Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Actividad de la sorbitol deshidrogenasa (SDH) en la estimación del daño hepatocelular en la diabetes tipo 2

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica

AUTOR

Vilma Jesús FABIÁN HIDALGO

ASESOR

Eduardo FLORES JUÁREZ

Lima, Perú

2001



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

Fabián V. Actividad de la sorbitol deshidrogenasa (SDH) en la estimación del daño hepatocelular en la diabetes tipo 2 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2001.

A mis padres Alicia y Nicandro, por su constante apoyo.

A mis hermanas Ysabel y Miriam por su gran afecto.

A ellos con cariño.

Vilma.

A mi asesor:

Q.F. Eduardo Flores Juárez por brindarme su apoyo y orientación en la elaboración del presente trabajo.

A él mi reconocimiento

Vilma.

A las personas e Instituciones que colaboran en el presente trabajo en especial a:

- Tte. Crl. San EP Dr. Hernán Solis Pernita, Jefe del Departamento Endocrinología y Enfermedades Metabólicas del Hospital Militar Central (HMC).
- Dr. Luis Acosta Sánchez, Jefe de la Sección de Bioquímica del Servicio de Laboratorios Clínicos del HMC.
- Lic. Tecnóloga Angélica Alva Lozada, encargada del Laboratorio de Endocrinología del HMC.
- Mg. Rosario Carrillo.
- Lic. Edgar Florentini.

A ellos mi agradecimiento, por su colaboración y especial estima.

Agradecimiento muy especial a mis jurados:

Dra. Maria Elizabeth Gonzales L. (presidenta)
Dra. Haydée Zúñiga Cáceres
Dra. Maria Elena Montoya
Dr. Juan Manuel Parreño Tipián

Por sus valiosas sugerencias y recomendaciones.

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

I. INTRODUCCIÓN

II. GENERALIDADES

2.1 Diabetes Mellitus

2.2 Diabetes tipo 2

2.3 La vía del poliol

2.4 Sorbitol deshidrogenasa (SDH)

2.4.1 Sorbitol deshidrogenesa humana

2.4.2 El posible rol fisiológico de la SDH

2.5 Daño hepático en la diabetes

2.5.1 El hígado graso

2.5.2 La glucogenización

2.5.3 La cirrosis hepática

2.5.4 La hiperbilirrubinemia – ictericia

2.5.5 La colelitiasis

2.5.6 La hepatotoxicidad por tratamiento con antidiabéticos orales

2.6 Diagnóstico enzimático

2.7 Alanina aminotransferasa (ALT)

2.8 Hemoglobina glicosilada (Hb-G)

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Material Biológico

3.1.1 Población

3.1.2 Muestra: Recolección y Almacenamiento

3.2 Equipos y reactivos

3.2.1 Equipos

3.2.2 Reactivos

3.3 Prueba de Sorbitol deshidrogenasa (SDH)
3.3.1 Fundamento
3.3.2 Reactivos
3.3.3 Procedimiento manual
3.3.4 Cálculos
3.4 Prueba de Hemoglobina glicosilada (Hb-G)
3.4.1 Fundamento
3.4.2 Reactivos
3.4.3 Recolección y preparación de la muestra
3.4.4 Procedimiento
3.4.5 Cálculos
3.5 Prueba de Alanina aminotransferasa (ALAT)
3.5.1 Fundamento
3.5.2 Reactivos
3.5.3 Procedimiento
3.5.4 Cálculos
3.6 Prueba de Glucosa
3.6.1 Fundamento
3.6.2 Reactivos
3.6.3 Procedimiento
3.6.4 Cálculos

IV RESULTADOS
4.1 Informe Estadístico
V DISCUSIÓN
VI CONCLUSIONES
VII RECOMENDACIONES
VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
IX ANEXOS

ABREVIATURAS

Diabetes Mellitus (DM)
Sorbitol deshidrogenasa (SDH)
Aldosa reductasa (AR)
Dinucleótido de nicotinamida y adenina forma reducida (NADH)
Fosfato de dinucléotido de nicotinamida y adenina forma reducida (NADPH)
Fosfato de dinucléotido de nicotinamida y adenina (NADP)
Dinucléotido de nicotinamida y adenina (NAD)
Alanima aminotransferasa (ALT) (ALAT)
Diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID)
Diabetes mellitus insulino dependiente (DMID)
Aspartato aminotransferasa (AST)
Fosfatasa alcalina (ALP)
Lactato dehidrogenasa (LD) (LDH)
Pruebas de función hepática (PFH)
γ - glutamil transpeptidasa (gGT)
Albúmina (Alb)
Bilirrubina total (Bil)
Acido cholic (CA)
Acido chenodeoxycholic (CDCA)
Iditol deshidrogenasa (ID)
Transaminasa glutámica pirúvica (GPT)
Hemoglobina glicosilada (Hb-G)
Etilendiaminotetracetato (EDTA)
Hemoglobina fetal (HbF)
Correcciones de temperatura (TC)
Unidad Internacional (U)
mili Unidades Internacionales (mU)
Federación Internacional de Química Clínica (IFCC)
Indice de Masa Corporal (IMC)
Acido ribonucleico mensajero (RNAm)
Transaminasa glutámica pirúvica (GPT)
Transaminasa glutámica oxalacética (GOT)

RESUMEN

Se determinó: las actividades séricas de la sorbitol deshidrogenasa (SDH; EC 1.1.1.14) y de la alanina aminotransferasa (ALT; EC 2.6.1.2), utilizando los métodos enzimáticos de Sigma y Merck respectivamente; el porcentaje de Hemoglobina glicosilada (Hb-G) en sangre total usando resinas de intercambio catiónico de Pointe Scientific INC, y los niveles de glucosa sérica por método enzimático de Merck en 37 pacientes con Diabetes tipo 2 (DMNID) del Hospital Militar Central y en 15 personas aparentemente sanas que sirvieron de control. Se observó que los valores medios hallados de la SDH (151,60 U Sigma/mL), ALT (34,32 U/ L), Hb-G (9,15 %) y glucosa (150,86 mg/dL) de los pacientes con Diabetes tipo 2, estaban significativamente incrementados en relación a las personas aparentemente sanas, quienes presentaron valores medios de SDH (58,2 U Sigma/mL), ALT (19,60 U/L), Hb-G (6,65 %) y glucosa (96,03 mg/dL). Se demostró correlación positiva de SDH y ALT ($r = 0,3379$; $p < .05$), y de glucosa con Hb-G ($r = 0,4098$; $p < .02$) en los pacientes con Diabetes tipo 2. El grupo etáreo 50-59 años presentó correlación positiva entre SDH y Hb-G ($r = 0,8139$; $p < .01$) y correlación negativa entre SDH y peso ($r = -0,8085$; $p < .01$). Se observó que la mayoría de diabéticos se encontraban descompensados. Las medias de SDH disminuyeron en los intervalos de 1 1 5 -13 9 y >200 mg/dL de glucosa.

Palabras claves: Sorbitol deshidrogenasa (SDH), Hemoglobina glicosilada (Hb-G), alanina aminotransferasa (ALI), glucosa, Diabetes tipo 2.

SUMMARY

It was determined: Sorbitol dehydrogenase (SDH; EC 1.1.1.14) and alanine aminotransferase (ALT; EC 2.6.1.2) serum activities, using Sigma and Merck enzymatic methods respectively: the percentage of glycosylated hemoglobin (Hb-G) in whole blood using Pointe Scientific INC cation-exchange resins, and the blood sugar levels using Merck enzymatic method in 37 patients with type 2 diabetes from "Militar Central" Hospital and in 15 apparently healthy persons as control group. It was observed that the SDH (151, 60 U Sigma/mL), ALT (34, 32 U/L), Hb-G (9, 15%) and glucose (150, 86 mg/dL) mean values found in the patients with type 2 diabetes were significatively increased in relation to the mean values found in the apparently healthy people, who have mean values of SDH (58,2 U Sigma/mL), ALT (19,60 U/L), Hb-G (6,65%), and glucose (96,03 mg/dL). It was demonstrated positive correlation between SDH and ALT ($r = 0,3379$; $p < .05$), and between glucose and Hb-G ($r= 0,4098$; $p < .02$) in patients with type 2 diabetes. The 50 to 59 age group showed positive correlation between SDH and Hb-G ($r = 0,8139$; $p < .01$) and negative correlation between SDH and weight ($r = -0,8085$; $p < .01$). It was observed that most of diabetics were in a state of descompensation. The SDH mean values decreased in the intervals from 115 to 139 > 200 mg/dL of glucose .

Key words: Sorbitol dehydrogenase (SDH), glycosylated hemoglobin (Hb-G), alanine aminotransferase (ALT), glucose, type 2 diabetes.

I. INTRODUCCIÓN

En la Diabetes Mellitus (DM), la elevación inapropiada de la glucosa sanguínea conlleva complicaciones severas, donde la captación de glucosa no es dependiente de insulina, lo cual determina una mayor actividad de las vías metabólicas insulino independientes. Afecta tejidos tales como el ojo (retina-retinopatía; cristalinos-cataratas "diabéticas"), nervios (neuropatías), riñón (nefropatías) y vasos sanguíneos (vasculopatías). La aldosa reductasa (AR) y la sorbitol deshidrogenasa (SDH) se unen metabólicamente a la glucosa y fructosa en la vía del poliol. Diversos estudios indican que sus roles fisiopatológicos están dirigidos al desarrollo de la DM (01).

La vía del poliol se basa en el hallazgo de que en la mayoría de células, la glucosa puede ser convertida a sorbitol mediante la AR. En situaciones de una elevación en el nivel de glucosa debido a la hiperglucemia se podría elevar el nivel intracelular del sorbitol.

Una vez formado el sorbitol puede ser metabolizado por la SDH a fructosa, con la producción de dinucléotido de nicotinamida y adenina reducida (NADH). Sin embargo, esta degradación del sorbitol progresa relativamente lento, dando como resultado la acumulación del sorbitol en los tejidos (02).

Se ha planteado que los desbalances metabólicos en la diabetes son primariamente el resultado de un sustrato incrementado, un cambio mínimo en la ruta del poliol y un cambiante estado redox NAD/NADH, determinado por la SDH (01, 03).

La SDH ha sido estudiada mucho menos que la AR, la cual ha recibido una desmesurada atención como la exclusiva terapéutica blanco para drogas que neutralicen el desarrollo de las complicaciones diabéticas.

En la diabetes la hiperglucemia se debe a una mayor producción de glucosa por alteraciones enzimáticas que se operan en el hígado, como: la disminución de la actividad de la glucoquinasa y el predominio del glucagón.

Se han hallado en diabéticos alteraciones hepáticas tales como hígado graso, gotas de grasa en el citoplasma del hepatocito, glucogenización de los núcleos, cirrosis, hiperbilirrubinemia, urobilinogenuria y raramente ictericia clínica.

Hoy en día se utiliza principalmente los niveles de (ALT) en sucro para estudios de enfermedad hepática (04); sin embargo, la SDH se localiza en la fracción citoplasmática del hepatocito, es una enzima "hepatoespecífica", actúa en el hígado en el metabolismo de la fructosa y su presencia en niveles elevados en suero sugieren daño hepático (05).

Por lo expuesto, hemos considerado de interés evaluar los niveles de las actividades séricas de la SDH y de la ALT como indicadores de daño hepático y los porcentajes de Hb-G en sangre total y los niveles de glicemia sérica en pacientes con Diabetes tipo 2 con respecto a un grupo de personas aparentemente sanas para comprobar si existe correlación entre el nivel de daño hepático y el control metabólico.

II. GENERALIDADES

2.1 DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus (DM) se define como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglicemia, como resultado de efectos en la secreción de insulina, acción de la insulina, o ambas. La hiperglicemia crónica de la diabetes se asocia con un daño a largo plazo, disfunción y falla de diversos órganos particularmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (6).

Varios procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la diabetes. Estos van desde la destrucción autoinmune de las células β del páncreas con la subsiguiente deficiencia de insulina, hasta anomalías que resultan en resistencia a la acción de la insulina. (Anexo 1).

2.2 DIABETES TIPO 2

La Diabetes tipo 2 es un término usado para individuos con resistencia a la insulina y usualmente con una deficiencia relativa a la insulina (6). Es una enfermedad heterogénea, poligénica y/o multifactorial, siendo su fenotipo el efecto acumulativo de la expresión defectuosa de más de un gen (7).

La mayoría de pacientes con esta forma de diabetes son obesos y la obesidad por sí misma causa algún grado de resistencia a la insulina. Estos pacientes están en riesgo incrementado para desarrollar complicaciones macro y microvasculares. El riesgo de desarrollar esta forma de diabetes se incrementa con la edad, obesidad y falta de actividad física (6).

2.3. LA VIA DEL POLIOL

La aldosa reductasa (AR; $NADP^+$ 1 – oxidoreductasa, EC 1.1.1.21) y la sorbitol deshidrogenasa (SDH, L – I ditol; NAD^+ 2 – oxidoreductasa, EC 1.1.14) se unen metabólicamente a la glucosa y fructosa en la vía del poliol.

$$\text{D – Glucosa} \xleftrightarrow[\text{NADPH / NADP}^+]{\text{AR}} \text{Sorbitol} \xleftrightarrow[\text{NAD}^+ \text{ / NADH}]{\text{SDH}} \text{S - Fructosa}$$

Esta vía se compone de:

1. Conversión de glucosa a sorbitol por la AR a través de la oxidación del fosfato de dinucléotido de nicotinamida y adenina reducida (NADPH) a fosfato de dinucléotido de nicotinamida y adenina ($NADP^+$).
2. Conversión del sorbitol a fructosa mediante la reducción del dinucléotido de nicotinamida y adenina (NAD^+) al NADH mediado por la SDH (1).

El significado de esta vía bajo las condiciones fisiológicas normales no es claro. Aunque, algunos estudios indican que sus roles fisiopatológicos están dirigidos al esclarecimiento de su participación en la DM. En esta enfermedad, la inadecuada elevación de la glucosa sanguínea lleva a severos problemas médicos que afectan tejidos donde la captación de glucosa no es dependiente de insulina, tales como los ojos (retina - retinopatía), riñones (nefropatía) y vasos sanguíneos (vasculopatía) (1), en donde se llevan a cabo la vía del poliol, así como también en las vesículas seminales y los tendones (8, 9).

La patología diabética da la idea de ser el resultado de la glicación de proteínas con cambios en sus propiedades funcionales (i), la acumulación de sorbitol y otros polioles deterioran la regulación osmolar (ii) y provocan desbalances metabólicos que asemejan a la hipoxia y al estrés oxidativo / reductivo (iii). La oxidación de sorbitol a fructuosa catalizada por la SDH está comprometida en todas éstas tres áreas y por lo tanto, tiene una posición central en el desarrollo de complicaciones diabéticas:

- Primero, en la hiperglicemia la SDH eleva los niveles de fructosa en el tejido, la reactividad incrementada de esta cetosa en comparación a la glucosa supone un riesgo relativamente superior para el fin adelantado de la glicación en mínimos productos químicos Maillard.
- Segundo, la SDH es responsable del control o transporte de polioles en muchos tejidos.
- Tercero, se ha planteado que los desbalances metabólicos en la diabetes son primariamente el resultado de un sustrato incrementado, un cambio mínimo en la ruta del poliol y un cambiante estado redox NAD/NADH determinado por la SDH (1, 3).

La AR está presente en el cerebro humano, nervios, músculos, eritrocitos y cristalino. Aunque la enzima purificada tiene baja afinidad por glucosa (Km 100 mM), puede activarse por la glucosa – 6 – fosfato, NADPH y glucosa (10).

Las diferentes concentraciones de los metabolitos de la vía del poliol en tejidos se muestran en el Anexo 2, donde los tejidos de ratones normales mostraron insignificantes niveles de sorbitol, mientras que los ratones deficientes de SDH mostraron una alta acumulación de sorbitol (11).

La acumulación de sorbitol es la alteración metabólica responsable de los trastornos observados en el cristalino (retención de agua, inflamación y daño del tejido) con formación de catarata diabética (8) cuando la deficiencia de SDH está presente (12). Sin embargo, el estrés oxidativo generado por la vía del poliol es probablemente un importante factor influyente en el lento desarrollo de la catarata diabética, así como en el desarrollo de otras complicaciones diabéticas (13).

