



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

COMPORTAMIENTO DE LA HEMOGLOBINA
GLUCOSILADA, HEMOGLOBINA NORMAL Y
GLUCOSA DE PACIENTES CON DIABETES TIPO I,
RESPECTO A INDIVIDUOS NORMALES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA:

TEODORA JACINTO ROBLES

ASESORES:

Q.F.B. IDALIA AVILA MIYAZAWA

M. en C. BENITO LOPEZ BAÑOS

M.C. AURELIO DE LA FUENTE LOPEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

28
2ej



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Comportamiento de la Hemoglobina Glucosilada, Hemoglobina Normal y Glucosa de Pacientes con Diabetes Tipo I, Respecto a Individuos Normales,

que presenta la pasante: Teodora Jacinto Robles con número de cuenta: 7855429-0 para obtener el TITULO de Química Farmacéutica Bióloga.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 29 de Marzo de 1996.

PRESIDENTE	Q.F.B. Idalia Avila Mivezowa	
VOCAL	M. en C. Luisa Martínez Aguilar	
SECRETARIO	Q.F.B. Martha P. Gamboa León	
PRIMER SUPLENTE	Q.F.B. Carolina Moreno Ramos	
SEGUNDO SUPLENTE	Q.F.B. René Dumán Santos	

Dedicatorias:

A mis padres, por todo lo que me han dado, con todo mi cariño.

A mi esposo, por su apoyo y comprensión, con amor.

A mis hijos, Edgar, Aline y Daryl, con todo mi amor.

A mi suegra, por su apoyo y cariño.

A Jessica Paez, por su apoyo invaluable e incondicional

Al M. en C. Benito López Baños, por su apoyo e invaluable ayuda.

A la Q. F. B. Idalia Avila Miyazawa, por su apoyo.

A mis hermanos Bertha, Bibiana, Catalina, Gloria, Teófilo, Miguel,

Andrea, José Luis y Eloy, con cariño y amor.

A mis amigos.

CONTENIDO

CAPITULO		HOJA
	INTRODUCCION	1
I	GENERALIDADES	4
	1.1 Historia de la diabetes	4
	1.2 Clasificación de la diabetes mellitus	5
	1.3 Diabetes mellitus tipo I	5
	1.4 Diabetes mellitus tipo II	7
	1.5 Etiología de la diabetes mellitus tipo II	8
	1.6 Etiopatogenia de la diabetes tipo I	8
	1.6.1 Susceptibilidad genética	9
	1.6.2 Factores ambientales	9
	1.6.3 Inmunidad activa	10
	1.7 Cuadro clínico	11
	1.8 Diagnóstico	13
	1.9 Mecanismos de control	15
	1.9.1 Tratamiento con fármacos: Insulina	15
	1.9.2 Administración de insulina	19
	1.9.3 Dieta	20
	1.9.4 Ejercicio físico	21
II	HEMOGLOBINA GLUCOSILADA (HbA₁)	22
	2.1 Glucosilación no enzimática de la hemoglobina	22
	2.2 Biosíntesis	27
	2.3 Propiedades funcionales	29
	2.4 Hemoglobina glucosilada en diabetes	30
	2.5 Métodos más comunes de cuantificación	31
	2.6 Confiabilidad del método	34
	2.7 Hemoglobina glucosilada y su importancia	35
	2.8 Hemoglobina glucosilada y sus complicaciones tardías	36
	2.9 Factores que alteran la determinación de la hemoglobina glucosilada	37
	2.10 Tratamiento en base a los valores de hemoglobina glucosilada	38

III	ETAPA EXPERIMENTAL	41	
	3.1	Objetivos	41
	3.2	Material y métodos	42
	3.3	Metodología	43
	3.4	Análisis estadístico	46
IV	RESULTADOS	47	
	4.1	Discusión	52
	4.2	Conclusiones	55
	BIBLIOGRAFIA	57	

INTRODUCCION

La diabetes mellitus es una enfermedad genéticamente determinada, en la que el sujeto que la padece, tiene alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas, unido a una relativa o absoluta deficiencia de insulina. Cuando la enfermedad alcanza pleno desarrollo, se caracteriza por hiperglucemia en ayunas y por larga evolución de la enfermedad, cursa generalmente con complicaciones microangiopáticas, en especial renales y de los ojos, así como macroangiopáticas como afección de las arterias coronarias, enfermedad vascular periférica y neuropatía (26).

Se tiene conocimiento de que existe la diabetes desde el siglo I A. C., y a pesar de los adelantos científicos y tecnológicos en medicina no ha sido posible curarla, solamente controlarla y esto aún es muy difícil, sobre todo porque dicha enfermedad es inestable (44).

Para mantener un control metabólico y evitar en lo posible las complicaciones tardías y secuelas de esta enfermedad, durante muchos años lo único que se había hecho era la evaluación de la glucosa en ayunas (y esto algunos médicos todavía lo hacen) para estimar la dosis de insulina que se le va a administrar al enfermo. Esta medida es poco confiable, ya que el paciente durante un mismo día tiene variaciones importantes en la concentración de glucosa, principalmente si tiene inestabilidad emocional o padece infecciones (34).

Actualmente existen en el laboratorio diversos métodos para evaluar el control metabólico de los pacientes con diabetes mellitus tipo I. Uno de los mas importantes es la cuantificación de la hemoglobina glucosilada, aunque no se emplea como examen de rutina, es uno de los mas confiables (26).

La hemoglobina glucosilada cuantifica los productos que se obtienen por una reacción no enzimática entre diversos carbohidratos y la hemoglobina A, que se efectúa a nivel del eritrocito (44 a).

En individuos normales el 90 % de la hemoglobina es Hb A, de la cual del 4 al 8 % sufre modificaciones traslacionales en su estructura, al unirse a algunos carbohidratos. A este complejo se le conoce como hemoglobina glucosilada y se cuantifica en el laboratorio como porcentaje de hemoglobina glucosilada (41).

En 1968 Rahabar, quien fué el primero en observar la hemoglobina glucosilada en pacientes con diabetes mellitus e individuos sanos, advirtió que el valor está aumentado de dos a tres veces en individuos diabéticos; desde entonces la determinación porcentual de la hemoglobina glucosilada indica el nivel de concentración de glucosa sanguínea en pacientes con diabetes mellitus. En virtud de que la glucosilación de la Hb está en función de la vida media del eritrocito, la Hb glucosilada proporciona un dato cercano al promedio de la concentración de la glucosa que hubo en los tres meses previos a la determinación. Además no se altera al cuantificarla si el paciente no está en ayuno o si en ese momento tiene una descompensación (28, 41).

La determinación de la hemoglobina glucosilada ayuda al manejo de los pacientes con diabetes mellitus tipo I y tiene como objetivo que mantengan la concentración de glucosa lo más cercano a los niveles normales. El propósito es evitar o retrasar el desarrollo de complicaciones inmediatas (retrasos en el crecimiento, desarrollo pobre y brote puberal tardío) y mediatas o tardías (nefropatía, retinopatía, neuropatía, etc.) en niños y en adultos con esta enfermedad (44).

La hemoglobina glucosilada también sirve para diagnosticar en forma temprana la Diabetes mellitus tipo I. En algunos reportes se le da mas confianza que a la curva de tolerancia a la glucosa.

En este trabajo ponemos mayor atención en la diabetes tipo I, ya que los pacientes estudiados padecen esta enfermedad.

I GENERALIDADES

1.1 Historia de la diabetes.

La diabetes es una enfermedad conocida desde la época de los egipcios, aunque no fue descrita como diabetes. En 1650 Tomas Willis descubrió que la orina de diabéticos contenía azúcar. En 1857 Claude Bernard demostró que el azúcar no se formaba en el riñón, sino que era extraída del cuerpo y se eliminaba en la orina, hizo notar por primera vez la existencia de la hiperglicemia al encontrar valores elevados de glucosa en la sangre. En 1893 Laquesse menciona la secreción de la insulina por los islotes de Lagerhans. En 1921 Frederick descubrió la insulina. En 1960 Nicol y Smith describieron la estructura química de la insulina humana (26).

La diabetes mellitus es un síndrome debido a desórdenes metabólicos de la energía, causados por la secreción o acción insuficiente de la insulina a nivel celular, y que da como resultado una alteración en la homeostasis; afectando a la combustión de los carbohidratos, proteínas y grasas (44).

La glucosa se obtiene de los alimentos que se consumen y es la principal fuente de energía para el organismo; la insulina es la que permite que la glucosa se integre a las células (33).

La insuficiencia de la insulina, impide el correcto aprovechamiento de la glucosa por el organismo con diabetes no tratada, ya que no puede ser asimilada por los adipocitos, los miocitos y las células del tejido conjuntivo en personas diabéticas, a menos que se les administre insulina exógena (44).

1.2 Clasificación de la diabetes mellitus.

En la clasificación que emplea el National Diabetes Data Group se requieren datos de laboratorio que confirman características genéticas e inmunológicas para emplear el término diabetes tipo I y que además incluyen la medición de anticuerpos en los islotes de Lagerhans. La OMS prefiere utilizar el término diabetes mellitus insulino dependiente (37).

La diabetes mellitus no es una entidad solitaria, es un grupo heterogéneo de desórdenes en los cuales hay distintos patrones genéticos de herencia o bien etiologías, y mecanismos fisiopatológicos separados (Cuadro A) (37).

1.3 Diabetes mellitus tipo I.

Esta enfermedad está caracterizada por insulinopenia severa y depende de la insulina inyectada para prevenir cetoacidosis y preservar la vida, por lo cual se le llama insulino-dependiente (IDDM) (44).

La IDDM casi siempre se presenta en la juventud, pero no está restringida solo para niños, puede ocurrir a cualquier edad. Por lo tanto los términos de diabetes juvenil, diabetes propensa a cetoacidosis y diabetes frágil se han abandonado por el término diabetes tipo I o diabetes mellitus insulino dependiente (37).

Cuadro A.

Clasificación de diabetes mellitus en niños y adolescentes.

CATEGORIA	CRITERIOS
Diabetes mellitus	
1. Insulino-dependiente (IDDM) o tipo I.	Síntomas típicos: Glucosuria, cetonuria, glucosa en ayunas mayor de 200 mg/dl.
2. No insulino-dependiente (NIDDM) o tipo II.	Glucosa en ayunas mayor de 140 mg/dl, y valores en la prueba de tolerancia a la glucosa oral de 200 mg/dl o más, después de dos horas.
3. Otros tipos.	Tipo I o tipo II con criterio de síndrome genético, terapia de drogas, enfermedad pancreática y otras causas conocidas o asociadas.
4. Tolerancia a la glucosa deteriorada.	Glucosa en ayunas menor de 140 mg/dl y dos horas después de la tolerancia a la glucosa oral de 140 mg/dl.
5. Diabetes gestacional.	Dos o más glucosas en ayuno mayores de 105 mg/dl, y en la prueba de tolerancia la glucosa, después de una hora mayor de 190 mg/dl, a las dos horas, más de 165 mg/dl y a las tres horas mayor de 145 mg/dl.

Clasificación de National Diabetes Data Group (37).

1.4 Diabetes mellitus tipo II.

Las personas que padecen esta enfermedad, no son insulino-dependientes ni propensos a cetoacidosis, aunque pueden usar insulina para la corrección de hiperglucemia sintomática y pueden presentar cetoacidosis bajo circunstancias especiales, como periodos de infección o estrés. Debido a que no hay dependencia de insulina, esta enfermedad se llama diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM) (44).

