

50
24.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**" DETERMINACION DE LA VARIACION EN LA
CONCENTRACION DE GLUCOSA EN PLASMA EN
UNA POBLACION HETEROGENEA DE ADULTOS "**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLÓGICA
P R E S E N T A
MARIA DEL ROCIO NIETO LOYOLA**

ASESOR: DR. RICARDO SANTIAGO DIAZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

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



UNIDAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

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

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:

Determinación de la Variación en la concentración de glucosa en
plasma en una población heterogénea de adultos

que presenta La pasante: C. María del Rocío Nieto Loyola

con número de cuenta: 7684294-4 para obtener el TÍTULO de:

Química Farmacéutica Bióloga .

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

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 14 de Agosto de 1996

PRESIDENTE	Dr. Ricardo Santiago Díaz
VOCAL	Q.F.B. Ramón Cendejas Ramírez
SECRETARIO	Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa
PRIMER SUPLENTE	Q.B.P. Antonio Sánchez Ortega
SEGUNDO SUPLENTE	M. en C. Alma Virginia Lara Sagahón

[Handwritten signatures and initials over lines]

Dedico este esfuerzo:

A Dios, Señor de todas las cosas.

A la memoria de mi querido Papá:

Blas Nieto Valdés.

Al cariño y dedicación de mi Mamá, en todos estos años:

Carmen Loyola Ruiz.

A mis hermanos:

Mª Elena

Josefina (en su recuerdo)

Alberto

y Gaby

Con todo mi amor a mi esposo:

Pedro Antonio Lemus Aragón

Y a mis hijos:

Samanta Paola y Pedro Antonio.

A mis Maestros y a mi querida Escuela FES, Cuautitlán.

**Por sus conocimientos y por el grato
recuerdo que siempre llevaré en
mi corazón**

A mi Asesor Dr. Ricardo Santiago Díaz.

**Por su valiosa guía, dirección
y paciencia.**

Índice

Cap.	Contenido	Pag.
	Objetivo.	1
I.-	Introducción.	2
II.-	Generalidades.	3
II.1.-	Generalidades de los carbohidratos.	4
II.2.-	Transportadores de la glucosa.	6
II.3.-	Generalidades sobre el metabolismo de la glucosa.	11
II.4.-	Generalidades de la insulina.	13
II.5.-	Generalidades de la diabetes.	19
III.-	Metodología.	24
III.1.-	Equipo y materiales.	25
III.2.-	Selección de la población estudiada.	26
III.3.-	Obtención de la muestra biológica.	29
III.4.-	Determinación de la glucosa.	32
III.4.1.-	Fundamentos de la prueba.	32
III.4.2.-	Reactivos.	32
III.4.3.-	Curva de calibración de glucosa.	33
III.4.4.-	Procedimiento para la determinación de glucosa por el método "glucosa - oxidasa" de Merck.	36
III.5.-	Determinación del paquete celular.	39
III.5.1.-	Técnica.	39
III.5.2.-	Valores de referencia.	40
III.6.-	Métodos estadísticos.	41

IV.-	Resultados y discusión.	49
IV.1.-	Curva de calibración.	50
IV.2.-	Presentación de resultados.	51
IV.2.1-	Resultados globales sin agrupar.	52
IV.2.2-	Resultados agrupando los pacientes no DM y pacientes DM.	56
IV.2.3-	Agrupamiento considerando el sexo de los pacientes.	60
IV.2.4-	Agrupamiento considerando el paquete celular de los pacientes.	62
IV.3.-	Discusión de resultados.	64
IV.3.1-	Globales.	64
IV.3.2-	Dependencia de la disminución respecto a pacientes DM y no DM.	73
IV.3.3-	Dependencia de la disminución respecto al sexo del paciente.	76
IV.3.4-	Dependencia de la disminución respecto al paquete celular de los pacientes.	79
V.-	Conclusiones.	83
VI.-	Bibliografía.	86

Objetivo.

El objetivo del presente estudio es cuantificar la disminución del nivel de glucosa en muestras sanguíneas de clínica en función del tiempo en que se procesan dichas muestras, haciendo las siguientes observaciones:

- a) Determinar el porcentaje en que disminuye la concentración de glucosa en el total de muestras observadas.
- b) Comparar esta disminución agrupando las muestras en pacientes con diabetes mellitus (DM) y pacientes sin DM.
- c) Contrastar la disminución agrupando las muestras de acuerdo al sexo y paquete celular de los pacientes.

1.- Introducción.

La importancia del presente trabajo radica en determinar el cambio de la concentración de glucosa con respecto al tiempo en que se procesan las muestras de sangre.

Esto cobra importancia debido a que hay diferentes circunstancias que influyen en el tiempo para que dichas muestras sean procesadas, desde el momento en que el médico, la enfermera o el químico toman la muestra y hasta el momento en que ocurre el análisis de la muestra en el laboratorio.

Es importante observar que factores pueden influir en el cambio de concentración de glucosa y como afectarían los resultados en los pacientes con diferentes cuadros clínicos, principalmente en los pacientes con problemas en el manejo de glucosa.

II.- Generalidades.

II.1.- Generalidades de los carbohidratos.