En los nervios, además del efecto osmótico, se ha encontrado disminución de las concentraciones intracelulares del mioinositol, el glutation reducido, el ATP y la actividad de la sodio potasio ATP-asa (8), provocando degeneración de los axones, con desmielinización, junto a oclusión de los *vasa nervorum* (14); produciéndose la reducción en la velocidad de conducción nerviosa, sensitiva y motora. Esto ha sido comprobado en ratones diabéticos con deficiencia de SDH (11).

La vía del poliol también está implicada en la proteinuria de la nefropatía diabética. En el riñón se ha encontrado un mayor contenido de sorbitol, una reducción del mioinositol glomerular y una menor actividad sodio potasio ATP-asa. Los podocitos del glomérulo se observan tumefactos y deformados por la presencia del sorbitol (15).

En la pared de los vasos retinianos donde existe AR, se puede producir acumulación de sorbitol a nivel de las células endoteliales y células fagocitarias del sistema retículoendotelial, lo que contribuye al engrosamiento de la membrana basal capilar (16).

Se sospecha que la actividad de la vía del poliol está aumentada en los testículos, debido a que el espermatozoide utiliza fructosa como sustrato energético (17).

Se han hallado niveles incrementados de sorbitol en hígado de ratas y ratones, así como niveles ligeramente incrementados en los cristalinos de los ratones bajo condiciones de hiperglicemia. Asimismo, la acumulación de fructosa fue similar en hígado de ratas y ratones, y estuvo elevada en sangre de ratones diabéticos y en el cristalino de ratas diabéticas (18).

2.4 SORBITOL DESHIDROGENASA (SDH)

La sorbitol deshidrogenasa (SDH, L - iditol; NAD^+ 2 - oxidoreductasa EC 1.1.1.14), descrita como una ceto - reductasa dependiente del NAD^+ que en cadena a una AR dependiente de $NADP^+$, opera la transformación de glucosa en fructosa, vía la etapa intermedia del sorbitol (19).

La SDH está presente en todos los mamíferos (19), se localiza en la fracción citoplasmática del hepatocito (20) y presenta niveles altos de expresión en tejidos del riñón, cristalinos (01). También se reporta la presencia de SDH en células rojas (21) y en células blancas sanguíneas de pacientes afectados por diabetes (22). Por otro lado el torrente sanguíneo presenta muy poca SDH (23), aunque la aparición de su actividad enzimática en el plasma, sólo se da en casos de lesiones hepáticas (24) Anexo 3.

Los niveles de proteínas de SDH y actividades enzimáticas en diversos tejidos de ratas normales se presenta en el Anexo 4 y su comparación con ratas diabéticas en el Anexo 5.

La función de la SDH hepática es metabolizar el sorbitol que es absorbido en el yeyuno e ileon por medio de difusión pasiva y es transferida a la vena porta (25).

Si la captación de glucosa por el hígado no es dependiente de insulina, la reacción de glicación estaría incrementada en el hígado por la hiperglicemia (26). La SDH existe tanto en forma glicada y no glicada; con grandes cantidades de la proteína glicada en el hígado diabético, causando una disminución de la actividad de la SDH en dicho órgano (17).

Los niveles elevados de fructosa bajo condiciones diabéticas deben acelerar la glicación de SDH en vivo y de esta forma contribuyen a la disminución observada de la actividad de la SDH en el hígado (8).

2.4.1 Sorbitol deshidrogenasa humana

A la SDH se le asigna un papel central en el metabolismo de todos los polioles acíclicos, es un alcohol deshidrogenasa tetramérica alcohol dependiente (27), en mamíferos tienen un átomo de zinc, estructura cuaternaria y la subunidad presenta 356 residuos. La SDH humana es un alcohol deshidrogenasa secundaria estricta (28), no se ha demostrado que oxida alcoholes primarios, tampoco se tiene reportado que disminuya la función de los aldehidos (01).

La SDH exhibe un grado relativamente alto de estereoespecificidad (Anexo 6), que limita al mínimo las clases de sustratos pequeños, 2, 3 - butanedioles, donde existen menos elementos de reconocimiento molecular, y para alcoholes aromáticos secundarios (28, 29).

Existen considerables evidencias de múltiples formas de la SDH en especies no humanas (27). En efecto, la SDH humana con polimorfismo genético sólo fue detectada recientemente (30) y su alcance, su significancia funcional y su relación a diferentes formas descritas de la proteína son desconocidas. La SDH es expresada casi en todos los lugares, con solo una ausencia notable en el tracto intestinal de la rata (31). El modelo de la expresión del gen de la SDH en humanos es sorprendentemente diferente al de roedores (30, 32) y los niveles de expresión en tejidos afectados por complicaciones diabéticas en humanos (riñón y cristalino) por sí mismos traen la atención del rol fisiopatológico de la SDH humana y la necesidad de su estudio.

2.4.2 El posible rol fisiológico de la SDH

La SDH puede ejercer algún control en la formación de glucógeno en hígado de mamíferos, de la misma manera como sucede en huevos de Bómbix mori, la SDH puede inducir y convertir sorbitol a fructosa para la formación de glucógeno (33), por tanto tiene un rol más importante en el metabolismo de la energía de la que corrientemente ha sido apreciado.

2.5 DAÑO HEPÁTICO EN LA DIABETES

El hígado tiene un rol principal en la homeostasis de la glucosa (34) (Anexo 7), y en las enfermedades hepáticas el metabolismo de los carbohidratos es comúnmente afectado (35).

Los niveles alterados de insulina en la vena porta y la proporción insulina / glucagón podrían influenciar en la función del hepatocito y la integridad en los pacientes diabéticos (36) y predisponerlos a varios trastornos hepáticos (37).

Aunque la enfermedad hepática no es específica, se reconoce que está asociada con DM y el metabolismo alterado de la glucosa hepática podría estar involucrado en la patogénesis de la diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) (38).

2.5.1 El hígado graso

La falta de insulina origina la salida de triglicéridos y glicerol de las células adiposas, el hígado capta gran parte de los ácidos grasos y del glicerol liberados y los convierte de nuevo en triglicéridos, que se almacenan principalmente en este órgano. En esta forma pueden almacenar el 30% o más de su peso en grasa (39).

Por tanto, el hígado graso resulta de la vacuolización del retículo endoplasmático por acúmulo de triglicéridos, siendo visibles a la microscopía de la luz y electrónica como gotas finas o gruesas, de acuerdo a diferentes patogénesis y a la duración y severidad de este depósito. Es potencialmente reversible y no incluye necrosis significativa, inflamación, fibrosis y/o cirrosis (40), aunque en algunas circunstancias progresa y puede verse asociado a estos cambios (41).

El hígado graso estuvo presente en la muerte de al menos 20% de pacientes y es común tanto como la acidosis y el coma (42).

La principal alteración hepática en la Diabetes tipo 2, especialmente en los obesos, es el hígado graso o esteatosis que fluctúa entre 20 y 70% (43), pero es mínima en el sujeto insulino sensible (DMID), y se distribuye en la zonas periportales y no se acompañan de fibrosis (44).

Con frecuencia se ven gotas de grasas pequeñas o grandes en el citoplasma del hepatocito, con presencia ocasional de gránulos de hemosiderina alrededor del canalículo biliar (45).

En la diabetes insulino resistente (DMNID), el hígado puede estar aumentado con un borde liso, consistente y no sensible (46). El agrandamiento se debe a un aumento de los depósitos de grasa en el hígado, asimismo, las alteraciones grasas en el hígado pueden correlacionarse con el peso corporal (47).

En un estudio de 2,963 biopsias de hígado graso no alcohólico se hallaron 7 casos en pacientes con diabetes (48) y del estudio de 81 casos de hígado graso en Lima, el hallazgo de vasos con hialinosis de las paredes vasculares sugirieron fuertemente el diagnóstico de DM (49).

2.5.2 La glucogenización

En la DM clínica, la presencia de glucógeno hepático en los depósitos citoplasmático es común y normal en todos los tipos de diabetes humana (42).

En los diabéticos insulino sensibles (DMID), la extensa glucogenización de los núcleos de los hepatocitos se muestran como una vacuolización (50). Sin embargo, ocasionalmente, el hígado está grandemente aumentado consistente y presentando borde liso y sensible (44).

El exceso de glucógeno algunas veces explica el agrandamiento del hígado en la diabetes (42), cuyo mecanismo no ha sido explicado adecuadamente y podría estar vinculado con la conocida incapacidad del diabético para oxidar la glucosa (43).

Warren, Le Compte y Tanikawa sugirieron que la acumulación nuclear del glucógeno sería la evidencia de una permeabilidad alterada de la membrana nuclear para el glucógeno (45, 51); mientras que Zimmerman señaló que tal acumulación estaba en íntima relación con la hiperglucemia (52).

2.5.3 La cirrosis hepática

La cirrosis hepática es mucho más común entre los diabéticos que en las personas no diabéticas, sin que se conozca bien el motivo (53). Encontrándose en 0.44% (de más de 2000 pacientes diabéticos) (42).

2.5.4 La hiperbilirrubinemia – ictericia

La hiperbilirrubinemia se halla al menos en 10% de los casos y la ictericia clínica causada por la diabetes es rara. La urobilinogenuria ocurre tan frecuentemente como la hiperbilirrubinemia (45).

2.5.5 La colelitiasis

La hipercolesterolemia, a menudo asociado con diabetes, es un factor predisponente en la formación de cálculos biliares. Esto explica la presencia de colelitiasis en 31% de diabéticos, comparado con 21% en personas no diabéticas (42).

2.5.6 La hepatotoxicidad por el tratamiento con antidiabéticos orales

Reportes sobre la hepatotoxicidad relacionada al tratamiento con acarbosa (54) y sobre la disfunción hepática debido al uso del troglitazone, un nuevo antidiabético oral (55, 56) son limitados. Se han reportado valores de ALT altos en los pacientes tratados con sulfonilúreas (57) y de un estudio sobre la frecuencia de enfermedad hepática en 44,406 pacientes con Diabetes tipo 2 tratados con antidiabéticos orales, se hallaron 605 casos diagnosticados con enfermedad hepática, de los cuales solamente 57 casos fueron inducidos por el uso de drogas y 8 casos atribuidos a hígado graso, mientras que los demás se debían a diversas causas (58).

2.6 DIAGNÓSTICO ENZIMÁTICO

Las enzimas que sirven para evaluar las enfermedades hepáticas incluyen: alanina aminotransferasa (ALT) (EC 2.6.1.2), aspartato aminotransferasa (AST) (EC 2.3.22), fosfatasa alcalina (ALP) (EC 3.1.3.1), deshidrogenasa láctica (LD) (EC 1.1.1.27) y LD-5 (04). Otros indican al iditol (sorbitol) deshidrogenasa (EC 1.1.1.14) enzima específica del hígado (59). La distribución de algunas enzimas en los órganos se ven en el Anexo 8.

En un estudio de las pruebas de función hepática (PFH) en pacientes diabéticos se determinaron las actividades de γ-glutamil transpeptidasa (gGT), AST, ALT y ALP; las concentraciones séricas de albúminas (Alb) y bilirrubina total (Bil); los factores de coagulación del plasma; la concentración sérica del ácido

cholic (CA) y ácido chenodeoxycholic (CDCA). Donde los pacientes con DMNID más frecuentemente tuvieron resultados anormales en la PFH que los pacientes con DMID, se observaron valores anormales de Bil y ALP en los sujetos diabéticos con hígados normales, así como la ALT y gGT en los sujetos diabéticos con cambios de hígado graso (57).

Valores altos de iditol deshidrogenasa (ID) (SDH) son observados en pacientes con hepatitis aguda u otras formas de necrosis hepática aguda (60). En los diabéticos obesos se presentan elevaciones de enzimas hepáticas, sobre todo ALP debidas a ninguna otra causa (53).

Las alteraciones de las PFH son bien reconocidas en algunos pacientes diabéticos (61), especialmente en aquellos con descompensación metabólica aguda (62). Sin embargo, la prevalencia de los resultados anormales de las PFH y su relación con el diagnóstico clínico de diabetes así como los cambios patológicos en la estructura hepática son discutibles (61-63).

2.7 ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT)

La alanina aminotransferasa (ALT; anteriomente transaminasa glutámica pirúvica, GPT) (EC 2.6.1.2) se encuentra predominantemente en el citosol. Los tejidos que producen ALT se muestran en el Anexo 9.

Se observan concentraciones altas en afecciones agudas, como hepatitis viral, necrosis hepática inducida por fármacos y toxinas, e isquemia hepática, pero las elevaciones no se correlacionan con el grado de daño hepático, se observó un aumento temprano en casi todas las afecciones hepáticas y permanecen altas durante dos a seis semanas en presencia de enfermedad.

Tanto la, ALT y la AST séricas, se elevan cuando hay daño de las células hepáticas o pérdida de su integridad; sin embargo, es probable que la ALT se incremente antes de que se observen síntomas de traumatismo de las células hepáticas (04). Las causas clínicas de reducción o aumento de actividad de AST y ALT en suero se ven en el Anexo 10.

2.8 HEMOGLOBINA GLICOSILADA (Hb-G)

La Hemoglobina glicosilada describe una serie de componentes menos estables de hemoglobina, formados lentamente y no enzimáticamente de hemoglobina y glucosa. Anexo 11.

La cantidad de formación de la Hb-G es directamente proporcional a la concentración de glucosa en el ambiente. Puesto que los eritrocitos son francamente permeables a la glucosa, la Hb-G refleja más exactamente el control glicémico de los 2 a 3 meses previos, que es el promedio de vida de los eritrocitos (64).

La Hb-G es usada frecuentemente para monitorear el control de glucosa en sangre por un período largo en pacientes con diabetes. Tres especies de Hb-G son actualmente medidos para el control de pacientes diabéticos: HbA_1, HbA_{1C} y Hb-G total (65).

La Asociación Americana de Diabetes recomienda que la meta de la terapia sería Hb-G < 7% y el médico revaloraría el régimen de tratamiento en pacientes con valores de Hb-G consecuentemente > 8% (64).

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

3.1.1 Población

La población estuvo conformada por pacientes diagnosticados con Diabetes tipo 2, quienes acudían en ayunas a su control en el Hospital Militar Central (HMC) de Lima.

3.1.2 Muestra: Recolección y Almacenamiento

La muestra estuvo conformada por 37 pacientes de ambos sexos de 37 a 82 años de edad y por un grupo de 15 personas aparentemente sanas de ambos sexos de 32 a 71 años de edad.

Las muestras de sangre venosa extraídas se distribuyeron así: 2 ml a un vial con 20 µl de etilendiaminotetracetato (EDTA) 5% para determinar Hb-G y 5 ml a un tubo vacuntainer 13 x 100 mm el cual luego de un reposo de 10 minutos se procedió a centrifugar a 4,000 rpm por 5 a 10 minutos y posteriormente se separó el suero a otro tubo con tapa para realizar las determinaciones de glucosa, SDH y ALT.

Las muestras fueron procesadas dentro de las seis horas de haberse extraido, teniendo en consideración que la glucosa sérica es estable durante 24 horas almacenada entre 2-8° C; la SDH sérica es muy labil y la actividad enzimática cae aproximadamente 1% por hora a temperatura ambiente y alrededor de 0.5% por hora a 0° C; la Hb-G se mantiene estable por una semana a temperatura de 2 – 8° C y para la ALT lo mejor es medir la actividad enzimática en el intervalo de algunas horas después de efectuada la extracción de la sangre porque la pérdida de actividad en el suero es inferior al 10% durante cuatro días a 2 – 8° C.

Las determinaciones de SDH y ALT se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica del Servicio de Laboratorios Clínicos del HMC, la glucosa en el Laboratorio de Endocrinología del HMC, y la Hb-G se realizó en el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo" Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM.

3.2 EQUIPOS Y REACTIVOS

3.2.1 Equipos.

- Centrífuga.
- Espectrofotómetro DIGI SPEC Laboratorios Helena
- Espectrofotómetro VITALAB Selectra 2 (equipo automatizado).
- Espectrofotómetro Merck Microlab 200 (equipo semiautomatizado)
- Baño María.
- Cronómetro.

3.2.2 Reactivos.

- Alcohol 90°.
- 1 kit de glucosa ecoline de MERCK.
- 2 kit de Glicohemoglobina de POINTE SCIENTIFIC. INC.
- 2 kits de sorbitol dehydrogenase de SIGMA DIAGNOSTICS.
- 1 kit de ALAT Tris (GPT) ecoline 2S. de MERCK.