La concentración de insulina puede ser normal u ocasionalmente baja. Casi siempre se presenta después de los 40 años pudiendo ocurrir a cualquier edad, incluyendo niños. Del 60 al 90 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo II son obesos. Esta enfermedad fue llamada diabetes del adulto, diabetes madura o diabetes estable, y se manifiesta como una tolerancia anormal a los carbohidratos; casi siempre secretan cantidades suficientes de insulina, y su problema es resistencia a ésta, generalmente no presentan insulinopenia (37, 44).

La diabetes mellitus no dependiente de insulina es la forma más frecuente de diabetes y se caracteriza clínicamente por los siguiente rasgos: alta frecuencia familiar; aparición clínica relativamente tardía, por lo general en la edad adulta; asociación estadística con obesidad e hipertensión arterial esencial; respuesta en la mayoría de los casos al tratamiento exclusivamente dietético; también suele haber buena respuesta a hipoglucemiantes orales, desarrollo relativamente lento de secuelas comparado con la IDDM; baja tendencia a cetoacidosis (26).

1.5 Etiología de la diabetes mellitus tipo II.

Actualmente con las investigaciones que se han realizado acerca de la diabetes mellitus no insulino dependiente, se supone que tanto la resistencia a la insulina, como el trastorno en la secreción pancreática de insulina tienen un origen genético en los individuos predispuestos a la diabetes mellitus no insulino dependiente. Se cree que estos dos trastornos propician al inicio una serie de cambios metabólicos subclínicos o que se expresan como obesidad, hipertensión, etc. (26).

Cuando la capacidad para incrementar su secreción de insulina en respuesta a la demanda aumentada que le impone la disminución en la sensibilidad a la insulina alcanza un nivel crítico, aparece, primero la intolerancia a la glucosa y después la hiperglucemia en ayunas. A esta última contribuye el hecho de que la insuficiencia secretora del páncreas no alcanza a compensar la resistencia de los ácidos grasos libres a la acción de la insulina, éstos aumentan en la circulación, penetran en el tejido hepático y propician un aumento en la producción hepática de glucosa (26).

1.6 Etiopatogenia de la diabetes tipo I.

La diabetes mellitus tipo I resulta de la destrucción de las células beta del páncreas. En su patogenia existen factores de susceptibilidad genética, ambiental, inmunidad activa y disminución de secreción de insulina (daño celular) como manifestación de la diabetes, propiamente dicha (26).

1.6.1 Susceptibilidad genética.

La susceptibilidad genética se refiere a un gen, al menos, del cromosoma 6 que codifique para esta enfermedad en la región del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). La forma en que se hereda puede ser autosómica dominante, multigénica, o bien polialélica recesiva, es decir, se hereda por un solo gen que recibe influencia de otros genes que se modificaron previamente.

Los genes del CMH se consideran marcadores genéticos. Se presentan 3 clases: I, II y III (26).

La diabetes mellitus tipo I se asocia a genes de la clase I, como son HLA-B8, B15 y B18. El HLA-B7 tiene un efecto protector, es decir que los individuos que lo presentan no desarrollan esta enfermedad. También los alelos del locus D, DW3 y DW4, se asocian a la diabetes tipo I. Cuando en un mismo individuo se localizan dos de estos marcadores (B8 y B15) aumenta el riesgo de padecer diabetes (26).

En años recientes se ha encontrado asociación con los genes de la clase II como el DR3 y DR4 y la diabetes mellitus tipo I; se considera que el gen DR2 tiene efecto protector (26).

1.6.2 Factores ambientales.

Entre los factores ambientales que se conocen como "predisponentes" se mencionan a los virus como el Coxsackie B4 y el de la rubéola. En pacientes con diabetes mellitus que presentaron infección por Coxsackie en forma aguda se encuentran títulos elevados de anticuerpos contra este virus y cuando se procesaron los islotes pancreáticos obtenidos por biopsia se encontró el

virus incluido en ellos. Algunos autores reportan que cerca del 30 % de niños diabéticos padeció rubéola congénita (26).

Se cree que el efecto diabetógeno de los virus pueda ser mediante citotoxicidad directa sobre la célula beta o tras un lento desarrollo en esa célula y que al incorporarlos en su estructura, produzcan más tarde determinantes antigénicos que se ubiquen en la superficie y despierten la respuesta inmunitaria de autodestrucción (26).

Otro mecanismo sería que los virus produjeran cambios estructurales dentro de la célula beta, de tal forma, que se afecte la síntesis de insulina, o que el virus fuera capaz de producir activación policlonal del sistema inmunitario de manera inespecífica a través del interferón gama, ácido lábil que se produce durante la enfermedad viral (26).

1.6.3 Inmunidad activa.

Otros factores que pueden contribuir al desarrollo de la diabetes tipo I y que también se encuentran en estrecha relación con el complejo mayor de histocompatibilidad clase II son: Los anticuerpos contra los islotes (ACI), los anticuerpos contra la insulina (AAI), y los anticuerpos contra una proteína de peso molecular aproximadamente a 64 000 daltons, o proteína K.

Desde hace varios años los ACI se consideran como indicadores de riesgo para manifestar la diabetes tipo I, pues su presencia se asocia al daño de las células beta del páncreas. Los ACI son inmunoglobulinas G que se unen a los islotes de Langerhans cuando se observan en cortes de páncreas, algunas veces puede

detectarse 10 años antes de que se manifieste la enfermedad; pero hay ocasiones que se presentan 2 años después. Los métodos que se emplean para su detección son radioinmunoanálisis y ELISA. Se ha observado que existe una concentración mayor de AAI en niños. Quizá se deba a una respuesta inmunitaria exagerada contra la célula beta. Por otra parte, la asociación de AAI positivos es del 85 % en niños que desarrollan la diabetes antes de los 15 años. En familiares en primer grado de diabéticos dependientes de insulina, los AAI están presentes al nacimiento, pero luego desaparecen (26).

Algunos autores proponen que los anticuerpos contra proteína K tienen un valor predictivo para el desarrollo de la diabetes que va del 75 al 100 %; por lo que se propone como una prueba para la detección en estudios poblacionales. Pero el método empleado es laborioso y se dificulta llevarlo a cabo (26).

Otros investigadores han reportado que en pacientes con diabetes tipo I los linfocitos T supresores presentan alteraciones en número y función que favorecen el proceso inmunitario, sin ser los responsables directos de la destrucción de las células beta. Según Leinmark y Cols. cerca del 90 % de los IDDM de reciente diagnóstico y con genes DR tienen linfocitos T en número mayor, los cuales se infiltran al páncreas y dan lugar al proceso llamado "insulinitis" (26).

1.7 Cuadro clínico.

La diabetes mellitus tipo I se puede manifestar a cualquier edad, el 90 % inicia entre los 9 y 12 años, se caracteriza prin-

principalmente por insulinopenia que acentúa la hiperglucemia y propicia la presencia de cetonas en sangre y orina, tiene ligera prevalencia en el sexo femenino (26).

En general, se dice que la diabetes mellitus tipo I se presenta en forma brusca e inclusive con cetoacidosis, pero en la actualidad, los datos indican que esta enfermedad se inicia de un modo lento y requiere semanas o meses para manifestarse (26).

El síntoma más temprano es la poliuria, que se debe a la hiperglucemia y a la glucosuria, que de manera secundaria, producen polidipsia. En etapas iniciales de la enfermedad puede presentarse anorexia que se debe a la presencia de cetonas en la sangre, más tarde, cuando ya hay daño franco de la célula beta, se produce polifagia. Los síntomas anteriores conllevan a la pérdida de peso en el niño, que al momento del diagnóstico puede ser entre 10 y 30 %. Otros síntomas debido a la falta de insulina son: astenia, adinamia y calambres generalmente nocturnos y secundarios a la pérdida de electrolitos en orina (26).

Puede haber cambios en la personalidad (irritabilidad, ansiedad, etc.), visión borrosa, dolor de cabeza o abdominal, dificultad para respirar, náuseas y diarrea o constipación (26).

Si el diagnóstico no se establece en forma temprana y el padecimiento se asocia con infecciones de vías respiratorias superiores o del tracto digestivo, es común que el paciente desarrolle cetoacidosis (26).

La evolución clínica de la diabetes mellitus tipo I varía de un individuo a otro, depende de la rapidez con la que se establezca el diagnóstico, de la educación que se le da al

paciente y a sus familiares para lograr un tratamiento integral, con base en la administración exógena de insulina, dieta, ejercicio y mantenimiento de la estabilidad emocional (26).

En la mayoría de los pacientes con diabetes tipo I se presenta, entre el segundo y sexto mes del inicio de la enfermedad, un período de remisión que se conoce como "luna de miel". Se caracteriza por la disminución de los requerimientos diarios de insulina, que llegan a ser puramente simbólicos. Este período tiene una duración variable que oscila entre 3 y 12 meses. Pasado el período de remisión la diabetes se instala en forma definitiva, y para su manejo depende del equilibrio entre la dosis de insulina, dieta, ejercicio y estabilidad emocional. Se busca mantener cifras de glucosa lo más cerca a lo normal, ya que con ello se permitirá al paciente lograr un crecimiento y desarrollo adecuado. Así mismo se intenta evitar la cetoacidosis y las complicaciones crónicas de la diabetes, como la retinopatía, neuropatía, etc., que se manifiesta en promedio a partir de los 5 años de evolución del paciente (26).

Por otra parte, basados en estudios poblacionales, se menciona que el paciente diabético tipo I, se le reduce el promedio de vida en un 25 %, comparado con la población normal. Y si la diabetes se manifiesta antes de los 30 años, solo el 50 % de esos pacientes sobrevivirá otros 30 años (26).

1.8 Diagnóstico.

La diabetes tipo I generalmente se diagnostica cuando el paciente presenta una hiperglucemia severa, ya que normalmente

los niños no se hacen pruebas para predecir su aparición, y como la enfermedad no presenta características concretas, se necesitan exámenes de laboratorio para declarar la aparición de la enfermedad.

Se establece con base en el cuadro clínico y mediante análisis de laboratorio que detectan la hiperglucemia, cuya magnitud depende de la deficiencia de insulina, de la glucogenólisis, la gluconeogénesis y de las calorías que se ingieran. Actualmente se consideran que dos determinaciones de glucosa en sangre en ayunas, que reporten cifras mayores de 140 mg/dl o bien una cifra mayor de 240 mg/dl, son indicios suficientes para establecer el diagnóstico de diabetes mellitus (26).

Por lo general, no se requiere prueba de tolerancia a la glucosa para su confirmación. La hiperglucemia se acompaña de glucosuria y cetonas en sangre y orina debido no solo a la falta de insulina, sino además a la lipólisis mayor. Puede haber también leucocitosis, bacterias, proteinuria e hiperlipidemia (26).

La determinación porcentual de la hemoglobina glucosilada (HbA1) se encuentra al inicio del padecimiento arriba de los valores normales (26).

Es necesario establecer el diagnóstico diferencial entre diabetes mellitus tipo I y entidades que produzcan síndrome polidíptico, como en la glucosa renal, en que no hay hiperglucemia, o bien, con polidipsia compulsiva en la que falta hiperglucemia y glucosuria (26).

1.9 Mecanismos de control

El objetivo inmediato en el manejo de niños con diabetes tipo I, es la previsión de la nutrición adecuada y el manejo de insulina que prevea hiperglicemia sintomática (polidipsia, poliuria y nocturia) mientras se evita la hipoglicemia permitiendo el desarrollo y crecimiento normal tanto física como emocionalmente. La educación en los padres y en los pacientes en los principios del manejo de la enfermedad facilitan el logro de esta meta, los objetivos a largo plazo incluyen la minimización del riesgo para desarrollar complicaciones micro y macrovasculares, para un buen control metabólico (44).

1.9.1 Tratamiento con fármacos: Insulina.

a) Biosíntesis de la insulina.

