riesgo acumulado de nefropatía diabética en DM tipo II está por encima del 50% (después de 25-30 años de enfermedad) en hispano-americanos, japoneses, indios pima(Arizona) y en indios zuni (Nuevo Mexico) (6).

Se ha podido determinar en diversas poblaciones de diabéticos tipo II. Que la prevalencia de microalbuminuria es mayor en poblaciones no caucásicas,



incluyendo: indios pima (12), mexicanos-americanos (13), africanos-americanos (14) y coreanos (15), que en poblaciones caucásicas.

Sin embargo aún es desconocido qué tanto influye la raza para el riesgo de la nefropatía diabética. Podría estar en relación con:

- a.- Alta prevalencia o severidad de la hipertensión.
- b.- Diferencias en la estructura renal(diferente medida de glomérulos).
- c.- Mayor severidad de la diabetes.
- d.- Calidad de cuidado médico.

## **2.- El estilo de vida:**

Una muestra de esta influencia es la situación que se presenta en Francia en donde descartando el aspecto racial, se ha podido determinar que la incidencia de IRCT en pacientes con diabetes tipo II es mas baja en las areas que bordean los territorios de España e Italia(países con conocida baja incidencia de IRCT por diabetes tipo II ) que en las areas que bordean los territorios de Alemania y Bélgica (países con conocida alta incidencia de IRCT por diabetes tipo II) (11).

### **Valoración de la función renal**

Es fundamental como componente de la evaluación inicial de la diabetes la detección temprana de la nefropatía con la aparición de bajos pero anormales niveles de albúmina, de manera persistente en la orina, que permitiría establecer un esquema terapéutico que podría frenar o retrasar el curso de la enfermedad renal.

Considerando que el riesgo de nefropatía diabética se incrementa de manera significativa en presencia de microalbuminuria en pacientes con cualquiera de los dos tipos de diabetes y la medición de albúmina urinaria es una forma importante de controlar el efecto del tratamiento sobre la progresión de la enfermedad renal (16).

La nefropatía constituye la segunda causa de muerte entre los pacientes con diabetes tipo II, es decir luego de las enfermedades coronarias y constituye la

primera causa de mortalidad entre los diabéticos tipo I.

En un estudio de 4 años de la función glomerular, en una población con DM Tipo II de indios Pima de los EEUU, se ha demostrado una disminución de dicha función (observado a través de la disminución de la tasa de filtración renal y del flujo de plasma renal) conjuntamente con el aumento de la albuminuria (17).

De otro lado, la prevención de la nefropatía clínica es fundamental en pacientes con diabetes dado que es 50 % mas grande la tasa de mortalidad en diálisis en pacientes diabéticos que en no diabéticos. Además porque el trasplante renal para los pacientes diabéticos que padecen de insuficiencia renal terminal y que reciben tratamiento de diálisis, si bien mejora la calidad de vida y lo aleja de la hemodiálisis; sin embargo, reactiva la diabetes y que sumado a la depresión inmunológica por los medicamentos que reciben para evitar el rechazo (prednisona, ciclosporina), determinan todavía mayor susceptibilidad a las infecciones y a las complicaciones propias de la diabetes activada que terminan afectando al riñón transplantado, trayendo como consecuencia que la sobrevida en el paciente diabético con trasplante renal sea menor que en el no diabético (18).

### **II.3.-LAS BASES ETIOPATOGENICAS DE LA MICROVASCULOPATIA**

Resulta ilustrable tener en cuenta aspectos fundamentales de la anatomía y fisiología renales, partiendo de la estructura del nefrón (Fig. 1) (19), donde se ubica un ovillo arterial denominado glomérulo, alojado en la parte inicial de un conductillo urinario de tal manera que las paredes de este engloban al glomérulo, constituyendo una envoltura doble (hojas visceral y parietal de la cápsula de Bowman) (Fig. 2) (20)

La sangre ingresa al glomérulo por la arteriola aferente, y se divide en varias ramas de trayecto muy tortuoso que confluyen para formar la arteriola eferente, la cual se descompone en capilares al abandonar el glomérulo.

Desde la luz capilar al espacio urinario se encuentran diferentes elementos que constituyen la pared o barrera de filtración glomerular (Fig. 3) (21,22).

1.- Células endoteliales.

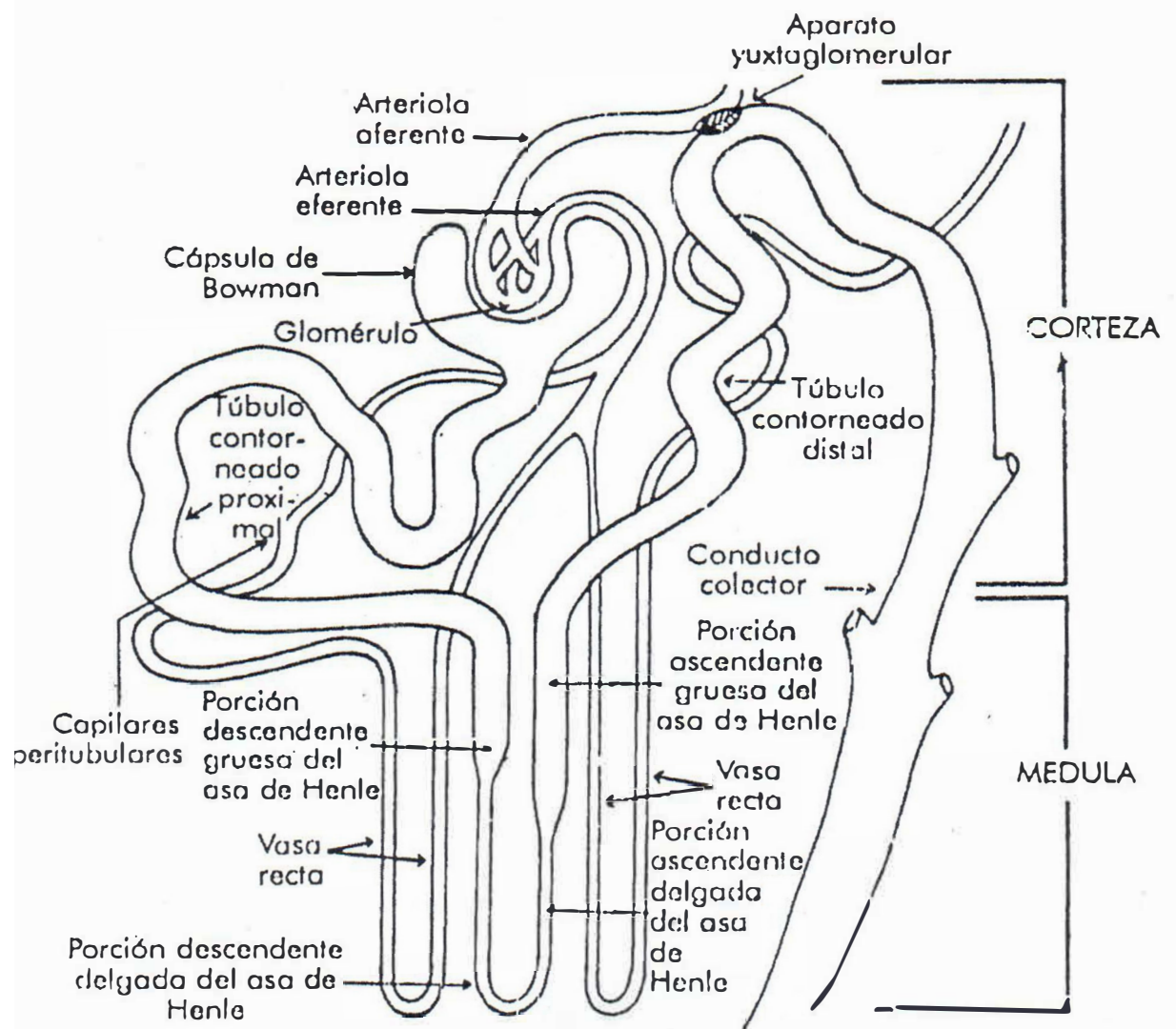


Fig. 1. Representación esquemática de la estructura del nefrón

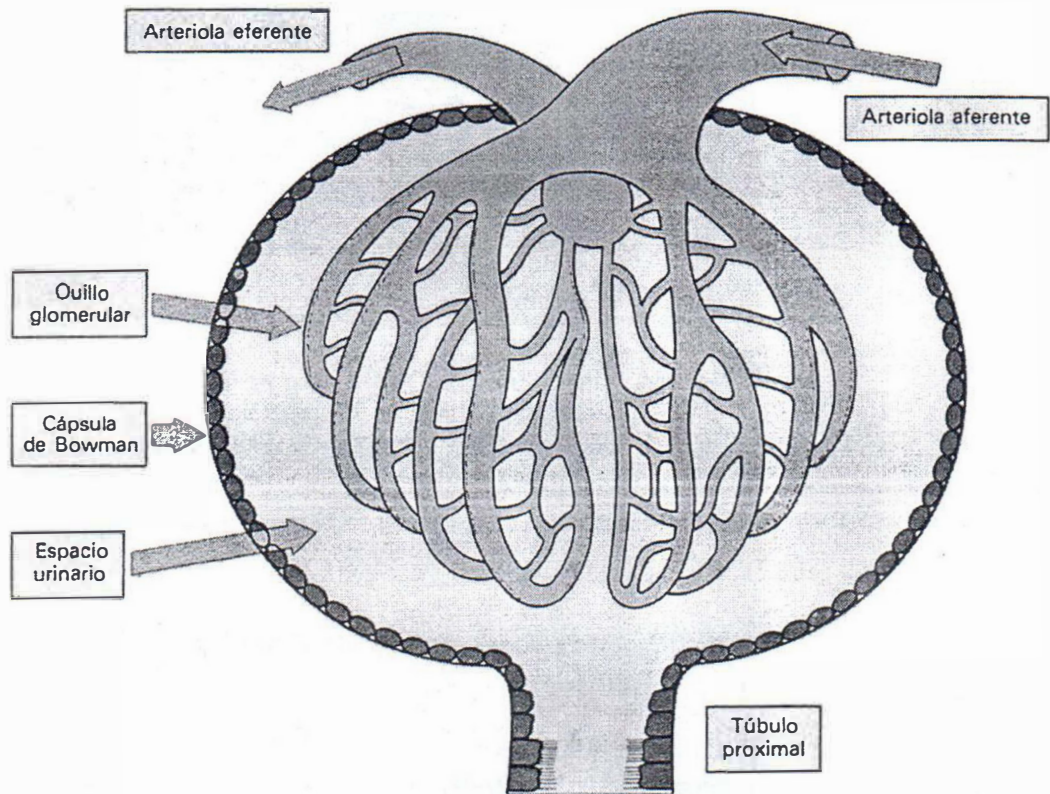


Fig. 2. Esquema de la estructura glomerular



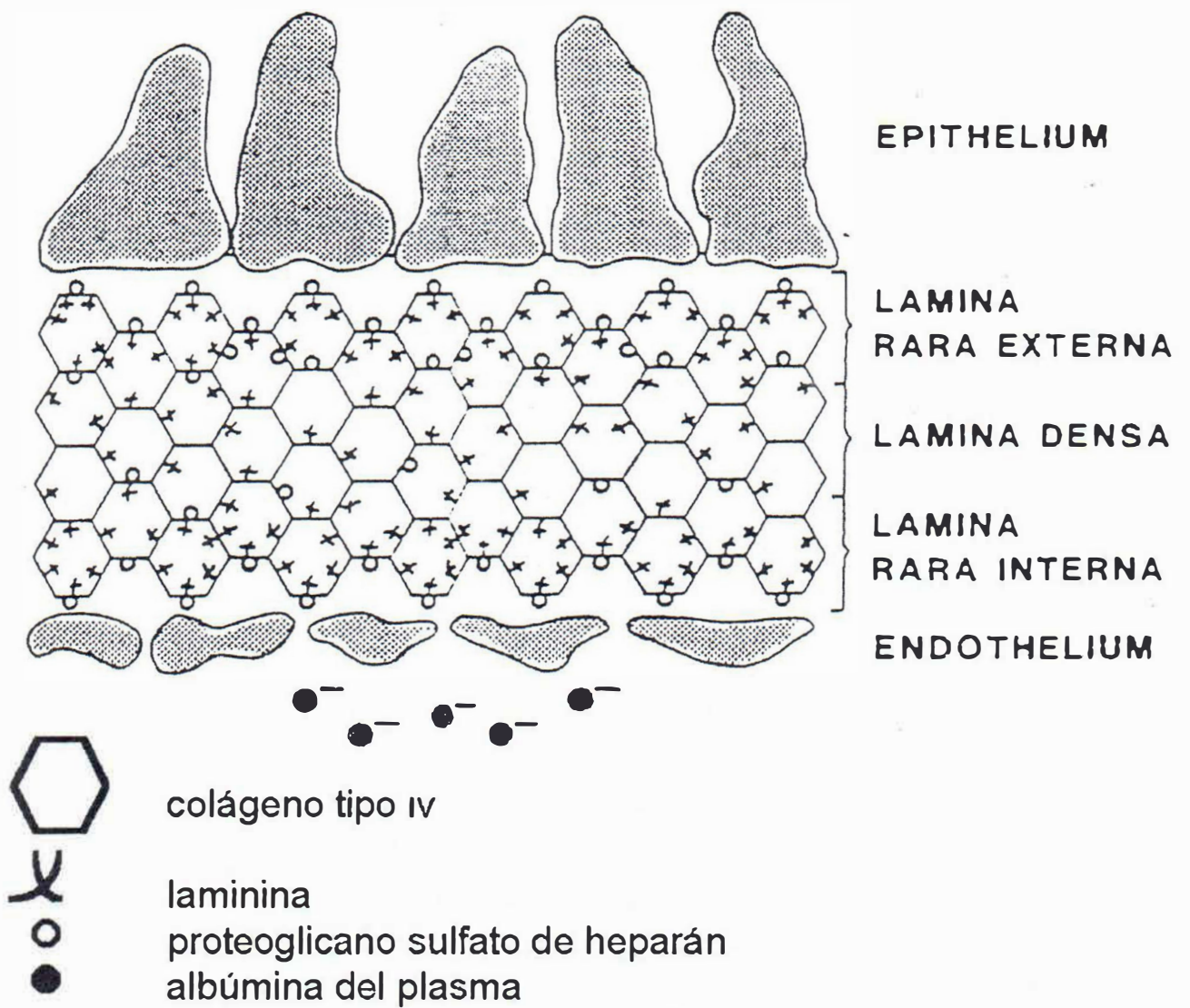


Fig. 3. Resumen esquemático de la barrera de filtración glomerular. Componentes de la membrana basal glomerular: Colágeno tipo IV, laminina, proteoglicano sulfato de heparán.

2.- Membrana Basal Glomerular (MBG): Constituida por una capa central electrondensa(lamina densa) y dos capas periféricas electronlúcidas (láminas rara externa e interna).

En la Membrana Basal Glomerular se encuentran los siguientes componentes bioquímicos:

a.- Colágeno tipo IV.

b.- Laminina: Predomina en ambas láminas raras. Aparentemente desempeñan un papel en la adhesión de células endoteliales y epiteliales a la matriz mesangial.

c.- Proteoglicanos polianiónicos: Intervienen en la filtración glomerular dependiente de carga.

d- Fibronectina: Se desconoce si es un componente intrínseco de la MBG.

3.- Células epiteliales viscerales(podocitos): poseen prolongaciones interdigitantes(pedícelos) adheridas a la MBG.

Otro componente glomerular importante es el mesangio, que forma una red de soporte ramificada alrededor de la cual se dividen y anastomosan los capilares. Consiste en células mesangiales estrelladas incluidas en una matriz mesangial, constituida por los mismos componentes bioquímicos que la MBG. Las células mesangiales son contráctiles, estimuladas por agentes neurohormonales que al contraerse modulan el flujo sanguíneo intraglomerular. Además al ser endocíticas, pueden ingerir macromoléculas que hallan traspasado el glomérulo.

En esta microvasculopatía intervienen factores metabólicos, hemodinámicos y genéticos.

Se conoce que la orina es el resultado de una ultrafiltración del plasma a través de la pared glomerular, además que el pasaje de moléculas sanguíneas por la barrera glomerular, cargada negativamente, queda determinado por el tamaño, PM entre 15000 y 80000), carga eléctrica y gradiente de presión transglomerular.