3.3 PRUEBA DE SORBITOL DESHIDROGENASA

3.3.1 Fundamento.

La técnica Sigma implica la siguiente reacción:

$$\text{D-Fructosa} + \text{NADH} \xrightleftharpoons{\text{SDH}} \text{D-Sorbitol} + \text{NAD}$$

Se basa en la reducción catalítica de fructosa hacia sorbitol utilizando la coenzima, adenina dinucleótido nicotinamida reducida (NADH) que se oxida a NAD y esto es medido a través de la disminución en la absorbancia a 340 nm convirtiéndose en medida de la actividad de SDH.

3.3.2 Reactivos.

- NADH
- Nicotinamida adenina dinucleótido, forma reducido, sal disódica 0.2 mg/vial.
- Solución Buffer Trizma.
- Tris (hidroximetil) aminometano, 0.1 mol/L, pH 7.5 a 25° C.
- Solución de fructosa (β-D- (-) Fructosa, 72 g/dL)

3.3.3 Procedimiento manual.

1. En un vial de NADH de 0.2 mg, se pipetea 2.0 ml de buffer TRIZMA y 0.5 ml de suero. Se mezcla por agitación generosa y se deja reposar al menos 10 minutos.
2. Se inicia la reacción añadiendo: 0.5 mL de solución de fructosa, que había sido precalentada a temperatura de reacción. Se mezcla por inversión e inmediatamente se transfiere la solución a la cubeta.
3. Se pone en marcha cronómetro y se lee la absorbancia de 340 nm en un espectrofotómetro con compartimiento de temperatura controlada contra agua o solución de Dicromato de Potasio como blanco a intervalos de 1 minuto durante 5 a 8 minutos.
4. Se calcula el ΔA para cada intervalo de 1 minuto y luego se determina el ΔA promedio por minuto durante un período linear.

La temperatura de la mezcla de reacción debe mantenerse a 25° C o alguna otra temperatura constante.

3.3.4 Cálculos.

Se utiliza la siguiente fórmula:

$$SDH\ (U\ Sigma/mL) = \Delta A/min \times 58.000 \times TC$$

$$\text{Donde: } SDH\ (U\ Sigma/mL) = \frac{\Delta A/min \times 3 \times 60}{0.00622 \times 0.5} = \Delta A/min \times 58.000 \times TC$$

3: Volumen de reacción (mL).

60: Conversión de ΔA/min a ΔA/hora.

0.00622 : Absorptividad micromolar del NADH a 340 nm.

0.5 : Volumen de la muestra (mL).

TC: Aprox. de la corrección de temperatura (1.0 a 25°C).

Nota: Si el ΔA por minuto es mayor a 0.025 (o 1450 U Sigma/mL) durante los primeros minutos, se hace una dilución adecuada del suero con agua y se repite la prueba. Se multiplican los resultados por el factor de dilución.

- **Corrección de la temperatura:**

  La temperatura de la cubeta debe ser mantenida exactamente a 25° C o los resultados deben corregirse. Las correcciones de temperatura (TC) para la SDH no se han determinado; sin embargo, es una guía un poco irregular. Los factores de corrección para la transaminasa oxalacética sérica da un promedio de 7% por ° C. Por cada grado por debajo de 25° C, los resultados deben elevarse en 7% y para cada grado sobre 25° C se reducen 7%. Un factor similar es aplicable para SDH.

- **Definición de Unidades:**

  Una U Sigma de SDH=1 milimicromol de NADH oxidado por hora a 25° C. Bajo condiciones de muestra descritas, una Unidad Internacional (U) de una enzima se define como la cantidad que convertirá 1 μmol de sustrato por minuto bajo las condiciones específicas en el procedimiento. Las unidades Sigma de SDH, como las empleadas en este procedimiento, pueden ser convertidas a mili Unidades Internacionales(mU) por la división entre 60.

- **Valores esperados:**

  Para la SDH normal: hasta 60 U Sigma/mL. También se han reportado valores elevados en hepatitis 3,000 a 10,000 U Sigma/mL; en el infarto de miocardio, pancreatitis, cirrosis hepática, ictericia obstructiva y DM hasta 360 U Sigma/mL

3.4 PRUEBA DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA (Hb-G)

3.4.1 Fundamento

Se basa en el empleo de una resina de intercambio catiónico de enlace débil para la rápida separación de la Hb-G, fracción rápida (Hb_{1a}, A_1b, A_1c) que eluye primero en la columna cromatográfica que la hemoglobina no glicosilada, la hemoglobina más pesada (HbAo). Se determina el porcentaje de Hb-G mediante la medición de la absorbancia a 415 nm de la fracción de la Hb-G y la fracción total de la hemoglobina. La relación de las dos absorbancias permite determinar el porcentaje de Hb-G.

3.4.2 Reactivos.

- Resina de intercambio catiónico 8 mg/ml en un Buffer de borato, pH 6.9.
- Reactivo lisante de Hb-G, 10 mM de Cianuro de Potasio adicionado con 20 ml de surfactante.
- Separadores de suero.
- Estándar de Hb-G
- Agua desionizada

3.4.3 Recolección y preparación de la muestra.

No se requiere personas en ayuno y se sigue la recolección y almacenamiento como se señala en 3.1.2. Las muestras severamente lipémicas y la hemoglobina fetal (HbF) pueden causar resultados elevados, la bilirrubina puede interferir con los métodos de intercambio de iones y las muestra de hemoglobina total mayor de 18 g/dl deberán ser diluidas por dos de agua desionizada antes de la prueba.

3.4.4 Procedimiento.

- Preparación del hemolizado.
  1. Se dispensa el reactivo lisante 500 µl dentro del tubo luego se coloca 100 µl de la muestra de sangre bien mezclada.
  2. Se mezcla y deja reposar por 5 minutos o hasta que las lisis sea evidente

- Preparación de Hb-G.
  1. Se vierten 3.0 ml de la resina de intercambio catiónico de la Hb-G dentro de los tubos de vidrio.
  2. Se agrega 100 µl de la solución hemolizada.
  3. Se acondicionan los separadores de los filtros en los tubos de tal manera que la caja de goma se encuentre aproximadamente a 1 cm por encima del líquido.
  4. Se colocan los tubos en el rotador y mezclan por 5 minutos. Se retiran y presionan los separadores de los filtros dentro de los tubos hasta que la resina se encuentre empacada firmemente.
  5. Se vierte el sobrenadante a la cubeta para la medición de la absorbancia. Llevando a cero el espectrofotómetro a 415 nm (405 a 420 nm se considera aceptable) con agua desionizada como blanco. Se toman las lecturas y registran los valores de absorbancia para el estándar y muestra. Estas lecturas son para la Hb-G.
- Fracción de la Hemoglobina Total.
  1. Se dispensan 5.0 ml de agua desionizada dentro de los tubos y se añade 20 µl del hemolizado.
  2. Se ajusta el espectrofotómetro a 415 nm con agua desionizada como blanco. Se toman las lecturas y se registran los valores de absorbancia para el estándar y la muestra. Estas lecturas son para la hemoglobina total. **Nota**: La prueba de Hb-G debe llevarse a cabo a temperatura ambiente 21 a 26° C. Las lecturas deben realizarse dentro del lapso de una hora, aunque los productos de reacción final para la Hb-G y la hemoglobina total son bastante estables.

3.4.5 Cálculos

Los resultados para las muestras y los controles se calculan de la siguiente manera:

Para cada una de las muestras, se calcula la relación (R) de la absorbancia de la Hb-G a la absorbancia de la hemoglobina total.

$$\text{Desconocido}(\%) = \frac{\text{R (desconocido)} \times \text{St. Conc (\%)}}{\text{R (estándar)}}$$

Donde:

$$\text{R(desconocido)} = \frac{\text{Absorbancia de la Hb-G}}{\text{Absorbancia de Hemoglobina Total}}$$

$$\text{R(estándar)} = \frac{\text{Absorbancia St. de Hb-G}}{\text{Absorbancia St. de Hemoglobina Total}}$$

- Valores Normales: De 6.0 a 8.3%

3.5 PRUEBA DE ALANINA –AMINOTRANSFERASA (ALAT)

Para la determinación fotométrica de la ALT según las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).

3.5.1 Fundamento.

Se basa en la siguiente reacción:

$$\text{2-oxoglutarato + L-alanina} \xrightleftharpoons{\text{ALAT}} \text{glutamato + piruvato}$$

$$\text{piruvato + NADH + H}^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{lactato + NAD}^+$$

Donde la velocidad de disminución del NADH se mide fotométricamente y es directamente proporcional a la actividad del ALAT en la muestra.

3.5.2 Reactivos

- Solución reactiva
- Reactivo iniciador

- Concentraciones en la prueba:
  - Tampón tris, pH 7,5 100 mmol/l NADH 0,18 mmol/l
  - L-alanina 500mmol/l LDH ≥ 1,222 kU/l
  - 2-oxoglutarato 15mmol/l
  - Merck Qualitrol

3.5.3 Procedimiento para el inicio de la reacción con la muestra.

1. Se colocan 50 µl de suero o plasma.
2. Se añade 500 µl de la solución de reacción previamente calentada a 37° C.
3. Se mezcla e incuba durante un minuto.
4. Se mide a 340 nm y 37° C la disminución de la extinción cada minuto durante tres minutos.

3.5.4 Cálculos

Se utiliza la siguiente formula:

Actividad enzimática (U/l) = (ΔE/min).F

Donde: F:1746 para lecturas a 340nm.

Límite de dilución.

Si al comienzo de la medición los valores son superiores a los expuestos a continuación:

	340 nm
ΔE/min	0.137
U/l	220

Se diluye la muestra 1+10 con solución salina fisiológica, se repite la determinación y se multiplica el resultado por 11.

- Valores normales:

	37 °C
Hombres	9 – 36
Mujeres	9 - 43

3.6 PRUEBA DE GLUCOSA

3.6.1 Fundamento.

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de la glucosa.

$$\text{Glucosa} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Ácido glucónico} + H_2O_2$$

El peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminoantipirina y fenol en presencia de peroxidasa (POD) , formando una quinona-imina coloreada, que es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

3.6.2 Reactivos.

- Reactivo de glucosa ecoline de MERCK:

  Mezcla enzimática.

  Solución tampón.

  Patrón (glucosa a 100 mg/dl 5,55 mmol/l)

- Concentración en la solución reactiva:

Tampón de fosfato (pH 7,3 a + 30°C)	100 mmol/ l
4-Aminoantipirina	0,25 mmol/
Fenol	16 mmol/l
Glucosa oxidasa	≥ 20 000 U/L
Peroxidasa	≥ 1 000 U/l

3.6.3 Procedimiento.

1. Se coloca 10 µl del patrón en un tubo y 10 µl de la muestra en otro tubo.
2. Luego se añade a cada tubo 1,000 µl de la solución reactiva preparada previamente.
3. Se mezcla bien e incuba 30 minutos a 20° C ó 25° C, ó 10 minutos a 37° C.
4. Se mide a 500 ó 546 nm las densidades ópticas de la muestra y el patrón frente al blanco. La DO permanece por 120 minutos.

3.6.4 Cálculos.

Se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración de la glucosa} = \frac{\text{DO muestra}}{\text{DO patrón}} \times \text{Conc. patrón.}$$

- Límite de dilución: 500 mg/dl (27,8 mmol/l)
- Valores de referencia: En suero, plasma (ayuno): 75 a 115 mg/dl (4,2 a 6,4 mmol/l).

IV. RESULTADOS

Los datos y valores obtenidos de las pruebas efectuadas en los pacientes con Diabetes tipo 2 y en las personas aparentemente sanas, se presentan en la Tabla I y Tabla II.

En la Tabla III se presenta la estadística de los datos y parámetros analizados en los pacientes con Diabetes tipo 2 y en las personas aparentemente sanas, donde se observa una marcada diferencia de los valores de las medias de la SDH, ALT, Hb-G y Glucosa (Grafico 1).

En la Tabla IV se puede apreciar la correlación entre las variables estudiadas en los pacientes con Diabetes tipo 2; el de significación estadística fue para la glucosa y Hb-G ($r = 0{,}4098$; $p < .02$) (Gráfico 2), seguido de la SDH y ALT ($r = 0.3379$; $p < .05$) (Gráfico 3).

En la Tabla V se presentan las correlaciones de los parámetros analizados en personas sanas demostrándose una dirección directa entre al glucosa y Hb-G ($r = 0{,}5974$; $p < .02$) (Gráfico 4).

En la Tabla VI al agrupar a los pacientes con Diabetes tipo 2 por grupos de edad, se encontró que la Hb-G es proporcional al incremento de la edad.

En la Tabla VII al agrupar a los pacientes por sexos no se halló diferencias significativas en los niveles de SDH.

Tabla VIII al agrupar a los pacientes por grupos de edad y correlacionarlos con las diversas variables estudiadas, se encontró en el grupo etáreo 50 –59 años correlación directa entre SDH y Hb-G ($r = 0{,}8139$; $p < .01$) (Gráfico 5) y correlación inversa entre Hb-G ($r = -0{,}8055$; $p < .01$), SDH y peso ($r = -0{,}8085$; $p < .01$) y en el grupo de 70 años o más se encontró correlación directa entre a SDH y peso ($r = 0{,}8637$; $p < .01$).

En la Tabla IX al analizar los datos de los pacientes con Diabetes tipo 2, según los niveles de glicemia se observa que la SDH disminuye en el intervalo (115 –139 mg/dL) y en el cuarto intervalo (> 200 mg/dL) de glucosa , con un coeficiente de variación mayor de 32%.

En la Tabla X, al agrupar a los pacientes con Diabetes tipo 2 según los niveles de Hb-G (buen control 6.0 – 8.3% y mal control metabólico > 8.3%), se encontró que el 64.8% estaban descompensados, y que las variables estudiadas: SDH, Hb-G, glucosa y ALT se hallan significativamente incrementadas en 67.70%, 50.65%, 33.62% y 24.50% respectivamente con relación a los bien controlados.

En la Tabla XI donde agrupan a los pacientes con Diabetes tipo 2 según los niveles de glucosa se encontró en el intervalo < 115 mg/dL: correlación directa entre SDH y peso ($r = 0.6732$; $p < .05$); en el intervalo 115 – 139 mg/dL: correlación negativa entre Hb-G y peso ($r = -0,7510$; $p < .05$) y entre Hb-G e índice de masa corporal (IMC) ($r = - 0,6764$; $p < .05$); correlación positiva entre la Hb-G y SDH ($r = 0,7505$; $p < .05$); en el intervalo 140 – 200 mg/dL de: correlación directa entre Hb-G y edad ($r = 0,6214$; $p < .05$), SDH y peso ($r = 0,5795$; $p < .05$) y entre SDH e IMC ($r = 0,6642$; $p < .05$)

En la Tabla XII se observa que los niveles de la actividad de la SDH incrementan progresivamente de acuerdo al tiempo de la enfermedad de los pacientes con Diabetes tipo 2.

En la tabla XIII se presentan la sdiferencias entre las medias de los parámetros evaluados de los diabéticos y los controles, observándose que la SDH de los diabéticos es la más incrementada (93,4 U Sigma/mL).

En las Tablas XIV, XV, XVI y XVII, se analizan las variables SDH, ALT y Hb-G, con algunas variables cualitativas y ordinarias en los pacientes con Diabetes tipo 2, mediante la prueba chi cuadrado (χ^2), para comparar las frecuencias observadas con las frecuencias esperadas, encontrándose los valores de $\chi^2 < 3.84$, con un grado de libertad para cada variable. Por tanto, aceptamos la hipótesis nula, en el sentido de que no existe relación significativa entre las variables SDH, ALT y

Hb-G con la presencia de patologías asociadas no hepáticas, con el tratamiento, con los antecedentes familiares y la actividad física.

4.1 INFORME ESTADÍSTICO

Se procedió a calcular la media y dispersión de los datos de 37 pacientes diabéticos y 15 personas aparentemente sanas. La desviación estándar, DE, expresa la dispersión de los datos observados; el error estándar, ES, la dispersión de la media; ambos en las mismas unidades que la media; y el coeficiente de variación, CV%, es la media de dispersión relativa y sirve para comparar la dispersión de variables que tienen diferentes niveles de valor medio o diferentes unidades.