Los carbohidratos son la principal fuente de energía de la población mundial, del 50% al 90% de los carbohidratos provienen de cereales, plantas feculentas, legumbres (arroz, trigo, maíz, patatas, etc.). Otras fuentes importantes son la sacarosa (azúcar de caña y de remolacha), lactosa (leche y sus derivados), glucosa (frutas, miel, jarabe de maíz) y fructosa (frutas, miel). (1)

Los productos de carne y del mar contienen menos del 1% de glucógeno y no contribuyen de modo apreciable a la ingestión de carbohidratos (1), los carbohidratos son utilizados por las células, principalmente en forma de glucosa (3) y se almacenan en forma de glucógeno en el hígado y músculo. (1, 2)

La función principal de los carbohidratos en el metabolismo es la de un combustible que va a ser oxidado para suministrar energía (3) y para otros procesos metabólicos vitales (2). Cuando hay una ingesta calórica mayor al consumo diario, el exceso de carbohidratos se convierte fácilmente en grasas y se almacena en tejido adiposo. (1)

Los tres monosacáridos principales en la dieta que resultan de los procesos digestivos son glucosa, galactosa y fructosa, y la mayor parte de los monosacáridos que existen en la naturaleza son isómeros D. (4)

La sangre circulante únicamente contiene azúcares sencillos como glucosa y pequeñas cantidades de fructosa (5), y la fuente continua de glucosa en sangre procede de la hidrólisis de glucosa-6-P en el hígado, riñón e intestino (2). El glucógeno muscular no es accesible para la producción directa de glucosa, ya que la glucosa-6-fosfatasa está ausente en el músculo (2). La concentración de glucosa en sangre depende de la dieta y de la velocidad relativa de producción (a partir de glucógeno, aminoácidos, grasas y otras fuentes), de la capacidad de absorción de glucosa en el conducto intestinal y de su utilización por tejidos glucosa-dependientes. (2, 10)

La velocidad de utilización está determinada por la concentración de glucosa en los compartimientos extracelulares, si los niveles de glucosa son elevados, ocurre una óptima asimilación por los tejidos incluyendo al músculo e hígado (2). La glucosa absorbida por el intestino viaja en la sangre a través de todos los tejidos del cuerpo; esta es la fuente que abastece de energía y es el primordial precursor de otros compuestos que contienen carbono. (9)

II.2.- Transportadores de glucosa.

Hasta ahora, el paso de glucosa a la célula es bastante intrincado, ésta debe ser introducida mediante una proteína especial incrustada en la membrana de la célula.

Al concluir la década pasada, se obtuvo la estructura de esta proteína y la forma como trabaja. Se han descubierto cinco formas moleculares del transportador y cada una de ellas se adapta a las necesidades metabólicas del tejido donde se encuentra (9). Las acciones de estas moléculas estables inician cuando uno ingiere carbohidratos.

La absorción de glucosa es mas compleja de lo que se puede suponer, la célula tiene una membrana celular que consta de una doble capa de moléculas de lípidos que repelen el agua y a aquellas sustancias tales como la glucosa que fácilmente se disuelven en agua. (se dice hasta aquí que los lípidos son hidrofóbicos mientras que la glucosa es hidrofílica), debido a este arreglo, la célula no puede absorber glucosa por simple difusión, por tanto en lugar de esto, emplea una proteína especial: "La molécula transportadora". (9)

El primer transportador de glucosa fué aislado de eritrocitos humanos en 1977 por Michiro Kasahara y col., ocho años más tarde en un proyecto liderado por Hucekler y col. aclararon la secuencia de los aminoácidos transportadores (9). Primero aislaron el DNA que codifica la proteína y determinaron la secuencia de las bases y de sus ácidos nucleicos. La proteína descrita por este método consiste en una cadena de 492 aminoácidos organizados en veinticinco segmentos, de los cuales 13 son en gran parte hidrofílicos y así es como probablemente prefieren el medio acuoso extracelular e intracelular, ellos alternan con 12 segmentos primarios hidrofóbicos, los cuales prefieren la capa lipídica de la membrana celular. (9)

Este arreglo, junto con cierta información química directa acerca de las partes de la proteína que se sitúan hacia adentro y hacia fuera de un eritrocito, sugieren que la proteína se

entreteje (zigzaguea) hacia atrás y adelante a través de la membrana doce veces (9). ¿Como esperar que tal estructura conduzca o transporte la glucosa al interior de la célula?, esta debe, de algún modo, crear un poro a través de la membrana. La arquitectura de tal poro está sugerida por el arreglo plegado (o en acordeón) de la cadena polipeptídica y por el patrón de los aminoácidos en los segmentos de la transmembrana. (9)

La evidencia estereoscópica implica que cada segmento está enrollado en forma helicoidal. Efectivamente, arriba del 80% del total de la cadena polipeptídica parece ser helicoidal.