La insulina es una hormona que se sintetiza en los ribosomas de los islotes pancreáticos de las células beta y se vacía dentro de la circulación como una molécula formada de 2 cadenas polipeptídicas lineales enlazadas por 2 puentes disulfuro. (fig. A) (44).

b) Estructura de la insulina.

Las dos cadenas de insulina no se sintetizan por separado, derivan de un gran precursor que es la preproinsulina, es una cadena en forma de espiral en la cual la terminal amino de la cadena A está enlazada a la terminal carboxilo de la cadena beta, conectadas por el péptido C (44).

El gran precursor de la insulina contiene una cadena peptídica adicional en la terminal amino de la cadena A, que es

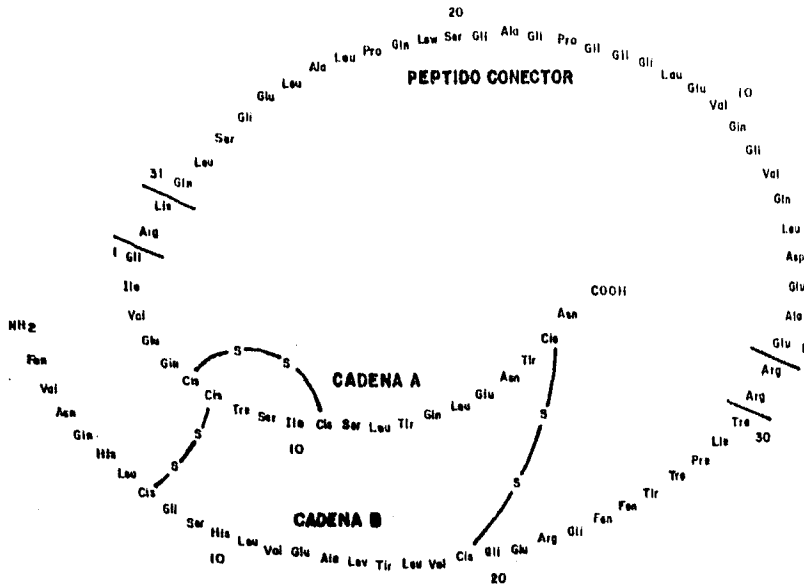


Fig. A. CADENA DE INSULINA. LAS PLECHAS 1 y 2 INDICAN EL SITIO DONDE LA INSULINA NORMAL Y EL PEPTIDO C SE ABREN, CUANDO LOS AMINOACIDOS INDICADOS EN LA CADENA SE SEPARAN, POR LO CUAL SE LIBERAN CANTIDADES EQUIVALENTES DE INSULINA Y PEPTIDO C.

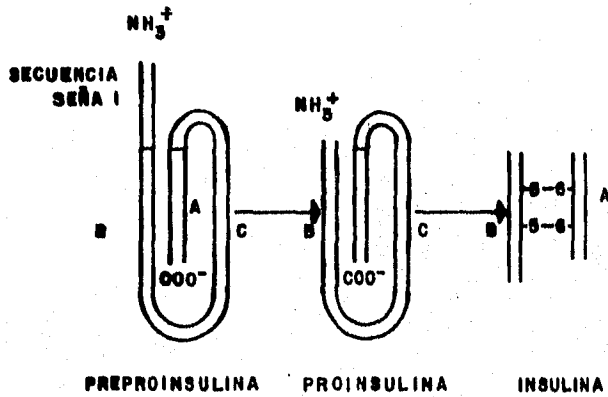


Fig. B. CONVERSION ENZIMATICA DE LA PREPROINSULINA EN PROINSULINA Y ESTA EN INSULINA. EL GRAN PRECURSOR DE LA INSULINA.

sintetizada primero, y tiene gran importancia por ser la iniciadora de la síntesis, ya que es rápidamente excitada, (Fig.B). La proinsulina nativa tiene menos del 5 % de la actividad de la insulina, mientras que el péptido C no tiene nada.

Durante la síntesis de insulina, el péptido C aparece para promover el arreglo espacial necesario para la formación de los enlaces sulfuro (6, 44).

En condiciones normales, pequeñas cantidades de proinsulina se liberan dentro de la circulación y durante la secreción de insulina se produce un estímulo para liberar una molécula de péptido C, por ello la medición cinética de la excreción ordinaria del péptido C es un índice para valorar la secreción de insulina endógena (44, 44a).

c) Secreción de insulina.

Está gobernada por la interacción de nutrientes, hormonas y sistema nervioso autónomo. La glucosa, así como otros azúcares, que son metabolizados por los islotes, estimulan la liberación de insulina. Durante la infusión de glucosa, la secreción de insulina es bifásica, con una elevación máxima inicial seguida por una constante (44).

La traslocación de los iones calcio dentro del citoplasma, tanto como los que se encuentran en los organelos intracelulares, juegan un papel importante en las fuerzas contráctiles que eliminan la insulina a la superficie celular. La membrana de la vesícula de la insulina al fusionarse con la membrana celular, permite la extrucción de los gránulos de insulina dentro del espacio

vascular circulante, proceso que se le conoce como emiocitosis (44).

La respuesta de la insulina a la glucosa oral, siempre es mas grande a la que se administra por vía parenteral, esto hace pensar que hay factores intestinales que moderan la secreción de insulina. El glucagon pancreático y el intestinal estimulan la liberación de insulina (10).

La secreción de insulina es constantemente modulada por el sistema nervioso autónomo, por la rama parasimpática vía el vago que estimula directamente la liberación de insulina. En individuos normales la secreción de insulina es graduada por la cantidad, calidad y frecuencia de los nutrientes que se ingieren, por las hormonas del medio ambiente y por impulsos autosómicos; la ingestión de nutrientes principalmente de carbohidratos y proteínas, producen signos intestinales hormonales que inician la liberación de insulina. El metabolismo subsecuente de la glucosa dentro de la célula beta provee de energía para iniciar la síntesis y liberación de la insulina (44).

d) Acción de la insulina.

La acción de la insulina en las células blanco de tejidos como el hígado, adipocitos y músculo empieza por enlazarse a un receptor de la insulina, localizado en la membrana celular, el enlace de estos receptores es saturable y se presenta cuando hay una asociación de alta energía, depende del pH y la temperatura (15).

El enlace de la insulina a los receptores de la superficie celular, permite la acción de la insulina al nivel del núcleo,

dando comienzo al complejo proceso bioquímico que se efectúa en la célula si los procesos post-receptores son normales. La respuesta biológica a la insulina en un tejido es función del número de los complejos formados de receptor-insulina, los cuales están directamente relacionados a la concentración de la insulina circulante y a la concentración de receptores (15).

1.9.2 Administración de insulina.

La insulina se encuentra en el mercado de tres formas: de actividad rápida, intermedia y lenta o prolongada.

La manufactura de insulina tiene alta pureza con concentraciones mínimas de otras hormonas como proinsulina, glucagon, polipéptido pancreático y somatostatina (44).

El patrón de insulina en el suero de humanos normales durante un día se encuentra en un nivel basal, durante el cual hay varios episodios secretorios que varían según la comida ingerida. El nivel de la insulina está sincronizado con la cantidad de glucosa sanguínea, y la insulina es secretada dentro de la circulación portal y liberada en sus células blanco, por tanto, es ingenuo suponer que una sola inyección de insulina intermedia aplicada subcutáneamente pueda imitar el patrón normal de insulina secretada. las dosis excesivas de insulina tienden a una hipoglicemia, mientras que las dosis insuficientes de insulina producen hiperglicemia y son inevitables. También se pueden aplicar inyecciones de insulina de actividad rápida e intermedia antes de cada comida, a pesar de esto, la normalización de la glucosa sanguínea no es completamente

lograda, además es poco probable que un niño permita las inyecciones múltiples durante un día. Sin embargo, el intento de cada método es lograr el metabolismo intermedio o cercano al normal, así como para permitir el desarrollo y crecimiento normal (44).

1.9.3 Dieta.

La dieta general no tiene restricciones ni negaciones, ya que pueden inducir ansiedad o rebelión de los pacientes a los padres, no existe una dieta especial para niños diabéticos, pero si existen requerimientos nutricionales que les ayuden para el crecimiento y desarrollo óptimo. Debido a que la capacidad secretora de la insulina en respuesta a la comida es insignificante, y que la dosis de insulina está restringida por la ingestión calórica, la regularización del patrón de alimentación para el régimen personal de la dosis de insulina es esencial. No obstante los requerimientos nutricionales de los niños diabéticos es similar a los sanos de su edad, sexo, peso y actividad, comerán de acuerdo a su cultura, grupo social y étnico. Las grasas animales deben ser sustituidas por grasas vegetales como la margarina por la mantequilla, los aceites animales por vegetales, la carne magra de res por ternera, pollo asado, pavo y pescado; no comer carne con grasa como jamón, tocino, res y evitar la yema de huevo. Siguiendo esta dieta, se reduce el colesterol (44).

Los ajustes especiales en los planes de alimentación y de insulina, pueden realizarse repentinamente durante el crecimiento en la adolescencia y compensando con ejercicio vigoroso, por

todas estas razones es recomendable pertenecer a grupos de diabéticos para tener información de un médico capacitado como una parte del proceso educacional para el niño. Actualmente se ha observado que las dietas con alto contenido de fibra ayudan al control de la glucosa sanguínea en diabéticos, la inclusión de 50 g/día de formas selectas de fibras en la comida tales como vegetales, el pan en la comida con salvado, cereales y frutas, reducen no sólo la concentración de glucosa, sino también los lípidos de alta densidad (44).

1.9.4 Ejercicio físico.

El ejercicio es un componente integral del crecimiento y desarrollo. No existe forma de ejercicio, inclusive deportes competitivos, que no puedan desarrollar los niños diabéticos. La mayor complicación del ejercicio en diabetes son las reacciones de hipoglucemia durante o después del ejercicio vigoroso, ya que se aumenta el rango de absorción de insulina, por lo que se recomienda un carbohidrato adicional antes de iniciar el ejercicio, también tener glucosa disponible en forma de jugo de naranja; una bebida carbonatada o dulces, se pueden ingerir después del ejercicio. Con experiencia, ensayo y error, cada niño y padre, guiados por el médico, aprenderán el aprovechamiento óptimo, cuando el ejercicio es programado y se asocia con hipoglicemias repetidas, la dosis de insulina se puede disminuir en un 10 %. El adiestramiento en el ejercicio mejora la glucorregulación, ya que aumenta los receptores de insulina y el metabolismo de los lípidos (44).

II HEMOGLOBINA GLUCOSILADA (HbA1).

2.1 Glucosilación no enzimática de la hemoglobina.

La formación de glucoproteínas está estrictamente bajo control enzimático. Aunque los azúcares pueden enlazarse a las proteínas **NO ENZIMATICAMENTE** bajo condiciones fisiológicas, este fenómeno se observa en las células rojas y otros tejidos. La glucosilación no enzimática de las proteínas puede contribuir a solucionar los dos importantes problemas no resueltos en la diabetes: Asegurar el control metabólico y prevenir las complicaciones patogénicas tardías (5).

Cuando se descubrió la hemoglobina glucosilada, se sabía que era la unión de la glucosa con la hemoglobina, actualmente sabemos que es la unión **NO ENZIMÁTICA** de la glucosa con la hemoglobina (5, 11, 46).

A la hemoglobina glucosilada se le denomina de diferentes formas: se le conoce como HbA1, como componentes menores de la hemoglobina, como hemoglobina rápida o como fracción menor de la hemoglobina (5, 46).