Se estimó el coeficiente de correlación entre Hb-G, ALT, SDH y las demás variables, con sus respectivos niveles de significancia. También se graficaron los valores medios de las variables: SDH, ALT, Hb-G y glucosa en pacientes con Diabetes tipo 2 y personas aparentemente sanas (Gráfico 1); las correlaciones en pacientes diabéticos entre glucosa y Hb-G ($r = 0,4098$; $p < .02$) (Gráfico 2); SDH y ALT ($r = 0,3379$; $p < .05$) (Gráfico 3); Hb-G y SDH ($r = 0,8139$; $p < .01$) (Gráfico 5) en el grupo etáreo 50 – 59 años y en grupo de personas aparentemente sanas entre glucosa y Hb-G ($r = 0,5974$; $p < .02$) (Gráfico 4).

4.1.1 Relación entre SDH, ALT, Hb-G y algunas variables cualitativas y ordinales

Para estimar esta relación se analiza tablas denominadas "tablas de contingencias", determinadas por los rangos de cada parámetro y los niveles de las variables. Las frecuencias observadas así obtenidas se comparan con las frecuencias esperadas mediante la prueba chi-cuadrado.

DATOS Y VALORES OBTENIDOS DE LOS PACIENTES CON DIABETES TIPO 2

Nº	SEXO	EDAD (años)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	IMC (Kg/m²)	GLU (mg/dL)	Hb-G (%)	ALT (U/L)	SDH US/mL	Tiempo de enfermedad (años)	Patología asociada no hepática	Tipo de tratamiento	Antecedentes familiares	Dieta	Actividad física
1	M	74	70	1.63	26.4	244	14.85	30	161.5	10	NO	G	NO	NO	L
2	F	59	46	1.50	20.4	134	13.74	42	219.9	22	SI	G	SI	SI	M
3	M	82	79	1.74	26.1	172	16.20	27	264.3	10	NO	G	SI	SI	M
4	F	71	72	1.58	28.8	83	12.02	26	149.0	12	SI	T	NO	SI	L
5	F	67	61	1.57	24.7	58	11.00	12	107.8	19	SI	G	SI	SI	M
6	M	73	63	1.56	25.9	138	09.73	15	84.5	20	SI	G	SI	SI	M
7	M	73	75	1.68	26.6	126	09.65	56	161.8	18	SI	G/M	SI	NO	M
8	F	66	70	1.60	27.3	145	10.40	18	327.0	0.5	NO	G	NO	NO	L
9	M	54	65	1.66	23.6	220	11.17	26	113.8	05	NO	T	SI	NO	L
10	M	65	80	1.62	30.5	138	08.50	21	96.8	16	NO	T	NO	NO	L
11	F	65	102	1.56	41.9	102	08.42	72	197.4	1.5	SI	G/M	SI	NO	L
12	F	76	66	1.50	29.3	130	11.55	44	157.2	10	SI	G	NO	SI	M
13	M	62	86	1.70	29.8	130	07.59	42	181.1	05	SI	G	NO	SI	M
14	F	37	48	1.59	19.0	96	06.28	44	94.4	14	SI	T	NO	NO	L
15	F	85	64	1.64	23.8	180	11.70	29	142.9	10	SI	G	NO	SI	L
16	F	60	52	1.54	21.9	158	08.96	20	196.0	14	SI	T	NO	NO	L
17	F	55	65	1.58	26.0	186	07.15	36	114.5	02	NO	D	NO	NO	L
18	M	54	61	1.80	18.8	110	08.34	24	157.5	0.1	NO	G	SI	SI	M
19	M	53	69	1.62	26.3	214	08.69	69	145.6	06	NO	G	NO	SI	M
20	F	65	60	1.50	26.7	130	08.98	38	98.4	05	NO	G	NO	NO	L
21	M	63	68	1.64	25.3	110	07.63	21	125.8	15	SI	G	NO	SI	M
22	M	65	78	1.65	28.7	186	10.63	24	336.8	30	SI	G	SI	SI	L
23	F	65	64	1.60	25.0	126	07.77	34	82.8	01	SI	G	SI	SI	M
24	M	65	67	1.66	24.3	115	06.75	53	148.4	23	SI	T	NO	NO	M
25	F	50	64	1.60	25.0	186	08.45	16	86.4	04	NO	G	SI	NO	M
26	F	67	86	1.65	31.59	300	08.81	20	219.3	14	NO	G	SI	NO	M
27	F	63	45	1.45	21.40	162	09.63	33	163.3	17	NO	G/T	SI	SI	M
28	F	61	55	1.52	23.81	145	06.70	12	113	21	SI	G	SI	SI	M
29	F	48	71	1.68	25.16	202	08.95	33	254.5	12	SI	M/T	SI	SI	M
30	F	61	75	1.62	28.58	196	08.93	163	309.1	18	NO	T	SI	NO	M
31	F	52	69	1.62	26.29	89	06.57	17	64.5	02	NO	D	SI	SI	M
32	F	67	61	1.62	23.24	258	13.80	27	89.1	20	SI	G/T	SI	SI	L
33	F	58	83	1.57	33.67	126	06.81	28	76.7	23	SI	T	SI	NO	M
34	F	64	68	1.65	24.98	130	07.38	25	134.8	03	SI	G	SI	NO	M
35	F	75	62	1.62	23.62	96	06.85	12	88.4	15	SI	T	SI	SI	L
36	M	54	75	1.61	28.93	116	06.15	45	27.1	0.3	NO	D	SI	SI	M
37	M	68	73	1.67	26.18	105	06.01	16	119.6	18	NO	G	SI	SI	M

Donde:

G Glidiabet
I Insulina
M Metformin
D Dieta exclusiva

L Leve
M Moderado

TABLA II

DATOS Y VALORES OBTENIDOS DE LAS PERSONAS APARENTEMENTE SANAS

N°	SEXO	EDAD (años)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	IMC (Kg/m^2)	Glu (mg/dL)	Hb-G (%)	ALT (U/L)	SDH US/mL
1	F	39	64	1.62	24.39	93	36	36	63.30
2	F	42	68	1.55	28.30	96	14	14	66.30
3	F	32	53	1.58	21.23	90	16	16	61.30
4	F	36	49	1.58	19.63	81.4	12	12	57.18
5	F	52	57	1.57	22.83	90.0	11	11	54.41
6	F	38	53	1.54	22.35	90.0	24	24	49.74
7	M	42	53	1.58	21.23	90.0	15	15	60.83
8	M	63	67	1.63	25.20	95.	13	13	47.10
9	M	55	53	1.48	24020	108	19	19	56.90
10	M	70	55	1.50	24040	105	27	27	62.40
11	M	62	58	1.50	25.80	120	34	34	60.40
12	M	71	67	1.63	25020	102	31	31	53.10
13	M	57	61	1.80	18.80	109	18	18	61.00
14	M	50	72	1.65	26.40	85	14	14	60.90
15	F	64	52	1.50	23.10	86	10	10	58.20

TABLA Nº III

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA PACIENTES DIABÉTICOS (n = 37)									
	Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH	Tiempo enf.
Mediana	65,00	68,00	162,00	26,0	138,00	8,81	27,00	142,9	12,00
Media	63,30	68,05	161,08	26,20	150,86	9,15	34,32	151,60	11,79
DE	9.58	11.53	6.93	4.18	51,94	2.38	26.32	73.67	7,97
ES	1,57	1,89	1,14	0,69	8,54	0,39	4,33	12,11	1,31
CV%	15.13	16,94	4,30	15,94	34,43	26,01	76,69	48,60	67,58

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA PERSONAS APARENTEMENTE SANAS (n = 15)									
	Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH	
Mediana	52,00	57,00	158,00	24,39	95,00	6,58	16,00	60.83	
Media	51,53	58,80	158,13	23,54	96,03	6,65	19,60	58,20	
DE	12,83	7,17	8,09	2,59	10,67	0,78	8,65	5,23	
ES	3.31	1.85	2.09	0.67	2.76	0.20	2.23	1.35	
CV%	24,90	12,20	5,11	11,00	11,11	11,71	44,13	8.99	
p	<0,001	< 0.01	n.s.	<0,05	<0,001	<0,001	< 0,05	<0,001	

TABLA IV

CORRELACIÓN ENTRE Hb-G, ALT, SDH Y DEMÁS PARÁMETROS PACIENTES DIABÉTICOS (n = 37)									
		Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH	Tiempo enf.
Hb-G	r	0,4135	-0,1562	-0,1260	-0,1103	0,4098		-0,0218	0,2874	0,1925
	p	<0,02	n.s.	n.s.	n.s.	<0,02		n.s.	n.s.	n.s.
ALT	r	-0,1113	0,2237	-0,0131	0,2522	0,1290	-0,0218		0.3379	0,0013
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		<0,05	n.s.
SDH	r	0,1692	0,2340	0,1847	0,1392	0,3146	0,2874	0,3379		0.1767
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0.05		n.s.

TABLA V

CORRELACIÓN ENTRE Hb-G, ALT, SDH Y DEMÁS PARÁMETROS PERSONAS APARENTEMENTE SANAS (n = 15)									
		Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH
Hb-G	r	0,5232	0,2960	0,1748	0,2024	0,5974		0,2438	-0,1665
	p	<0,05	n.s.	n.s.	n.s.	<0,02		n.s.	n.s.
ALT	r	0,2112	0,1575	-0,0788	0,2522	0,5827	0,2438		0,1218
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,05	n.s.		n.s.
SDH	r	-0,2313	0,0618	-0,0148	0,1143	0,1143	-0,1665	0,1218	
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

TABLA N° VI

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE PACIENTES DIABÉTICOS POR GRUPOS DE EDAD								
	Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH
< 50 AÑOS (n = 2)								
Media	42,50	59,50	153,50	22,08	149,00	7,62	38,50	174,45
DE	7,78	16,26	5,36	4,36	74,95	1,89	7,78	113,21
ES	5.50	11,50	4.50	3.08	53.00	1.34	5.50	80.05
CV%	18,30	27,33	3,89	19,73	50,30	24,79	20,20	64,89
50 – 59 AÑOS (n = 9)								
Media	54,33	66,33	151,78	25,44	153,44	8,56	33,17	169,16
DE	2,78	10,11	8,14	4,40	48,46	2,46	35,11	81,88
ES	0,93	3,37	2,71	1,47	16,15	0,82	8,27	19,30
CV%	5,12	15,24	5,03	17,29	31,58	28,77	97,07	48,41
60 – 69 AÑOS (n = 18)								
Media	64,39	69,50	160,11	26,99	151,89	8,88	36,17	169,16
DE	2,30	13,76	6,59	4,69	56,26	2,21	35,11	81,88
ES	0,54	3,24	1,55	1,11	13,26	0,52	8.27	19,30
CV%	3,58	19,80	4,11	17,39	37,04	24,87	97,07	48,41
70 ó MÁS AÑOS (n = 8)								
Media	76,13	68,88	161,88	26,32	146,13	10,81	29,88	151,20
DE	4,85	6,15	7,38	2,03	51,58	2,32	14,38	55,44
ES	1.72	2,17	2.61	0.72	18,24	0.82	5.08	19,60
CV%	6,38	8,93	4,56	7,73	35,30	21,46	48,12	36,66

TABLA N° VII

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE PACIENTES DIABÉTICOS SEGÚN SEXOS								
	Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH
HOMBRES (n = 14)								
Media	64,64	72,07	166,00	26,24	153,86	8,99	33,50	151,76
DE	8,88	7,17	5,90	2,93	45,64	2,33	16,65	75,59
ES	2,37	1,92	1,58	0,78	12,20	0,62	4,45	20,20
CV%	13,74	9,95	3,55	11,15	29,66	25,91	49,70	49,81
MUJERES (n = 23)								
Media	62,48	65,61	158,09	26,18	149,04	9,25	34,83	151,51
DE	10,09	13,05	5,76	4,85	56,34	2,46	31,13	74,20
ES	2,10	2,72	1,20	1,01	11,75	0,51	6,49	15,47
CV%	16,14	19,90	3,64	18,51	37,80	26,56	89,39	48,97

TABLA N° VIII

CORRELACIÓN ENTRE Hb-G, ALT, SDH Y DEMÁS PARÁMETROS POR GRUPOS DE EDAD									
		Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH
50 – 59 AÑOS (n = 9)									
Hb-G	r	0,3968	-0,8055	-0,2411	-0,62,98	0,3219		0,1348	0,8139
	p	n.s.	<0,01	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.	<0.01
ALT	r	0,2423	-0,0119	-0,2410	0,0929	0,3391	0,1348		0,2776
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
SDH	r	0,4434	-0,8085	-0,0447	-0,7124	0,2044	0,8139	0,2776	
	p	n.s.	<0,01	n.s.	<0,05	n.s.	<0,01	n.s.	
60 – 69 AÑOS (n = 18)									
Hb-G	r	0,2937	-0.1665	-0.1478	-0.1235	0.4258		-0.0497	0.1155
	p	n.s.	n.s.	n..s.	n.s.	n.s.		n.s.	n.s.
ALT	r	-0,3470	0,2844	0,0543	0,3170	0,1236	-0,0497		0,3921
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
SDH	r	-0,1680	0,3296	0,1674	0,2970	0,3040	0,1155	0,3921	
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
70 o MÁS AÑOS (n = 8)									
Hb-G	r	0,0121	0,2228	-0,1312	0,4325	0,6578		0,2747	0,3071
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.	n.s.
ALT	r	-0,0448	0,4731	0,0753	0,4745	0,0802	0,2747		0,3886
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
SDH	r	0.4383	0,8637	0,6119	0,2657	0,3583	0,3071	0,3886	
	p	n.s.	<0.01	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

TABLA Nº IX

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE PACIENTES DIABÉTICOS SEGÚN NIVELES DE GLICEMIA								
	Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDII
< 115 mg/dl (n = 9)								
Media	61,33	68,44	162,78	26,07	94,33	8,12	27,11	122,71
DE	11,76	14,71	7,36	6,80	16,38	2,12	19,46	40,45
ES	3,92	4,90	2,45	2,27	5,46	0,71	6,49	13,48
CV%	19,17	21,49	4,52	26,07	17,36	26,08	71,79	32,96
115 – 139 mg/dl (n = 10)								
Media	65,00	69,80	158,40	27,68	129,40	9,05	36,50	118,63
DE	7,18	12,25	7,21	3,62	6,54	2,27	12,26	58,67
ES	2,27	3,88	2,28	1,14	2,07	0,72	3,88	18,55
CV%	11,05	17,56	4,55	13,08	5,05	25,14	33,59	49,46
140 – 200 mg/dl (n = 12)								
Media	64,75	65,17	160,42	25,16	166,75	8,91	38,00	194,57
DE	9,89	10,33	7,56	2,33	20,01	1,66	40,82	90,53
ES	2,86	2,98	2,18	0,67	5,78	0,48	11,78	26,13
CV%	15,28	15,85	4,71	9,25	12,00	18,65	107,42	46,53
> 200 mg/dl (n = 6)								
Media	60,50	70,33	164,33	26,05	239,67	11,38	34,17	163,97
DE	10,21	8,52	2,42	3,02	35,94	3,20	17,61	62,81
ES	4,17	3,48	0,99	1,23	14,67	1,31	7,19	25,64
CV%	16,88	12,12	1,47	11,59	15,00	28,14	51,55	38,30

TABLA Nº X

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE PACIENTES DIABÉTICOS SEGÚN NIVELES DE Hb - G								
	Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH
6,0 – 8,3 % (n = 13)								
Media	59,92	67,92	161,77	25,91	123,85	6,89	29,62	105,34
DE	9,25	10,23	4,76	3,50	26,52	0,58	13,74	39,50
ES	2,57	2,84	1,32	0,97	7,36	0,16	3,81	10,96
CV%	15,44	15,06	2,94	13,49	21,41	8,36	46,91	37,50
> 8,3 % (n =24)								
Media	65,13	68,13	160,71	26,36	165,50	10,38	36,88	176,66
DE	9,44	12,38	7,93	4,57	56,74	2,06	31,09	76,26
ES	1,93	2,53	1,62	0,93	11,58	0,42	6,35	15,57
CV%	14,49	18,18	4,93	17,32	34,28	19,85	84,31	43,17