La albúmina en sangre se carga negativamente y su PM es de 66000, razón

por la cual su filtración a través del glomérulo debería ser prácticamente nula; Sin embargo, normalmente, el ultrafiltrado glomerular contiene un 1% de albúmina plasmática. Esto lleva a concluir que la excreción aumentada de albúmina (mayor de 20 mg/L) implica la presencia de alteraciones funcionales y/o estructurales a nivel de la membrana basal del glomérulo y el comienzo de una enfermedad renal (22)

Las anomalías microvasculares usualmente son clasificadas como extracelulares y celulares. Para los cambios extracelulares el hallazgo más común en la diabetes es el engrosamiento de la Membrana Basal Glomerular. En este aumento se encuentran componentes proteicos y carbohidratos. La mayoría del componente proteico presumiblemente se debe al colágeno tipo IV secretado por las células capilares. Sin embargo, en el mesangio renal el cual está agrandado y en ocasiones presenta una apariencia nodular, también se ha reportado un aumento del colágeno tipo IV. Otros componentes de la matriz extracelular tales como la fibronectina y la laminina no muestran un aumento generalizado en el glomérulo renal del paciente diabético. En contraste los proteoglicanos los cuales han demostrado ser principalmente de la variedad sulfato de heparán, se ha demostrado que disminuyen tanto en el componente sulfato como en el centro proteico

Para el componente de carbohidratos, el incremento probablemente es consecuencia tanto de la glicosilación enzimática como de la no enzimática

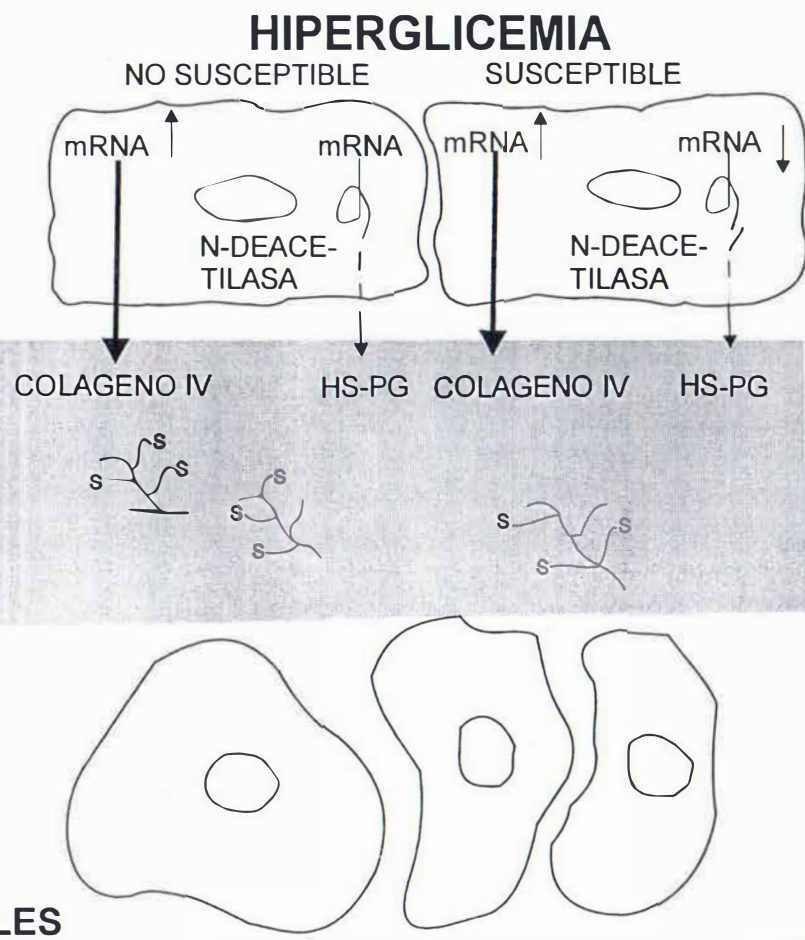
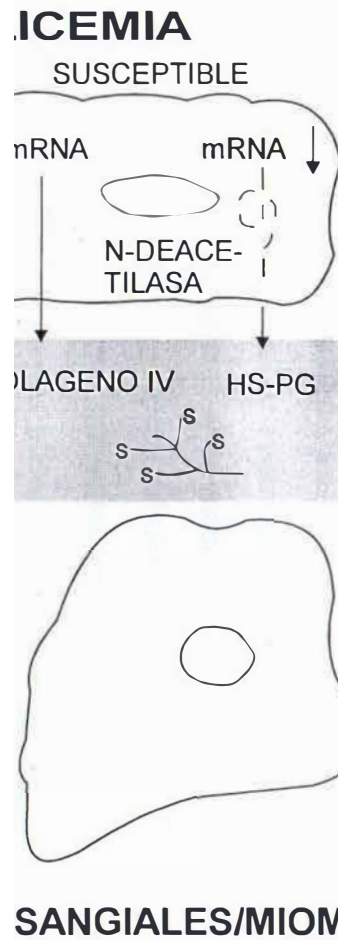
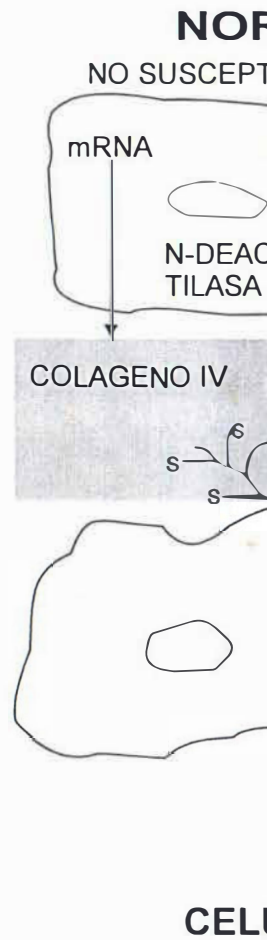
#### **Factor metabólico:**

Entre los mecanismos de disfunción microvascular inducidos por la hiperglicemia se pueden mencionar:

El engrosamiento de la membrana basal glomerular que puede causar disfunción vascular mediante varios mecanismos. En primer lugar, una disminución de las cargas negativas puede cambiar las propiedades filtradoras del capilar glomerular a nivel renal (Fig. 4) (21,23,24,25). En segundo lugar alteraciones en los componentes de la membrana basal glomerular pueden afectar el metabolismo celular y vascular, y deteriorar funciones tales como

# ACEPTIBILIDAD E HIPERGLICEMIA

————— SANGRE —————>



Esquema del mecanismo de disminución de las cargas negativas en la susceptibilidad e hiperglicemia a nivel de la matriz extracelular





migración, adhesión celular y crecimiento. En Tercer lugar, la glicosilación no enzimática de las proteínas extracelulares y sus productos intermediarios se ha reportado que afectan el metabolismo celular vascular y la función directamente a través de la ligazón a receptores específicos. Adicionalmente, los productos degradados de la matriz de la membrana basal pueden alterar el crecimiento de las células vasculares indirectamente a través de la activación de macrófagos, los cuales liberan citokinas vasoactivas. Varios tipos de células vasculares están comprometidas en la diabetes. En el glomérulo renal, además de las células mesangiales y epiteliales, están comprometidas las células endoteliales, estas últimas parecen mostrar una proliferación cuando se exponen a un estado diabético. Esto es manifestado por la aparición de microaneurismas que son un agrupamiento de células endoteliales.

Aunque se han propuesto múltiples mecanismos para explicar los efectos aducidos a la hiperglicemia se considerarán sólo dos mecanismos principales el de los:

1.- Proteoglicanos sulfato de heparán(Pg-Sh)

2.-Productos finales de glicosilación avanzada(AGEPS)

### **1.-Proteoglicano sulfato de heparan y la microvasculopatía renal.**

Las células mesangiales y miomediales son células mesenquimales con propiedades contráctiles iguales a los macrófagos. En pacientes con albuminuria se realiza la proliferación de estas células .Ambas células pueden sintetizar colágeno tipo IV, fibronectina, laminina (proteínas estructurales de la matriz extracelular), glucoaminoglicanos o Proteoglicanos, principalmente el Sulfato de heparán (Pg-Sh) (Fig. 5 y 6) (26), todos los anteriores son componentes de la Matriz Extracelular (ME), que a su vez conforma la Membrana Basal Glomerular (MBG).

En la Matriz Extracelular de los pacientes diabéticos microalbuminúricos va a existir una proliferación de sus componentes(con exepción del Pg-Sh que está disminuído), los que conducirían a un engrosamiento de la MBG y a una glomeruloesclerosis y a otros cambios característicos mencionados a

## MATRIZ DE PROTEINA

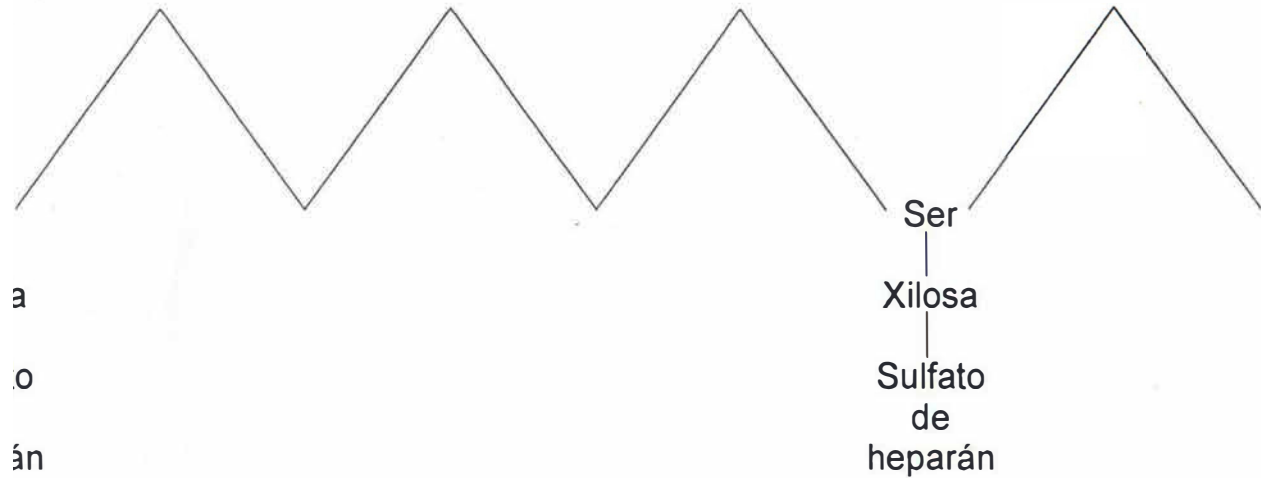
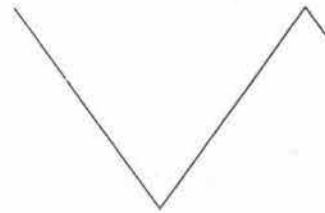
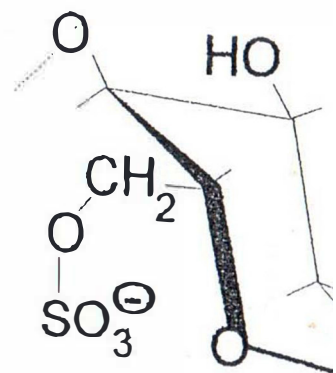
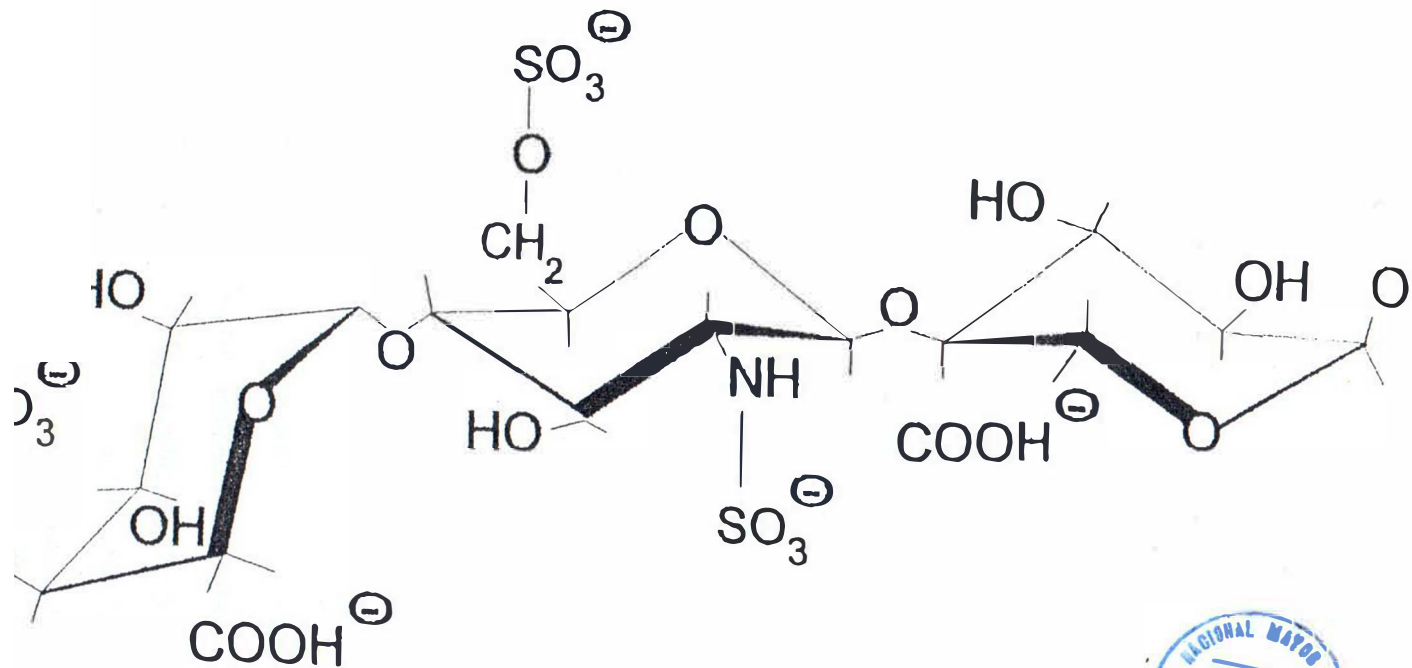


Fig. 5

ón de cadenas de sulfato de heparán (heteropolisacárido) unidas a una matriz de nstituyendo el proteoglicano sulfato de heparán.



$\alpha$  - GlcN-2,



(1 → 4)  $\alpha$  - IdoUA - 2 - Su (1 → 4)  $\beta$  - GlcN-2,6 - bisSu (1 → 4)  $\alpha$  - GlcUA



Fig. 6. Estructura básica del sulfato de heparán

continuación.

Alteraciones estructurales y funcionales del glomérulo en pacientes albuminúricos con Diabetes Mellitus:

- Acumulación de componentes de la matriz extracelular
- Disminución de la densidad del pg-hs.
- Proliferación de células mesangiales y miomediales
- Permeabilidad a través de la matriz extracelular

Los cambios cuantitativos o cualitativos (división ilustrativa) en los proteoglicanos de la Matriz Extracelular de la MBG, principalmente del Pg-Sh, independientemente de otros mecanismos contribuyen a la alteración en la permeabilidad a través de la barrera de filtración glomerular o dicho de otro modo al aumento de la filtración glomerular de la albúmina del plasma en los pacientes diabéticos lo que contribuye a la microalbuminuria. Este Pg-Sh es un compuesto polianiónico con una neta carga negativa que contribuye a la selectividad de carga de la barrera capilar glomerular.

La disminución de la densidad del Pg-Sh se refiere a la disminución cuantitativa o de los niveles del Pg-Sh en el interior de la ME, que llegaría al 50% de lo normal en pacientes diabéticos con glomeruloesclerosis, esto puede deberse a una disminución de la síntesis o a un desplazamiento del Pg-Sh que está destinado para la Matriz Extracelular de la MBG. Se cree que la hiperglicemia conduce a la disminución de la densidad del Pg-Sh lo que se debería a un defecto en la coordinación de la expresión genética de los componentes de la matriz extracelular, se observó además que a los pacientes diabéticos la hiperglicemia contribuía a incrementar la expresión genética del colágeno tipo IV, laminina y fibronectina. Se ha podido concluir que al disminuir el RNA<sub>m</sub> disminuiría cuantitativamente el Pg-Sh y este a su vez contribuiría al aumento del colágeno tipo IV. y esto último al engrosamiento de la membrana basal glomerular

En un estudio reciente con la aplicación de anticuerpos monoclonales contra el Pg-Sh, se provocó una microalbuminuria en los minutos siguientes en

ratas diabéticas. Cuando los investigadores incrementaron la densidad del Pg-Sh en el glomérulo de ratas diabéticas por inhibidores de la ECA la progresión de la microalbuminuria fue contrarrestada

El estado de hiperglicemia prolongado en pacientes diabéticos también afectaría la densidad del Pg-Sh en la matriz extracelular con la glicosilación no enzimática del colágeno tipo IV y de la fibronectina, los que se encuentran mas elevados que en sujetos normales, este proceso conllevaría a disminuir la afinidad de estos compuestos con el Pg-Sh, lo cual va a conducir a un desplazamiento del Pg-Sh de la matriz extracelular para que deje de constituir parte de la estructura de la ME.