Llamaremos hemoglobina glucosilada indistintamente a la suma de las tres hemoglobinas, la HbA1a + HbA1b + HbA1c. La hemoglobina glucosilada fue observada por primera vez por Allen y Cols. en 1958 (3). Cuando buscaban los componentes heterogéneos de la oxihemoglobina por cromatografía intercambiadora de cationes con hemolizados de células rojas. Utilizaron desarrolladores a base de sodio, cianuro de potasio, fosfato de sodio y fosfato ácido de sodio, observaron que existía un

componente menor que ocupaba cerca del 10% de la hemoglobina total, al cromatografiar nuevamente la zona A1, vieron otras tres zonas, las cuales denominaron por su orden de elución como HbA1a, HbA1b y HbA1c que se encontraban en proporciones 1 : 1 : 4 (3).

Fue hasta 1968 que Rahbar observó una hemoglobina anormal en los eritrocitos de diabéticos, ésta estaba formada por tres fracciones que se movían rápidamente en la electroforesis (41).

En estudios posteriores observó que las fracciones estaban aumentadas solo en personas con diabetes, intentó separarlas y cuantificarlas por electroforesis sin éxito, solo obtuvo un ensanchamiento de la fracción hemoglobina A, la HbA1 corrió más rápidamente que la HbA. Mas tarde Rahbar y Cols. corroboraron que el componente extraño tenía las mismas características cromatográficas y electroforéticas que la HbA1c que describieron Allen y Cols. y reportó valores en diabéticos aumentados el doble o más que el de las personas normales (5).

La glucosilación no enzimática de las proteínas puede contribuir a solucionar los dos importantes problemas no resueltos en la diabetes: Asegurar el control metabólico y prevenir las complicaciones patológicas tardías (5).

La hemoglobina glucosilada es el componente menor más abundante de la hemoglobina de las células rojas humanas normales (5).

Estructura.- Los componentes de las células rojas se esquematizan en la Fig. C, donde observamos una electroforesis en gel. La hemoglobina A ocupa cerca del 90 % de la hemoglobina total, la

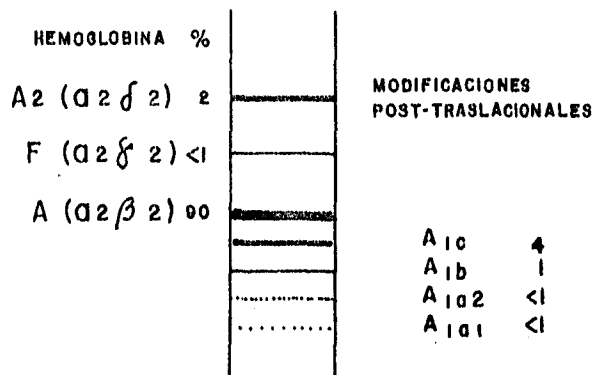


Fig. C. COMPONENTES DE LA HEMOGLOBINA DE CELULAS ROJAS NORMALES SEPARADAS POR ELECTROFORESIS EN GEL .

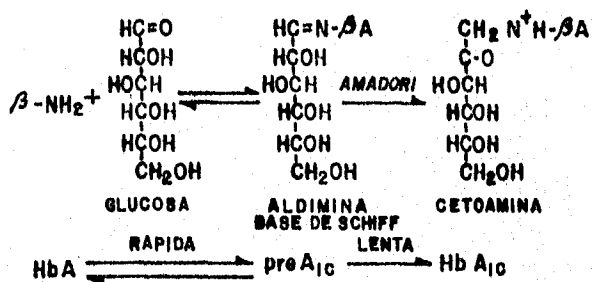


Fig. D. REACCION PARA LA SINTESIS DE HEMOGLOBINA GLUCOSILADA.

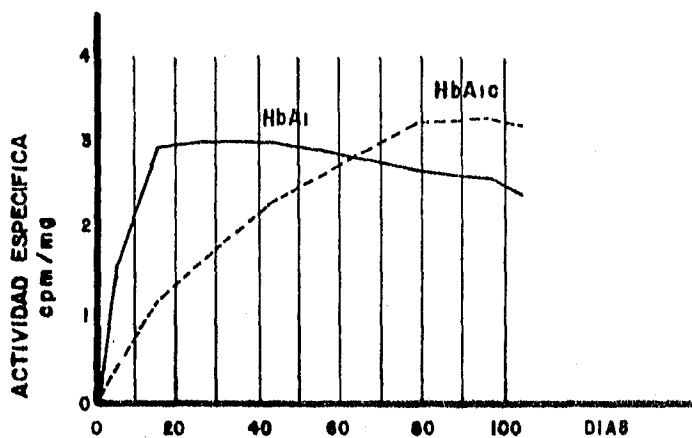


Fig. E. BIOSINTESIS DE LA HEMOGLOBINA GLUCOSILADA IN VIVO. SE INYECTO UN VOLUNTARIO NORMAL CON TRANSFERRINA MARCADA CON ^{59}Fe EL DIA CERO. DURANTE LOS SIGUIENTES 100 DIAS LAS MUESTRAS FUERON COLECCIONADAS Y SE SEPARO LA HbA1c POR CROMATOGRAFIA EN COLUMNA.

HbA2 y HbF son productos de diferentes genes de cadenas de globulina delta y gama. Las barras mas delgadas son modificaciones postraslacionales de HbA que se designaron por Allen y Cols. como HbA1a, 1b y 1c por su orden de elución. La HbA1c es la más abundante de los componentes menores y ocupa cerca del 4 % de la hemoglobina total en personas normales. El interés de la HbA1c fue estimulado cuando Rahbar descubrió que aumentaba de 2 a 3 veces en los pacientes diabéticos (5).

Para la formación de la hemoglobina glucosilada se lleva a cabo una reacción dentro del eritrocito, que consiste en la unión **NO ENZIMATICA** de la glucosa con la hemoglobina. Durante la reacción, la glucosa se condensa con el grupo N-aminoterminal de la cadena beta de la hemoglobina, específicamente a el aminoacido valina formando una cetoamina poco estable llamada base de Schiff, ésta se forma continua y lentamente, es un enlace débil y muy disociable. Esta hemoglobina glucosilada es una modificación de la hemoglobina A en donde no intervienen enzimas. Posteriormente el enlace cetoamina también llamado Pre Alc da lugar a una modificación llamada rearreglo de Amadori, para formar un enlace cetoamida que es más estable dando origen a la hemoglobina glucosilada (Fig. D). Debido a que este enlace es irreversible, la hemoglobina glucosilada se empieza a acumular dentro de la célula roja lenta y continuamente durante el lapso de vida de ésta, que es en promedio de 120 días (5, 16, 22, 27, 34, 38, 46, 47).

McDonal y Cols. separaron la HbA1a y observaron que tiene glucosa agregada en forma de fosfato, que es atacada por el

N-terminal de la cadena beta de la hemoglobina, de igual modo la HbA1b, pero el azúcar no ha sido identificado (5).

La HbA1c es una glucoproteína formada en cantidades más elevadas en diabéticos que en personas normales, aunque se ha observado que sus niveles se encuentran normales en hiperglicemia asintomática y aumentados en insulino dependientes. Esta determinación se originó en Tehrán, Irán, con Rahbar, que la dió a conocer al Dr. Ranney en 1968 (38).

La reacción química entre la glucosa y la hemoglobina es un proceso llamado "glucosilación no enzimática". Esta proteína HbA modificada postsintéticamente se une con la glucosa. Como el eritrocito es libremente permeable a la glucosa, se forma la hemoglobina glucosilada continuamente, la cantidad de HbA1 tiene una tasa dependiente de la concentración de glucosa en el ambiente celular (19).

Koenig y Cols. 1976 aseguran que hay un factor hormonal no identificado que estimula la síntesis de la hemoglobina glucosilada (39).

2.2 Biosíntesis.

Estudios biosintéticos han mostrado que la HbA1c es la glucosilación de una proteína del eritrocito. Bunn en 1981 reportó en vivo la formación de la HbA1c al inyectar a un voluntario transferrina marcada con el isótopo ⁵⁹[Fe], se observó por medio de radioactividad que las células rojas emergían del hueso (Fig. E). La radioactividad específica de la HbA aumentó rápidamente hasta un nivel máximo y luego decreció a través de la

vida del eritrocito, en contraste, la radioactividad de la HbA1a, HbA1b y HbA1c fue aumentado lenta y continuamente durante los 120 días de vida de la célula. Por el día 60 la radioactividad de los componentes menores, era mas grande que la de la HbA. La glucosilación de la HbA es un proceso no enzimático. Se ha observado que los pacientes con anemia hemolítica tienen valores bajos de HbA1c. Si las células no sobreviven todo el tiempo en circulación, tienen menos oportunidad para acumular hemoglobina glucosilada. Las células rojas "viejas" contienen más HbA1c que las más "jóvenes" (5, 12).

El proceso de la glucosilación es el resultado de una condensación bimolecular de dos componentes muy abundantes del eritrocito, la hemoglobina y la glucosa, debido a que hay infinidad de colisiones entre ellos se unen lentamente, Flücker y Cols. prepararon sintéticamente la HbA1c y tiene las mismas propiedades estructurales y funcionales de la HbA1c natural, esto comprueba que la glucosilación de la hemoglobina es no enzimática (5).

La proporción de la hemoglobina glucosilada es dependiente de la edad del eritrocito y de la cantidad de glucosa a la que se exponen, permanece dentro de la célula roja durante toda su vida, por tanto, del 6 al 8 % de la hemoglobina total está glucosilada en normoglicémicos y del 10 al 17 % o más en hiperglicémicos (34).

2.3 Propiedades funcionales.

En ausencia de fosfatos orgánicos la afinidad de la HbA_{1c} por el oxígeno, es similar a la de la HbA. Bunn y Briehl demostraron que la afinidad de la HbA_{1c} por el oxígeno disminuye con la adición de 2-3- difosfoglicerato (2-3-DPG), que es un modificador intracelular de la función de la hemoglobina. Debido a la presencia del carbohidrato en el N-terminal de la hemoglobina glucosilada, se dificulta el enlace covalente del 2-3-DPG al tetrámero globínico. En un estudio de las curvas de disociación del oxígeno de diabéticos, resultaron similares a los controles. Se cree que las alteraciones en el balance ácido-base del diabético, son las que disminuyen el transporte de oxígeno (5, 46).

Se relacionó la utilización de glucosa in vivo mediada por la insulina en adolescentes con un control normoglicémico. En hiperglicémicos el estado físico se estimó por el consumo de oxígeno. Los diabéticos tuvieron metabolismo más bajo que los controles 3.9 vs 6.38 ml mol/kg/min, el grupo control tuvo mayor consumo de oxígeno que los diabéticos (2).

2.4 Hemoglobina glucosilada en diabetes.

La información de la estructura y biosíntesis de la HbA1c indica que puede proveer una medición integral de la glucosa de los pacientes diabéticos en los 60 a 90 días precedentes.

Koenig, Cerami y Cols. 1976. demostraron la relación entre la severidad de la hiperglicemia y el aumento de la HbA1c (5, 27, 28).

La hemoglobina glucosilada, viene a sustituir con gran eficacia a la determinación de glucosa en ayunas, debido a que esta última no refleja con precisión el control metabólico del paciente con diabetes tipo I, cuyos niveles de glucosa son muy variables, además solo reflejan la glucosa presente en el momento de la toma de la muestra, en cambio la hemoglobina glucosilada, refleja los 90 días precedentes a la prueba (34).

La hemoglobina glucosilada puede servir también para confirmar diabetes si se sospecha que existe, ya que no requiere de la cooperación del paciente para determinarse y da una imagen más real del control metabólico del paciente (34).

Existe correlación entre el aumento de la HbA1 y la prueba de tolerancia a la glucosa anormal. Sabiendo que la glucohemoglobina se puede relacionar con los hallazgos de Buss, Weger y Spiro 1971. Al encontrar aumentadas las glucoproteínas en la membrana basal de los riñones de diabéticos. Estandarizar el método de la cuantificación de la HbA1c es muy importante para que tenga validez clínica, para detección de diabetes o para su control (46).