TABLA N° XI

CORRELACIÓN ENTRE Hb-G, ALT, SDH Y DEMÁS PARÁMETROS SEGÚN NIVELES DE GLICEMIA									
		Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH
< 115 mg/dl (n = 9)									
Hb-G	r	0.42	0.1460	-0.2724	0.2240	-0.6159	n.s.	-0.0147	0.4099
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.	n.s.
ALT	r	-2.2820	0,5836	-0,3173	0,6330	0,2743	-0,0147	n.s.	0,6486
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
SDH	r	0,2460	0,6732	0,0936	0,5868	0,2986	0,4099	0,6486	n.s.
	p	n.s.	<0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
115 – 139 mg/dl (n = 10)									
Hb-G	r	0,4188	-0,7510	-0,5487	-0,6764	0,5386	n.s.	0,1578	0.7505
	p	n.s.	<0,05	n.s.	<0,05	n.s.		n.s.	<0,05
ALT	r	-0,0215	-0,0362	0,1947	0,1947	0,3922	0,1578	n.s.	0,4235
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
SDH	r	0.2643	-0.2989	-0.0260	-0.4391	0.3991	0.7505	0.4235	n.s.
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,05	n.s.	
140 – 200 mg/dl (n = 12)									
Hb-G	r	0,6214	0,2325	0,1981	0,1783	0,3676	n.s.	-0,0491	0,5644
	p	<0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.	n.s.
ALT	r	-0,0720	0,3083	0,1208	0,4219	0,4397	-0,0491	n.s.	0,3517
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
SDH	r	0,2739	0,5795	0,3215	0,6642	0,1915	0,5644	0,3517	n.s.
	p	n.s.	<0,05	n.s.	<0,05	n.s.	n.s.	n.s.	
> 200 mg/dl (n = 6)									
Hb-G	r	0,6761	-0,5833	-0,5059	-0,4853	0,1836	n.s.	-0,3505	-0,6384
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.	n.s.
ALT	r	-0.4320	-0,2096	-0,4048	-0,1130	-0,5351	-0,3505	n.s.	0,3517
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
SDH	r	-0,2582	0,7168	0,6653	0,5842	0,0003	-0,6384	-0,1036	n.s.
	p	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

TABLA N° XII

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE PACIENTES DIABÉTICOS SEGÚN TIEMPO DE ENFERMEDAD									
	Edad	Peso	Talla	IMC	Glucosa	Hb-G	ALT	SDH	Tiempo
NO MAYOR DE 10 AÑOS (n = 17)									
Media	63,29	70,41	162,41	26,84	154,12	9,14	34,82	144,52	4,44
DE	10,76	10,44	7,55	4,63	44,86	2,24	16,14	72,39	3,65
ES	2,61	2,53	1,83	1,12	10,88	0,54	3,91	17,56	0,89
CV%	17,00	14,83	4,65	17,25	29,11	24,52	46,34	50,09	82,30
DE 11 – 20 AÑOS (n =15)									
Media	63,87	66,13	169,60	25,50	148,40	9,25	34,60	150,63	16,13
DE	9,96	11,67	6,09	3,44	66,78	2,44	37,53	67,86	2,67
ES	2,57	3,01	1,57	0,89	17,24	0,63	9,69	17,52	0,69
CV%	15,59	17,65	3,79	13,49	45,00	26,33	108,46	45,05	16,54
DE 21 – 30 AÑOS (n = 5)									
Media	61,60	65,80	158,00	26,18	147,20	8,93	31,80	178,62	23,80
DE	3,29	15,45	7,31	5,12	23,112	3,17	15,97	103,15	3,56
ES	1,47	6,91	3,27	2,29	10,34	1,42	7,14	46,13	1,59
CV%	5,33	23,48	4,63	19,57	15,71	35,54	50,24	57,75	14,97

TABLA XIII

DIFERENCIAS ENTRE LAS MEDIAS DE LOS PACIENTES DIABÉTICOS Y LOS CONTROLES

VARIABLES	DIABÉTICOS Media	CONTROLES Media	DIFERENCIA DE MEDIAS	% de aumento respecto al control
EDAD (años)	63,30	51,53	11,77	22,84
PESO (Kg)	68,05	58,80	9,25	15,73
TALLA (cm)	161,08	158,13	2,95	1,87
IMC (Kg/m^2)	26,20	23,54	2,66	11,30
GLUCOSA (mg/dl)	150,86	96,03	54,83	57,10
Hb-G (%)	9,15	6,65	2,5	37,59
ALT (U/l)	34,32	19,60	14,72	75,1
SDH (U Sigma/mL	151,60	58,20	93,4	160,48

TABLA XIV

1. RELACIÓN ENTRE SDH, ALT, Hb-G Y LA PATOLOGÍA ASOCIADA NO HEPATICA

PATOLOGÍA ASOCIADA NO HEPÁTICA	SDH (U. Sigma/mL)		TOTAL
	< MEDIANA	= > MEDIANA	
SI	10	11	21
NO	8	8	16
TOTAL	18	19	37

$\chi^2 = 0{,}0355$, n.s.

PATOLOGÍA ASOCIADA NO HEPÁTICA	ALT (U/L)		TOTAL
	9 – 43/ 9-36	> 43/ > 36	
SI	15	6	21
NO	11	5	16
TOTAL	26	11	37

$\chi^2 = 0{,}0347$, n.s.

PATOLOGÍA ASOCIADA NO HEPÁTICA	Hb-G (%)		TOTAL
	6-8,3	> 8,3	
SI	9	12	21
NO	4	12	16
TOTAL	13	24	37

$\chi^2 = 0{,}6079$, n.s.

TABLA XV

2. RELACIÓN ENTRE SDH, ALT, Hb-G Y EL TIPO DE TRATAMIENTO

TIPO DE TRATAMIENTO	SDH (U. Sigma/mL)		TOTAL
	< MEDIANA	= > MEDIANA	
Glidiabet	9	11	20
Insulina	5	4	9
Dieta	3	0	3
Glidiabet/Metformin	0	2	2
Glidiabet/Insulina	1	1	2
Metformin/Insulina	0	1	1
TOTAL	18	19	37

$\chi^2 = 0{,}023$, n.s.

TIPO DE TRATAMIENTO	ALT (U/L)		TOTAL
	9 – 43/9-36	> 43/> 36	
Glidiabet	16	4	20
Insulina	6	3	9
Dieta	2	1	3
Glidiabet/Metformin	0	2	2
Glidiabet/Insulina	2	0	2
Metformin/Insulina	1	0	1
TOTAL	27	10	37

$\chi^2 = 0{,}4523$, n.s.

TIPO DE TRATAMIENTO	Hb-G (%)		TOTAL
	6-8,3	> 8,3	
Glidiabet	6	14	20
Insulina	4	5	9
Dieta	3	0	3
Glidiabet/Metformin	0	2	2
Glidiabet/Insulina	0	2	2
Metformin/Insulina	0	1	1
TOTAL	13	24	37

$\chi^2 = 0{,}1326$, n.s.

TABLA XVI

3. RELACIÓN ENTRE SDH, ALT, Hb-G Y LOS ANTECEDENTES FAMILIARES

ANTECEDENTES FAMILIARES	SDH (U. Sigma/mL)		TOTAL
	< MEDIANA	=>MEDIANA	
SI	13	10	23
NO	5	9	14
TOTAL	18	19	37

$\chi^2 = 1,508$, n.sg.

ANTECEDENTES FAMILIARES	ALT (U/L)		TOTAL
	9– 43/9-36	> 43/ >36	
SI	18	5	23
NO	8	6	14
TOTAL	26	11	37

$\chi^2 = 1,858$, n.s.

ANTECEDENTES FAMILIARES	Hb-G (%)		TOTAL
	6-8,3	> 8,3	
SI	8	15	23
NO	5	9	14
TOTAL	13	24	37

$\chi^2 = 0,0885$, n.s.

TABLA XVII

4. RELACIÓN ENTRE SDH, ALT, Hb-G Y LA ACTIVIDAD FÍSICA

ACTIVIDAD FISICA	SDH (U. Sigma/mL)		TOTAL
	< MEDIANA	=> MEDIANA	
LEVE	7	7	14
MODERADA	11	12	23
TOTAL	18	19	37

$\chi^2 = 0{,}0444$, n.s.

ACTIVIDAD FISICA	ALT (U/L)		TOTAL
	9 – 43/ 9-36	> 43/ > 36	
LEVE	10	4	14
MODERADA	16	7	23
TOTAL	26	11	37

$\chi^2 = 0{,}0628$, n.s.

ACTIVIDAD FISICA	Hb-G (%)		TOTAL
	6-8,3	> 8,3	
LEVE	3	11	14
MODERADA	10	13	23
TOTAL	13	24	37

$\chi^2 = 1.015$, n.s.

GRAFICO N° 1: VALORES MEDIOS DE LAS VARIABLES SDH, ALT, Hb-G Y GLUCOSA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 Y PERSONAS APARENTEMENTE SANAS

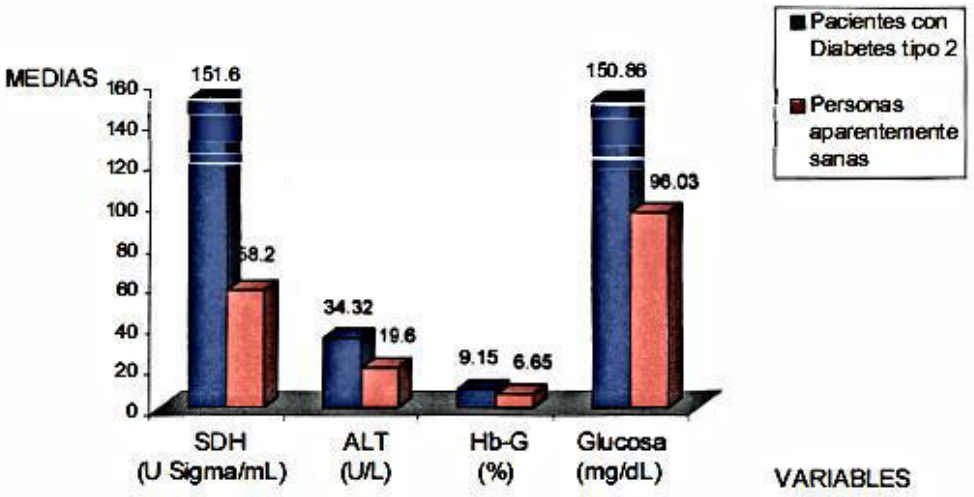
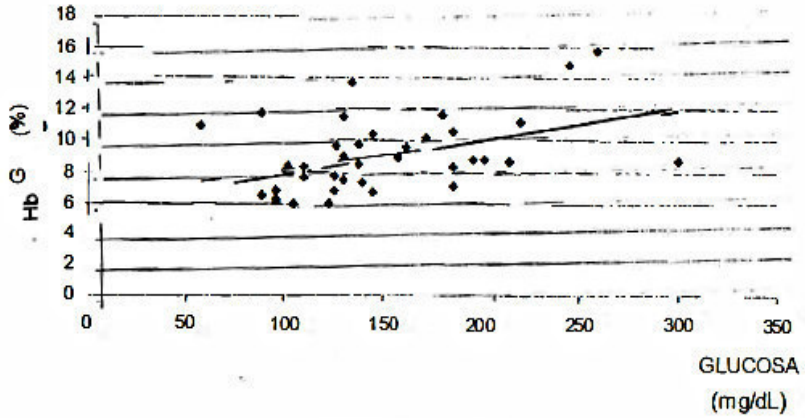
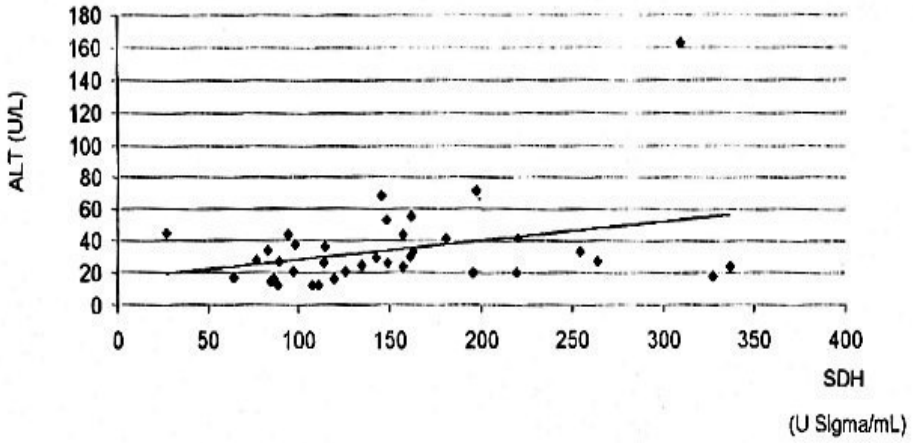


GRÁFICO N° 2: CORRELACIÓN ENTRE GLUCOSA Y Hb-G EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2



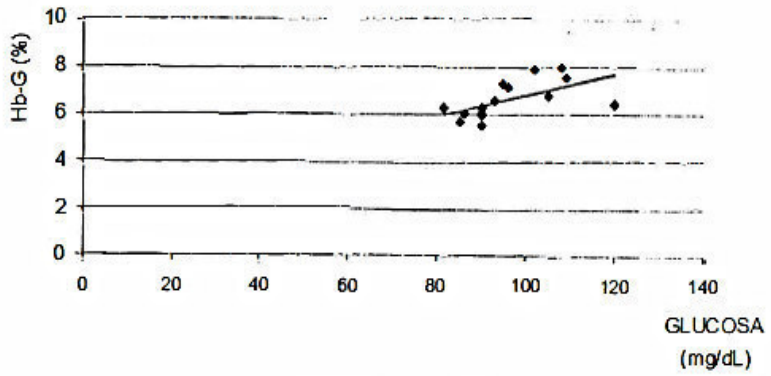
r = 0,4098, p < .02

GRÁFICO N° 3: CORRELACIÓN ENTRE SDH - ALT EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2



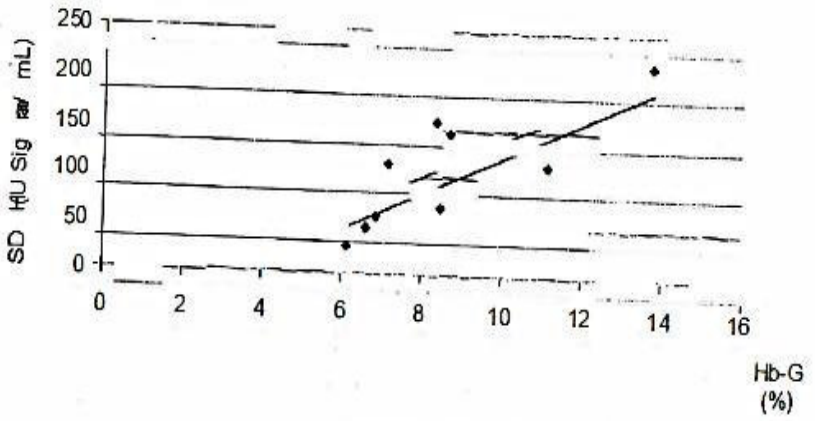
r = 0,3379; p < .05

GRÁFICO Nº 4: CORRELACIÓN ENTRE GLUCOSA Y Hb-G EN PERSONAS APARENTEMENTE SANAS



r = 0,5974; p < .02

GRÁFICO N° 5 CORRELACIÓN ENTRE Hb-G Y SDH EN EL GRUPO ETAREO DE 50 - 59 AÑOS EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2



r = 0,8139 P< .01

V. DISCUSIÓN

La sorbitol deshidrogenasa (SDH; NAD$^+$ oxidoreductasa, EC 1.1.1.1.4), uno de los miembros de la vía del poliol, ha sido el principal motivo del presente estudio. En este trabajo, nuestro enfoque está dirigido a investigar la actividad de la SDH, para determinar si existe relación con los niveles de alanina aminotransferasa en suero de pacientes Diabéticos tipo 2 y personas aparentemente sanas, en la evaluación de un posible daño hepatocelular.