El Pg-Sh también contribuye a cuidar que no proliferen las células mesangiales y miomediales

La MBG está cargada negativamente y el Pg-Sh contribuye a esta carga, la cual conduce a rechazar por selectividad de carga o por inhibición la filtración de proteína plasmática cargada negativamente.

El Pg-Sh es sintetizado en las células mesangiales y miomediales y después que la sulfatación se ha dado lugar en el aparato de Golgi (proceso catalizado por la N-deacetilasa), el Pg-Sh es incorporado a la matriz extracelular de la MBG donde va a contribuir a su integridad estructural

La disminución cualitativa del Pg-Sh, consiste en una disminución de la incorporación de iones sulfato en principalmente los Pg-Sh que van a ser luego incorporados a la ME. Se cree que el estado de hiperglicemia prolongado induce a un exceso de la N-acetilglucosamina que conduciría a una inhibición de la enzima N-deacetilasa o N-sulfotransferasa, por consiguiente de la disminución de la densidad anionica, de los sitios anionicos o de la carga aniónica (negativa) a nivel de la matriz extracelular, Lo que sucede en pacientes diabéticos microalbuminúricos cuyos nefrones están perdiendo la capacidad de diferenciar las proteínas plasmáticas en función a su carga

La excreción de  $\beta_2$  microglobulina y retinol ( marcadores de la función tubular) se encontró que estuvo inalterada en pacientes diabéticos con

microalbuminuria comparado con pacientes normoalbuminúricos.

Existen cambios en el tamaño de los poros a nivel glomerular pero van a ser precedidos por los cambios en la selectividad de la carga.

Factores que reducen la carga aniónica del Pg-Sh en la matriz extracelular de pacientes diabéticos:

- Disminución de la densidad del Pg-Sh. a consecuencia de:
  - Desplazamiento del Pg-Sh de la M.E., debido a la disminución de la unión del Pg-Sh al colágeno tipo IV glicosilado.
  - Disminución de la síntesis del Pg-Sh
- Incremento de la biosíntesis del colágeno tipo IV y la fibronectina
- Disminución de la sulfatación del Pg-Sh

## **2.- Formación de Productos Finales de Glicosilación Avanzada(AGEPS)**

Este mecanismo se basa en la glicosilación no enzimática acelerada de macromoléculas mediante la glucosa y otros azúcares.

Se ha demostrado que en muestras de la corteza renal de diabéticos existe 10 a 45 veces mas AGEPS que en las muestras de los no diabéticos. luego de 5 a 20 semanas de diabetes..

Existen tres mecanismos generales mediante los cuales los AGEPS pueden producir microvasculopatía (Fig. 7) (27)

a.- Formación rápida de AGEPS intracelular debido a la glucosa, la fructuosa y a intermediarios derivados de vías metabólicas mas reactivas (mejor capacidad para reaccionar químicamente) que pueden alterar la función proteica en los tejidos blanco.

b.- Los AGEPS pueden alterar la señal de transducción comprometiendo ligandos sobre la matriz extracelular.

c.- Los AGEPS pueden alterar los niveles de expresión genética a través de interacciones con receptores celulares específicos para los AGEPS.

Los AGEPS se forman mucho mas rápido dentro de la célula que fuera de ella, debido a que los azúcares intracelulares elevados en la diabetes son mucho mas reactivos que la glucosa. En las células endoteliales, un sitio primario de

Glucosa

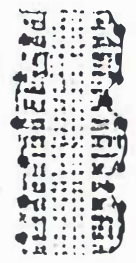
Glucosa

Glicación

Vía de flujo metabólico

Glicolisis  
Vía del Poliol

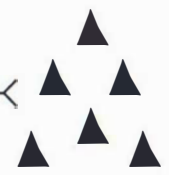
Ligandos de la Matriz



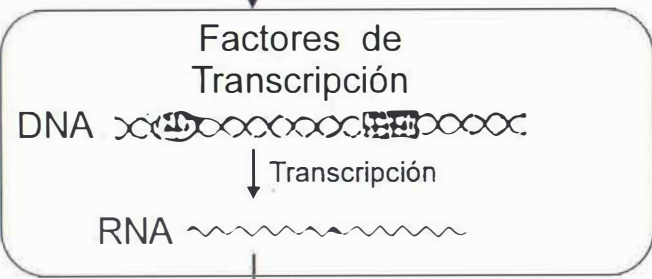
Transductores Intracelulares



Ligandos Solubles  
Hormonas  
Citoquinas  
Radicales Libres



Factores de Transcripción



mRNA

Proteínas



es mecanismos generales por los cuales la formación de AGEPS  
ar cambios patológicos

daño inducido por hiperglicemia, el contenido de AGEPS aumenta 13.8 veces luego de una semana de hiperglicemia. Los antioxidantes (principalmente la vit. E) inhiben sustancialmente los productos reactivos de oxígeno inducidos por la hiperglicemia así como la formación de AGEPS intracelular. El factor de crecimiento de fibroblastos básico (BFGF) es la principal proteína modificada por el AGEPS en las células endoteliales, y su actividad mitógena es reducida en un 70% por los AGEPS.

La formación de AGEPS también altera las propiedades funcionales de varias moléculas importantes de la matriz. La formación de AGEPS en el colágeno tipo IV de la membrana basal inhibe la asociación lateral de estas moléculas dentro de una estructura a manera de red. La formación de AGEPS sobre la laminina provoca una disminución del autoensamblaje polímero, disminuyendo la unión al colágeno tipo IV, así como una disminución de la unión del proteoglicano sulfato heparán.

La formación de AGEPS en la matriz extracelular no sólo interfiere en las interacciones matriz-matriz, sino también en las interacciones matriz-célula. La modificación AGEPS del colágeno tipo IV en el dominio de la unión celular disminuye la adhesión a la célula endotelial.

Los receptores específicos para AGEPS fueron identificados primero en monocitos y macrófagos. El complejo AGEPS-proteína se une a su receptor estimulando la producción de interleukina-1, factor de crecimiento de insulina -1, factor de necrosis tumoral alfa y factor estimulante de la colonia granulocito/macrófago, todo esto en el macrófago y a niveles que han demostrado una elevada síntesis glomerular de colágeno tipo IV.

Los receptores AGEPS también han sido encontrados en las células mesangiales glomerulares. In vitro, los AGEPS-proteína se unen a su receptor en las células mesangiales estimulando la secreción del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el cual interviene en la producción de colágeno tipo IV, laminina y Pg-Sh. In vivo la administración crónica de AGEPS a ratas saludables conduce a glomeruloesclerosis focal, la expansión mesangial y la albuminuria.



Después de 4 semanas, la administración de AGEPS induce a un aumento de los mRNA, para el colágeno IV glomerular tipo alfa , laminina B<sub>1</sub> y el factor de crecimiento transformante  $\beta_1$ .

En las células endoteliales, los cambios inducidos por los AGEPS en la expresión genética incluye alteraciones en la trombomodulina y factores tisulares estos cambios favorecen la formación de trombos en los sitios de acumulación extracelular de AGEPS.

Agentes farmacológicos, como la hidrazina (compuesto aminoguanidínico) que inhiben específicamente la formación de AGEPS, han hecho factible investigar el rol que cumplen estos últimos en las complicaciones diabéticas.

### **Factor Hemodinámico**

En la nefropatía diabética la pérdida progresiva de la función glomerular tiene como una de sus características la disminución de la velocidad de filtración acoplada con una elevada resistencia arteriolar aferente y eferente lo que conduce a cambios en la estructura glomerular. Entre los principales factores que contribuyen a la regulación compleja del tono vascular y la filtración glomerular están las prostaglandinas intrarenales y de estas el tromboxano A<sub>2</sub> es un vaso constrictor potente de corta vida, demostrado en experiencias que comprueban que su inhibición disminuye la presión glomerular y la progresión de la nefropatía en animales hipertensos.

Muchos estudios han demostrado que la hipertensión no solamente es un factor de riesgo para el desarrollo de nefropatía, si no también es un potente factor de progresión (28,29). Se encontró también una pérdida mas rápida de la tasa de filtración glomerular (GFR) en los pacientes hipertensos que en los pacienes normotensos con diabetes tipo II.

### **Factor Genético**

Adicionalmente a los factores metabólicos y hemodinámicos se ha podido demostrar la susceptibilidad genética a la microalbuminuria en un seguimiento riguroso de la nefropatía diabética en familias con gran número de diabéticos sobre todo familiares de primer grado (30). Es decir en diabéticos susceptibles

genéticamente ya sea que se encuentren en estado normoglicémico o en estado hiperglicémico prolongado hay una disminución de la sulfatación del Pg-Sh que es destinado a nivel de la ME. Esta alteración bioquímica conllevaría a la alteración funcional de inducir a un aumento en la permeabilidad de proteínas plasmáticas a nivel glomerular aún en el estado normoglicémico.

#### **II.4.-FASES EVOLUTIVAS DE LA NEFROPATIA EN DIABETES TIPO II**

La nefropatía diabética puede ser dividida en algunas etapas:

- 1.- Nefropatía incipiente o subclínica (presencia de microalbuminuria persistente)
- 2.- Nefropatía clínica o establecida (presencia de macroalbuminuria o proteinuria persistente)
- 3.- Nefropatía avanzada (proteinuria persistente en mayor grado).
- 4.- Enfermedad renal terminal o Insuficiencia Renal Crónica Terminal (tratamiento. Sólo con diálisis o trasplante renal)

##### **Microalbuminuria:**

La microalbuminuria persistente sin otra anormalidad en el urianálisis. es una manifestación incipiente de daño a nivel de la membrana glomerular, que tiene mayor incidencia en sujetos con DM tipo II que en no diabéticos.(13)

Existen expresiones diversas para definir la microalbuminuria:

- |   |                      |
|---|----------------------|
| a.- Concentración de albúmina en orina:       | 20-200mg/L           |
| b.- Índice de excreción de albúmina en orina: | 30-300mg/24h         |
| c.- Índice de excreción de albúmina :         | 20-200ug/min.        |
| d.- Relación albúmina creatinina              | 30-300mg/gcreatinina |

En relación a la macroalbuminuria, se considera positiva cuando los resultados del análisis sobrepasan los valores antes mencionados.

La Asociación Americana de Diabetes, la Fundación Nacional del Riñón (31) y la OMS(6), aceptan estas expresiones, así como también para la toma de muestra la primera orina de la mañana para pruebas de screening (prueba de selección o previa a una prueba confirmatoria) y la posibilidad del empleo de

cintas reactivas o de tabletas reactivas para la realización de este tipo de ensayos(8).

## II.5.-ALTERACIONES DE LA MORFOLOGIA RENAL EN LA D.M. TIPO II

La nefropatía diabética está englobada dentro de la enfermedad denominada microangiopatía diabética (que se presenta a nivel de los capilares). En esta enfermedad se reconocen, por microscopía óptica dos alteraciones, que son la glomeruloesclerosis difusa y la nodular. La difusa es mas frecuente que la nodular y se caracteriza por un aumento del mesangio y de la pared capilar. La nodular, llamada lesión de Kimmelstiel y Wilson, es para algunos patognomónica de la diabetes y representa la alteración mas evolutiva de la microangiopatía glomerular. Los nódulos pueden ser únicos o varios y encontrarse en uno o mas glomérulos, y siempre se asocian a la glomeruloesclerosis difusa.

En los diabéticos se pueden encontrar otras dos lesiones en el glomérulo de tipo exudativo y poca especificidad, que son la gota capsular y el gorro de fibrina.

Se ha reconocido en los diabéticos, especialmente los tipo II, otras glomerulopatías. En un estudio realizado con 113 pacientes con DM tipo II se encontró la siguientes glomerulopatías:

gloméruloesclerosis difusa	27
gloméruloesclerosis difusa y nodular	41
glomerulopatías primarias	18

Lo que implicó que 68 de las 113 glomerulopatías fueron por microangiopatía diabética (32)

En los vasos renales se encuentran casi siempre signos de arteriosclerosis

.Para explicar la iniciación y progreso del daño renal existen diversas teorías:

Estudios recientes de biopsia renal en pacientes con DM tipo II y persistente macroalbuminuria demostraron que en el 83% de los casos existía la presencia de glomeruloesclerosis diabética, independientemente de la presencia de retinopatía, cabe mencionar lo último considerando que otros autores sostienen que en pacientes con DM tipo II es necesario que conjuntamente con la

macroalbuminuria debe encontrarse retinopatía, para de esta manera diagnosticar nefropatía diabética establecida (11,33). La importancia de estos hallazgos radica en el valor no solo predictivo sino de diagnóstico que tiene la albuminuria en una enfermedad renal de origen diabético, considerando el relativamente bajo porcentaje restante de casos cuya causa es una enfermedad renal de origen no diabético.

La naturaleza progresiva de la nefropatía diabética habitualmente avanza hacia la producción de enfermedad renal terminal dentro de los 10 años que siguen a la detección de una proteinuria persistente (22).

El hallazgo de proteinuria en estos pacientes sugiere un mal pronóstico, ya que resulta prácticamente imposible revertir su curso.

De otro lado un paciente con microalbuminuria asume un considerable riesgo de desarrollar una nefropatía en la siguiente década de su vida.

## **II.6.-ESTRATEGIAS DE PREVENCION DE LA NEFROPATIA DIABETICA**

a.- Educación al paciente: un mínimo de información al respecto comprende:

La Diabetes Mellitus es una enfermedad crónica, de larga evolución y requiere que los pacientes la conozcan debidamente y participen activamente del tratamiento.

El mal control de la glucosa acelera el deterioro renal.

La detección y el tratamiento precoz de la presión arterial puede evitar la progresión y el progreso de la nefropatía diabética.

Conocer cual es la evolución final de la nefropatía y ante una evolución negativa saber que la alternativa estará entre la diálisis peritoneal o el transplante

b.- Establecer sistemas adecuados para monitorear la microangiopatía renal y para monitorear la mortalidad, pudiendo de esa forma determinar los riesgos que corre cada paciente diabético (7).

c.- Los pacientes con diabetes tipo II en general, desde su diagnóstico deben realizarse un examen de albúmina en orina de preferencia 2 veces al año. dado que resulta difícil precisar la fecha de inicio del ataque de la diabetes.

d.- Es importante detectar precozmente la microalbuminuria con técnicas de detección rápidas y fáciles de realizar, como son las pruebas de screening.

Screening para la microalbuminuria: El apoyo al estudio de pruebas de screening y confirmatorias para la determinación de microalbuminuria recomendadas por la Asociación Americana de Diabetes y la OMS, para el diagnóstico oportuno de nefropatía diabética incipiente, que es importante reconocerla porque a este nivel se puede modificar el curso natural de la enfermedad diabética, considerando que en esta fase las terapias son efectivas para disminuir la velocidad de deterioro renal y prolongar el tiempo que tardan en aparecer las manifestaciones de proteinuria masiva e insuficiencia renal crónica.

e) En todo paciente diabético no solo debe ser monitoreada la glicemia si no también la presión arterial

f) Para aquellos pacientes a quienes se les ha detectado microalbuminuria existen pruebas clínicas que indican la posibilidad de disminuir la progresión de la nefropatía diabética. Entre los factores que podrían tener el efecto antes mencionado se incluyen:

1.- El control de la glicemia puede regresionar la microalbuminuria, no sucede así con la proteinuria, dado también que la hiperglicemia conduce a un incremento en la perfusión renal. Para dicho control considerando que la mayoría de hipoglicemiantes orales se metabolizan por el riñón, se puede pasar a pequeñas dosis de insulina o de glimepirida.

2.- Control meticuloso de la hipertensión, con particular atención en estrategia antihipertensiva para prevenir el incremento de la presión intracapilar en el riñón (2, 34).