Se comprobó que el aumento de la hemoglobina glucosilada va de acuerdo a la aparición de secuelas secundarias en la diabetes mellitus como la retinopatía diabética, y las enfermedades micro y macrovasculares (27).

Existen otras proteínas que también se modifican por la glucosilación no enzimática como la albúmina, que se puede usar también como un parámetro para control de diabetes. También las proteínas de los lentes cristalinos, la colágena, las proteínas del suero y las membranas de los eritrocitos sufren este fenómeno. Estos cambios estructurales pueden alterar la función de las proteínas y además contribuir a las complicaciones a largo plazo en diabetes, se sabe, aunque no se ha demostrado que la glucosilación aumentada en proteínas produce alteraciones en las propiedades físicas y bioquímicas de éstas (5, 35, 50).

En estudios que se realizaron para comparar la glucosilación de las proteínas entre diabéticos que tenían complicaciones aparentes, la glucosa estaba alterada en todos los pacientes, también la HbA1, las proteínas plasmáticas glucosiladas y las transaminasas séricas, pero no hubo diferencia entre los que tenían complicaciones y los que no las tenían (40).

2.5 Métodos más comunes de cuantificación

- a) Electroforesis
- b) Radioinmunoensayo
- c) Cromatografía en columna
- d) Cromatografía de afinidad
- e) Cromatografía líquida de alta resolución (PHLC)

- f) Cromatografía de alta y baja presión
- g) Foco isoeléctrico
- h) Análisis colorimétrico
- i) Cromatografía en microcolumna de intercambio iónico
(5, 27).

Los pioneros para modificar y simplificar el proceso de cuantificación de hemoglobina glucosilada, fueron Trivelli y Cols. en 1971. Trabajando en cromatografía en columna para determinar la HbA1c en pacientes normales y en pacientes diabéticos, emplearon sangre con anticoagulante, hemolizaron eritrocitos lavándolos con agua destilada y tolueno, dializaron a 4°C por una noche en buffer de cianuro de fosfato, corrieron la cromatografía en columna y desarrollador a base de fosfato - cianuro, luego eluyeron la fracción rápida, y después la hemoglobina A y leyeron los extractos a 552 μ y se calculó la Hb como una fracción de la hemoglobina total. La elución de los componentes menores, se acelera por la elevación de la temperatura de la columna. Se encontraron valores de 1 a 2 % de la HbA1a y HbA1b en pacientes normales y de 2 a 3 % en diabéticos, la segunda fracción fue de HbA1c de 3.3 a 3.5 % en normales y de 6 a 10 % en diabéticos. Los valores promedio encontrados fueron de 6.5 +/- 1.5 % para normales y de 11 +/- 2.9 % para diabéticos. No hubo diferencias importantes relacionadas con la edad y la duración de la enfermedad (16, 46).

El método más utilizado es la cromatografía en microcolumnas en resina intercambiadora de cationes de Trivelli, Kinoch y Lehman, sobre todo por la facilidad con que se realiza.

Chou y cols. lo modificaron por un equipo más económico, poco espacioso y adecuado para un laboratorio (10).

Davis y Cols. (1978) Acondicionaron un método en microcolumna intercambiadora de cationes para determinar la HbA1c en pequeñas muestras dependientes de la temperatura. Los resultados que se obtuvieron en micro y macrocolumna fueron similares y de reproductibilidad excelente. Se hizo una comparación de tres laboratorios, Bio Rad, Helena e Isolab, que venden microcolumnas:

Bio Rad tuvo variaciones en valores de HbA1, cuando eran mayores de 15%, se consideró a la técnica de Isolab como la mejor para monitorizar el control metabólico de niños diabéticos a largo plazo. Se compararon los resultados obtenidos con cromatografía de alta presión e Isolab obtuvo la mayor correlación, las muestras fueron estables por 48 horas a 4°C en sangre completa con EDTA y 24 horas a 24°C (1, 10, 21).

También se trató de estandarizar la valoración de hemoglobina glucosilada por cromatografía líquida de alta resolución, microcolumna de intercambio iónico, cromatografía de afinidad y colorimetría en ácido tiobarbitúrico; se prefirió utilizar la cromatografía en columna de alta resolución por su alto grado de precisión (31).

2.6 Confiabilidad del método.

En un estudio comparativo de hemoglobina glucosilada y glucosa sanguínea en pacientes diabéticos y no diabéticos, la sensibilidad del método de cromatografía en columna para HbA1 fue del 93.75 % (20).

Para comprobar la eficacia de la HbA1 como control metabólico, se hizo un estudio durante cinco años en diabéticos tipo I, la HbA1 fue independiente del sexo, tipo de HLA-DR, concentración del péptido C urinario y la edad (20).

Los valores de HbA1 estuvieron más elevados en pacientes con cetoacidosis que los que no la tenían. Se concluye que cada laboratorio deberá establecer su propio estándar para tener confiabilidad en sus determinaciones (46).

En niños que se creían bien controlados en base a la determinación de glucosa urinaria domiciliaria dos veces al día, tuvieron HbA1 elevada, ellos recibían insulina lenta una vez al día para niños menores de 8 años; esto se debe a que la insulina controla la glucosa entre comidas, pero no controla la oleada de glucosa postprandial, y esto en la orina no se observó, pero se percataron de que había un mal manejo al determinar HbA1c (49).

Dunn y Cols., 1981 buscaron la mejor frecuencia con la que se debería cuantificar la hemoglobina glucosilada para lograr el mejor control, se cuantificaron cada dos semanas durante dieciséis semanas, y los valores fueron estables para pacientes externos. Consideraron adecuada una toma cada tres meses para cuantificar HbA1 y obtener resultados fidedignos, además de que es una medida objetiva del control de diabetes, se sugiere tomar con

cierta frecuencia la glucosa sanguínea para sacar el promedio de los tres meses (13).

Tze y Cols., 1978 aseguran que los resultados indican que la hemoglobina glucosilada es una medida útil para la valoración del control de la glucosa en pacientes diabéticos, hoy en día es el mejor instrumento para valorar el control metabólico en las nuevas investigaciones (32, 47).

Se encontró correlación entre la HbA1 y glucosa en ayunas en diabéticos tipo I. Actualmente no se considera confiable la prueba de tolerancia a la glucosa, ya que solo del 1 al 5 % padecen realmente diabetes, la mayoría regresa a la glucosa normal. En este estudio la HbA1 solo estuvo aumentada en aquellos que tenían valores de 228 mg/dl después de la aplicación de la prueba. En pacientes con tolerancia a la glucosa deteriorada y con valores de ayuno abajo de 140 mg/dl tuvieron la HbA1 y la glucosa postprandial normales (30).

2.7 Hemoglobina glucosilada y su importancia.

Larsen y Cols., 1990 encuentran inciertos los valores de HbA1 para control de diabetes. Realizaron un estudio durante un año en pacientes similares en edad, peso, sexo, duración de la diabetes y valores de la HbA1 inicial. Luego se les determinó HbA1 cada tres meses. Estos valores se utilizaron para modificar la terapia con insulina; al otro grupo se le controló con glucosa en ayunas y glucosa urinaria. Los valores del grupo que sabían su HbA1 disminuyeron de 10.1 a 9.5 % y los del otro grupo aumentaron de 10 a 10.1 %, los pacientes que sabían el valor de su

hemoglobina glucosilada, cambiaron más veces su dosis de insulina, pero estuvieron menos veces hospitalizados que el grupo control. Las mediciones regulares de HbA1c permitieron en cambio el mejoramiento del control metabólico, indicado por la disminución del valor de la hemoglobina glucosilada (29).

Tze y Cols. (1978) compararon los niveles de HbA1c en pacientes normales y en diabéticos recién diagnosticados, en etapa de remisión y con la enfermedad de diferente duración; los resultados se tomaron como índice de carbohidratos (47):

No diabéticos HbA1= 3.1 a 6.3 %

Diabéticos recién diagnosticados HbA1= 6.5 a 13.1 %

Fase de luna de miel HbA1 = 3.6 a 6.4 %

Diabéticos crónicos HbA1= 4.6 a 12.9 %

La HbA1 es un índice de valores precisos para la glucosa sanguínea. El juicio clínico adecuado es la síntesis de la destreza de la información derivada de la historia médica, examen físico y datos de laboratorio (19).

2.8 Hemoglobina glucosilada y sus complicaciones tardías.

La causa principal de las complicaciones de diabetes está asociada con períodos largos de hiperglicemia, la determinación de la HbA1 da un valor confiable del grado de control metabólico (7).

Al relacionar el control glicémico con las complicaciones tardías de la IDDM utilizando a la HbA1 como control metabólico, se observó que los niños están más propensos a complicaciones

tardías, presentando retinopatía y el rango de excreción de albúmina urinaria (AER) elevado, presión sistólica sanguínea elevada, presencia de microaneurismas y la concentración de triglicéridos y colesterol elevados. Se ha visto que existe relación con el control glicémico y los marcadores de complicaciones microvasculares y factores de riesgo macrovascular mayor en niñas que en niños. La retinopatía fue limitada a niñas, lo que quiere decir que las características ligadas al sexo como factores genéticos, hormonales y estilo de vida, pueden influenciar en la presencia de complicaciones diabéticas, por ello la diabetes puede ser más deteriorante en niñas que en niños, por lo cual el control glicémico es un factor que interviene potencialmente en la mayoría de los pacientes diabéticos (8).

En la población con diabetes tipo I, el riesgo para desarrollar complicaciones como cataratas, retinopatía, nefropatía, neuropatía, microangiopatía y enfermedades macrovasculares, está relacionado a la duración de la enfermedad, debido a la incapacidad de los regímenes terapéuticos a largo plazo, principalmente a que no se lleva un buen control metabólico (16, 36).

2.9 Factores que alteran la determinación de la hemoglobina glucosilada.

Se cuantificó HbA1 en pacientes con enfermedad hematológica y se observó que se encuentra disminuida en pacientes con deficiencia de hierro y aumentada en policitemia vera (25).

Daneman y Cols., 1982 observaron que la HbA1 tiene dos fracciones, una estable y otra lábil; la fracción lábil o PreA1c se altera inclusive hasta en seis horas. Para separar esta fracción se hace un dializado de la sangre con solución salina en una dilución 1 : 10 y se deja reposar 48 horas a 4°C, esta fracción puede alterar la HbA1 en cantidades no definidas (9).

2.10 Tratamiento en base a los valores de hemoglobina glucosilada.

Aunque la diabetes es una enfermedad antiquísima, crónica e incurable, existen métodos para que el paciente se conserve en las mejores condiciones posibles, y esto se logra adiestrando al paciente. En un estudio que se hizo determinando HbA1c a las 2 y 3 horas después del desayuno, por cromatografía de alta presión, estuvieron elevados los niveles en casi todos los niños. Sin embargo, se reportan beneficios con programas de diabetes altamente organizados, ya que el nivel de HbA1c estuvo alto al principio pero bajó después del tratamiento con insulina después de 60 a 90 días (48).

En un trabajo con diabéticos cetoacidóticos, se obtuvieron valores altos de HbA1c, se trataron alrededor de un mes hasta que llegaron a no acidóticos, de lo que se concluye que la disminución ocurre solo en las células rojas nuevas, bajo condiciones menos favorables para la síntesis de HbA1 (39).

Se propone que un tratamiento agresivo con insulina poco después del diagnóstico de diabetes, podría aumentar la prevalencia de las células beta (18).

En un intento por cambiar 3 dosis de insulina diaria por 2 dosis (una antes de la comida con insulina rápida y otra media hora antes de acostarse con insulina intermedia). Durante tres meses se midió la HbA1c inicial como control metabólico, al final no hubo cambios entre el grupo control y el grupo estudiado (45).