La actividad de SDH sérica hallada fue de 151,60 ± 73,67 U Sigma/mL, para los pacientes con Diabetes tipo 2 y 58,20 ± 5,23 U Sigma/mL, para personas aparentemente sanas (Tabla III); esta elevación concuerda con un reporte anterior (23), donde se dan como valores normales de SDH sérica hasta 60 U Sigma/mL y para los pacientes con DM hasta 360 U Sigma/mL. No existen trabajos similares previos; sin embargo, hemos encontrado reportes de niveles de actividad significativamente elevados de SDH en plasma de pacientes diabéticos (Anexo 12) (19). También se ha reportado niveles de actividad y de proteína SDH en hígado de ratas normales (Anexo 4) (17), puesto que la SDH RNAm es especialmente abundante en hígado; pero en hígado de ratas diabéticas, además de niveles elevados de RNAm SDH (Anexo 13), los niveles de proteína y la actividad de SDH estuvieron disminuidos (Anexo 13, Anexo 5).

En el presente trabajo se halló, en suero, para la ALT una media de 34,32 ± 26,32 U/L para los pacientes con Diabetes tipo 2 y 19,6 ± 8,65 U/L para los controles (Tabla III), encontrándose ambos dentro de los valores normales establecidos a diferencia de los valores hallados para la SDH que se encontraron elevados en los pacientes diabéticos respecto a los controles. No se ha encontrado trabajos similares; sin embargo, se reporta que cuando los niveles de la SDH están elevados, existe daño hepático (05) y la elevación rápida y selectiva de esta enzima en la lesión parenquimatosa aguda así como su relativa normalidad en otros estados patológicos hepatobiliares, la hacen útil para el diagnóstico diferencial en las ictericias y las hepatopatías de aquel tipo (66), asimismo se reporta que la ALT se eleva por fugas

debido a células hepáticas dañadas o necrosadas y presentarían concentraciones más altas en afecciones agudas (04).

En nuestro trabajo encontramos en los pacientes Diabéticos tipo 2 un coeficiente de correlación de r = 0,3379; p < .05 para la SDH – ALT (GPT) (Tabla IV), lo que corrobora las investigaciones anteriores, pues ambas pruebas son directamente proporcionales y serían buenos indicadores de daño hepático sin embargo, se ha observado que los niveles de actividad de las SDH están incrementados con relación a la ALT (GPT) en suero, y de acuerdo a estudios previos podría indicar que la SDH es un indicador específico del daño hepático (05).

El presente estudio ha demostrado que los niveles de Hemoglobina glicosilada eran mayores en los pacientes con Diabetes tipo 2 (Hb-G = 9,15% ± 2,38) que en las personas aparentemente sanas (Hb-G = 6,65% ± 0,78) (Tabla III), que concuerda con reportes anteriores de diversos autores (67 - 69). Asimismo, encontramos un ligero sobrepeso (IMC = 26,20 ± 4,18 Kg/m^2). Al respecto, Salmela PI, también halló en pacientes externos con DMNID un ligero sobrepeso (IMC = 27 ± 4 Kg/m^2) y una elevada Hb A_1 = 11,2 ± 2,4% (57).

El coeficiente de correlación obtenido para la Hb-G y glucosa fue r = 0,4098; p < .02 esto se explicaría por cuanto los niveles de Hb-G reflejan un valor integrado de la glicemia de 2 a 3 semanas precedentes y no la glicemia del día. Ezcurra F. y cols. 1986 (68) han reportado una correlación de r = 0,37; p < .05 para Diabéticos tipo 2; y Gomez J. y cols. 1990 (67) una correlación r = 0,47; p < .01 en pacientes diabéticos.

De las diferencias observadas respecto a la edad, se encontró que en Diabéticos tipo 2 la media de la Hb-G es la que guarda mejor proporción con el incremento de la edad (tabla VII). En un estudio con personas sanas Yi Chin y cols.; 1997 (70) concluyen que el factor edad podría causar una elevación de Hb-G en sujetos sin enfermedad identificable y quienes no estuvieron con medicación conocida o influencia de tolerancia a la glucosa independiente de otros factores relacionados en hombres y mujeres chinos, además hallaron un promedio más bajo de Hb-G en mujeres antes de la menopausia.

Se ha encontrado en nuestro trabajo, niveles de ALT (GPT) normales en pacientes diabéticos con buen control glicémico y también en el grupo de pacientes

con mal control glicémico (Tabla X). Esto difiere de lo que encontró Henderson – J y cols., 1988 es decir una elevada actividad de la ALT (GPT) en suero de pacientes diabéticos con enfermedad hepatobiliar y asociado a un buen control glicémico (71).

En Diabéticos tipo 2 encontramos en la prueba de SDH sérica niveles de actividad incrementados en 160,48%, y la actividad de la ALT en 75,1 % respecto a los controles (Tabla XIII). Pero, Salmena P.I y cols., 1984, hallaron frecuentes resultados anormales en las pruebas de función hepática en pacientes diabéticos no insulino dependientes donde la actividad de la ALT estaba incrementadas en 17% en los pacientes externos, junto con una elevada severidad de cambios histológicos (57).

Respecto a la estadística descriptiva, el coeficiente de variación porcentual son menores al 76,69% en los pacientes Diabéticos tipo 2, para todas las variables estudiadas, de igual forma en los controles el C.V. % es menor al 44,13%, lo que reflejaría la presencia de muchos factores erráticos.

Los valores de chi cuadrado hallados con un grado de libertad entre la SDH, ALT, Hb-G y algunas variables cualitativas y ordinales como la patología asociada no hepática, el tipo de tratamiento, los antecedentes familiares y la actividad física en los pacientes con Diabetes tipo 2, en su totalidad dieron valores de $\chi^2 < 3.84$, indicando que no hay relación significativa entre las variables.

VI. CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados obtenidos luego de medir las actividades enzimáticas de sorbitol deshidrogenasa, alanina aminotransferasa y otros parámetros en pacientes con Diabetes tipo 2 y sus controles podemos llegar a las siguientes conclusiones:

1. La mayor variación enzimática observada en los diabéticos fue la de sorbitol deshidrogenasa con un aumento de 93,40 U Sigma/mL, siendo su media 151,60 U Sigma/mL y 58,20 U Sigma/mL para los controles. La alanina aminotransferasa aumento 14,72 U/L siendo su media 34,32 U/L y 19.60 U/L para los controles.
2. En los diabéticos la Hemoglobina glicosilada (9.15%) y glucosa (150,86 mg/dL) se encontraron significativamente incrementadas en 2,5% y 54,83 mg/dL respectivamente en relación con sus controles.
3. Las correlaciones con signifiacción estadística en Diabéticos tipo 2 le correspondió a la glucosa-Hemoglobina glicosilada ($r = 0,4098$; $p < .02$) y la sorbitol deshidrogenasa – alanina aminotransferasa ($r = 0,3379$; $p < .05$). En las personas aparentemente sanas la correlación glucosa – Hemoglobina glicosilada fue $r = 0,5974$; $p < .02$.
4. En Diabéticos tipo 2 la sorbitol deshidrogenasa tiene su mayor correlación con la Hemoglobina glicosilada en el grupo etáreo 50-59 años ($r = 0,8139$; $p < .01$).
5. Dada la especificidad de la sorbitol deshidrogenasa podría utilizarse junto a las transaminasas para evaluar daño hepatocelular.

VII. RECOMENDACIONES

1. En toda evaluación hepática de Diabetes tipo 2 se debería incluir la determinación de SDH, sobre todo en pacientes de edades superiores a los 50 años y en aquellos que tienen alteraciones hepáticas tales como: hígado graso, hiperbilirrubinemia y cirrosis.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Wolfgang M. Human Sorbitol Dehydrogenase-A Secondary Alcohol Dehydrogenase with distinct Pathophysiological Roles. PH-Dependent Kinetic Studies. Adv Exp Med Biol 1997; 414: 383-93.
02. King GL, Shiba T, Oliver J, et al. Cellular and molecular abnormalities in the vascular endothelium of Diabetes Mellitus. Annu Rev Med 1994; 45: 179 – 88.
03. Higlights of the First International Corange Conference. How the Polyol Pathway Contributes to Diabetes Complications. In: Diabetes in the XXI Century. Boehringer Mannheim Corporation. March 24-26. Florida, 1994.
04. Lynch RI. Funcionamiento hepático. En: Shauma C, Anderson P, Cockayne S. Química Clínica. 1ra Edición. Editorial Interamericana Mc Graw – Hill. México DF, 1995. : 283 – 320.
05. Asada M, Galambos JT. Sorbytol deshydrogenase and hepatocelular injury; an Experimental and clinical study. Gastroent 1963; 44: 578 – 587.
06. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1997; 20 (7): 1183 – 1197.
07. Vidal A, Borbaek Ch. Genética molecular de la diabetes mellitus no dependiente de la insulina. Med clin 1997; 107-114.
08. García H, y García M. Complicaciones crónicas de la diabetes. En: García M. Diabetes Mellitus. Fundación de Investigación y Perfeccionamiento Médico. Santiago de Chile, 1992: 222 - 234.
09. Davidson, Thompson. The Molecular Basis of Neuropathology. Edward Arnold (Publishers) Ltd. London, 1981.
10. Méndez JD. Bioquímica y Fisiología del metabolismo de carbohidratos. En: Islas S, Lifshitz A. Diabetes Mellitus. Editorial Interamericana S.A. México, DF, 1993.
11. Fong DT, Lee FK, Tao Z; et al. Effects of sorbitol dehydrogenasa deficiency on nerve conduction in experimental diabetic mice. Diabetes 1998; 47(6): 961-966.

12. Lee, AY, Chung SK, Chung SS. Demostration that polyol acumulation is responsible for diabetic cataract by use of transgenic mice expressing the aldose reductase gene in the lens. Proc Natl Acad Sci USA. 1995; 92 (7): 2780 – 2784.
13. Lee AY, Chung SS. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. FASEB-J. 1999; 13 (1): 23-30.
14. Greene DA. A Sodium-pump defect in diabetic peripheral nerve corrected by sorbinil administration. Relationship to myoinositol metabolism and nerve conduction slowing. Metabolism 1986, 35 (Suppl 1): 60-5.
15. Beyer-Mears A. The polyol patway. Sorbinil and renal dysfunction. Metabolism 1986, 35 (Suppl 1): 46-54.
16. Engerman RL, Kern TS. Hyperglicemia as a cause of diabetic retinopathy. Metabolism 1986; 35(Suppl 1): 20-3.
17. Hoshi A, Takahashi M, Fuji J, et al. Glycation and inactivation of sorbitol dehydrogenase in normal and diabetic rats. Biochem J 1996; 318: 119-123.
18. Gaynes BI, Watkins JB. Comparison of glucose, sorbitol and fructose acumulation in lens and liver of diabetic and insulin – treated rats and mice. Comp Biochem Physiol 1989; 92 (4): 685-690.
19. Secchi G.C, Ghidoni A. Interesse Clínico della Determinazione dell'Attività Sorbitoldeidrogenasica Plasmatica in Patologia Epatica. Enzymol. Biol Clin. 1962/63; 2: 99-107.
20. Blackey RL. The metabolism and antiketogenic effects of sorbitol dehydrogenase. Biochem 1951; 49: 257-271.
21. Anaja HP. Diagnostic performance of cell sorbitol assay in a Nigerian Teaching hospital. Clin Chin Acta 1997; 262 (1-2): 1-11.
22. Kicic E, Palmer TN. Increased white cell aldose reductase mRNA levels in diabetic patients. Diabetes Res Clin Pract 1996; 33 (1): 31-6.
23. Sigma Diagnostic. Sorbitol dehydrogenase (Prodedure N° 50 UV). Chemical Company. St. Lous Mo; 1995: 01-02.
24. Forster G. 1-Phosfofructoaldolase und Sorbitoldehydrogenase als leberspezifische Serumenzyme. Atti VI Congr. Int. Medicina Interna, Basilea 1960.
25. La Uwers A.M, Daumerie C, Henquin JC. Br J Nutr 1985; 54: 53-62.

26. Myint T, Hoshi S, Okawara T, et al. Biochim Biophys Acta 1995; 1272: 73-79.
27. Jeffery J, Jornvall H. Sorbitol dehydrogenase. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol 1988; 61: 47-106.
28. Wolfgang M, Auld DS. Purification and characterization of human liver sorbitol dehydrogenase. Steady-State Kitry 1988; 27: 1622-1628.
29. Wolfgang M, Novel Substrates and Inhibitors of Human Liver Sorbitol Dehydrogenase. In: Weiner H, Wermuth B, Crabb DW. Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism 3. Plenum Press. New York, 1991: 327-336.
30. Carr IM, Markham AF. Molecular genetic analysis of the human sorbitol dehydrogenase gene. Mamm Genome 1995; 6: 645-652.
31. Estomus M. Danielsson O, Karlsson C, et al. Distribution of alcohol and sorbitol dehydrogenase. Eur J Biochem 1993; 215: 497-503.
32. Iwata T, Popescu NC, Zimonjie DB, et al. Structural organization of the human sorbitol dehydrogenase .Gene (SORD).Genomics 1995; 26: 55-62
33. Niimi T, Yamashita O, Yaginuma T. A cold-inducible Bómbix gene endoding a protein similar to mammalian sorbitol dehydrogenase. Eur J Biochem 1993; 213: 1125-1131.
34. Felig P, Sherwin R: Carbohydrate homeostasis, liver and diabetes. In: Popper H, Schaffer F. Progress in liver disease. Vol 5. Eds. Grune and Stration. New York, 1976: 149-72.
35. Johnston DG, Alberti KG, Brinder C, et al. Hormonal and metabolic changes in hepatic cirrhosis. Horm Metab Res 1982; 14: 34-39.
36. Leffert HL, Kock KS, Moran T, et al. Hormonal control of rat liver generation. Gastroenterology 1979; 76: 1470-82.
37. Reaven EP, Peterson DT, Reaven GM. The effect of experimental diabetes mellitus and insulin replacement on hepatic ultraestructure and protein synthesis. J Clin. Invest 1973; 52: 248-62.
38. De Fronzo RA, Ferrannini E, and Koivisto V. New concepts in the pathogenesis and treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Am J Med 1983; 74: 52-81.

39. Guyton A. Tratado de Fisiología Médica. 7ma Edición. Interamericana México , DF, 1989: 1051.

40. Spiro HM. The fatty liver,in clinical gastroenterology. Third Edition. Mac Millan Publishing Co. New York, 1983: 132.

41. Thaler H. Relation of steatosis to cirrhosis. Clin. Gastroenterology 1975; 4: 273.

42. Fenton S. Liver estructure and function. Mc Graw Hill Book Company. New York, 1957

43. Parrochia E. Diabetes y aparato digestivo. En: García de los Rios A. Diabetes Mellitus. Fundación de investigación y perfeccionamiento médico. Santiago de Chile 1992: 304-310.

44. Sherlock S. Enfermedades del hígado y del sistema biliar. 3ra Edición. Edit. Beta. Buenos Aires, 1966.

45. Tanikawa K. Aspectos ultraestructurales del hígado y de las enfermedades hepáticas. Edit. Científico-Médico. Barcelona, 1971: 222-224.

46. Zimmerman HJ, Mac Murria FG, Rappaport H, et al. Estudies of the liver in diabetes mellitus II. The significance of fatty metamorphosis and its correlation with insulin sensitivity. J Lab Clin Med 1950; 36: 922.

47. Sherlock S, Beam AG, Billing B. The effect of insulin on the liver in normal and diabetic man, Trans. 10th Conf. Liver Injury. Jasiah Macy Jr. Foundation. New York, 1951:

48. De la Mora G, Olivera M, De la Cerda R, et al. Non-alcoholic fatty liver: 10 years experience at the Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran. Rev Invest Clin 1994; 46 (2): 85-92.

49. Farfan FG, Ferrufino JC, Bussallev RA. Estudio Clínico patológico de 81 casos de hígado graso en el Hospital Cayetano Heredia. Rev Gastroen del Perú 1985; 5:183-190.

50. Zimmerman HJ, Mac Murray FG, Rapaport H, et al. Studies of the liver in diabetes mellitus I. Structural and functional abnormalities. J Lab Clin Med 1950; 36: 912.

51. Warren S, Le Compte PM. The patology of Diabetes Mellitus. Lea and Febiger. Filadelfia, 1952.

52. Zimmerman HJ, Mac Murray FG, Rappaport H, et al. Studie of the liver in Diabetes Mellitus. J Lab & Clin Med 1950; 36: 912-928.

53. Guardia J, Esteban R. El higado en las enfermedades sistémicas. En: Ferreras R. Medicina Interna Vol 11. 13ava. Edición. Mosby. Madrid, 1995.