Debido a que el helicoide toma la forma o la apariencia de un cilindro en forma global, los grupos químicamente reactivos de los aminoácidos estarán distribuidos a lo largo de la superficie, esto resulta que en cinco segmentos de transmembrana, números 3, 5, 7, 8 y 11, los grupos son hidrofílicos en una cara del cilindro e hidrofóbicos por la otra, unidos de forma que sus lados hidrofóbicos quedan alineados con sus ejes comunes hacia los segmentos remanentes de la transmembrana y el lípido ambiental de la membrana, los cinco segmentos formarían un poro cuya superficie interna puede fijar glucosa. Este modelo para una estructura tridimensional del transportador de la glucosa es especulativo. (9)

Se cree que el transportador manipula a la glucosa sujetándola por un débil y transitorio enlace de hidrógeno. Los segmentos de transmembrana 3, 5, 7, 8 y 11 contienen muchos aminoácidos que tienen grupos hidroxilo (-OH) y carbamido (-CONH₂) que pueden participar sobre la cara extracelular de la membrana y otras fijan la glucosa sobre la cara intracelular. (9)

La experiencia experimental sugiere que la glucosa entra a la célula en cuatro pasos:

- 1.- Ocupa el revestimiento externo del sitio de fijación.
- 2.- El complejo del transportador y la glucosa cambian de configuración de tal manera que la glucosa ocupa el sitio de fijación que está hacia adentro de la célula.

- 3.- El transportador libera la glucosa dentro del citoplasma de la célula.
- 4.- El portador de la glucosa al desocuparse cambia de conformación, el sitio de fijación de la glucosa queda hacia afuera de la célula. Este último paso regresa al transportador a su forma inicial reestableciéndolo para el transporte de otra molécula de glucosa. (9)

Se visualizó el transportador como una conformación oscilante que cambia el espacio fijador para la glucosa entre los lados opuestos de la membrana. Estudios cinéticos indican que todas las oscilaciones son extraordinariamente rápidas (9) Cuando la glucosa no está presente cada molécula transportadora de la membrana de un eritrocito se convierte entre los dos estados en aproximadamente 100 veces por segundo a 20° C , cuando la glucosa está unida al transportador la velocidad es aún mayor, cerca de 900 veces por segundo (9). La glucosa acelera la oscilación haciendo disminuir la barrera energética entre las dos conformaciones.

En 1985 se encontró una prueba de que los transportadores difieren según el tejido donde se encuentran debido a que los investigadores encontraron el DNA que codifica el transportador de glucosa del eritrocito humano y lo emplearon como una prueba para aislar los transportadores de otros tejidos (9). Desde entonces han sido descubiertos un total de cinco transportadores de glucosa, cada transportador (GLUT) ha sido numerado en el orden en que fue descubierto.

El transportador número 1 (GLUT1), se manifiesta en las células endoteliales, al parecer se especializan en proporcionar el flujo constante de glucosa que el cerebro requiere. Se encuentran pequeñas cantidades de GLUT1 en muchos otros tejidos, sugiriendo esto que estas pequeñas cantidades suministran la glucosa que las células requieren cuando estos tejidos se encuentran en estado inactivo. (9)

El transportador número 2 (GLUT2), aparece en órganos que liberan glucosa a la sangre, tales como el intestino, hígado, riñón, y en las células β del páncreas, las cuales secretan insulina. La alta concentración de glucosa requerida para la saturación media de GLUT2 significa que este transporta glucosa en proporción a la concentración de ésta en la sangre, consecuentemente los cambios en el nivel de glucosa que se presenten durante la comida o el ejercicio son efectivamente transmitidos al hígado y a las células β mediante el GLUT2. (9)

El GLUT3 se encuentra en las células neuronales debido a que tiene mayor afinidad por la glucosa que el GLUT1. Por lo tanto este transportador asegura un constante movimiento de glucosa en estas células. Un transportador de glucosa coopera con otro asegurando el flujo de este nutriente vital a las células del cerebro. (9)

El GLUT4 es el transportador de glucosa en las células musculares y grasas, las cuales toman glucosa en grandes proporciones y la convierten en otros componentes de alto rendimiento energético. Este transportador se distingue por su extraordinaria capacidad para moverse dentro y fuera entre los reservorios internos y la superficie de la célula (ver figura 1). (9)

El GLUT5 se encuentra regularmente en el intestino delgado y el riñón, su función no ha sido descrita en detalle. (9)

Estos cinco transportadores de glucosa movilizan la glucosa a través de la membrana a lo largo de los gradientes de concentración, esto es, de la más alta a la más baja concentración de glucosa. (9)

Estos transportadores son diferentes a los que llevan glucosa a través de este gradiente, estos últimos se denominan "Co-Transportadores", porque acoplan el transporte de una molécula de glucosa con el ión sodio (9). La energía necesaria para impulsar la glucosa proviene del ión sodio a lo largo de su propio gradiente. El co-transportador permite a la

membrana celular de la luz intestinal y del riñón absorber hasta la más pequeña traza de glucosa en los alimentos y de la orina respectivamente. (9)

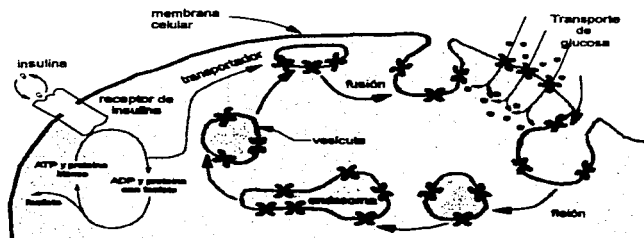


Fig. 1.- Como la insulina auxilia a las células para activar transportadores. (9)