Un grupo europeo hizo un estudio probando una bomba intravenosa e intraperitoneal de liberación fisiológica de insulina, durante un año se presentaron problemas técnicos y clínicos, las preparaciones de insulina tienden a agregarse bloqueando las conexiones de la bomba y posteriormente los catéteres. Después de un año de usar el equipo, la HbA1c bajó hasta un 7 %, aunque se esperaban mejores resultados. A pesar de todo se observaron ventajas en la implantación de la bomba sobre las bombas de insulina externa (40).

JUSTIFICACION DEL TRABAJO

El trabajo desarrollado en esta tesis se efectuó con el objeto de ayudar al médico a dosificar la insulina lo mejor posible, ya que debido a la inestabilidad de la enfermedad es muy difícil mantener el control metabólico del niño diabético, debido a que los valores de glucosa en ayunas fluctúan dependiendo de la hora en que se toma la muestra, también se afectan los valores si el paciente no está en ayuno o si tiene alguna infección. Sin embargo, si se cuantifica la hemoglobina glucosilada, se refleja la cantidad de glucosa que se ha mantenido en los últimos tres meses, ya que la hemoglobina glucosilada depende de la glucosa que se une a la hemoglobina, lo cual depende de la cantidad de glucosa que circula en la sangre.

III ETAPA EXPERIMENTAL

3.1 OBJETIVOS:

- Comparar los niveles de hemoglobina glucosilada de pacientes diabéticos insulino dependientes que acuden al Hospital General de Zona # 57 del Instituto Mexicano del Seguro Social, en un periodo de un año, con individuos normales.

- Comparar los niveles de hemoglobina de pacientes diabéticos insulino dependientes con individuos normales.

- Comparar los niveles de glucosa en sangre de pacientes con diabetes mellitus insulino dependientes con individuos normales.

- Asociar los niveles de hemoglobina glucosilada, hemoglobina total, glucosa y edad.

3.2 MATERIAL Y METODOS

Se obtuvieron 16 muestras clínicas (muestras de sangre) de pacientes clínicamente sanos, 9 mujeres y 7 hombres en edades que fluctúan de 0.5 a 25 años.

A los pacientes diabéticos (7 hombres y 33 mujeres), cuya edad fluctúa de 6 a 33 años, se les extrajeron cuatro muestras a intervalos de tres meses durante un año.

Se obtuvieron dos muestras de sangre de cada paciente, una con anticoagulante (EDTA) y otra sin anticoagulante.

A continuación se enlistan el material y los reactivos utilizados:

a) Determinación de hemoglobina.

Solución de Drabkin,
solución estándar Hycel y
espectofotómetro marca Leitz.

b) Determinación de glucosa.

Reactivo de glucosa oxidasa marca Stanbio y
aparato automatizado para determinación de química clínica
de Ciba Corning.

c) Determinación de hemoglobina glucosilada.

Kit de Glyco Hb Quik Column Helena Laboratories.

3.3 Metodología

a) Determinación de hemoglobina

Para la determinación de hemoglobina se realizó con la técnica recomendada por el laboratorio Stanbio (24).

Fundamento: los derivados de la hemoglobina contenidos en sangre reaccionan con el hexacianoferrato de potasio en solución con cianuro de potasio y se transforman cuantitativamente en cianometahemoglobina, en los tres minutos posteriores a la reacción. La sustancia coloreada es estable y se lee en fotómetro. Los valores normales para mujeres oscilan entre 12 y 16 g/dl y para hombres de 14 y 18 g/dl.

b) Determinación de glucosa

Para la determinación de la glucosa, se utilizó el aparato automatizado Ciba-Corning y se valora con el método de glucosa oxidasa, el valor se calcula en base a curvas establecidas de calibración (17).

Fundamento: La glucosa es oxidada en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado, reacciona bajo la influencia de peroxidasa y 4-aminoantipirina para formar un complejo rojo-violeta de quinona. La intensidad del color es proporcional a la concentración de glucosa. Los valores normales para hombres y mujeres oscilan entre 70 y 105 mg/dl (17).

c) Cuantificación de Hemoglobina glucosilada

Se utilizaron microcolumnas que contienen resina intercambiadora de cationes en un pH de 6.65, de los laboratorios Helena. La reacción se debe efectuar a 23°C, si no es posible, utilizar la tabla de corrección de temperatura. Se utilizó el método de cromatografía de intercambio catiónico.

Fundamento: Las resinas en la columna cargadas negativamente presentan una afinidad por las moléculas cargadas positivamente a un pH y una fuerza iónica seleccionados. La HbA1 tiene una carga positiva más baja que la HbA, por lo tanto la HbA tiene un enlace más estable con la resina negativa que la HbA1. Cuando se agrega el desarrollador de glucohemoglobina, la HbA1 es eluída, mientras que los otros componentes de la hemoglobina son retenidos. La elusión se compara con la solución de hemoglobina total leyendo la absorbancia en un espectrofotómetro y se calcula el porcentaje de HbA1.

Procedimiento:

- 1.- Se utiliza una microcolumna para cada prueba.
- 2.- Se utiliza sangre fresca bien homogeneizada, no utilizar paquete celular.
- 3.- Colocar 50 microlitros en un tubo de 12 X 75.
- 4.- Agregar 200 microlitros de reactivo hemolizador.
- 5.- Agitar el tubo hasta hemolizar completamente.
- 6.- Reposar el hemolizado 10 minutos.
- 7.- Destapar la microcolumna y resuspender la resina con una pipeta Pasteur.

- 8.- Inmediatamente quitar el tapón inferior y dejar drenar el sobrenadante, ya no se debe mover la microcolumna para que quede bien formado el lecho, la columna debe estar perfectamente vertical.
- 9.- Agregar 50 microlitros del hemolizado sobre la resina y dejar que se absorba durante 10 segundos.
- 10.- Agregar lentamente 4 ml de desarrollador y recolectar la elusión.
- 11.- La elusión termina cuando el nivel de líquido llega al borde de la resina, no más de 30 minutos. Esta es la fracción de la HbA1.
- 12.- Preparar una solución de hemoglobina total con 10 ml de agua bidestilada y 25 microlitros de hemolizado en un tubo de 20 X 200, mezclar.
- 13.- Leer en un espectrofotómetro a 415 nm ajustando con blanco de agua, leer primero la elusión y después la hemoglobina total.
- 14.- La solución es estable por cuatro horas (23).

CALCULOS

Se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{HbA1 \%} = \frac{\text{Abs. de A1}}{\text{Abs. de Hbt} \times 5} \times 100$$

Donde:

Abs. de A1= Absorbancia de la elusión

Abs. de Hbt= Absorbancia de la hemoglobina total

HbA1 % = Porcentaje de la hemoglobina glucosilada

5 = Factor de dilución (Concentración de la fracción total entre la fracción de HbA1)

100 = Factor de conversión en por ciento

VALORES NORMALES de los laboratorios Helena oscilan entre
5.5 y 7.7 %.

Los valores obtenidos en el laboratorio fueron de 5.7 a
6.7 %.

3.4 Análisis Estadístico.

El método empleado para el análisis estadístico de este
trabajo fue el paquete "Microstat" para PC (14).

La hemoglobina glucosilada, hemoglobina total y glucosa
fueron analizadas estadísticamente comparando los promedios del
grupo de pacientes normales con el grupo de diabéticos insulino
dependientes, mediante pruebas "t".

Se obtuvo el coeficiente de correlación para las variables:
edad, hemoglobina total, hemoglobina glucosilada y glucosa; para
todos los pacientes estudiados, insulino dependientes e
individuos normales.

IV RESULTADOS.

Los resultados que se obtuvieron en los 16 individuos sanos y en los 40 pacientes con diabetes mellitus tipo I se muestran en las tablas y en las gráficas siguientes:

En la tabla 1 se muestran los valores promedio y las desviaciones standard de ambos grupos (individuos sanos y pacientes diabéticos) para las siguientes pruebas: hemoglobina glucosilada, en donde el grupo de individuos normales tiene un promedio de 6.2 ± 0.5 y el grupo de diabéticos presenta un promedio de 13.5 ± 3.2 .

La hemoglobina para individuos sanos es de 15.3 ± 1.2 y para diabéticos es de 14.5 ± 1.2 .

La glucosa de individuos normales es de 89.3 ± 7.8 , mientras que la de diabéticos es de 260.3 ± 134.4 .

En la tabla 2 observamos una matriz de correlación para las variables edad, hemoglobina glucosilada, hemoglobina total y glucosa en ambos grupos (individuos normales e insulino dependientes). Se observa correlación significativa para la edad y la hemoglobina glucosilada, para la glucosa y la edad, así como la glucosa y la hemoglobina glucosilada.

En la tabla 3 se observa una correlación entre la edad, la hemoglobina glucosilada, la hemoglobina y la glucosa para pacientes diabéticos, existe correlación significativa para la hemoglobina glucosilada y la edad, para la hemoglobina y la hemoglobina glucosilada y para la glucosa y la edad, para la

glucosa y la hemoglobina glucosilada, así como para la glucosa y la hemoglobina.

En la tabla 4 se presenta una matriz de correlación para los individuos clínicamente sanos, observando correlación significativa para la edad y la hemoglobina glucosilada, la hemoglobina y la glucosa.

En la gráfica 1 se presenta una distribución de los puntos de las variables hemoglobina glucosilada y glucosa para individuos normales, no hay correlación significativa. También se representa la mejor recta de regresión que los explica.

En la gráfica 2 observamos la representación de los valores obtenidos de hemoglobina glucosilada y glucosa para individuos diabéticos, también se observa la mejor recta de regresión que los explica.

TABLA 1

VALORES PROMEDIO DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS EN LOS DOS GRUPOS

Variable	Grupo Control		Grupo estudiado	
	Promedio	Sd	Promedio	Sd
HbA1 (%)	6.2 ^a	0.5	13.5 ^b	3.2
Hb (mg/dl)	15.3 ^a	1.2	14.5 ^b	1.2
Glucosa (mg/dl)	89.3 ^a	7.8	260.3 ^b	134.4

Nota: Letras diferentes denotan diferencias significativas con pruebas "t" ($p < 0.01$)

TABLA 2

CORRELACION ENTRE LA HbA1, LA EDAD, LA HEMOGLOBINA Y LA GLUCOSA, PARA 144 DETERMINACIONES DE INDIVIDUOS NORMALES Y DIABETICOS

	Edad	HbA1	Hemoglobina	Glucosa
Edad	1.00000			
HbA1	0.31985*	1.00000		
Hb	0.02684	0.09801	1.00000	
Glucosa	0.32774*	0.56798*	0.06282	1.00000

Los valores con * denotan correlación significativa a $p < 0.05$

TABLA 3
**CORRELACION ENTRE LA HbA1, LA EDAD, LA HEMOGLOBINA Y LA GLUCOSA
 PARA 128 DETERMINACIONES DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS
 INSULINO-DEPENDIENTE**

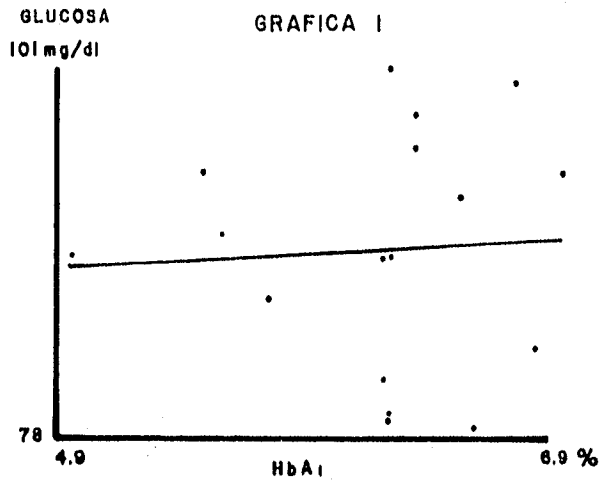
	Edad	HbA1	Hemoglobina	Glucosa
Edad	1.00000			
HbA1	0.20734*	1.00000		
Hb	0.01399	0.31131*	1.00000	
Glucosa	0.27026*	0.45825*	0.16648*	1.00000