3.- Existen como terapia para la nefropatía diabética incipiente la administración de inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina

4.- Dieta baja en proteínas.-con respecto a esto último se menciona que una reducción en la ingesta de proteínas a 0,8 g/kg de peso por día producen un efecto beneficioso de reducir el efecto mesangial de la hiperfiltración de proteínas y ademas cambios hemodinámicos.

5.- Evitar los fármacos nefrotóxicos

6.- Contrarrestar la hiperlipidemia. En animales la hiperlipidemia estimula el crecimiento de la célula mesangial y contribuye al deterioro renal progresivo con el consiguiente incremento de la albuminuria.

## **II.7.-LA EVALUACION DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS**

La interpretación de los resultados de un estudio afecta profundamente las decisiones acerca del tratamiento. La comprensión que se logre acerca de la sensibilidad y especificidad de los análisis, reducirán sin duda la magnitud de errores de inferencia que pueden afectar en forma adversa el tratamiento del paciente (35).

La toma de decisiones está aumentando su importancia en el area de investigación en salud, es decir en lo que respecta a tópicos como valorar procedimientos para diagnóstico.

La aplicación correcta de los principios de toma de decisiones ayudan al profesional de atención de la salud a llevar a cabo mejores decisiones en diagnóstico y tratamiento.

Para todo profesional del área de la salud que desee valorar procedimientos de diagnóstico en medicina necesita comprender los principios básicos de la toma de decisiones

En la toma de decisiones se hace un análisis costo -beneficio, dentro de los que se incluyen los siguientes puntos:

Qué tan arriesgado es el estudio para el diagnóstico, qué tan benéfico es el tratamiento para la persona enferma, qué tan arriesgado es el tratamiento para las personas con la enfermedad o sin esta y cuanta es la precisión de la prueba (36).

### **La prueba de oro:**

Es la prueba o criterio utilizada para definir inequívocamente una enfermedad. La prueba de oro (prueba de referencia), puede ser una biopsia, un angiograma, una necropsia o cualquier otra prueba reconocida. El uso de un criterio de oro con el fin de identificar definitivamente a los que tienen la

enfermedad es un requisito para examinar la utilidad diagnóstica de cualquier prueba de estudio. Dicho de otro modo, la utilidad de esta prueba se basa en su comparación con la de oro, que es una prueba mas antigua y aceptada para determinar si la prueba de estudio ofrece el mismo rendimiento que la de referencia. Es de observar que se parte del supuesto de que utilizando la mejor de las pruebas antiguas, es posible obtener un 100% de posibilidades de obtener un diagnóstico correcto, la suposición de partida es que dada la imposibilidad de crear un método mejor, considerando que no se puede superar el 100% puede existir un método mas barato o mas práctico, pero por definición ninguna prueba es mejor que la de oro (36).

Solo podemos preguntarnos si la prueba de estudio está a la altura de la prueba de oro.

El objetivo de evaluar una prueba se limita a compararla con la de referencia. Por esta razón es preciso estar seguros de que se está utilizando la mejor prueba de oro disponible.

Incluso las mejores pruebas de referencia disponibles muchas veces no distinguen inequívocamente a los enfermos de los sanos. Puede ser que los casos de enfermedades leves o en sus fases iniciales no satisfagan los criterios de la prueba de oro. A menudo los investigadores están tentados de incluir solamente a aquellos individuos que presentan pruebas claras de la enfermedad, tal como se miden con la prueba de referencia. Resulta engañoso sacar conclusiones sobre la utilidad de una prueba que se ha aplicado exclusivamente a individuos con una enfermedad avanzada o grave. Cuando se valora la discriminación diagnóstica de una prueba (o capacidad para diferenciar personas sanas de enfermas), es importante preguntarse si se utilizó el mejor criterio de referencia para definir a las personas con la enfermedad. También es importante preguntarse si con los enfermos estudiados se abarcó todo el espectro de la enfermedad (36).

#### **Sensibilidad y Especificidad:**

Ambas son consideradas las medidas tradicionales del valor diagnóstico de

una prueba, estas miden la discriminación diagnóstica de la prueba comparada con la del criterio de referencia, que por definición tiene una sensibilidad de 100%.

La sensibilidad mide la proporción de individuos con la enfermedad que son identificados correctamente con la prueba, es decir mide lo sensible que es la prueba para detectar la enfermedad.

La especificidad mide la proporción de individuos sanos que son correctamente identificados como tales por la prueba.

Ambas medidas solamente indican la proporción o porcentaje de los que han sido correctamente clasificados como sanos o como enfermos. Estas medidas no predicen el número real de individuos que serán clasificados correctamente, cifra que dependerá de la frecuencia de la enfermedad en el grupo al que se aplique la prueba.

Las medidas anteriores permiten obtener los mismos resultados cuando se evalúa una prueba en grupos de pacientes que difieren en la frecuencia de la enfermedad .

Sin embargo, los valores numéricos pueden ser diferentes según que se obtengan de un grupo de pacientes en los estadios iniciales o de otros en estadios avanzados.

Para calcular la especificidad y sensibilidad de una prueba en comparación con la de oro se siguen los siguientes pasos (37):

1. Seleccionar una prueba de referencia que se utilizará para identificar a los individuos enfermos.

2. Escoger a un grupo de pacientes que según la prueba de referencia (o criterio de referencia) padecen la enfermedad y a otro grupo de individuos que según el mismo criterio están sanos. Es importante incluir a grupos representativos con y sin la enfermedad, es decir que los individuos seleccionados representen el espectro completo de los que tienen la enfermedad y de los que no la tienen.

Sería recomendable considerar igual cantidad de individuos seleccionados como



sanos y como enfermos para valorar pruebas diagnósticas.

3. Se debe usar la prueba investigada para clasificar a todos los individuos como positivos o negativos.

4. Una vez clasificado a cada paciente como enfermo o como sano, como positivo o negativo, según el resultado de la prueba, se puede calcular el número de individuos en los que la prueba estudiada y la de oro (referencia) concuerdan y en los que discrepan, y luego presentar los resultados.

5. Finalmente aplicar las definiciones de sensibilidad, de especificidad y calcular directamente sus valores.

#### **Valor predictivo**

Depende de la sensibilidad y la especificidad de la prueba, y lo que es más importante, de la prevalencia de la enfermedad en la población estudiada. Incluso con una sensibilidad y una especificidad elevadas, cuando la prevalencia es baja, el valor predictivo positivo de una prueba puede ser muy bajo. Dadas las amplias variaciones de la prevalencia, esta se convierte en un determinante del valor de una prueba, de mayor importancia que la sensibilidad y especificidad de la misma (38).

### III.- PARTE EXPERIMENTAL

#### III.1.-MUESTRAS DE POBLACION

Para fines de la comparación y la evaluación de la influencia de algunas características clínicas en el valor de la microalbuminuria se emplearon las muestras de la primera orina de la mañana de 52 pacientes con Diabetes Mellitus tipo II.

Para la expresión de microalbuminuria se empleó como unidad (mg /L) tanto en la prueba de estudio como en la de oro(RIA).

Para fines de la determinación de la glucosa se consideraron las muestras de sangre en ayunas de los pacientes antes mencionados.

#### III.2.- CRITERIOS DE EXCLUSION

Se excluyeron los siguientes factores:

- 1.- Variabilidad de la excreción de albúmina urinaria
- 2.- Ejercicios físicos.
- 3.- Presión arterial elevada.
- 4.-Infección sintomática del tracto urinario
- 5.- Eclampsia.
- 6.- Hiperglicemia (periodo largo)
- 7.-Proteinuria
- 8.- Hematuria
- 9.- Antiinflamatorios no esteroideos e inhibidores ECA.

#### Características clínicas que se excluyeron

Se excluyó a quienes presentaron: antecedentes de: cetoacidosis, enfermedad renal no diabética (30), infarto de miocardio, angina pectoris, accidente cerebrovascular y enfermedad periférica vascular, retinopatía proliferativa(fases III y IV) (39), neuropatía fase III (40). Se procedió a la obtención de información de los pacientes en base a lo establecido en la ficha de registro de datos (anexo N°1)



### III.3.-DISEÑO DEL ESTUDIO

1.- De 432 pacientes con diabetes tipo II que acudieron a consulta durante el transcurso de 5 meses, se solicita una muestra de orina a 184 (exclusión por características clínicas), de los cuales llegan a traer muestra 136, con edades comprendidas entre los 37y 75 años, que acudieron para consulta al Servicio de Endocrinología del Hospital Nacional 2 de Mayo.

2.- Se considera una nueva muestra sólo a 52 de los anteriores pacientes (por razones de costo y presencia de anormalidad en el urianálisis) para realizar en estos últimos la prueba de estudio.

3.- Se desarrolló la prueba cuantitativa de RIA\* (prueba de oro a la vez) para determinar la microalbuminuria con la segunda muestra del paciente (siempre y cuando este resultado confirme el anterior).

4.- Se efectuó la determinación cuantitativa de creatinina en orina con la finalidad de contribuir a la confirmación anterior

5.- Para las determinaciones de microalbuminuria, glucosa y creatinina en cada una de las 52 muestras se emplearon las siguientes técnicas:

Microalbuminuria (prueba cuantitativa): Método de radioinmunoensayo.

Microalbuminuria (prueba semicuantitativa): Método inmunoquímico.

Glucosa: Método Glucosa Oxidasa.

Creatinina: Método colorimétrico de Jaffé.

\*El desarrollo de la prueba de radioinmunoensayo se realizó en el Instituto de Investigación de Altura de la UPCH.

### OBSERVACIONES

En algunas de las muestras que resultaron negativas en dos ocasiones se hizo también la prueba de RIA, para determinar el desempeño de la prueba de estudio en el rango de lo normal

Se considera como muestra la primera orina de la mañana, para evitar la influencia del ejercicio en la albuminuria.

La prueba con cintas de urianálisis, que se considera para descartar proteinuria, hematuria, infección urinaria, un pH extremadamente ácido o básico,

se emplea para confirmar la evaluación clínica efectuada previamente por el médico responsable.

#### 1.4.-PRUEBA DE ORO PARA MICROALBUMINURIA (RIA)

El radioinmunoensayo es un método inmunológico de gran sensibilidad y especificidad que se consideró como la prueba de oro y además como prueba confirmatoria de microalbuminuria persistente. Se realizó con cada alícuota de las 52 muestras, cuyo resultado por la prueba de estudio ha sido verificado.

##### 1.4.1.-FUNDAMENTO

Se fundamenta en una competitiva reacción de enlace, en la cual la albúmina marcada con  $^{125}\text{I}(\text{Ag}^*)$ , compete con la albúmina presente en las muestras de los pacientes (Ag), por los sitios específicos del anticuerpo (Ac), que es el antisuero anti-albúmina humana, como resultado de ello se forman dos complejos o formas ligadas. Albúmina marcada-anticuerpo ( $\text{Ag}^*\text{-Ac}$ ) y Albúmina no marcada-anticuerpo ( $\text{Ag-Ac}$ ), las cuales van a mantener un equilibrio con las formas no ligadas o libres que son ( $\text{Ag}^*$ ) y (Ag). Luego de la incubación, se procede a separar las formas libres de las ligadas empleando la solución precipitante diluída en P.E.G., la cual reacciona con las formas libres, con las que se va a ubicar en el sobrenadante. Finalmente la fracción que va a precipitar en donde se ubican las formas ligadas se lleva a contar su radioactividad.

Es importante considerar que la lectura de radioactividad es inversamente proporcional a la concentración de antígeno presente en las muestras

El radioinmunoensayo es una técnica bastante sensible, capaz de detectar concentraciones de biomoléculas en el orden de  $10^{-7}\text{g}$ , basado en la habilidad para medir pequeñas cantidades de trazadores radioactivos y puede hacerlo en mezclas con gran cantidad y diversidad de materiales extraños. Presenta una elevada especificidad sustentada en la capacidad inmune de la sustancia a detectar para asociarse a un anticuerpo. Un valor importante en el RIA es la exactitud por su gran habilidad para determinar la cantidad actual de sustancia presente. La precisión referida a la reproducibilidad del ensayo representa una especial característica final de las técnicas de RIA.

El procedimiento para la determinación de microalbuminuria por el método de RIA, emplea la técnica de doble anticuerpo, mediante el kit de Diagnostics Products Corporation (DPC).

Nota: El antígeno marcado o ligando marcado no necesita ser absolutamente idéntico al ligando no marcado con el que está compitiendo en la medida que el grado de saturación del enlace del anticuerpo o la competición por los sitios de enlace sea similar. Considerando que el radiomarcado de muchas moléculas altera a las mismas en forma significativa, factores de enlace no específicos llegan a ser importantes.

### **III.4.2.-EQUIPOS MATERIALES Y REACTIVOS**

#### **EQUIPOS:**

##### **Contador Gamma acoplado a una computadora:**

Es compatible con tubos standard de 12x75 mm y permite la determinación automática de la curva de calibración y la concentración de albúmina urinaria.

El equipo empleado es el Riastar modelo C540501 serial n°404777. Packard Instrument Company Inc., límite de detección =0.3 ug / mL, CV(interensayo)= 2.7%, CV(intraensayo)= 2.5% (Fig. 11).

##### **Centrífuga refrigerada**

Mezclador Vortex.

#### **MATERIALES:**

**Pipetas volumétricas:** de 1,0mL, 3,0 mL y 10,0 mL (preparación de reactivos).

**Tubos de polipropileno:** de 12x75 mm.

**Micropipetas:** de 25uL, 200uL y 1,0 mL.

#### **REACTIVOS:**

##### **Antisuero Anti-albúmina Humana:**

Es suministrado bajo forma líquida, con un preservante (azida de sodio) y lista para usar, en 2 viales conteniendo 22 mL del antisuero c/u con un tiempo de

expiración de 30 días luego de ser abierto, a temperatura de 2-8 °C.

**Albúmina Marcada con <sup>125</sup>I:**

Es proporcionada en 2 viales conteniendo albúmina sérica humana iodada y liofilizada, los cuales se reconstituyen con 22 mL de agua destilada, mezclando luego por inversión. El tiempo de expiración es de 30 días luego de la reconstitución a temp. de 2-8°C.

**Calibradores de Albúmina:**

Se considera un total de 6 viales uno para cada calibrador, etiquetados de la A hasta la F, se debe reconstituir al calibrador A con 3 mL de agua destilada (considerando que se va a utilizar también para agregar al tubo de UNE), y a los demás con 1 mL del agua destilada.

Los calibradores contienen los siguientes ug de albúmina por mL:

calibrador	ug/mL
A	0
B	5
C	10
D	20
E	30
F	60



Permiten obtener los puntos para la curva de calibración. Se pueden conservar por 30 días a una temperatura de 2-8°C.

**Solución Precipitante:**

Está contenida en 2 viales c/u de ellos con 110 mL consistentes en anticuerpos anti-gamma globulina de cabra, diluida en Polietilenglicol (P.E.G.) y preservantes en solución salina. Es suministrada en forma líquida lista para usar, se debe agitar antes de usar, y se puede conservar por 30 días a una temp. de 2-8°C.

**Controles de Albúmina:**

Lo constituyen un set con 2 controles de diferente concentración de albúmina(22 y 27 ug/mL ) incluídos en viales y acompañados por un preservante. Cada uno

de los cuales debe ser reconstituido con 1,0 mL de agua destilada. Su conservación puede ser de hasta 30 días a una temp. de 2-8°C.

**Agua destilada o desionizada** (preparación de reactivos).

### **CONSIDERACIONES PARA LA MUESTRA**

La recolección puede ser de una muestra de orina de toda la noche, de 3 horas, o la primera orina de la mañana. No se debe usar preservante. Se debe mezclar bien antes del análisis

Las muestras se pueden conservar por una semana de 2-8 °C, Las mismas que no deben ser congeladas. Antes del ensayo las muestras deben ser llevadas a temperaturas de 15-28°C y aclaradas por centrifugación o filtración.

La presencia de sangre en la orina puede ser un signo de flujo menstrual o cálculos urinarios y su presencia interfiere en la determinación de microalbuminuria.

### **III.4.3.-PROCEDIMIENTO PARA EL RADIOINMUNOENSAYO**

Todos los componentes excepto la solución precipitante se deben llevar a temperatura de (15-28°C) antes de emplearlos.