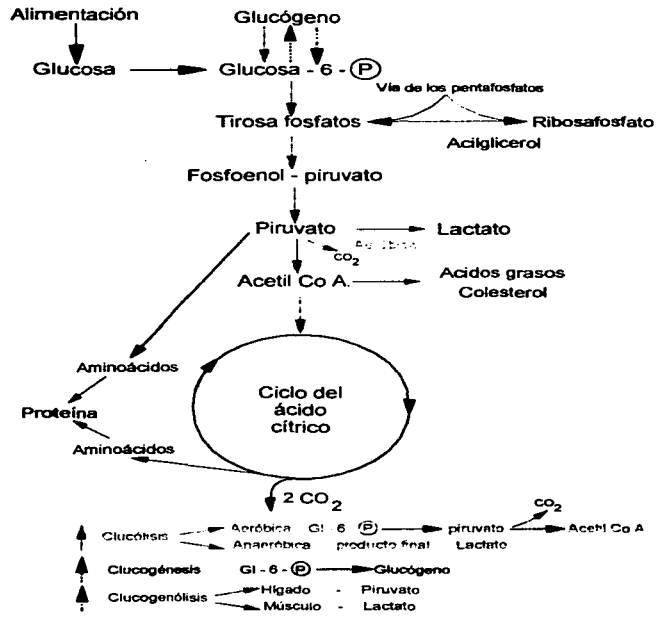
II.3.- Generalidades sobre el metabolismo de la glucosa.

El organismo animal oxida carbohidratos, proteínas y lípidos, produciendo principalmente CO_2 , H_2O y la energía necesaria para los procesos vitales. (4)

El metabolismo de los carbohidratos en el organismo de los mamíferos puede ser subdividido como sigue: (3)

- 1.- Glucólisis: la oxidación de la glucosa o del glucógeno en piruvato y lactato por la vía Embden-Meyerhof. (3)
- 2.- Glucogénesis: La síntesis de glucógeno a partir de glucosa. (3)
- 3.- Glucogenólisis: Es la degradación de glucógeno, la glucosa-6- P es el principal producto final de la glucogenólisis en el hígado, el piruvato y el lactato son los principales productos en el músculo. (3)
- 4.- Oxidación del piruvato hasta acetil-CoA, este es el paso necesario previo a la entrada de los productos de la glucólisis en el ciclo del ácido cítrico que es la vía común final para la oxidación de los carbohidratos, grasas y proteínas. (3)
- 5.- Vía de los Pentafosfatos: Parte de intermediarios de la glucólisis, es una fuente de equivalentes reductores (2H) para la biosíntesis y es también una fuente de ribosa. (3)
- 6.- Gluconeogénesis: La formación de glucosa o de glucógeno a partir de fuentes que no son carbohidratos. Las vías comprometidas en la gluconeogénesis son principalmente las del ácido cítrico y el inverso de la glucólisis (3), los sustratos principales para la gluconeogénesis son los aminoácidos glucogénicos (alanina, aspartato, glutamato, arginina, cisteína, glicina, histidina, hidroxiprolina, metionina, lisina, fenilalanina y tirosina), el lactato, la glicerina, el glicerol y los ácidos grasos. (2, 3)

Esquema del metabolismo de los carbohidratos (se muestran los principales productos finales)



II.4.- Generalidades de la insulina.

En la regulación de la concentración de glucosa se ven comprometidas varias hormonas cuyas acciones y efectos se resumen a continuación:

La insulina, hormona de 51 residuos de aminoácidos participa en varios de los procesos metabólicos que se requieren para los carbohidratos, los lípidos y las proteínas (34). La secreción de la hormona por las células β del páncreas es extremadamente sensible a cambios mínimos en la concentración de glucosa sanguínea, respondiendo con elevada rapidez. (1, 2, 10)

En resumen las acciones de la insulina son las siguientes: glucogénesis, lipogénesis, glucólisis, protogénesis, impide la lipólisis, proteólisis y bloquea la cetogénesis hepática y gluconeogénesis. (1, 4, 10)

Otra función importante de la insulina es aumentar la permeabilidad de las células para glucosa. (1, 2, 9)

La vida media de la insulina es alrededor de 5 minutos en el humano (4) y los receptores para insulina están localizados sobre la superficie de las células. (2, 24)

Los efectos producidos por la insulina en el metabolismo, están íntimamente relacionados con su receptor, cuya estructura química y propiedades físicas son importantes para conocer su mecanismo de acción. (2, 11)

La insulina se une a un receptor altamente específico en la membrana plasmática de los tejidos, la fijación es requisito para la actividad hormonal, por lo tanto la insulina puede ejecutar la mayor parte de sus funciones sin que en realidad penetre en la célula. (2, 11)

El receptor para insulina es una glucoproteína de membrana compuesta por subunidades 2α y 2β , aparentemente con peso molecular de 135,000 y 95,000 respectivamente. Las subunidades α contienen el sitio de unión, mientras que las sub-unidades β son una proteína transmembranal, con actividad de tirosina. (11, 24)

Se ha encontrado que este receptor es primeramente sintetizado como un precursor de 155 Kilodaltons (Kda), y luego pasa por una glucosilación tanto en el retículo endoplasmático como por el aparato de Golgi, en este, el precursor es cortado, en una sub-unidad α y una sub-unidad β . Las sub-unidades maduras son de 130 Kda (α) y 95 Kda (β). En la superficie de la célula los receptores son tetrámeros ($\alpha_2\beta_2$) enlazados por puentes sulfuro, las sub-unidades β son transmembranales y las sub-unidades α son totalmente extracelulares. (12)

Los receptores de insulina han sido identificados en membranas intracelulares incluyendo la membrana nuclear, el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi. (12)