54. Andrade RJ, Lucena M, Vega J, et al. Acarbose asociated hepatotoxicity. Diabetes Care, 1998; 21(11): 2029.

55. Imura H. A novel antidiabetic drug, troglitazone. Reason for hope and concern. (editorial). N Engl J Med 1998, 338 (13): 908-909.

56. Plosker GL, Faulds D. Troglitazone. A review of its use in the management of Type 2 Diabetes Mellitus. Drugs 1999, 57 (3): 409-438.

57. Salmela PI, Sotaniemi EA, Niemi M, et al. Liver function test in diabetic patients. Diabetes Care 1984; 7 (3): 248-54.

58. Jick S, Stender M, Myers M. Frecuency of liver disease in Type 2 Diabetic patients treated with oral antidiabetic agents. Diabetes Care 1999; 22 (12): 2067-2071.

59. Adolph L, Lorenz R. Diagnóstico enzimático das doencas do coracao, figado e páncreas. S. Karcer AG. 4011 Basiléia (Suica), 1980.

60. Zimmerman, IJ, Henry JB, Davidson TS. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 17 th Edition. Philadelfia, 1984.

61. Schneider T, Bersohn I.: Liver funtion test in diabete mellitus. Their correlations with the late clinical manifestations and complications of the disease. Med. Proc 1973; 19: 447-52.

62. Belfore F, Lo Vecchio L, Napoli E. Serum encimes in diabetes mellitus Clin. Chem 1973; 19: 447-52.

63. Leevy CM, Ryan CM, Fineberg JC. Diabetes mellitus and liver dysfunction. Am. J Med 1950; 8: 290-99.

64. American Diabetes Association. Test of glycemia in diabetes. Diabetes Care 1997; 20 (supplement 1).

65. Schwartz JG. The role of glycohemoglobin and other proteins in diabetes management. Diabetes Reviews 1995; 3 (2)

66. Hyman J, Zimmerman, Leonard B. Enzimas en las enfermedades hepáticas. En: Coodley Eugene. Diagnóstico enzimológico. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 1972: 17-53.

67. Gómez J, Delgado C, Paz B. Hemoglobina glicosilada en el control del paciente diabético. Diagnóstico 1990, 26 (5): 6.

68. Ezcurra EJ. Niveles de hemoglobina glicosilada en sujetos normales y en pacientes diabéticos. Rev. Cuba Med 1986; 25(11): 1097-103.

69. Anne LP, Mayer BD, Schriger DL, et al. On the diagnosis of diabetes using glycated hemoglobin levels. A clinical approach for the Diagnosis of Diabetes mellitus. Jama 1996; 276 (15).

70. Yi Ch Y, Jin Sh, Feng HL et al. Age and sex effects on HbA_1c. A study in a healthy Chinese population. Diabetes Care 1997; 20 (6).

71. Henderson J, Neithercut WD, Spooner RJ, et al. Glycemic control and raised serum alanine aminotransferase activity in treated diabetes mellitus. Clin Biochem 1998,21 (4): 245-247.

IX. ANEXOS

Anexo 1 : Clasificación Etiológica de la Diabetes Mellitus.

Anexo 2 : Concentraciones de los metabolitos de la vía del poliol en varios tejidos de ratones C57BL/10N y C57BL/LiA.

Anexo 3 : Actividada de la SDH en pacientes con enfermedad hepática.

Anexo 4 : Niveles de proteinas SDH y actividad enzimática en ratas normales

Anexo 5 : Comparación de los niveles proteicos de SDH y las actividades enzimáticas en el hígado, riñón y testículos de ratas control y diabéticas.

Anexo 6 : Diagrama espacial de una molécula de sorbitol ubicada en el sitio activo del modelo de sorbitol deshidrogenasa.

Anexo 7 : Modelo de aporte y utilización de la glucosa en el estado de ingesta alimentaria.

Anexo 8 : Diferenciación en los órganos.

Anexo 9 : Tejidos que producen AST y ALT (GPT).

Anexo 10 : Causas clínicas de reducción de aumento de actividad de AST y ALT (GPT) en suero

Anexo 11 : Mecanismo de formación de Hb-G.

Anexo 12 : SDH plasmática en pacientes sin enfermedad hepática.

Anexo 13 : Comparación de RNAm del SDH y los niveles proteicos en el hígado, riñón y testículos en ratas control y ratas diabéticas

ANEXO 1: CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE LA DIABETES MELLITUS:

I. Diabetes Tipo 1 (destrucción de la célula que normalmente llevan a deficiencia de insulina absoluta)
   - A. Medio inmune
   - B. Idiopática

II. Diabetes Tipo 2 (puede ir de predominantemente resistencia de insulina con deficiencia de insulina relativa a un defecto predominantemente secretario con resistencia de insulina)

III. Otros tipos específicos.

A. Defectos genéticos del funcionamiento de las células β
   1. Cromosoma 12, HNF 1 α (formación MODY 3)
   2. Cromosoma 7, glucokinasa (formación MODY 2)
   3. Cromosoma 20, HNF 4 α
   4. DNA mitocondrial
   5. Otros

B. Defectos genéticos en la acción de la insulina
   1. Tipo A insulino resistente
   2. Leprechaunism
   3. Síndrome de Rabson-Mendenhall
   4. Diabetes lipoatrofica
   5. Otros

C. Enfermedad exocrina del páncreas
   1. Pancreatitis
   2. Trauma/pancreatectomia
   3. Neoplasia
   4. Fibrosis cistico
   5. Hemocromatosis
   6. Pancreatopatia fibrocalculos
   7. Otros

D. Endocrinopatias
   1. Acromegalia
   2. Síndrome de Cushing
   3. Glucagonoma
   4. Pheocromocitoma
   5. Somatostatinomia
   6. Aldosteronoma
   7. Otros

E. Inducción por químicos o drogas
   1. Vacor
   2. Pentamidina
   3. Acido nicotínico
   4. Glucocorticoides
   5. Hormona tiroidea
   6. Diazoxido
   7. Agonistas β-adrenérgicos
   8. Tiazidas
   9. Dilantin
   10. α-interferon
   11. Otros

F. Infecciones
   1. Rubeola congénita
   2. Citomegalovirus
   3. Otros

G. Formas raras de diabetes mediada inmune
   1. Síndrome Stiff-man
   2. Anticuerpo receptor anti-insulina
   3. Otros

H. Otros síndromes genéticos asociados con diabetes
   1. Síndrome de Down
   2. Síndrome de Klinefelters
   3. Síndrome de Turner
   4. Síndrome de Wolfram
   5. Ataxia Friedreich
   6. Huntington's chorea
   7. Síndrome Lawrence Moon Beidel
   8. Distrofia miotonica
   9. Porphiria
   10. Síndrome Prader Willi
   11. Otros

IV. Diabetes mellitus gestacional (GDM)

Pacientes con cualquier forma de diabetes puede requerir tratamiento de insulina en alguna fase de su enfermedad. El uso de insulina no hace, de si mismo el paciente.

Fuente: The expert comittee on the diagnosis and clasification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and clasification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care 1997; 20

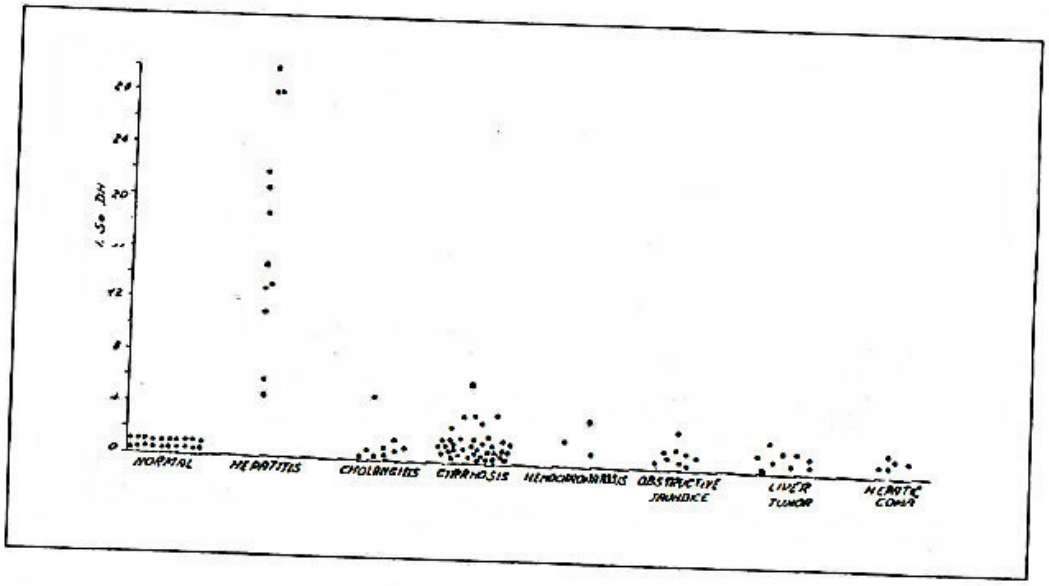
ANEXO 2

CONCENTRACION DE LOS METABOLITOS DE LA VIA DEL POLIOL EN VARIOS TEJIDOS DE RATONES C57BL/1ON y C57BL/LiA

	CONCENTRACIÓN (µmol/g wet wt.)		
	Glucosa	Sorbitol	Fructuosa
Riñón			
C57	4.242	0.465±0.165	ND
LiA	2.649±0.36	0.832±0.132	ND
Hígado			
C57	24.066	0.026	ND
LiA	19.227±9.792	0.053±0.057	ND
Ileon			
C57	24.066	0.026	ND
LiA	0.631±0.645	0.122±0.028	ND
Testículo			
C57	1.226	ND	ND
LiA	0.423±0.231	0.093±0.024	ND
Glándula coaguladoras			
C57	0.699	0.033	0.095
LiA (n=2)	0.423±0.231	0.093±0.024	ND
Vesícula seminal			
C57	1.664±0.205	0.633±0.161	24.584±6.349
LiA	1.012±0.162	27.717±3.080	ND

C57BL/1ON = ratones normales
C57BL/LiA = ratones deficientes en SDH

ND = no detectable
Fuente: Fong DT, Lee FK, Tao Z, et al. Effects of sorbitol dehydrogenase deficiency on nerve conduction in experimental diabetic mice. Diabetes 1998; 47 (6): 961-966.



ANEXO 3. Actividad de la SDH plasmática en pacientes con enfermedad hepática.

Fuente: Secchi GC, Ghidoni A. Interesse clinico della Determinazione dell'Attivita Sorbitoldeidrogenasica Plamatica in Patologia Epatica. Enzymol Biol. Clin 1962/63; 2: 99-107.

ANEXO 4

NIVELES DE PROTEÍNAS SDH Y ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS EN RATAS NORMALES

TEJIDO	ACTIVIDAD SDH (mU/mg de proteína)	CONTENIDOS DE SDH INMUNOREACTIVA RELATIVO AL ESTÓMAGO
Hígado	13,9 ±3,9	3,3 ±0,4
Riñón	12,1 ±1,4	2,1 ± 0,2
Testículo	3,1 ±0,6	0,8 ± 0,1
Músculo esquelético	0,6 ± 0,3	0,2 ± 0,1
Estómago	4,8 ± 1,5	1,0
Pulmón	5,0 ± 4,2	0,5 ±0,2
Cerebro	3,5 ± 1,5	0,6 ±0,1
Bazo	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,2

Fuente: Hoshi A, Takahashi M, Fuji J, et al. Glycation and inactivation of sorbitol dehydrogenase in normal and diabetic rats. Biochem J 1996; 318: 119-123.

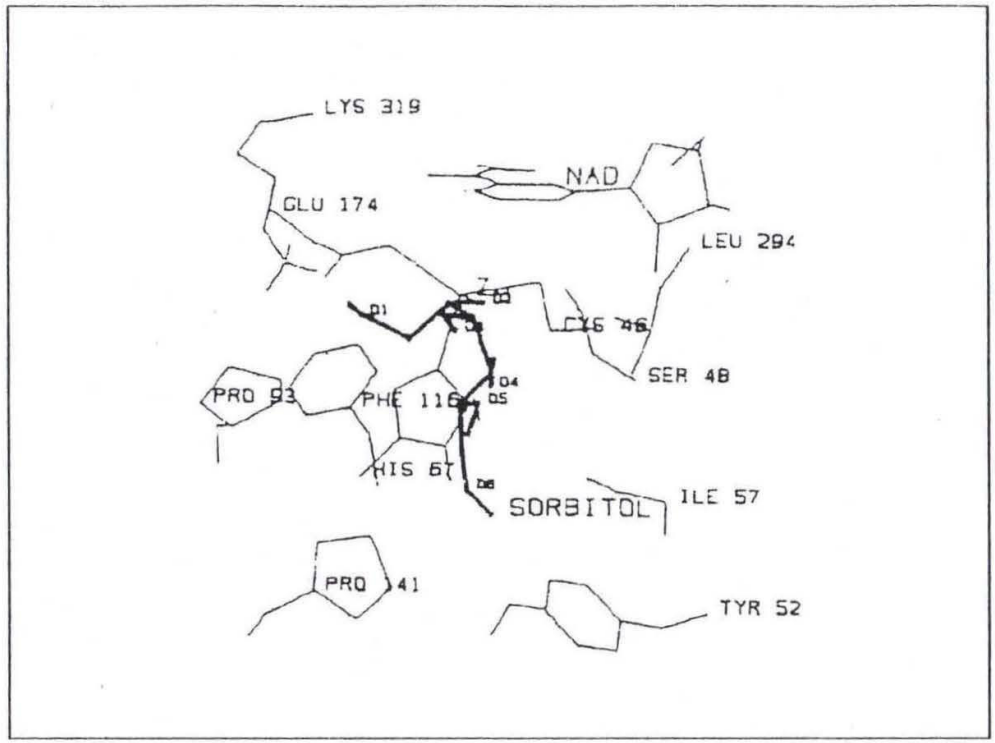
ANEXO 5

COMPARACIÓN DE LOS NIVELES PROTEICOS DE SDH Y LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS EN EL HÍGADO, RIÑÓN Y TESTÍCULOS DE RATAS CONTROL Y DIABÉTICAS.

Las actividades y proteínas de SDH en las ratas control y diabéticas se midieron tal como se describe en el Anexo 4. Los datos son promedio ± S.E.M. para 05 ratas en los grupos normal y diabéticos. Significancia estadística: $p < 0,001$ comparando con las ratas normales.

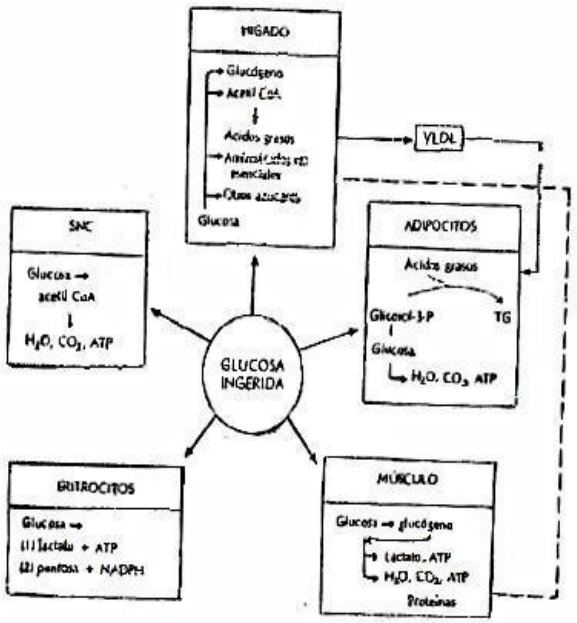
	ACTIVIDAD SDH (mU/mg de proteína)		CONTENIDOS DE SDH INMUNOREACTIVOS (unidades arbitrarias)	
	Normal	Diabético	Normal	Diabético
Higado	18,4 ± 4,5	7,2 ± 1,4	4,7 ± 0,7	1,8 ± 0,2
Riñón	6,4 ± 1,1	7,7 ± 3,6	2,4 ± 0,3	3,0 ± 0,5
Testículos	6,6 ± 2,3	4,7 ± 1,3	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2

Fuente: Hoshi A, Takahashi M, Fuji J, et al. Glycation and inactivation of sorbitol dehydrogenase in normal and diabetic rats. Biochem J 1996; 318: 119-123.