- 1.- Se debe indicar en los tubos de polipropileno de 12x75 mm, de preferencia por duplicado los que son para: Cuentas Totales (CT), Unión No Específica (UNE), en cuanto a los tubos calibradores, los que son para: la Máxima Unión (MU), que la representa el tubo A, también se indican los restantes del B al F. Además los 2 tubos controles y las muestras de los pacientes.
- 2.- Pipetear 25 uL del calibrador cero o A en el tubo para UNE y en el tubo señalado como A, también 25uL de los calibradores restantes , de los controles y de las muestras de los pacientes en sus respectivos tubos.
- 3.- Adicionar 200 uL de albúmina marcada con  $^{125}\text{I}$  a todos los tubos .
- 4.- Adicionar 200 uL del antisuero anti-Albúmina humana a todos los tubos excepto al tubo para la UNE y el de CT
- 5.- Agitar los tubos en el vortex

- 6.- Incubarlos por 30 minutos a una temperatura entre 15 y 28°C
- 7.- Adicionar 1.0 mL de solución precipitante refrigerada.
- 8.- Agitar los tubos en el vortex.
- 9.- Centrifugar por 30 minutos a 3000xg.
- 10.- Eliminar el sobrenadante, reteniendo el precipitado para el conteo.
- 11.- Contar la radioactividad en cada tubo por 1 minuto.

#### III.4.4.-CALCULO DE RESULTADOS

a.- Para calcular la concentración de albúmina en un papel logit-log a partir de la representación de la curva de calibración (Fig. 8), primero calcular para cada par de tubos el promedio de las dos lecturas (si se emplearon dos tubos) de radioactividad, que se expresan en Cuentas por minuto (CPM) y luego se determinan las Cuentas por minuto Netas (CN), que resultan de restarle a cada valor de los calibradores y de las muestras el valor de la unión no específica (UNE), es decir para obtener un valor ya corregido.

$$CN = CPM \text{ (promedio) de muestras y calibradores} - CPM \text{ (promedio) de UNE}$$

b.- Se determina el porcentaje de unión o de ligazón para el promedio de cada par de tubos calibradores (exceptuando el A) y para las muestras, es decir que tanto se ha unido el antígeno marcado al antisuero, para lo cual se divide las cuentas netas promedio para cada caso entre las cuentas netas promedio del tubo A y se multiplica por 100. Dicho de otro modo, se asume que el porcentaje de ligazón del calibrador A o de MU es de 100%, por lo que aquí el antígeno marcado no ha competido prácticamente con ningún antígeno, mientras que en el resto de tubos calibradores y en las muestras si va a existir una competencia.

$$\%U = [CN \text{ (promedio)} / CN \text{ (promedio) de MU}] \times 100.$$

c.- Empleando un papel para gráfico logit-log (si el contador gamma no está acoplado a una computadora) proporcionado con el kit, plotear (o intersectar los puntos) %U en el eje vertical Vs. la concentración real (en ug/mL) en el eje horizontal para los calibradores del B al F, dibujar luego la línea que aproximadamente une estos puntos. Las concentraciones desconocidas de

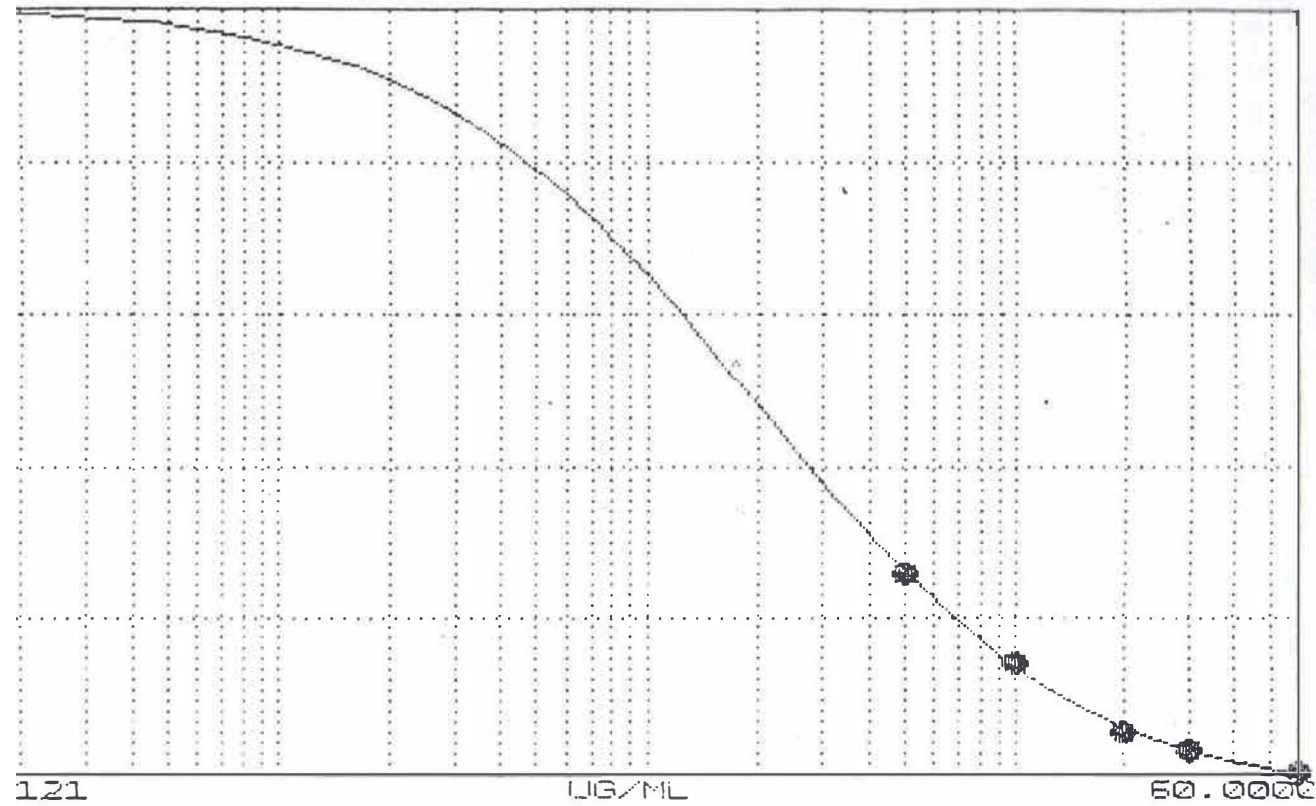


WARNING  
Assay T

99.3

0%

0.0



PO #	CPM	DEFINED DOSE	%B/F	CALC. DOSE	% DIFF
1	SET LIM	0.01211	99.29	0.01211	0.00
2	6043	5.00000	30.33	5.04085	0.82
3	3240	10.00000	19.27	9.82522	-1.75
4	2240	20.00000	11.24	20.97777	4.69
5	1753	30.00000	6.89	30.93431	0.11
6	1202	60.00000	5.03	55.18285	-8.03

Curva de calibración para la determinación de microalbuminuria por RIA



albúmina se pueden determinar a partir de esta línea por interpolación.

d.- Los resultados se pueden reportar como mg (albúmina) /g (creatinina), esto se obtiene dividiendo la albúmina (ug/mL) con la creatinina (mg/mL).

e.- Si se cuenta con la computadora (como es en este caso) esta efectúa la curva de calibración y los procedimientos para llegar a la determinación de las concentraciones de albúmina en las muestras de orina así como de los parámetros de control de calidad.

### **PARAMETROS DE CONTROL DE CALIDAD**

**Cuentas totales(CT):**Se determina en el primer tubo el cual va a contener solamente albúmina marcada con  $^{125}\text{I}$ , se expresa en CPM.

**%Unión No Específica (%UNE):** Se determina realizando el siguiente cálculo :

$\%UNE = [\text{CPM (promedio) de UNE} / \text{CPM de Cuentas Totales}] \times 100$

**%Máxima Unión (%MU):** Se determina realizando el siguiente cálculo :

$\%MU = (\text{Cuentas por minuto Netas} / \text{Cuentas Totales})$  a manera de ilustración se muestra un ejemplo en el anexo N°3.

### **III.5.-PRUEBA DE ESTUDIO PARA MICROALBUMINURIA**

Son aprovechables para uso clínico las cintas reactivas que detecten un mínimo de concentración de albúmina en orina de 20mg/L (9,41).Se relizará la prueba de estudio (Fig.9) (22) en todos aquellos pacientes con macroalbuminuria negativa.

#### **III.5.1.-FUNDAMENTO**

Está basado en un método cromatográfico y enzimo-inmunológico que detecta albúmina humana: la orina absorbida pasa por una zona del test que contiene un conjugado soluble que contiene anticuerpo-oro que se fija específicamente a la albúmina en orina. El exceso de conjugado se detiene por una zona interceptora que contiene albúmina humana inmovilizada, de manera

que solo el conjugado de oro cargado con albúmina alcanza la zona reactiva. El color producido (blanco o rojo) depende directamente del contenido de albúmina en orina (Fig.10) (22).

## 2.-INSTRUCCIONES

### VALIDAD:

Test para la detección precoz y el control del curso de una nefropatía crónica, p.e. en diabetes e hipertensión. La microalbuminuria denota una excreción de albúmina de 20-200mg./L.

### COMPONENTES:

Cada prueba contiene: Anticuerpos monoclonales anti-albúmina humana (IgG), marcados con oro coloidal: 2,2 microgramos, Albúmina fijada: 7,7 microgramos.

### MODO DE EMPLEO:

Sumergir la cinta reactiva en la orina de modo que el nivel de líquido se encuentre entre las dos barras negras. Retirar la cinta después de 5 seg. y colocarla horizontalmente, por encima del recipiente de orina. Al sumergir y retirar la cinta, no tocar el borde del recipiente.

Después de aproximadamente 1 minuto, comparar el campo de color por encima de la inscripción con la escala cromática indicada en la etiqueta del envase. Si el desarrollo del color es ligeramente desigual, tome como válido el color predominante. Después de transcurridos otros 5 minutos, ya no se pueden comparar los colores, por que son desintegrados.

### VALUACION:

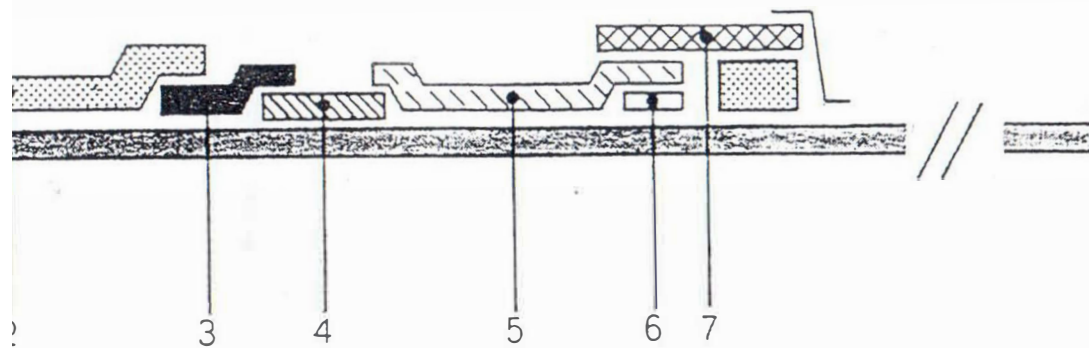
Colores de reacción mas claros que el bloque de color que corresponde a 20mg./L de albúmina, indican una concentración fisiológica de albúmina en orina. El resultado es positivo (e indica microalbuminuria persistente) cuando por menos 2 orinas matinales muestran un color de reacción que corresponde a 20mg./L de albúmina (valor límite para microalbuminuria) o más.

### DETECCION DE CONCENTRACIONES DE ALBUMINA MAYOR DE 100mg./L:

Para detectar una concentración de albúmina superior a 100mg./L, puede diluirse la muestra, p.e. mezclando una parte de orina con dos partes de agua. la concentración de albúmina se calcula multiplicando el resultado por 3.



Fig. 9. Esquem  
cromatografía, 3:  
Zona de reacció



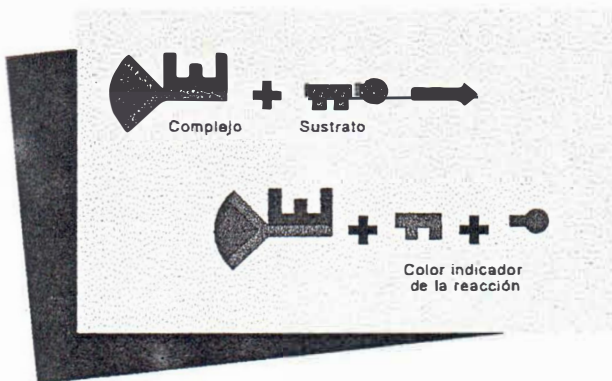
reactiva para la detección de microalbuminuria. 1: Soporte plástico, 2: Zona de  
ferización, 4: Zona de anticuerpos conjugados con la enzima, 5: Matriz de captura, 6:  
rato, 7: Malla protectora.



La albúmina libre se une al anticuerpo conjugado con la enzima, formándose el complejo antígeno - anicuerpo.



El exceso de anticuerpo se une a la albúmina inmovilizada en la matriz de captura.



El complejo antígeno - anticuerpo unido a la enzima b-galactosidasa cataliza la hidrólisis del sustrato rojo de clorofenol galactósido (amarillo) produciendo galactosa y rojo de clorofenol (rojo).

Fig.10. Esquema de la reacción en la tira reactiva



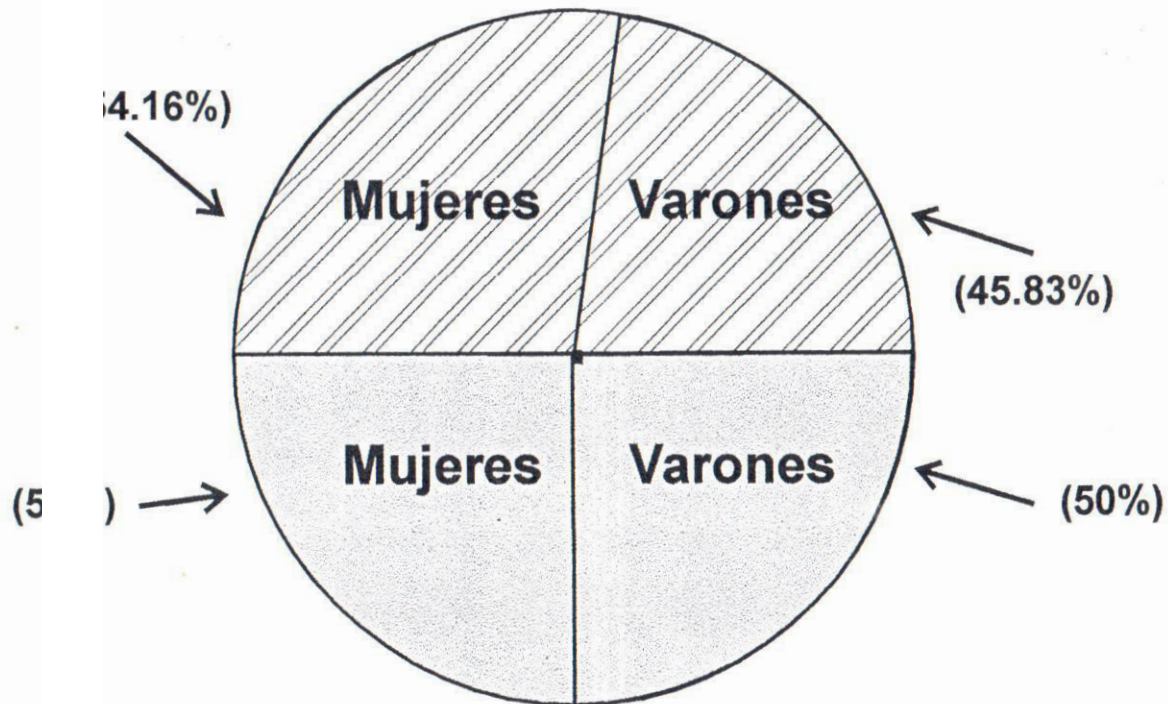
Fig. 11 Contador gamma computarizado para la determinación de microalbuminuria por radioinmunoensayo.