Cuando la insulina se une a los receptores, estos se agregan en parches y son introducidos a la célula por endocitosis. Los complejos insulina-receptor entran en los lisosomas, donde los receptores son probablemente disociados y reciclados. La vida media de los receptores para insulina es de 7 hr. aproximadamente. La presencia de mayor cantidad de insulina disminuye la concentración de receptores, y la disminución de insulina incrementa la afinidad de los receptores. También se han realizado estudios con linfocitos humanos incubados con glucocorticoides en donde se observa un incremento en el número de receptores de insulina en la superficie celular, en estos estudios se demuestra que la hidrocortisona, pero no la insulina estimula la biosíntesis del receptor para insulina, lo cual demuestra que actúan de manera diferente. (13)

Otra característica importante del receptor de insulina es que tanto las sub-unidades α como las β incorporan ácidos grasos. En un estudio realizado por Hedo J. y cols., se comprobó este hecho usando ácidos mirístico y palmítico, los cuales se unían en forma covalente al receptor de insulina, también se determinó que la sub-unidad β contiene únicamente uniones amida y éster y la sub-unidad α uniones amida de los ácidos grasos. (11)

Así como los receptores de insulina pueden ser incrementados también pueden ser o tener un control inhibitorio. Steven e. Schoelson y cols. demostraron que hay una truncación proteolítica de la sub-unidad α relacionada con la sub-unidad β de control inhibitorio y una separación del heterotetramero $\alpha_2\beta_2$ en heterodímeros. El sitio de unión de la insulina se pierde durante la truncación y el dominio de la cinasa de la sub-unidad β y el control de la sub-unidad α . Sin embargo, los efectos de la estimulación de la insulina y la activación de tripsina sobre la autofosforilación y fosforilación del sustrato sugieren su relación con las señales transmembranales. (15)

Se ha mencionado anteriormente que las sub-unidades del receptor para insulina son diferentes tanto en su estructura como en funcionalidad. Un hecho muy importante en la actividad de la insulina, radica en la sub-unidad β . esta sub-unidad es una glucoproteína membranar que consiste en 5 dominios funcionales: (16)

- a) Un dominio extracelular unido a la sub-unidad α por puentes disulfuro.
- b) Un dominio hidrofóbico que sirve como una región de expansión transmembranar
- c) Dominios intracelulares que contienen una región de unión-ATP
- d) Un sitio catalítico
- e) Sitios de autofosforilación. (16)

Los efectos más importantes de la sub-unidad β se encuentran precisamente en su capacidad de autofosforilación, su función de tirosinasa. Su actividad enzimática reside dentro del

receptor de la hormona y depende de la unión del ligando con el receptor para su activación. Otra característica importante, está en que la cinasa fosforila de preferencia los residuos de tirosina, su mecanismo no es muy claro, pero es posible que la hormona inicie una cascada de fosforilación y que uno o más productos de la cascada de fosforilación sean el mensajero intracelular. (17, 18)

Sin embargo Pang, M., et al, determinaron que existe además del predominio de la fosforilación en tirosina, en los residuos de serina, los resultados sugieren que la fosforilación de serina puede inhibir la fosforilación de tirosina, lo cual sugiere que tanto su función como localización se llevan a cabo en sitios diferentes. (18)

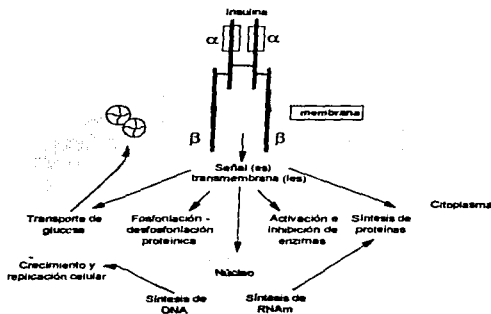


Figura 2.- Relación del receptor de insulina con la acción de esta hormona. La insulina se une al receptor membranar y esta interacción genera una o más señales transmembranales. Esta(s) señal(es) modulan una extensa variedad de eventos intracelulares. (2)

Los receptores para insulina pueden verse afectados por alteraciones en el metabolismo normal (20, 21), o así mismo puede afectar a otras hormonas. (22)

Por último, resta mencionar el efecto de los receptores insulínicos en relación con la Diabetes Mellitus y la obesidad, las alteraciones de la sensibilidad periférica a la insulina en la Diabetes Mellitus tipo II, puede producirse a tres niveles: Antes de la unión con el receptor, bien por unión de la insulina a proteínas distintas del receptor (principalmente anticuerpos) o por degradación de la insulina o por presencia de una insulina anormal. A un segundo nivel, por la afección de la unión insulina-receptor, que puede producirse por alteraciones en el número de receptores, por la hormona o por bloqueo del receptor con anticuerpos. A nivel post-receptor por alteración del mecanismo efector o de las vías metabólicas intracelulares. (23)

En la D.M. tipo II se han descrito alteraciones en la unión (por disminución del número de receptores) y alteraciones post-receptor.