Los valores con * denotan correlación significativa a $p < 0.05$

TABLA 4
**CORRELACION ENTRE LA HbA1, LA EDAD, LA HEMOGLOBINA Y LA GLUCOSA,
 PARA 16 DETERMINACIONES DE INDIVIDUOS NORMALES**

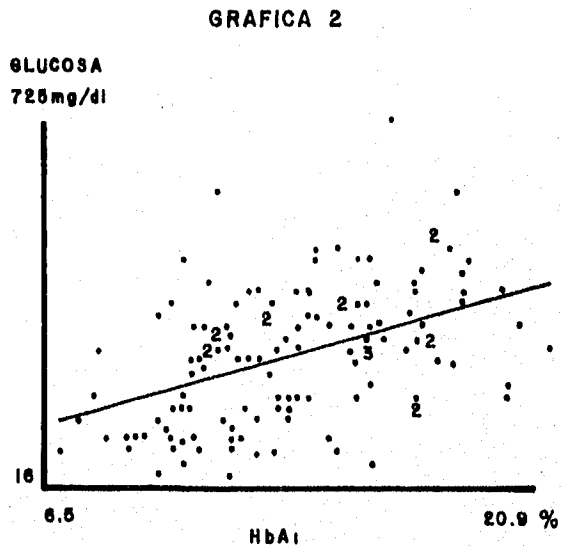
	Edad	HbA1	Hemoglobina	Glucosa
Edad	1.00000			
HbA1	0.49371*	1.00000		
Hb	0.58119*	-0.00456	1.00000	
Glucosa	0.60327*	0.04387	0.58076*	1.00000

Los valores con * denotan correlación significativa a $p < 0.5$



REPRESENTACION GRAFICA DE LA CONCENTRACION DE GLUCOSA Y HEMOGLOBINA GLUCOSILADA DE INDIVIDUOS NORMALES, NO HAY CORRELACION SIGNIFICATIVA ($r=0.0439$) ($P > 0.05$)

SE MUESTREARON 16 INDIVIDUOS



REPRESENTACION GRAFICA DE LA CONCENTRACION DE GLUCOSA Y HEMOGLOBINA GLUCOSILADA DE INDIVIDUOS DIABETICOS, SI HAY CORRELACION SIGNIFICATIVA ($r=0.4580$) ($P < 0.05$)

SE REALIZARON 144 DETERMINACIONES

4.1 Discusión.

Como puede observarse en la tabla 1, se muestran los valores promedio y sus desviaciones standard para las variables HbA1 de los dos grupos estudiados donde el promedio de hemoglobina glucosilada de los individuos diabéticos fue de 13.5 ± 3.2 contra el grupo control de 6.2 ± 0.5 , diferencias significativas a $p < 0.01$ lo que denota un incremento del 100 % para los individuos diabéticos respecto a los normales. Estos resultados concuerdan con los investigadores que han realizado estudios similares (Goldstein) [18], (Javanovic) [27], (Koenig) [28], (Lev-Ran) [30], (McFarland) [34], (Tze) [47], (Vetter) [48] y (Williams) [49].

Respecto a la hemoglobina normal, el grupo diabético expresó un promedio de 14.5 ± 1.2 respecto a el grupo testigo con un promedio de 15.3 ± 1.2 diferencias que también resultan significativas a $p < 0.01$, lo que indica que los pacientes con diabetes presentaron una disminución en su hemoglobina, sin estar los pacientes insulino dependientes fuera de los rangos normales establecidos (10.0 - 16.0 g/dl) (24).

Los niveles de glucosa encontrados en los pacientes insulino dependientes fue de 260.3 ± 134.4 , valores superiores a los normales establecidos (70-105 mg/dl) (17) y a los valores obtenidos del grupo control, lo que muestra el problema de diabetes en estos pacientes. Considerando los valores altos de glucosa en los pacientes se comprueba que estos individuos tienen un descontrol metabólico.

La relación entre glucosa y HbA1c en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 con dosis de insulina fija mantenida
mantienen una $r = 0.568$, a través de este estudio y el de otros investigadores que la han descrito y publicado (ver tabla 2) (Goldstein) [18], (Koenig) [28], (Lev-Ran) [30], (Tze) [47], y (Williams) [49].

Cabe mencionar que estos pacientes son tratados con dosis diarias de insulina, por lo que teóricamente sus niveles de glucosa deberían estar más cerca de lo normal. Pero por ser en su mayoría niños, resulta muy difícil su control; también puede ser que la dosis de insulina que se están administrando diariamente no sea la adecuada, o a veces no se la administran como indica el médico, en ocasiones cursan problemas emocionales o infecciones que hacen que se alteren los niveles de glucosa sanguínea y posteriormente desarrollan complicaciones tardías muy comunes en los diabéticos insulino dependientes.

La tabla 2 además de mostrar el coeficiente de correlación entre glucosa y HbA1, también muestra la correlación entre HbA1 y la edad $r=0.31985$ correlación significativa a $p<0.05$, así también la correlación entre la glucosa y la edad $r=0.32774$ significativa a $p<0.05$, esto sugiere que conforme aumenta la edad de los niños, son más difíciles de controlar por lo que sus niveles de glucosa aumentan y dado que glucosa y HbA1 están asociadas, se puede explicar por ende la correlación observada entre edad y HbA1, esto ya fue mencionado por Tze y Cols (47).

En la tabla 3 se muestra la correlación que existe entre la edad y la HbA1 donde $r=0.20734$ significativa a $p<0.05$; ésto mismo se observa en los pacientes sanos (ver tabla 4) donde la asocia-

La relación entre glucosa y HbA1c en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 se mantiene una $r = 0.568$, a través de este estudio y el de otros investigadores que la han descrito y publicado (ver tabla 2) (Goldstein) [18], (Koenig) [28], (Lev-Ran) [30], (Tze) [47], y (Williams) [49].

Cabe mencionar que estos pacientes son tratados con dosis diarias de insulina, por lo que teóricamente sus niveles de glucosa deberían estar más cerca de lo normal. Pero por ser en su mayoría niños, resulta muy difícil su control; también puede ser que la dosis de insulina que se están administrando diariamente no sea la adecuada, o a veces no se la administran como indica el médico, en ocasiones cursan problemas emocionales o infecciones que hacen que se alteren los niveles de glucosa sanguínea y posteriormente desarrollan complicaciones tardías muy comunes en los diabéticos insulino dependientes.

La tabla 2 además de mostrar el coeficiente de correlación entre glucosa y HbA1c, también muestra la correlación entre HbA1c y la edad $r=0.31985$ correlación significativa a $p<0.05$, así también la correlación entre la glucosa y la edad $r=0.32774$ significativa a $p<0.05$, esto sugiere que conforme aumenta la edad de los niños, son más difíciles de controlar por lo que sus niveles de glucosa aumentan y dado que glucosa y HbA1c están asociadas, se puede explicar por ende la correlación observada entre edad y HbA1c, esto ya fue mencionado por Tze y Cols (47).

En la tabla 3 se muestra la correlación que existe entre la edad y la HbA1c donde $r=0.20734$ significativa a $p<0.05$; esto mismo se observa en los pacientes sanos (ver tabla 4) donde la asocia-

ción entre ambas variables fue de $r = 0.4937$, esto sostiene la idea de que en ambos grupos, conforme aumenta la edad, aumentan los niveles de HbA1. También se observa correlación significativa entre la hemoglobina y la hemoglobina glucosilada $r=0.31131$ significativa a $p<0.05$ (ver tabla 3) condición que no se observa en pacientes sanos (ver tabla 4), a pesar de que los niños diabéticos tienen sus valores de hemoglobina dentro de los niveles normales, parece ser un rasgo importante para los niños diabéticos.

Se observa la correlación existente entre la glucosa y la HbA1 en pacientes diabéticos, mas no así en pacientes normales (ver tablas 3 y 4), siendo esta condición un factor importante para sostener la hipótesis de el presente trabajo, en el sentido de que si la glucosa está aumentada, también lo está la hemoglobina glucosilada, misma que ya ha sido descrita por algunos investigadores: (Goldstein) [18], (Koenig) [28], (Lev-Ran) [30], (Tze) [47], y (Williams) [49]. Esto no se observa en los pacientes sanos (ver tabla 4) donde la Hemoglobina glucosilada y la glucosa no están incrementadas.

Así mismo la gráfica 1 y la gráfica 2 refuerzan esta idea, pues como puede notarse en la gráfica 1 muestra un gráfico de puntos donde se asocia niveles de glucosa y HbA1, encontrandose una $r=0.0439$, valor no significativo $p>0.1$, mientras que la gráfica 2 asocia estas mismas variables pero en individuos diabéticos donde como ya se mencionó $r=0.4580$ valor significativo $p<0.01$.

ción entre ambas variables fue de $r = 0.4937$, esto sostiene la idea de que en ambos grupos, conforme aumenta la edad, aumentan los niveles de HbA1. También se observa correlación significativa entre la hemoglobina y la hemoglobina glucosilada $r=0.31131$ significativa a $p<0.05$ (ver tabla 3) condición que no se observa en pacientes sanos (ver tabla 4), a pesar de que los niños diabéticos tienen sus valores de hemoglobina dentro de los niveles normales, parece ser un rasgo importante para los niños diabéticos.

Se observa la correlación existente entre la glucosa y la HbA1 en pacientes diabéticos, mas no así en pacientes normales (ver tablas 3 y 4), siendo esta condición un factor importante para sostener la hipótesis de el presente trabajo, en el sentido de que si la glucosa está aumentada, también lo está la hemoglobina glucosilada, misma que ya ha sido descrita por algunos investigadores: (Goldstein) [18], (Koenig) [28], (Lev-Ran) [30], (Tze) [47], y (Williams) [49]. Esto no se observa en los pacientes sanos (ver tabla 4) donde la Hemoglobina glucosilada y la glucosa no están incrementadas.

Así mismo la gráfica 1 y la gráfica 2 refuerzan esta idea, pues como puede notarse en la gráfica 1 muestra un gráfico de puntos donde se asocia niveles de glucosa y HbA1, encontrandose una $r=0.0439$, valor no significativo $p>0.1$, mientras que la gráfica 2 asocia estas mismas variables pero en individuos diabéticos donde como ya se mencionó $r=0.4580$ valor significativo $p<0.01$.

4.2 Conclusiones.

- El trabajo se desarrollo con el propósito de comparar los niveles de hemoglobina glucosilada de pacientes diabéticos tipo I con individuos clínicamente sanos, se obtuvo un valor promedio de 13.5 en pacientes diabéticos, mientras que en individuos normales, el valor promedio fue de 6.2. De esto se concluye que la HbA1 se incrementa de forma alarmante.

- Los niveles de hemoglobina de ambos grupos se encuentran dentro de los límites normales, un promedio de 15.3 g/dl para individuos sanos y de 14.5 g/dl para individuos diabéticos, no se considera una desviación importante.

- Los niveles de glucosa de los pacientes diabéticos están muy elevados comparados con los de individuos normales, lo que les da su característica de individuos hiperglucémicos. La glucosa de los diabéticos está aumentada hasta tres veces comparada con los individuos normales.