DISIT

GRAFICO N° 1  
DISTRIBUCION DE LA MUESTRA SEGUN EL RESULTADO  
CON MICROALBUMINURIA Y SEGUN SEXO

**MICROALBUMINURICOS**  
(53.85%)



**NORMOALBUMINURICOS**  
(46.15%)

Microalbuminuricos: (53.85%)

Normoalbuminuricos: (46.15%)

Pacientes diabéticos mi  
Pacientes diabéticos no  
Total de muestras: 52

## IV.-RESULTADOS

**CUADRO 1**  
**DISTRIBUCION DE LA MUESTRA SEGUN SEXO**

Sexo	N°	%
Varones	25	48.08%
Mujeres	27	51.92%
Total	52	100%

**CUADRO 2**  
**DISTRIBUCION DE LA MUESTRA SEGUN TIPO DE RESULTADO**

Tipo de resultado	RIA (mg/L)	prueba de estudio (mg/L)
Normoalbuminuria	28	25
Microalbuminuria	24	27
Total	52	52



**CUADRO 3**  
**VALORES PARA LOS PARAMETROS DE EVALUACION\*:**

PRUEBA EN ESTUDIO	MICROALBUMINURICOS SEGUN PRUEBA DE ORO	NORMOALBUMINURICOS SEGUN PRUEBA DE ORO
POSITIVOS	23	3
NEGATIVOS	1	25
TOTAL	24	28

\* Ver anexo n°5

Sensibilidad=(Positivos verdaderos)/(Total de microalbumin.)=23/24=95.8%

Especificidad=(Negativos verdaderos)/(Total de normoalbumin.)=25/28=89.3%

Eficiencia =(positivos y negativos verdaderos)/total=(23+25)/52=92.3

o exactitud

Valor predictivo de=(Positivos verdaderos)/(Total de positiv.)=23/26=88.5%

una pba. Positiva

Valor predictivo de =(Negativos verdaderos)/(Total de negativos)=96.15%

una pba. Negativa

Tasa de falsos positivos=(Positivos falsos)/(Total de positivos)=3/26=11.5%

Tasa de falsos negativos=(Negativos falsos)/Total de negativos)=1/26=3.8%

**CUADRO 4**  
**RESULTADOS DE LA EVALUACION DE LA PRUEBA DE ESTUDIO**

N°	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo de una pba.positiva (%)	Valor predictivo de una pba. negativa (%)
52	95.80	89.30	88.46	96.15

**CUADRO 5**  
**OTROS RESULTADOS DE LA EVALUACION DE LA PRUEBA DE ESTUDIO**

Pacientes N°	Eficiencia (%)	Tasa de falsos positivos(%)	Tasa de falsos negativos(%)
52	92.3	11.5	3.8

**CUADRO 6**  
**COMPARACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS DE LA PRUEBA DE ORO(RIA) Y LA PRUEBA DE ESTUDIO**

	Rango de Trabajo(mg/L)	Precio por prueba(s/.)	Tiempo de ensayo	Equipo requerido
RIA	0.8-200	*18.00	2h.	Contador Gamma
Prueba. de estudio	0->100	**3.5	5 min.	-----

\*Precio en.Instituto de Investigación de Altura de la UPCH

\*\*Precio de costo por unidad de Institución privada que importa el producto.

**CUADRO 7**  
**CARACTERISTICAS CLINICAS DE PACIENTES CON DM TIPO II EN**  
**RELACION CON ALBUMINURIA(mg/L).**

	Normoalbuminuria		Microalbuminuria		p
	Media	D.S.	Media	D.S.	
N°	28		24		
Albuminuria(mg/L)	7.25	4.46	42.26	26.01	<0.001
Creatinina en orina	0.722	0.406	0.742	0.339	n.s.
Edad(años)	56.5	11.7	54.7	9.01	n.s.
Dieta/HGO*/insulina	17.9%/50%/32.1%		8.3%/70.8%/29.2%		
Glicemia(mg/dL)173.1	173.1	101.1	171.3	63.3	n.s.
Pr. Arterial Sistólica	124.3	10.69	128.3	10.90	n.s.
Pr. Art.erial diastólica	77.9	10.32	82.3	8.07	n.s.

En la comparación de medias se aplicó la prueba t de student, sólo se encuentra diferencia significativa entre las medias de albuminuria al nivel alfa =0.001. Las diferencias entre las medias de los demás parámetros no son significativas.

\*Tratamiento con hipoglicemiantes orales.

**CUADRO 8**  
**PREVALENCIA DE RETINOPATIA NO PROLIFERATIVA, NEUROPATIA E**  
**HIPERTENSION EN RELACION A ALBUMINURIA EN DM TIPO II.**

	Normoalbuminuria		Microalbuminuria	
N°	28		24	
RETINOPATIA NO PROLIFERATIVA	12	(42.9%)	8	(33.3%)
NEUROPATIA LEVE	18	(64.3%)	12	(50.0%)
HIPERTENSIÓN	4	(14.3%)	10	(41.7%)

En la comparación de valores de prevalencia para cada concepto se aplicó la prueba chi cuadrado, y el resultado fue que no hay diferencia significativa entre los valores correspondientes a la normoalbuminuria y microalbuminuria.

**CUADRO 9**  
**COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE ALBUMINA URINARIA**  
**MEDIDAS POR RIA Y LA PRUEBA DE ESTUDIO.**

Prueba de estudio		Albúmina en orina, mg/L				
Categoría		0-9.9	10-19.9	20-49.9	50-99.9	100
mg/L	0	3				
	10	20	2	1		
	20		3	20		
	50				1	
	100				1	1

El coeficiente de correlación de rangos de Spearman entre los dos métodos es de 0.8133 ( $p < 0.001$ ), un valor altamente significativo, lo cual indica una estrecha asociación entre los resultados de ambos métodos.

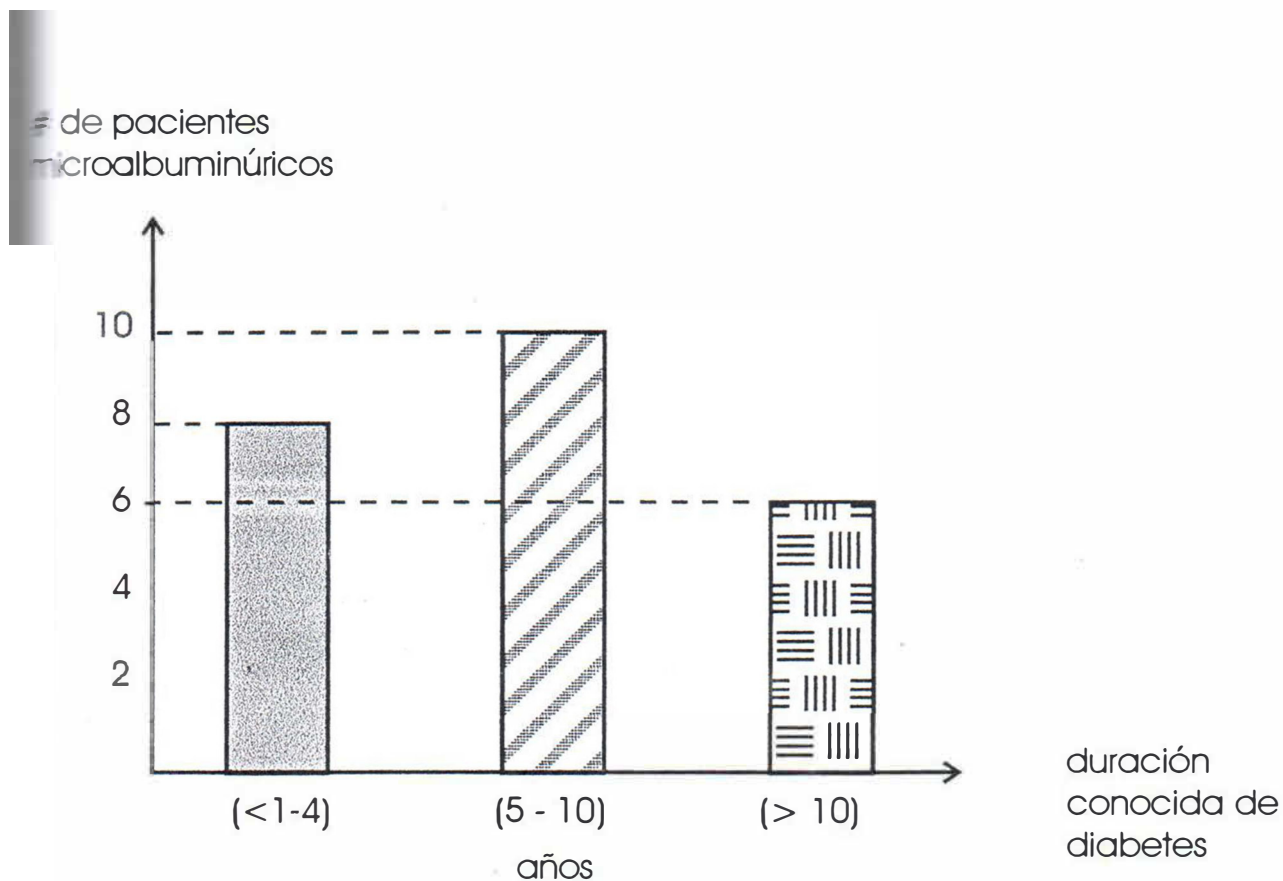
**CUADRO 10**  
**COMPARACION ANTERIOR UTILIZANDO UN PUNTO DE CORTE DE 20mg/L**

Prueba de estudio	Albúmina en orina, mg/L		
	Normoalbuminúricos	Microalbuminúricos	Total
Categoría	0-19.9	$\geq 20$	
<20	25	1	26
$\geq 20$	3	23	26
Total	28	24	52

Mediante la prueba de ensayo fueron correctamente identificadas 23 de las 24 muestras con niveles de albúmina  $\geq 20$ mg/L, y 25 de las 28 muestras con niveles  $< 20$  mg/L.

## GRAFICO N° 2

### PREVALENCIA DE MICROALBUMINURIA EN FUNCION A LA DURACION CONOCIDA DE DIABETES



Pacientes con (<1 - 4) años de diabetes: 8 (25%)

Pacientes con (5-10) años de diabetes : 10 (41.6%)

Pacientes con (> 10) años de diabetes : 6 (33.33%)



## V.-DISCUSION

Se ha preferido emplear en todo el trabajo el término de Diabetes Mellitus tipo II al de Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID), por considerar que a una proporción determinada de estos pacientes durante el período de su enfermedad en el que llegaran a tener una grave y prolongada descompensación metabólica se les prescribe como imprescindible terapia farmacológica la insulina, y en base a las recomendaciones del comité de expertos en clasificación de la Diabetes de la Asociación Americana de Diabetes, que consideran no vigente la nomenclatura de DMNID (16).

Resulta importante mencionar que la nefropatía es más frecuente en DM tipo I que en la DM tipo II, y a su vez es más frecuente en este tipo de diabetes que en no diabéticos; sin embargo, se consideró como muestra poblacional a pacientes con diabetes tipo II por ser una patología más prevalente.

Se eligió a pacientes con edades comprendidas entre los 35 y 75 años considerando en primera instancia que para fines de comparación no hay necesidad de tomar en cuenta criterios de exclusión en los pacientes diabéticos salvo el de que todos los pacientes no tengan una albuminuria > de 200mg/L.

De otro lado, con el fin de verificar si las características clínicas: Hipertensión arterial controlada, neuropatía leve y retinopatía no proliferativa no influyen en el valor de la microalbuminuria fue necesario tomar en cuenta criterios de exclusión en la selección de pacientes en este rango de edades y también se requirió de la obtención de dos resultados concordantes de la prueba de estudio y de realizar la prueba cuantitativa de referencia, que en este caso se utilizó como prueba confirmatoria.

Se sustenta el uso de las unidades en mg/L en base a estudios que sugieren que la concentración urinaria de la primera micción por la mañana (20-200.mg/L) es altamente predictiva de las complicaciones, al menos en pacientes con DM tipo II (22,41,42). En consecuencia el tamizaje para la nefropatía precoz en la diabetes clínica puede ser llevada a cabo utilizando la primera orina de la

mañana, pero realizando pruebas confirmatorias, dada la variabilidad de la microalbuminuria. Además, esta concentración puede ser utilizada para motivos clínicos, especialmente si son llevadas a cabo múltiples mediciones (41).

Mogensen (41) y Shihabi (43), consideran que los siguientes factores suelen ocasionar confusión en el screening de microalbuminuria para los pacientes con DM tipo II: Variabilidad de la excreción de la albúmina urinaria, ejercicio físico, presión arterial elevada, infección del tracto urinario, obesidad masiva, complicaciones agudas (ejem.: fiebre), consumo de agua, ingestión de antiinflamatorios no esteroideos y de inhibidores de la ECA, hematuria, menstruación, eclampsia, factor dietario, hiperglicemia (periodo extenso). De los anteriores resultó indispensable evitar por su comprobada influencia:

Variabilidad de la microalbuminuria: En vista de lo cual se obtuvo por lo menos 2 resultados iguales con la prueba de estudio y una prueba de RIA, por cada paciente.

Ejercicio físico: Por lo que se muestreó la primera orina de la mañana.

Presión arterial elevada: Para lo cual se consideró sólo a pacientes con valores de presión arterial dentro de lo normal, con un máximo de 14/9. Según OMS se considera hipertensión cuando la presión arterial es  $\geq 160/95$  (44,45,46,47).

Infección sintomática del tracto urinario: Para evitar su presencia se consideró sólo a pacientes asintomáticos y con resultado negativo en las cintas reactivas de urianálisis.

Eclampsia: Por lo que ninguna de las pacientes tuvo esta característica.

Hiperglicemia (período extenso): Los pacientes con un deficiente control metabólico por un período mayor de 2 meses del año en curso fueron excluidos.

Hematuria: Lo que se descartó por medio de cintas de urianálisis

Menstruación: En vista de lo cual ninguna paciente tuvo esta característica.

Antiinflamatorios no esteroideos e Inhibidores ECA: Se evitaron 24 horas antes de la toma de muestra.



Establecer la correlación entre el control metabólico (mediante la hemoglobina glicosilada) y la microalbuminuria en diabetes tipo II, es el producto de un extenso seguimiento considerando que la progresión del daño renal es mucho mas lenta que en la diabetes tipo I, por lo que se necesitó de valores continuados en el lapso de por lo menos 2 años (DM tipo I) y de por lo menos 7 años (DM tipo II) de Hemoglobina Glicosilada (HG) por cada paciente evaluado, para demostrar dicha correlación (48,49), es por ello que en un período de descompensación metabólico corto, no es observado una clara variación de la microalbuminuria. Existen además estudios desarrollados en periodos cortos en que no se halla relación directa entre los valores de la microalbuminuria con la HG (41,50), y está en ello el fundamento de la no exclusión de pacientes con periodos cortos de hiperglicemia asumiendo que en dichas circunstancias no se produciría una elevación temporal considerable de la microalbuminuria independiente del daño renal.

Según Klein (51), la prevalencia de microalbuminuria en diabéticos tipo II con una duración de diabetes de 5 a 9 años fue de 51.2%. Nosotros encontramos entre los microalbuminúricos una prevalencia de 41.67% en el grupo de pacientes de (5- 9) años a diferencia de los grupos de (<1-4) años que fue de 33.33% y el de (> 10) años que fue de 25%.,

De los resultados del cuadro 7, en cuanto a la presión arterial sistólica y diastólica, se sabe que una elevación de las mismas (independientemente de cualquier otro factor), en el caso de una hipertensión esencial, conduce a un aumento temporal de la microalbuminuria, de allí que se excluyó este factor clínico en los pacientes para el presente estudio; Sin embargo, se evaluó estadísticamente la influencia de la hipertensión controlada en los niveles de excreción de albúmina urinaria, no hallando diferencia significativa en ambos grupos, no obstante se encontró un mayor porcentaje de hipertensión entre los microalbuminúricos con relación a los normoalbuminúricos, para la población empleada. Los resultados de comparar el estado normoalbuminúrico con el microalbuminúrico en relación al tratamiento, glicemia, edad indican la no

existencia de diferencia significativa y coinciden con los resultados encontrados en otras muestras de poblaciones (33,52).

Se realizó la determinación de creatinina para confirmar la cuantificación de microalbuminuria empleando para ello otra de las definiciones de microalbuminuria. Es decir en mg de albúmina (RIA) / g de creatinina (9,53), sin embargo, al hacer la comparación con la prueba semicuantitativa de estudio (cuya expresión se da en mg/L) la correlación resultó menor que al efectuar la comparación (con RIA) en las mismas unidades que la prueba de estudio.