La interacción entre la hormona y el receptor genera, a continuación, alguna forma de señal transmembrana para producir los efectos biológicos finales de la hormona. La interacción de la insulina y el receptor genera un mensaje secundario, análogo al cAMP, el cual desencadena el resultado biológico. Ultimamente se ha pensado que la insulina no tiene un mensajero clásico, sino más bien la insulina, o algún fragmento de la insulina, puede penetrar la célula y transformarse en el mensajero requerido para generar los efectos biológicos. (24)

En algunas investigaciones se llegó a observar la posibilidad de que el receptor de la insulina estuviera alterado en ciertos estados patológicos como es el caso de la obesidad. En este punto quizá el aumento en el consumo de carbohidratos sea más importante que el total aumento de calorías, esto aumenta los niveles plasmáticos de glucosa que a su vez provoca una disminución en la concentración de receptores y una disminución de la sensibilidad. (24)

La insulina es el regulador más importante de su propio receptor (24), así los niveles elevados de la hormona dan como resultado una disminución de la concentración de receptores y una disminución de su sensibilidad. (24)

II.5.- Generalidades de la diabetes.

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de desórdenes metabólicos del metabolismo de los carbohidratos, es una alteración caracterizada por hiperglicemia en ayuno o glicemia mayor de 200 mg/dl en mas de una ocasión durante la prueba de tolerancia a la glucosa (39)

La DM se clasifica en tres tipos mutuamente excluyentes:

- 1.- Diabetes mellitus tipo I (DM I), conocida como diabetes dependiente de insulina, juvenil o muy sensible para presentar cetosis; cursa con severa insulinopenia y desarrolla rápidamente cetoacidosis y la muerte, este padecimiento es diagnosticado antes de los veinte años. (39)
- 2.- Diabetes mellitus tipo II (DM II); conocida como diabetes no dependiente de insulina, del adulto o resistente a la cetosis, cursa con valores ligeramente bajos, normales o elevados de insulina y únicamente puede presentar cetoacidosis durante periodos largos de hiperglicemia o durante estrés, generalmente se diagnostica después de los cuarenta años. (39)
- 3.- Diabetes mellitus de otros tipos o secundaria; en este padecimiento es donde se conoce la etiología de la enfermedad o es secundaria a alteraciones organicas, metabólicas o genéticas definidas, entre ellas se encuentran enfermedades pancreáticas (pancreatectomía, pancreatitis esclerosante, etc.), endocrinopatías (acromegalia, glucagoma, síndrome de Cushing, etc.), medicamentosos (antihipertensivos, diuréticos, glucocorticoides, estrógenos, antidepresivos simpaticomiméticos) anticuerpos contra el receptor (acantosis nigricans) y síndromes genéticos (hiperlipidemia, distrofia muscular) y desnutrición. (39)

En la población del presente estudio algunas muestras provienen de pacientes tipo DM II por lo que se profundizará solamente en este sentido.

La diabetes Tipo II (DM II) o DMNID (diabetes mellitus no insulino dependiente) se caracteriza por hiperglicemia y aspectos patológicos como enfermedad vascular, nefropatía, oculopatía, arteroesclerosis avanzada (32, 33, 34). La mayoría de los pacientes con DM II secretan cantidades medibles de insulina . (32, 33)

También se caracteriza por una deficiencia relativa de insulina y una resistencia a insulina, la administración de insulina provee un remplazo parcial de esta hormona y la terapia con sulfonilurea puede incrementar la secreción de insulina endógena o reducir la resistencia a insulina periférica, esta terapia de combinación es frecuentemente utilizada cuando la dieta, insulina o sulfonilurea se administran por separado y no son suficientes para normalizar la glicemia. (31, 33)

El sistema de transporte de glucosa en músculo esquelético parece ser muy flexible, se adapta tanto a la velocidad de entrada de glucosa en la célula como al metabolismo de glucosa y los depósitos de glucógeno se mantienen en límites fisiológicos. (35)

La respuesta fisiológica de sujetos sanos sometidos a ejercicio es una marcada disminución en la liberación de insulina pancreática. (35)

En pacientes con diabetes mellitus Tipo I no ocurre una disminución en la concentración de insulina en respuesta al ejercicio, por el contrario se ha reportado un aumento de la velocidad de absorción de insulina durante la actividad muscular (35). Así que para evitar hiperinsulinemia e hipoglicemia el paciente debe disminuir la dosis antes de la sesión de ejercicio. (35)

La mayoría de los diabéticos tipo II tratados con insulina, tienen cantidades fácilmente detectables de péptido C. (32)

La forma intermedia de la enfermedad consiste en concentración de glucosa en plasma en ayuno y curva de tolerancia diabética normal, estos pacientes son llamados diabéticos químicos, la concentración de insulina en este tipo de pacientes puede ser normal o elevada en ocasiones. (32)

El primer paso en las acciones celulares de insulina es su enlace a receptor específico sobre la superficie celular. (32)

En el paciente con DM II obeso, la pérdida de peso aumenta el número de receptores accesibles y se pierde algo de la resistencia a insulina (32) Sin embargo la resistencia a insulina en el diabético tipo II puede resultar de defectos del pro-receptor. La actividad post-receptor es un término que cubre a una serie de procesos desde el segundo mensajero a todas las reacciones enzimáticas que se involucran en el transporte de glucosa y metabolismo dentro de la célula. (32)

Los antagonistas de la regulación de la insulina se agruparon en dos categorías.