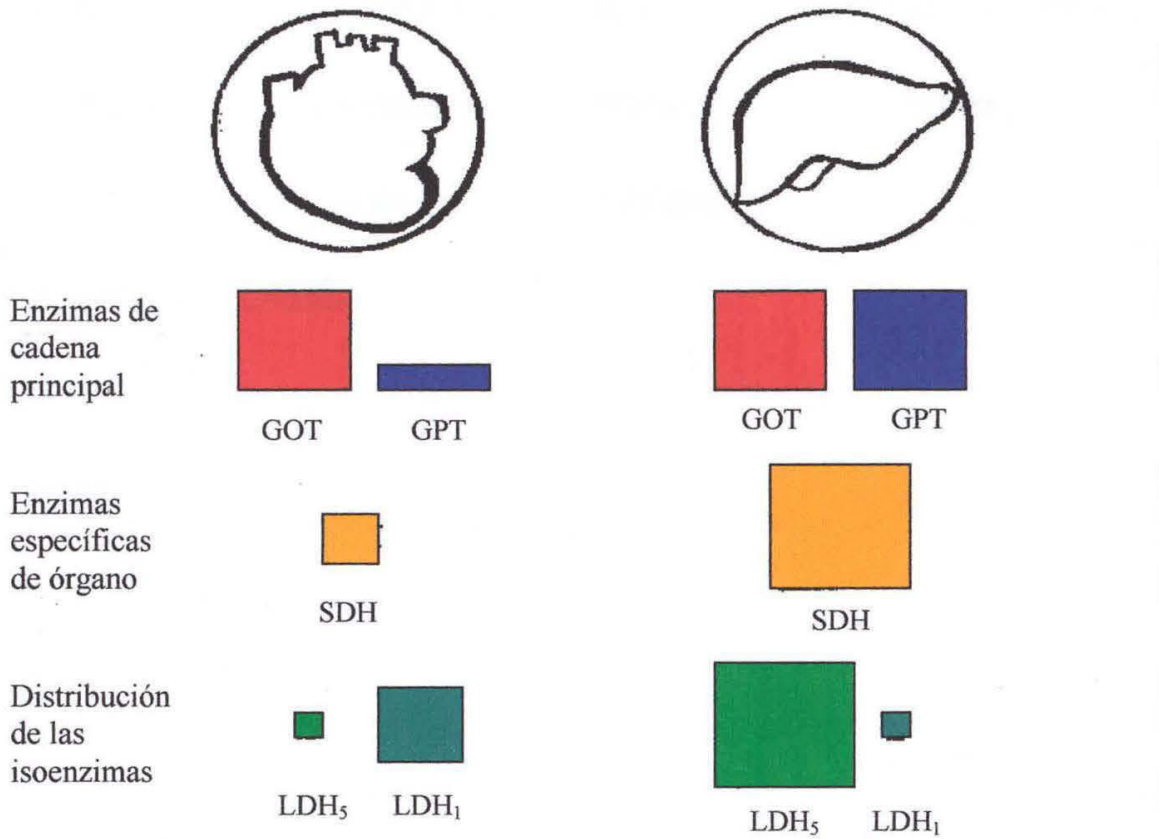


ANEXO 6. Diagrama espacial de una molécula de sorbitol ubicada en el sitio activo del modelo de sorbitol deshidrogenasa

Fuente: Eklund H, Horjales E, Jörnvall H, et al. Molecualr Aspects of Functional Differences between Alcohol and Sorbitol Dehydrogenases. Biochemistry 1985; 24: 8005-8012.

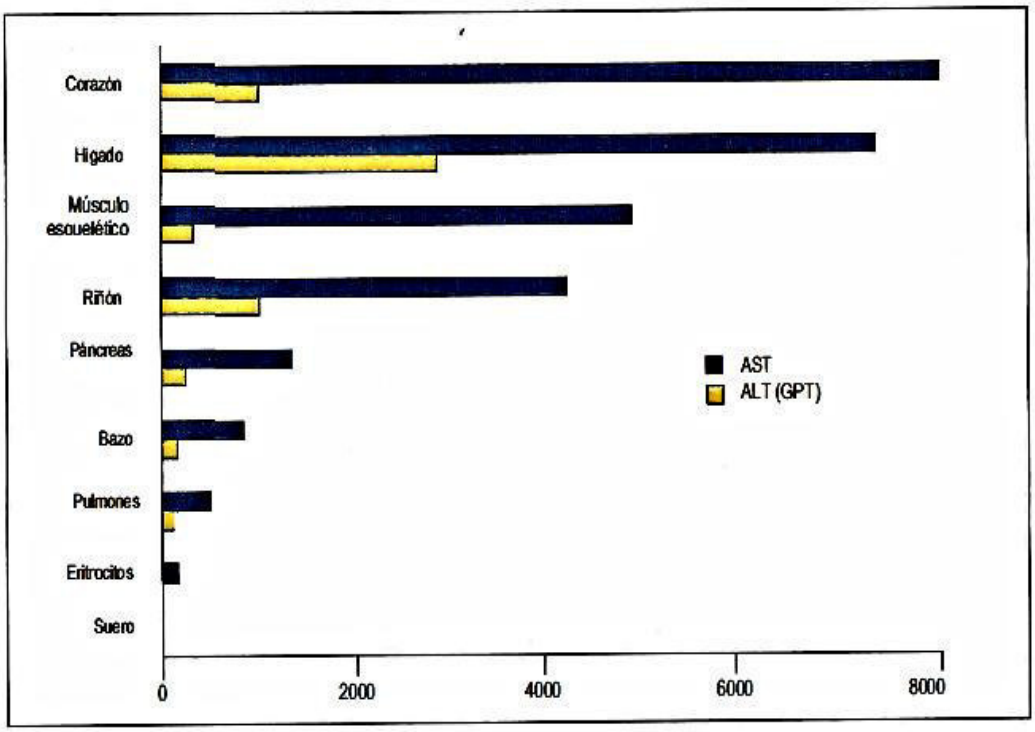


ANEXO 7. Modelo de aporte y utilización de la glucosa en el estado de ingesta alimentaria. La glucosa ingerida se encuentra en la luz del intestino. Del azúcar absorbido, un 50% es removido por el hígado. La figura no muestra que todo el azúcar absorbido pasa hacia la vena portal y por lo tanto al interior o a través del hígado. (De: Zakin, D y Boyer, T.D. (eds.); Hepatology: A Textbook of liver Diseasge. W. B.. Saunders Co. Filadelfia, 1982.)



Según: E. y F. W. Schmidt. "Kleine Enzymfibel", con serie diagnóstica Boehringer Mannheim 1966.

ANEXO 8. Diferenciación en los órganos



ANEXO 9. Tejidos que producen AST y ALT (GTP)

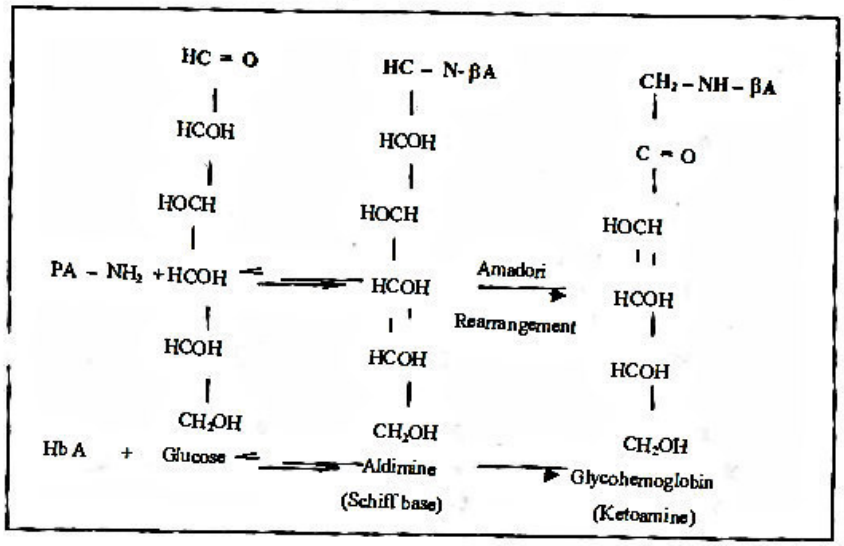
Fuente: Ward KM, Cockayne S. Ezimología. En: Shauma C, Anderson P, Cockayne S. Química Clínica. 1ra Edición. Editorial interamericana Mc Graw – Hill. México DF, 1995.

ANEXO 10

CAUSAS CLÍNICAS DE REDUCCIÓN O AUMENTO DE ACTIVIDAD DE AST Y ALT (GPT) EN SUERO

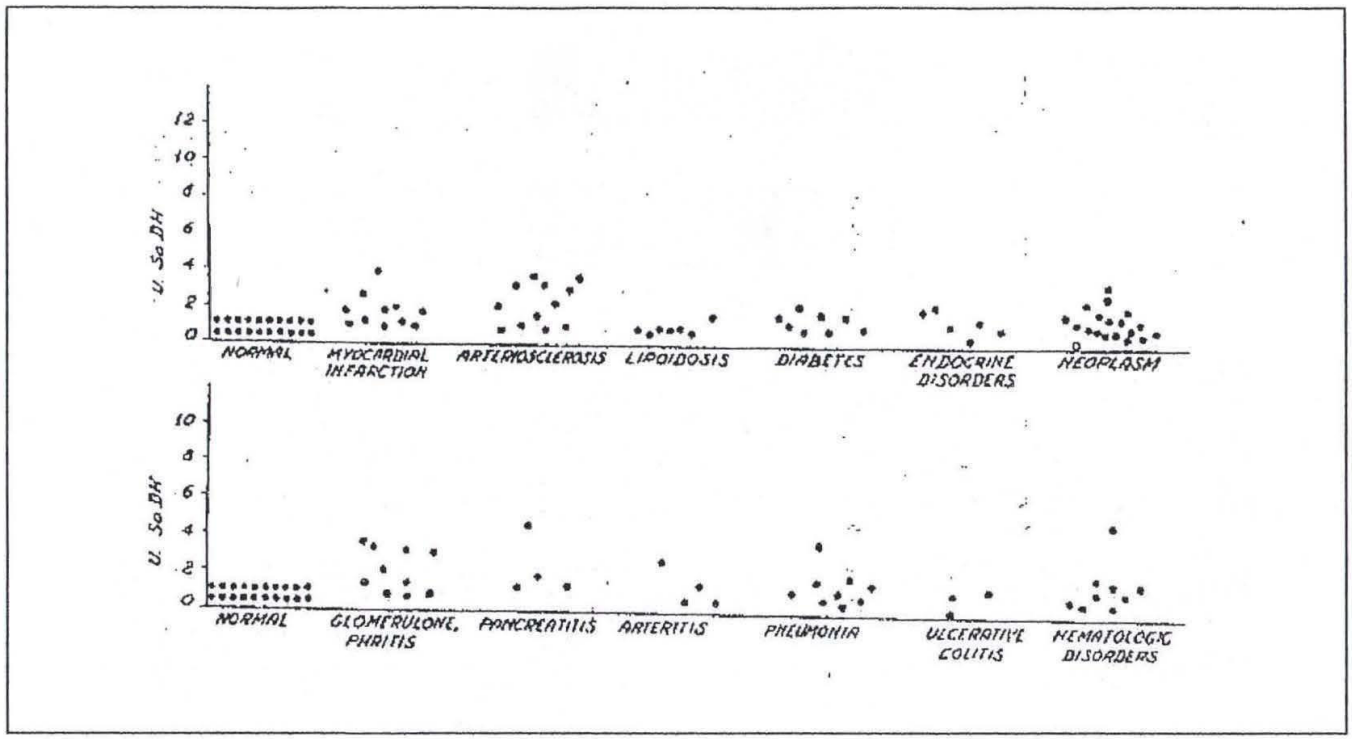
AFECCIÓN	AST	ALT (GPT)
Reducción de actividad		
Uremia	Supresión de la actividad en algunos pacientes	No es aplicable
Deficiencia de vitamina B_6	De bajo normal hasta por debajo de la normalidad, se corrige por algunos métodos	Normal bajo o por debajo de lo normal; se corrige por algunos métodos
Aumento de actividad		
Infarto al miocardio	4 a 5 veces lo normal; > 10 a 15 veces de lo normal se relaciona con infartos fatales	Normal o aumento leve en infartos sin complicaciones
Insuficiencia cardiaca congestiva	4 a 5 veces lo normal	Normal o aumento leve
Pericarditis	4 a 5 veces lo normal	Normal o aumento leve
Miocarditis	4 a 5 veces lo normal	Normal o aumento leve
Insuficiencia cardiaca con congestión hepática	> 10 veces lo normal	5 a 10 veces lo normal
Hepatitis viral	10 – 100 veces lo normal	10 a 100 veces lo normal
Hepatitis tóxica	Hasta 20 veces lo normal	Hasta 20 veces lo normal
Síndrome de Reye	3 a 5 veces lo normal	3 a 5 veces lo normal
Mononucleosis infecciosa	Hasta 20 veces lo normal	Hasta 20 veces lo normal
Ictericia obstructiva, colangitis	Hasta 5 veces lo normal	Hasta 5 veces lo normal
Cirrosis	Aumentos variables, en general gasta el doble de lo normal	Incrementos variables, en general hasta el doble de lo normal
Distrofias musculares	Hasta 8 veces lo normal	Hasta 8 veces lo normal
Gangrena	2 a 5 veces lo normal	Normal o aumento leve
Lesiones del músculo esquelético	2 a 5 veces lo normal	Normal o aumento leve
Embolia pulmonar	Hasta 3 veces lo normal	Generalmente no se afecta
Pancreatitis aguda	2 a 5 veces lo normal	Generalmente no se afecta
Enfermedades malignas del cerebro o la médula espinal	Cantidad variable	Generalmente no se afecta

Fuente: Ward KM, Cockayne S. Enzimología. En Shauna C, Anderson P, Cockayne S. Química Clínica. 1ra Edición. Editorial interamericana Mc Graw-Hill. México DF, 1995.



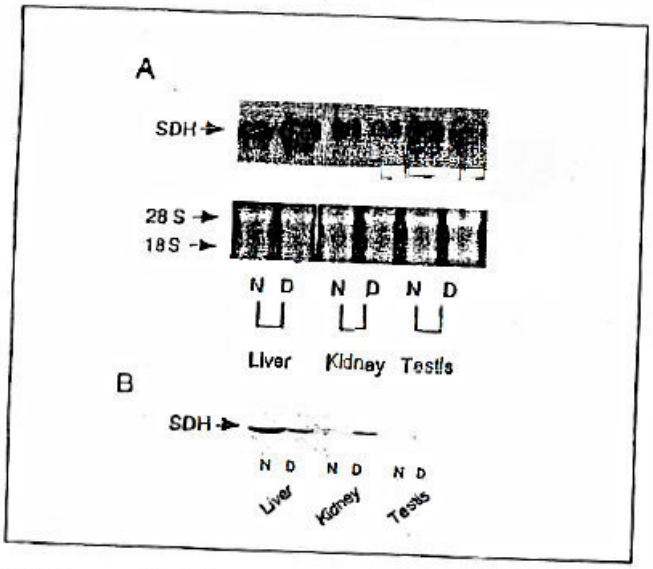
ANEXO 11: Mecanismo de formación de Hb-G

Fuente: Goldstein DE, Little RR. Glycosylated Hemoglobin in the Care of the Diabetec Patient. American Society of Clinical Pathologists Check Sample. Clinical Chemistry 1986, N° CC86 – 6 (CC-174): 1-8.



ANEXO 12. SDH plasmática en pacientes sin enfermedad hepática.

Fuente: Secchi GC, Ghidoni A. Interesse clinico della Determinazione dell´Attivita Sorbitoldeidrogenasica Plamatica in Patologia Epatica. Enzymol Biol. Clin 1962/63; 2: 99-107.



ANEXO 13. Comparación de RNAm del SDH y los niveles proteicos en el hígado, riñón y esticulos de ratas control y diabéticas. El RNA m de SDH (A) y los niveles proteicos (B) en las ratas diabéticas (D) y de control (N) se examinarón por análisis Northern y Western blot.

Fuente: Hoshi A, Takahashi M, Fuji J. Et *al.* Glycation and inactivation of sorbitol dehydrogenase in normal and diabetic rats. Biochem J 1996; 318: 119-123.