De los resultados del cuadro 8, muchos de los pacientes que acuden a este hospital lo hacen con un grado de descompensación metabólico avanzado y con poco control de la presión arterial. De otro lado, presentan con mucha frecuencia manifestaciones crónicas tales como: la neuropatía leve (la mas frecuente), la neuropatía avanzada, la retinopatía no proliferativa (principalmente), y la de tipo proliferativa (que es la mas severa, pero menos frecuente). Considerando esta realidad es que no se excluyeron del estudio a aquellos pacientes con las formas mas leves de estas manifestaciones crónicas, sin embargo se evaluaron estas posibles influencias en la prueba de tamizaje de microalbuminuria teniendo en cuenta el resultado de un trabajo que concluye en la existencia de una relación entre la retinopatía no proliferativa y la presencia de microalbuminuria (15) (se excluyó completamente a los pacientes con retinopatía proliferativa por su conocida relación con la microalbuminuria).

La microalbuminuria predice el desarrollo de la nefropatía diabética en DM tipo I (54,55) y en DM tipo II (17,51,56).

En nuestro país, Battilana (44), ha resaltado la utilidad de la determinación de la microalbuminuria en pacientes diabéticos, siendo creciente la importancia que se le otorga a la prevención de las consecuencias de la microalbuminuria, en aquellas personas de mayor riesgo como resulta ser la población diabética.

Posteriormente a esta determinación y con el interés retomado, debido al aumento de la incidencia de IRCT en pacientes con DM tipo II. Se han efectuado trabajos en diversos lugares del mundo en donde se han evaluado los métodos

semicuantitativos para la determinación de microalbuminuria con la finalidad de emplearlos como pruebas de screening, con resultados muy variables.

Existen además de la prueba inmunoquímica de estudio otros métodos:

**El sistema de tabletas indicadoras.** Que emplea azul de bromo fenol (método colorimétrico), dichas tabletas viran de amarillo a verde azulado en presencia de albúmina >40mg/L (57).

**El sistema de aglutinación látex-anticuerpo.** Sistema en el que no se produce aglutinación para valores superiores a los 40 mg/L, siendo la dispersión en placa el indicador de la presencia de albúmina en exceso, este sistema requiere mayor acuciosidad visual, y se hace recomendable la comparación de la muestra en controles positivo y negativo a la vez que implica un mayor tiempo para la determinación.

En un estudio realizado por Pérez (57), los resultados de la comparación de las dos pruebas anteriores con el método de RIA, fueron los siguientes: El método colorimétrico determinó 9 resultados falsos positivos en 102 muestras y 5 falsos negativos en 84 muestras. El sistema de aglutinación látex-anticuerpo arrojó 1 falso positivo en 21 mediciones y 3 falsos negativos en 29 casos.

En el trabajo realizado por Cembrowski (53), utilizando como prueba de referencia el RIA, los resultados de la misma comparación mostraron lo siguiente: En el primer método el resultado de la discriminación diagnóstica reveló una especificidad de aproximadamente 80%, y el segundo método una sensibilidad y especificidad de aproximadamente 90%.

Poulsen (58), en una evaluación de la prueba inmunoquímica de estudio, empleando como prueba de referencia el método nefelométrico, encontró valores de sensibilidad de 95%, especificidad 82% y valor predictivo 87%.

Bashyam (59), en una evaluación realizada a la prueba colorimétrica y a la prueba inmunoquímica de estudio, empleando como referencia el método inmunturbidimétrico, se encontró lo siguiente: Para la primera prueba: de 250 muestras de orina analizadas en las que 20 resultaron con microalbuminuria, una sensibilidad de 51%, especificidad de 84%, 17 falsos negativos y 18 falsos

positivos. Para la segunda prueba, de 167 muestras de orina analizadas en las que 32 resultaron con microalbuminuria, una sensibilidad de 63%, especificidad de 100%, 12 falsos negativos y 0 falsos positivos.

En la investigación realizada por Cheung Sau (60), se comparó el desempeño de la prueba colorimétrica y la inmunoquímica de estudio tomando como prueba de referencia el RIA, obteniéndose los siguientes resultados: Para la primera prueba se halló una sensibilidad de 100%, especificidad de 82.5%, valor predictivo negativo de 100%, valor predictivo positivo de 36.4%. Para la segunda prueba una sensibilidad de 75%, especificidad de 87.3%, valor predictivo negativo de 94.8% y valor predictivo positivo de 52.9%.

En la evaluación de la prueba inmunoquímica de estudio empleando como referencia el RIA Y realizada, por Marshall (61), se mostraron los siguientes resultados: Sensibilidad de 100%, especificidad de 91%, tasa de falsos positivos de 14.6% y tasa de falsos negativos de 0%. Además menciona otros resultados. Para la prueba de aglutinación: una sensibilidad que varía de 81-100% y una especificidad de 95-96%, para identificar concentraciones mayores de 30mg/L. Para la prueba colorimétrica: una sensibilidad de 97% y una especificidad de 50%, para concentraciones de albúmina > 20.

La comparación de estos resultados con los de otras pruebas de tamizaje (tabletas indicadoras y el sistema de aglutinación de latex anticuerpo) para la microalbuminuria resulta favorable para la prueba inmunoquímica de estudio

De la prueba inmunoquímica de estudio, podemos mencionar además que es un método semicuantitativo de fácil aplicación y de respuesta inmediata .

En consecuencia, la prueba de estudio es un procedimiento confiable y de gran utilidad en la pesquisa de microalbuminuria y por ende de la nefropatía diabética en su etapa inicial y reversible, pudiendo emplearse además para estimar la eficacia de terapias que contrarresten este problema renal incipiente y en el control del mejoramiento o de la evolución de esta manifestación crónica de la diabetes

Bell (40), concluyó que la neuropatía estaba asociada a la

macroalbuminuria en DM tipo II , por ello hemos buscado descartar la influencia de la neuropatía en la microalbuminuria para pacientes con DM tipo II y verificamos estadísticamente la no diferencia significativa de la neuropatía leve en ambos estados (normoalbuminuria y microalbuminuria).

Savage (62), en una investigación mas reciente con relación a la neuropatía, la retinopatía y la hipertensión, en que se empleó muestras de mayores dimensiones y se realizó en pacientes con DM tipo II, obtuvo resultados que concuerdan con el presente estudio.

En vista de que no encontramos diferencia significativa en la prevalencia de las características clínicas: hipertensión controlada, neuropatía leve y retinopatía no proliferativa para los grupos normo y microalbuminúrico, estos no constituyen características clínicas que podrían alterar el valor de la microalbuminuria (para los resultados encontrados). Este objetivo se planteó en vista del elevado número de pacientes que presentan estas manifestaciones crónicas, en los cuales no se impediría la realización de la prueba de screening de microalbuminuria.



## VI.- CONCLUSIONES

Del estudio realizado en 52 pacientes con DM tipo II (seleccionados de un total 432), utilizando las pruebas semicuantitativa (de estudio) y la cuantitativa (RIA) para la determinación de microalbuminuria se concluye:

1.- Como producto de la evaluación de la prueba de estudio en 52 pacientes se obtuvo una sensibilidad de 95.8%, especificidad de 89.3%, eficiencia de 92.3%, valor predictivo positivo de 88.46%, valor predictivo negativo de 96.15%, tasa de falsos positivos de 11.5%, tasa de falsos negativos de 3.8%. Por tanto, los resultados de los criterios de evaluación para la prueba de estudio resultan satisfactorios.

2.- Dichos resultados revelan además una alta concordancia de 0.8133 para ( $p < 0.001$ ) entre la prueba semicuantitativa de estudio y la prueba de oro empleada, es decir el radioinmunoensayo

3.- No se encontró diferencia significativa en la prevalencia de las características clínicas: hipertensión controlada, neuropatía leve y retinopatía no proliferativa para los grupos normo y microalbuminúrico de pacientes con Diabetes Mellitus tipo II

## VII.- RECOMENDACIONES

Del trabajo realizado podemos sugerir lo siguiente:

1.- La Implementación de la prueba de estudio en la atención ambulatoria en hospitales y en campañas de despistaje como prueba de screening para la determinación de la microalbuminuria en pacientes con Diabetes Mellitus tipo II principalmente en pacientes con 5 a 10 años de diabetes, a fin de poder determinar la nefropatía diabética en su fase inicial.

2.- Utilizar la prueba cuantitativa (RIA) para la confirmación de la microalbuminuria en el control de la nefropatía diabética incipiente en pacientes con Diabetes Mellitus tipo II que han sido positivos en mas de una oportunidad en la prueba de screening.

3.- En el caso de pacientes metabólicamente descompensados (glicemias >140mg/dL) y con valores de normoalbuminuria, cercano a los 20 mg/L, es necesario la realización de pruebas adicionales en un estado metabólico compensado (glicemias 90-140 mg/dL), para verificar los resultados, dado que en el estado descompensado el volumen de orina es mayor de lo normal y la albúmina se halla mas diluída.

# ANEXOS



**ANEXO N°1**  
**FICHA DE REGISTRO DE DATOS**

FECHA:.....

N° DE FICHA.....

DATOS PERSONALES:

1. NOMBRE:.....

2 .EDAD:.....

3. SEXO: FEMENINO( ) MASCULINO( )

MANIFESTACIONES CRONICAS:

4. NINGUNA( )

5. RETINOPATIA. NO PROLIFERATIVA( )

6. RETINOPATIA. PROLIFERATIVA( )

7 .NEUROPATIA. PERIFERICA O AUTONOMICA( )

ANTECEDENTES PATOLOGICOS

8.ANTECEDENTES DE CETOACIDOSIS( )

9.ANTECEDENTES DE ENFERMEDAD RENAL NO DIABETICA( )

10.FECHA DE DIAGNOSTICO DE DMNID.....

ENFERMEDADES ASOCIADAS

11.ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR:

    BY PASS AORTO CORONARIO( ), INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO( )

    INSUFICIENCIA CARDIACA( )

12.ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR:

    HEMORRAGICO( )ISQUEMICO( )

13.ENFERMEDAD PERIFERICA VASCULAR

    VARICES( )      TROMBOSIS( )      CLAUDICACION INTERMITENTE( )

TRATAMIENTO

- 14. DIETA( )
- 15. HIPOGLICEMIANTE ORALES( )
- 16. USO DE INSULINA SI( ) NO( ) TIEMPO DE USO.....
- 17. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS E INHIBIDORES ECA( )

DATOS CLINICOS:

- 18. PRESION ARTERIAL....
- 19. PREECLAMPSIA( )
- 20. MENSTRUACION( )

VALORES BIOQUIMICOS

- 21. GLICEMIA.....
- 22. CREATININA URINARIA.....
- 23. MICROALBUMINURIA:
  - MICRALTEST II (mg/24h).....
  - RIA (mg/24h).....
- 24. URINANALISIS:
  - PROTEINURIA( )
  - HEMATURIA( )
  - INFECCION URINARIA( )



## ANEXO N°2:

### TABLA N°1. RESULTADOS EN MICROALBUMINURICOS

N°	GLICEMIA (mg/dL)	ALBUMINA EN ORINA		CREATININA EN ORINA mg/mL
		prueba de est.udio	RIA (mg/L)	
01	131	100	150.00	0.50
02	163	50	53.26	0.70
03	140	100	72.00	0.80
04	103	20	52.90	1.10
05	123	20	24.88	0.50
06	140	20	26.12	0.80
07	136	20	31.00	0.30
08	379	20	23.00	0.90
09	109	20	49.00	0.20
10	277	20	30.00	0.60
11	131	20	46.08	0.90
12	240	10	40.50	0.70
13	225	20	39.00	1.20
14	201	20	47.00	0.90
15	153	20	41.00	1.50
16	181	20	26.00	0.60
17	150	20	35.75	0.50
18	154	20	35.00	0.30
19	200	20	35.65	1.50
20	133	20	42.50	0.60
21	238	20	44.0	0.50
22	135	20	22.00	0.50
23	130	20	24.00	0.90
24	140	20	22.50	0.80

**TABLA N°2. RESULTADOS EN NORMOALBUMINURICOS**

N°	GLICEMIA (mg/dL)	ALBUMINA EN ORINA		CREATININA EN ORINA (mg/mL)
		prueba de estudio	RIA (mg/L)	
01	304	10	10.70	0.60
02	600	20	18.00	0.60
03	180	20	17.50	0.70
04	191	20	17.50	0.20
05	130	10	13.18	1.20
06	262	0	7.30	0.90
07	165	10	6.00	0.20
08	191	10	4.70	0.50
09	128	10	8.00	0.90
10	248	0	8.89	0.30
11	115	10	3.63	0.50
12	125	10	5.50	0.50
13	140	10	8.50	1.40
14	150	10	7.50	1.10
15	143	10	4.90	0.70
16	129	10	4.05	0.50
17	108	10	5.38	0.60
18	125	10	5.00	2.00
19	121	10	4.50	0.80
20	294	10	1.40	0.40
21	123	10	8.50	1.30
22	155	10	5.00	0.40
23	118	0	6.00	1.10
24	160	10	1.50	0.32
25	95	10	3.92	0.50
26	128	10	7.10	0.80
27	143	10	4.50	0.70
28	76	10	4.30	0.50

TABLA N°3. DATOS CLINICOS EN MICROALBUMINURICOS

N°	EDAD (años)	TIEMPO DIAGN. (años)	PR. ARTERIAL (sistólica/diastólica)	TRATAMIENTO. (actual)
01	48	10	110/80	insulina
02	61	20	140/90	HGO
03	65	9	120/70	HGO /dieta
04	57	7	130/75	HGO
05	50	<1	120/8	HGO
06	46	<1	140/90	HGO
07	58	20	130/80	HGO
08	47	5	130/90	insulina
09	67	15	140/80	HGO
10	58	18	140/90	HGO
11	52	12	140/90	HGO/dieta
12	38	4	110/9	insulina
13	56	4	140/80	HGO
14	53	6	130/90	insulina
15	57	1	110/70	HGO
16	45	10	130/80	insulina
17	73	8	120/90	HGO
18	55	3	140/80	HGO
19	37	1	120/80	insulina
20	65	11	110/60	HGO
21	54	10	130/90	insulina
22	48	6	130/80	HGO
23	55	1	130/80	HGO
24	67	8	140/90	HGO



**TABLA N°4. DATOS CLINICOS EN NORMOALBUMINURICOS**

N°	EDAD (años)	TIEMPO DIAGN. (años)	PR. ARTERIAL (sistólica/diastólica)	TRATAMIENTO (actual)
01	45	12	110/80	insulina
02	52	<1	130/90	insulina
03	50	15	140/90	insulina
04	75	1	100/40	insulina
05	52	6	140/80	HGO
06	60	6	120/70	HGO
07	74	30	140/80	HGO
08	46	7	120/80	insulina
09	71	5	120/70	dieta
10	34	1	130/80	insulina
11	61	14	120/80	HGO
12	43	<1	140/80	HGO
13	46	1	130/80	HGO
14	56	5	120/80	HGO
15	60	3	120/70	HGO
16	65	10	130/90	dieta
17	54	<1	130/80	dieta
18	64	2	100/70	dieta
19	75	6	130/80	dieta
20	60	4	120/70	insulina
21	51	7	130/90	insulina
22	68	27	130/90	HGO
23	36	<1	110/70	HGO
24	50	16	120/70	insulina
25	56	3	130/80	HGO
26	65	4	130/90	HGO
27	41	3	120/80	HGO
28	72	37	120/70	HGO

**TABLA N°5. RETINOPATIA DIABETICA NO PROLIFERATIVA, NEUROPATIA LEVE E HIPERTENSION CONTROLADA EN MICROALBUMINURICOS**

N°	RETINOPATIA NO PROLIFERATIVA	NEUROPATIA LEVE	HIPERTENSION
01	NO	NO	NO
02	NO	NO	NO
03	NO	NO	NO
04	SI	SI	NO
05	NO	SI	NO
06	NO	NO	SI
07	SI	NO	SI
08	NO	NO	NO
09	NO	SI	SI
10	SI	SI	SI
11	SI	SI	SI
12	SI	SI	NO
13	NO	NO	SI
14	NO	SI	NO
15	NO	SI	NO
16	NO	NO	NO
17	NO	NO	SI
18	SI	SI	SI
19	NO	NO	NO
20	SI	NO	NO
21	NO	SI	NO
22	NO	SI	NO
23	SI	SI	SI
24	NO	NO	SI

**TABLA N°6. RETINOPATIA DIABETICA NO PROLIFERATIVA, NEUROPATIA LEVE E HIPERTENSION CONTROLADA EN NORMOALBUMINURICOS**

N°	RETINOPATIA. NO PROLIFERATIVA	NEUROPATIA LEVE	HIPERTENSION
01	SI	SI	NO
02	SI	SI	NO
03	NO	SI	NO
04	NO	SI	NO
05	SI	SI	NO
06	SI	SI	NO
07	SI	SI	SI
08	NO	NO	NO
09	NO	NO	NO
10	NO	NO	NO
11	NO	SI	NO
12	NO	si	NO
13	NO	SI	SI
14	SI	NO	NO
15	NO	SI	NO
16	SI	SI	SI
17	NO	SI	NO
18	SI	NO	NO
19	NO	NO	NO
20	NO	SI	NO
21	SI	SI	SI
22	SI	SI	NO
23	NO	NO	NO
24	NO	NO	NO
25	SI	NO	NO
26	NO	SI	NO
27	NO	NO	NO
28	SI	SI	NO





### ANEXO N°3

#### EJEMPLO DE CALCULOS Y CONTROL DE CALIDAD EN RIA.

tubo	Duplicado CPM	Promedio CPM	Valor Neto CPM	%U	Albúmina ug/mL
CT	91,784 91,517	91,651			
UNE	377 344	361			
A(MU)	72,375 71,240	71,808	71,477	100,0%	0
B	45,447 45,322	45,385	45,024	63,0%	5
C	33,250 32,983	33,117	32,756	45,8%	10
D	23,053 22,770	22,912	22,551	31,6%	20
E	17,485 17,306	17,396	17,035	23,8%	30
F	10,334 10,069	10,202	9,841	13,8%	60
<b>Muestras</b>					
1	29,072 28,918	28,995	28,634	40,1%	13,5
2	19,835 19,702	19,769	19,408	27,2%	25
3	15,846 15,656	15,751	15,390	21,5%	35

Parametros de Control de Calidad(a manera de muestra)

CT=91,651CPM %MU=78%

%UNE=0,4%

## ANEXO N°4

### DETERMINACION DE CREATININA URINARIA

#### FUNDAMENTOS DEL METODO COLORIMETRICO DE JAFFE

En un medio alcalino que contiene picrato, la creatinina presente en la muestra, reacciona con este formando un complejo rojizo, cuya mayor absorción se da a 530 nm.