- a) Hormonales.- Incluye las hormonas contrarreguladoras:
 - Cortisol.
 - Hormona del crecimiento.
 - Glucagón.
 - Y catecolaminas.
- b) No hormonales.- Incluye los ácidos grasos y los anticuerpos insulínicos

Glucagón estimula la síntesis y la liberación de glucosa en el hígado, esta hormona es sintetizada principalmente en las células α de los islotes pancreáticos. (1,2,3)

Su papel fisiológico no se conoce con precisión, pero se cree que es el control de niveles de glucosa en sangre en periodo de postabsorción en cuyo momento los niveles de glucosa son mas bajos (1, 31). Se ha denominado factor hiperglucémico glucogenolítico debido a su acción primeramente descrita en la elevación de glucosa sanguínea por el aumento de glucogenólisis en el hígado. (1, 2)

En hipoglicemia a corto término, inducida por insulina, la secreción simultánea de glucagón y epinefrina contrarrestarán la hipoglicemia. (25)

Es importante mencionar que el efecto glucogenolítico del glucagón es similar al producido por la epinefrina. Sin embargo en contraste con la epinefrina, el glucagón estimula la glucogenólisis a concentraciones fisiológicas bajas y no causa elevación de la presión sanguínea característica de la epinefrina, de aquí que consecuentemente el glucagón se puede usar en clínica en casos de hipoglicemia aguda o persistente. (2)

La hormona del crecimiento (somatotrópica) y hormona adrenocorticotrópica (ATCH) son secretadas por la hipófisis anterior, ambas tienen acción antagonista de la insulina y tienden a elevar la concentración de glucosa en sangre. (1, 2)

La hormona tiroidea tiene un efecto diabetogénico. (30)

Entre los antagonistas no hormonales están los ácidos grasos y los anticuerpos anti-insulina.

Hace varios años se hipotetizó que los niveles elevados de ácidos grasos libres (FFA) dañan la utilización de glucosa periférica, el mecanismo propuesto de este efecto es que los ácidos grasos son tomados por la célula y oxidados intracelularmente, como resultado de la elevada velocidad de oxidación de los ácidos grasos por la célula, la glicólisis y la entrada de glucosa son inhibidos, lo que produce un antagonista de la acción de la insulina. (36)

Los anticuerpos anti-insulina que se desarrollan esencialmente en todos los pacientes tratados con insulina exógena enlazando o atrapando insulina dentro del compartimiento plasmático pueden alterar el curso del tiempo usual de insulina, sin embargo solamente en casos especiales (no usuales) tales ácidos causan un verdadero estado de resistencia a la insulina. (36)

III.- Metodología.

III.1. Equipo y materiales.

A continuación se indica el equipo empleado y la lista del material utilizado;

Equipo:

- Microcentrifuga modelo 1CHH-24.
- Sero-centrifuga modelo Serofuge II, Clay Adams.
- Lector de Hematócrito.
- Espectrofotómetro Coleman Jr. II, modelo 6/20
- Baño maria, Thermolyne Dry bath.

Material:

- Gradilla.
- Tubos de ensayo; 13 x 100 mm.
- Tubos de ensayo; 13 x 75 mm
- Pipetas de 5, 10, 2 y 1 ml.
- Pipetas volumétricas de 0.5, 2, 3 y 4 ml.
- Matraz aforado de 25 ml y 100 ml.
- Microcapilares de 7 mm de longitud por 1 mm de diámetro.
- Celdillas Coleman.
- Pipeta automática de 10 μ l.
- Mechero Bunsen.
- Termómetro.

III.2. Selección de la población estudiada.

Las muestras sanguíneas de los pacientes que conforman los grupos de estudio se fueron tomando durante un periodo aproximado de tres meses según los pacientes ingresaban al Hospital General de Zona Número 29 del Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.), al "Servicio de Urgencias" con diferentes cuadros clínicos entre los que se encontraban; Diabetes mellitus tipo II, pancreatitis, cirrosis hepática alcohólico nutricional (CHAN), infarto al miocardio (IAM), hipertensión arterial (HA), bronconeumonía, insuficiencia renal crónica (IRC), preoperatorios y cuadros ambianos, entre otros.

La edad de los pacientes fluctúa entre 18 y 89 años, estudiándose individuos de ambos sexos.

Sus datos generales tales como, sexo, diagnóstico y hematócrito, se pueden observar en la tabla 1.

Tabla 1.- Generales de las muestras estudiadas.

No. de Paciente.	Sexo	Diagnóstico	Hematócrito %
1	M	STD CHAN	37
2	F	Hemorroides ext.	41
3	F	Diabetes Mellitus	48
4	F	Diabetes Mellitus	48
5	F	Diabetes Mellitus	46
6	F	Anemia, Deshidratación	28
7	F	Diabetes Mellitus	40
8	F	Diabetes Mellitus	47
9	M	Diabetes Mellitus	33
10	M	Bronconeumonia	46
11	M	Abceso Ambiano H	38
12	M	Diabetes Mellitus	36
13	M	Diabetes Mellitus	47
14	M	Síndrome Pick Wick	58
15	F	Diabetes Mellitus	38
16	F	Diabetes Mellitus	33
17	F	Crisis de Ausencia	40
18	M	Diabetes Mellitus	63
19	M	Diabetes Mellitus	32
20	F	Diabetes Mellitus	44
21	M	Pancreatitis	46
22	M	Prediabético	49
23	M	Lupus Eritematoso	48
24	F	I. A. M.	42
25	M	Diabetes Mellitus	24
26	F	Preoperatorio	45
27	F	Preoperatorio	46
28	F	Diabetes Mellitus	32
29	F	Diabetes Mellitus	35
30	M	Diabetes Mellitus	53
31	F	Colisistitis	41
32	F	Diabetes Mellitus	36
33	M	Diabetes Mellitus	41
34	M	Taquicardia Sinusal	34