- La hemoglobina glucosilada de los diabéticos tipo I está 2 ó 3 veces más elevada con respecto a los individuos normales; la hemoglobina normal está ligeramente más elevada con respecto a individuos normales; la glucosa es 2 ó 3 veces más elevada en individuos diabéticos.

- Del estudio que se realizó en este trabajo, se concluye que los pacientes tienen un mal control metabólico ya que sus

valores de glucosa y HbA1 están muy elevados con respecto a individuos sanos. Este problema acarreará complicaciones tardías para estos pacientes, que son muy jóvenes. Por ello es de suma importancia que se establezca la cuantificación de HbA1 en todos los laboratorios, de ser posible, implantarla para personas con susceptibilidad genética para diagnosticar tempranamente la enfermedad, y se debe de utilizar como prueba de rutina para pacientes diabéticos tipo I, para mantener los niveles de glucosa lo más bajo posibles y así evitar la complicaciones de esta enfermedad.

Bibliografía

- 1.- ABRAHAM, E. C., T. A. Huff, N. D. Cope, J. B. Wilson Jr., D. Bransomes Jr. and T. H. J. Huisman.-- "Determination of the glycosylated hemoglobins (HbA1) with a new microcolumn procedure suitability of the technique for assessing the clinical management of diabetes mellitus" Diabetes, 1978, 27 (9), 931-937.
- 2.- ANDERSON, B. J., F. M. Wolf, M. T. Burhart, R. T. Cornell and G.E. Bacon. "Effects of peer group intervention on metabolic control of adolescents with IDDM. Randomized outpatient study" Diabetes - Care, 1989, March, 12 (3), 179 - 183.
- 3.- ALLEN, D. W., W. A. Schroeder and J. Balog.-- "Observations on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal human hemoglobin: A study of the effects of crystallization and chromatography on the heterogeneity and isoleucine content" The Journal American Chemical Society, 1958, (80), 1628 - 1634.
- 4.- BRAUWALD, et al., "Principios de medicina interna", Harrison, 7a. Ed., Interamericana Mc Graw Hill, 1989, 2167-2188.
- 5.- BUNN, H. F.: "Nonenzymatic glycosylation of protein: Relevance to diabetes" The American Journal of Medicine, 1981, February, (70), 325 - 330.
- 6.- CASTILLO, J. C., "Complejo principal de histocompatibilidad humanos, relacionado con la predisposición para desarrollar diabetes mellitus insulino dependiente e implicaciones inmunológicas en dicha relación", Tesis de licenciatura, México, 1990, UNAM, FESC, 5 - 15.
- 7.- CHOU, J., A. Robinson and A. L. Siegel.-- "Simple method for estimating glycosylated hemoglobins, and its application to evaluation of diabetic patient" Clinical Chemistry, 1978, 10 (24), 1708 - 1710.
- 8.- D'ANTONIO, J. A., D. Ellis, B. H. Doff, D. J. Becker, A. L. Drash, L. H. Kuller and T. J. Orchard.-- "Diabetes complications and glycemic control - the Pittsburgh prospective insulin - dependent diabetes cohort study status

- report after 5 years of IDDM" Diabetes-Care, 1989, November - December, 10 (12), 694 - 700.
- 9.- DANEMAN, D., N. Luley and D. Becker.-- "Diurnal glucose - dependent fluctuations in glycosylated hemoglobin levels in insulin dependent diabetes" Metabolism, 1982, October, 10 (13), 989 - 993.
 - 10.- DAVIS, R. E. and D. J. Nicol.-- "A rapid simplified method for routine measurement of glycosylated hemoglobin" The Lancet, 1978, August, 12, 350 - 351.
 - 11.- DE LA FUENTE, A.-- "¿Hemoglobina glucosilada o hemoglobina glicada?" Notimed 57, IMMS (Boletín informativo) 1992, marzo, 1 (año III), 2.
 - 12.- DIX, D., P. Cohen, S. Kingsley, J. SenKbeil and K. Sexton.-- "Evaluation of a glycohemoglobin kit" Clinical Chemistry, 1978, 11 (24) 2073.
 - 13.- DUNN, P. J., R. A. Cole, J. S. Soeldner, and R. E. Gleason.-- "Stability of hemoglobin A1c levels on repetitive determination in diabetic out - patients" Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1981, 5 (52), 1019 - 1022.
 - 14.- ESCOBAR, R.S., "Manual de uso del paquete estadístico Microstat con aplicaciones a la carrera de Médico Veterinario Zootecnista". Tesis de licenciatura, FES Cuautitlan, UNAM, 1995.
 - 15.- FLIER, J. S., C. R. Kahn, and J. Roth.-- "Receptors, antireceptor, antibodies and mechanisms of insulin resistance" N Engl J Med, 1979, 300, 413 - 418.
 - 16.- GABBAY, K. H., K. Hasty, R. C. Breslow, H. F. Bunn and P. M. Gallop.-- "Glycosylated hemoglobins and long - term blood glucose control in diabetes mellitus" J. Clin Endocrinol Metab, 1977, 5 (44), 859 - 864.
 - 17.- Glucosa Oxidasa, "Boletín Stanbio Laboratory Inc." Revisión Julio 1993.
 - 18.- GOLDSTEIN, D. E.-- "Clinical impression versus laboratory result" The Journal of Pediatrics, 1986, October, 649 - 650.

- 19.- GOLDSTEIN, D. E., B. Walker, S. S. Rawlings, R. L. Hess, J. D. England, S. B. Peth and J. E. Hewett.-- "Hemoglobin A_{1c} levels in children and adolescents with diabetes mellitus" Diabetes - Care, 1980, July - August, 4 (3), 503, 515.
- 20.- GONDER - FREDERICK, L. A., W. R. Carter, D. J. Cox and W. L. Clarke.-- "Enviromental stress and blood glucose change in insulin - dependent diabetes mellitus" Health - Psychol, 1990, 9 (5), 503, 515.
- 21.- HAMMONS, G. T., K. Juger, J. M. McDonald and J. H. Ladeson.- "Evaluation of three minicolumn procedures for measuring hemoglobin A₁" Clinical Chemistry, 1982, 8 (28), 1775, 1778.
- 23.- Helena Laboratories." Glyco Hb Quik Column Procedure," cat 5344; Beaumont, Texas. Revisión Junio 1987.
- 24.- Hemoglobina, "Boletin Stanbio Laboratory Inc." Revisión marzo 1994.
- 25.- HORTON, B. F. and T. H. J. Huisman.-- "Studies on the heterogeneity of hemoglobin VII. Minor hemoglobin components in hematological diseases" Brit. J. Haemat, 1965, 11, 296 -304
- 26.- ISLAS, A. S.; Lifshitz, G. A.: "Diabetes Mellitus" ED. Interamericana Mc Graw Hill, 1993, 1-25, 56-63 y 292-295.
- 27.- JOVANOVIC, L. and Ch. M. Peterson.-- "The clinical utility of glycosylated hemoglobin" The American Journal of Medicine, 1981, July - February, 1981, 331 - 336.
- 28.- KOENING, R. J., Ch. M. Peterson, R. L. Jones, Ch. Saudek, M. Lehrman, and A. Cerami.-- "Correlation of glucose regulation and hemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus" The new England Journal of Medicine, 1976, August, 8 (295), 417 - 420.
- 29.- LARSEN, M. L., M. Harder, E. F. Moyensen.-- "Effect of long - term - monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin - dependent diabetes mellitus" N Engl J Med, 1990, October, 323 (15), 1021 - 1025.

- 30.- LEV - RAN, A.-- "Glycohemoglobin, its use in the follow up of diabetes and diagnosis of glucose intolerance" Arch Intern Med., 1981, May, (141), 747 - 749.
- 31.- LITTLE, R. R., J. D. England, H. Wledmeyer, E. M. McKenzie R. Mitra, P. M. Erhart, J. B. Durham and D. E. Goldstein.-- "Interlaboratory standarization of glycated hemoglobin determinations" Clinical Chemistry, 1986, 2 (32), 358 - 360.
- 32.- LITTLE, R. R., E. M. McKenzie, H. Wledmeyer, J. D. England and D. E. Goldstein.-- "Collection of blood on filter paper for measurement of glycated hemoglobin by affinity chromatography" Clinical Chemistry, 1986, 5 (32), 869 - 873.
- 33.- LUFT, R. O. M.-- "Discovery of the pancreatic origin of diabetes" Diabetology, 1989, 32 (7), 399 - 401.
- 34.- McFARLAND, K. F.-- "Glycosylated hemoglobin, what is its value?" Arch Intern Med., 1981, May, (141), 712.
- 35.- MIYAMOTO, N., N. Shirakawa, Y. Kuroda, F. Abe and K. Shima.-
- "Serum levels of glycated albumin in non - diabetic and insulin - dependent diabetic children" Acta Paediatr, Jpn, 1990, Jun, 32 (3), 249 - 256.
- 36.- MOGENSEN, C. E.-- "Prediction of clinical diabetic nephropathy in IDDM patient. Alternatives to microalbuminuria?" Diabetes, 1990, Jul, 39 (7), 761 - 767.
- 37.- National Diabetes Data Group.-- "Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance" Diabetes, 1979, Dec, (28), 1039 - 1057.
- 38.- PAULSEN, E. P.-- "Hemoglobin A1c in childhood" Diabetes Metabolism, 1973, Feb, 2 (22), 269 - 271.
- 39.- PAULSEN, E.P. and M. Koury.-- "Hemoglobin A1c levels in insulin - dependent and independent diabetes mellitus" Diabetes, 1976, 25 (Suppl 2), 890 - 896.
- 40.- Point study group.-- "One - year trial of a remote - controlled implantable insulin infusion system in type I diabetic patients" The Lancet, 1988, Oct, 15, 866 - 869.

- 41.- RAHBAR, S.-- "An Abnormal hemoglobin in red cells of diabetes" Clin chim acta, 1969, 22, 296 - 298.
- 44.- SPERLING, M.A.: "Diabetes Mellitus, Clinical Pediatric Endocrinology." "En Kaplan, S. A. (ED); Saunders, Philadelphia, 1990. 127-164.
- 44a.- SPERLING, M. A.- "Insulin Biosynthesis and C-peptide" Am J Dis Child 1980, 134, 1119.
- 45.- TALLROTH, G., B. Karlson, A. Nilsson and Agardh, C. D.- "The influence of different insulin regimens on quality of life and metabolic control in insulin-dependent diabetics" Diabetes-Res-Clin-Pract, 1989, Jan 3, 6(1), 37-43.
- 46.- TRIVELLI, L. A., H. M. Ranney and H. T. Lai.-- "Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus" The New England Journal of Medicine 1971, Feb 18, 7 (284), 353-357.
- 47.- TZE, W. J., K. H. Thompson and J. Leichter.-- "HbA_{1c} an indicator of diabetic control" The Journal of Pediatrics, 1978, Jul, 1 (93), 13-16.
- 48.- VETTER, U., E. Heinze, W. Beicher, E. Kohue, E. Kleihaver and W. M. Teller.-- "Haemoglobin A1c: A predictor for the duration of the remission phase in juvenile insulin-dependent diabetic patients" Acta Paediatr Scand, 1980, 69, 481-483.
- 49.- WILLIAMS, M. L. and D. C. L. Savage.-- "Glycosylated haemoglobin levels in children with diabetes mellitus" Archives of Disease in childhood, 1979, 54, 295- 298.
- 50.- Winocour P. H., J. Jeacock, P. Kalsi, C. Gordon and D. C. Anderson.-- "The relevance of persistent C-peptide secretion in type I (Insulin-dependent) diabetes mellitus to glycaemic control and diabetic complications", Diabetes-Res-Clin-Pract, 1990, Apr, 9 (1), 23-25.