Creatinina+picrato → complejo creatinina-picrato

#### REACTIVOS

##### REACTIVO A

Solución de ácido pícrico 0.05 M. Estable a temperatura ambiente.

##### REACTIVO B

Solución de hidróxido de sodio 0.75 N. Conservar en frasco de plástico a temperatura ambiente.

#### STANDARD DE CREATININA

solución estabilizada de creatinina de 2 mg/dL. Refrigerar.

#### PROCEDIMIENTO

Preparar tres tubos y pipetear:

	Blanco (ml)	Standard (ml)	Muestra (ml)
Orina fresca	---	---	0.02
Standard	---	1.0	---
Agua	2.5	1.5	2.5
Reactivo 1	3.5	3.5	3.5
Reactivo 2	1.0	1.0	1.0

Mezclar bien. Después de transcurridos 20 minutos leer la absorbancia a una longitud de onda de 530 nm contra el blanco.

#### CALCULOS (para la determinación del cociente albumina/creatinina)

Creatinina en orina expresado en mg/mL, se transforma a g/L

Albumina en orina (RIA) expresado en  $\mu\text{g/mL}$ , se transforma a mg/L

El cociente albumina/creatinina Se expresa en: mg de albumina/g de creatinina



## ANEXO N°5

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

#### MEDIDAS PARA LA EVALUACION DE UNA PRUEBA DE ESTUDIO

En la evaluación matemática de una prueba de albuminuria, se puede considerar los siguientes parámetros: Sensibilidad, especificidad, eficiencia y valor predictivo.

#### FORMA DE PRESENTACION DE RESULTADOS PARA LA EVALUACION

PRUEBA DE ESTUDIO	MICROALBUMINURICOS SEGÚN PRUEBA DE ORO	NORMOALBUMINURICOS SEGÚN PRUEBA DE ORO
POSITIVOS	PV=# de individuos microalbuminúricos y positivos	PF=# de individuos normoalbuminúricos y positivos
NEGATIVOS	NF=# de individuos microalbuminúricos y negativos	NV=# de individuos normoalbuminúricos y negativos

PV=Positivos Verdaderos, PF=Positivos Falsos, NV=Negativos Verdaderos, NF=Negativos Falsos.

$PV + NF$  = Total de individuos microalbuminúricos.

$PF + NV$  = Total de individuos normoalbuminúricos.

Modelo tomado de "Como estudiar un estudio y probar una prueba" de Riegelman(37).

#### Sensibilidad:

Es la proporción de individuos con la enfermedad según la prueba de referencia e identificados como positivos por la prueba en estudio

(Cuanto mayor sea el número de individuos detectados con la enfermedad según la prueba de referencia que sean identificados como positivos por la prueba en estudio, mayor será la sensibilidad de la prueba en estudio). Se podría considerar también como la medida que evita resultados negativos falsos:

Sensibilidad= $PV/(PV+NF)$ . Donde:

PV=Positivos verdaderos, sujetos afectados(enfermos), correctamente clasificados por la prueba.

NF=Negativos falsos, sujetos afectados, incorrectamente clasificados por la prueba

#### **Especificidad:**

Es la proporción de individuos sanos según la prueba de referencia e identificados como negativos por la prueba en estudio(cuanto mayor sea el número de individuos sanos según la prueba de referencia que son identificados como negativos por la prueba en estudio, mayor será la especificidad de la prueba en estudio). Se podría enfocar también como la medida que evita resultados positivos falsos o la capacidad para discriminar los sanos de los enfermos:

Especificidad= $NV/(NV+PF)$ . Donde:

NV=Negativos verdaderos, individuos no afectados(sanos), correctamente clasificados por la prueba.

PF=Positivos falsos, individuos no afectados, incorrectamente clasificados por la prueba.

#### **Eficiencia:**

Indica el porcentaje de sujetos(afectados y no afectados), correctamente clasificados por la prueba:

Eficiencia = $(PV+NV)/(PV+PF+NF+NV)$ .

**Valor predictivo de una prueba positiva:**

Es la probabilidad de que un valor positivo sea correcto:

$$VPP=(PV)/(PV+PF).$$

**Valor predictivo de una prueba negativa**

Es la probabilidad de que un valor negativo sea correcto:

$$VPN=(NV)/(NV+NF)$$

**CORRELACION DE RANGOS DE SPEARMAN**

Es una medida de asociación para la cual es suficiente que dos variables sean medidas en escala ordinal.

Supongamos que n individuos se ordenan según los rangos de dos variables. Por ejem., podemos arreglar el grupo en el orden del nivel de albúmina en orina por la prueba de estudio. Si los rangos de RIA los denotamos por  $X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$ , y los rangos por la prueba de estudio  $Y_1, Y_2, Y_3, \dots, Y_n$ , podemos construir una medida de correlación de rangos para determinar la relación entre X e Y.

Vemos que esa correlación sería perfecta si y sólo si:

$$X_i = Y_i, \text{ para todo } i = 1, 2, 3, \dots, n.$$

A medida que su valor se acerca a 1, se hace mas significativo, y ello indica una alta correlación, una estrecha asociación entre las variables.

## VIII.-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.-Nuñez O., Portugal W., Seclén S., Tello L., Villena A. Boletín de enfermedades no transmisibles. Grupo técnico Diabetes Mellitus. Ministerio de Salud. Lima Perú, 1996.
- 2.- Nuñez Olga. Diabetes Una patología silenciosa. La Revista Médica. 3: 38-47, 1997.
- 3.- Villena Chavez J.: Epidemiología de la diabetes mellitus en el Perú. Revista Médica Peruana. Junio-diciembre: 71-75, 1992.
- 4.- Calderón Velasco R., Peñaloza Jarrín J. Diabetes mellitus en el Perú. Lima, 1996.
- 5.- Villena Chavez J. Características socio-económicas y culturales de los pacientes diabéticos no insulino dependientes del hospital Cayetano Heredia. Diagnóstico. 28: 93-97, 1991.
- 6.- Organización Mundial de la Salud. WHO. Study group on prevention of Diabetes Mellitus: Report. geneva, 1994.
- 7.- Llanos G., Libman Y. La diabetes en las Américas. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana 118: 1-14, 1995.
- 8.- American Diabetes Association. Diabetic Nephropathy. Consensus Statement. Diabetes Care. Supplement 197. january, 1997.
- 9.- American Diabetes Association: Consensus development conference on the diagnosis and management of nephropathy in patients with diabetes mellitus. Diabetes care. 17:1357-1361, 1994.
- 10.- Pérez Comas Adolfo. Educación sobre diabetes: Disminuyamos el costo de la vigilancia. Organización Panamericana de la Salud. Washington, D.C., 1996.
- 11.- Ritz Eberhard, Stefanski Adam. Diabetic nephropathy in type II diabetes. American Journal of Kidney Diseases. 27: 167-194, 1996.
- 12.- Nelson R. G. Incidence and determinants of elevated urinary albumin excretion in Pima indians with NIDDM. Diabetes Care. 18: 182-187, 1995.
- 13.- Alzaid Aus A. microalbuminuria in patients with NIDDM: an overview.

Diabetes Care. 19: 79-89, 1996.

14.- Goldschmid M.G., Domin W.S. Diabetes in urban african-american. Diabetes Care. 18: 955-961, 1995.

15.- Lee Ki-up, Park Joong Y: Prevalence and associated features of albuminuria in koreans with NIDDM. Diabetes care. 18: 793-798, 1995.

16.- Clore john. Actualización en el tratamiento de la Diabetes Mellitus. Tribuna Médica. 62: 132-140, 1996.

17.- Myers B., Nelson R., Beck G. Progression of overt nephropathy in non-insulin dependent diabetes. Kidney International, 47: 1781-1789, 1995.

18.- Ardiles A. Transplante riñón-pancreas. Dar Vida. 3: 12, 1997.

19.- King S: Líquidos corporales y análisis de orina. Editorial Manual Moderno. México, 1991.

20.- Lopez J. Avances en nefrología e infección urinaria. Editorial IDEPSA. Madrid España, 1988.

21.- Torsten Deckert. Microalbuminuria: implications for micro and macrovascular disease: Decreased anionic HS-PG: the cause of albuminuria and premature atherosclerosis. Diabetes Care. 15: 1181-1191, 1992.

22.- Argeri N, Lopardo H. Analisis de orina. Fundamentos y práctica. Editorial Médica Panamericana. Argentina, 1993.

23.- Scandling J.D., Myers B.D. Glomerular size selectivity and microalbuminuria in early diabetic glomerular disease. Kidney International. 41: 840-846, 1992.

24.- Cohen M.P., Klepser H. Undersulfation of glomerular basement membrane heparan sulfate in experimental diabetes and lack of correction with aldose reductase inhibition. Diabetes. 37: 1324-1327, 1988.

25.- Ledbetter S., Copeland E.J., Vogeli G, Hassell J.R. Diabetes. 39: 196-203, 1990.

26.- Gilvery R. Bioquímica aplicaciones clínicas. Editorial Interamericana, 1986.

27.- King G.: The cellular and molecular mechanisms of diabetic complications. Endocrinology and Metabolism Clinics of North América. 25: 255-267, 1996.

28.- Battilana C. A. Mecanismo de daño renal en la hipertensión arterial.

Diagnóstico. 36: 28-32; 1997.

29.- Shapiro I, and Buchalter M, la hipertensión. Color atlas. Editorial Mosby year Book segunda edición , 1992.

30.- Gruden G., Cavallo Perin: Albumin excretion rate levels in non-diabetic offspring of NIDDM patients with and without nephropathy. Diabetología. 38: 1218-1222, 1995.

31.- Bloomgarden Z. American Diabetes Association Scientific.: Nephropathy : Sessions. Diabetes Care. 18: 1402-1405, 1995.

32.- Gotlieb D, Lancestremere R, Nadal M. Nefrología: Biblioteca de medicina: Semiología, patología y clínica. Editorial y librería el ateneo. Argentina, 1992.

33.- Savage S., Johnson N. Clinical factors associated with urinary albumin excretion in type II diabetes. American Journal of Kidney Disease. 25: 836-844, 1995.

34.- Romero R., Salinas I., Lucas A. Renal function changes in microalbuminuric normotensive type II diabetic patients treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. Diabetes Care. 16: 597-600, 1993.

35.- Guerrero R., Gonzalez C., Medina E.: Epidemiología. Editorial Addison-wesley-Iberoamericana. México, 1986.

36.- Riegelman R, Hirsch R. Como estudiar un estudio y probar una prueba. lectura crítica de la literatura médica. Washington. DC: Organización Panamericana de la Salud; 1992.

37.- Dawson B, Trapp R. Bioestadística Médica. Editorial Manual Moderno. México D.F. Santafé de Bogotá, 1993.

38.- Beaglehole R., Kjellstrom, T. Epidemiología básica. O.P.S. Washington D.C. Publicación científica N°551, 1994.

39.- Hollwich, Fritz. Atlas de oftalmología. Editorial Salvat. Barcelona. 1984.

40.- Bell D., Ketchum C., Robinson C. Microalbuminuria associated with diabetic neuropathy. Diabetes care 15: 528-531, 1992.

41.- Mogensen C. Microalbuminuria and potential confounders: A review and some observations on variability of urinary albumin excretion. Diabetes Care. 18: 572-



578, 1995.

42.- Poulsen P., Mogensen C. Evaluation of a new Semicuantitative stix for microalbuminuria. *Diabetes care*. 18: 732-733, 1995.

43.- Shihabi Z., Konen J. Albuminuria vs urinary total protein for detecting chronic renal disorders. *Clin. Chem.* 37: 621-624, 1991.

44.- Battilana Carlos. Asociación entre hipertensión arterial, diabetes y obesidad. *Revista médica peruana*. junio-diciembre. pag.79-80, 1992.

45.- Valdivia F., Hidalgo M., Zubiato M. Características de la diabetes mellitus en el Hospital Guillermo Almenara Irigoyen. *Revista médica del IPSS* 4: 7-17, 1995.

46.- OMS: Hipertensión Arterial: informe de un comité de expertos: Serie de informes técnicos 628, 1978.

47- Lopez Gloria. Hipertensión arterial y diabetes mellitus. en: García de los Rios M. *Diabetes mellitus*. Editorial Panamericana. Santiago de Chile, 1992.

48- Feldt-Rasmussen. Strict metabolic control and progression of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes & Metabolisme*. 226-227. 1988.

49.- Gilbert R. Long-term glycemic control and the rate of progresion of early diabetic kidney disease. *Kidney International*. 44: 855-859; 1993.

50.- Cooper M. Progression of proteinuria in type I and type II Diabetes. *Diabetic Med*. 5: 361-368, 1988.

51.- Klein Ronald. Prevalence of microalbuminuria in olders onset diabetes. *Diabetes Care*. 16: 1325-1330, 1993.

52.- Nielsen S. Albuminuria and 24-ambulatory blood pressure in normoalbuminuric and microalbuminuric NIDDM patients. *Diabetes Care*. 18: 1434-1440, 1995.

53.- Cembrowski George. Testing for microalbuminuria: Promises and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 21: 491-496, 1990.

54.- Mogensen C, Christensen C. Predicting diabetic nephropaty in insulin dependent patients. *New England Journal Medicine*. 311: 89-93, 1984.

55.- Mogensen C. Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropaty. *Kidney International*. 31: 673-689, 1987.

- 56.- Parving H, Gall M, Skott P, Jorgensen H and et al. Prevalence and causes of albuminuria in non-insulin dependent diabetic patients. *Kidney International*. 41: 758-762, 1992.
- 57.-Perez F, Durruty P., Krause P., Durruty G., García de los Ríos M. Métodos cualitativos y cuantitativos en la medición de microalbuminuria. *Boletín del hospital San Juan de Dios*. 38: 4-8, 1991.
- 58.- Poulsen P. Evaluation of a new semiquantitative stix for microalbuminuria. *Diabetes Care*. 18: 732-733, 1995.
- 59.- Bashyam M., Baker H. Microalbuminuria in NIDDM. *Diabetes Care*. 16: 634-635, 1993.
- 60.- Cheung Sau, Shan Shui. Comparison of six commercial techniques in the measurement of microalbuminuria in diabetic patients. *Diabetes care*. 16: 616-620, 1993.
- 61.- Marshall S., Shearing P. Micral-test strips evaluated for screening for albuminuria. *Clin. Chem*. 38: 588-591, 1992.
- 62.- Savage S, Jeffers B. Urinary albumin excretion as a predictor of diabetic retinopathy, neuropathy, and cardiovascular disease in NIDDM. *Diabetes care*. 19: 1243-1248, 1996.