No. de Paciente.	Sexo	Diagnóstico	Hematócrito %
35	M	Diabetes Mellitus	48
36	F	Intox. medicamentosa	43
37	F	Bronquitis	49
38	F	Diabetes Mellitus	46
39	F	Cólico Vesicular	43
40	M	Hernia	45
41	M	Insuficiencia Venosa	47
42	F	Pancreatitis	33
43	F	Oclusión Intestinal	38
44	M	Diabetes Mellitus	54
45	F	Diabetes Mellitus	48
46	F	Diabetes Mellitus	51
47	F	Diabetes Mellitus	43
48	F	Diabetes Mellitus	22
49	F	Diabetes Mellitus	35
50	F	Diabetes Mellitus	35
51	F	Diabetes Mellitus	41
52	F	Diabetes Mellitus	23
53	M	Diabetes Mellitus	19
54	M	Diabetes Mellitus	12
55	F	Diabetes Mellitus	24
56	F	Diabetes Mellitus	24
57	M	Diabetes Mellitus	26
58	M	Diabetes Mellitus	27
59	M	Diabetes Mellitus	20
60	F	Diabetes Mellitus	30
61	M	Normal	52
62	M	Hipoglicemia	53
63	M	Normal	52
64	F	Normal	50
65	F	Normal	51
		media	39
		desviación estándar	10.3

III.3.- Obtención de la muestra biológica.

Se tomó una muestra de sangre venosa de aproximadamente 4.0 ml en un tubo de ensayo.

Se utilizó como anticoagulante para la obtención del plasma el ácido etilendiamintetracético (EDTA) al 5%, porque no produce cambios significativos en el tamaño y forma de los eritrocitos, previene la aglutinación de las plaquetas y puede ser usado en la mayor parte de las determinaciones químicas así como en la determinación de la biometría hemática (1).

Una vez obtenida la muestra biológica, se procede a tomar una alícuota de 50 μ l en un microcapilar el cual es sellado y a continuación se centrifuga durante 5 minutos a 3,000 rpm, este microcapilar nos sirve para la determinación del paquete celular.

La fracción restante se separa en seis alícuotas de 500 μ l, una de ellas se procesa inmediatamente llevando a cabo su centrifugación en una serocentrífuga a 3,000 rpm durante 3 minutos para separar el plasma, con la cual se efectúa la determinación de glucosa, esta representa la concentración basal de glucosa al tiempo cero.

Las cinco fracciones restantes se procesaron a los; 15, 30, 60, 90 y 120 minutos respectivamente, en forma similar a la primera determinación, los resultados obtenidos se pueden observar en la tabla 2.

Tabla 2.- Resultados de las muestras estudiadas

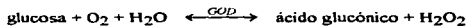
Paciente no.-	Densidad óptica (505 nm)					
	0 min	15 min	30 min.	60 min.	90 min	120 min
1	0.178	0.170	0.165	0.160	0.150	0.140
2	0.150	0.140	0.135	0.130	0.115	0.105
3	0.640	0.630	0.620	0.610	0.600	0.590
4	0.540	0.530	0.523	0.520	0.518	0.500
5	0.550	0.540	0.520	0.500	0.480	0.460
6	0.430	0.420	0.420	0.390	0.380	0.370
7	0.630	0.600	0.590	0.560	0.540	0.510
8	1.760	1.720	1.680	1.640	1.600	1.560
9	0.440	0.420	0.410	0.410	0.410	0.400
10	0.300	0.260	0.235	0.220	0.170	0.140
11	0.430	0.420	0.400	0.390	0.355	0.325
12	0.780	0.750	0.740	0.740	0.720	0.700
13	0.470	0.470	0.470	0.450	0.430	0.420
14	0.310	0.280	0.277	0.260	0.240	0.220
15	0.480	0.470	0.460	0.450	0.430	0.400
16	1.800	1.760	1.700	1.640	1.600	1.560
17	0.340	0.330	0.315	0.310	0.300	0.280
18	0.570	0.540	0.520	0.510	0.490	0.460
19	0.460	0.460	0.440	0.430	0.425	0.420
20	0.980	0.950	0.940	0.938	0.936	0.930
21	0.395	0.280	0.270	0.220	0.215	0.210
22	1.600	1.560	1.520	1.480	1.460	1.420
23	0.310	0.300	0.300	0.295	0.290	0.270
24	0.440	0.420	0.390	0.350	0.340	0.330
25	0.480	0.470	0.460	0.450	0.440	0.430
26	0.250	0.230	0.220	0.215	0.210	0.182
27	0.640	0.590	0.580	0.570	0.550	0.540
28	0.700	0.680	0.670	0.660	0.650	0.640
29	1.700	1.660	1.600	1.560	1.520	1.480
30	0.350	0.320	0.310	0.305	0.298	0.280
31	0.310	0.290	0.280	0.270	0.270	0.260
32	0.960	0.950	0.940	0.920	0.900	0.890
33	1.780	1.760	1.720	1.680	1.620	1.600

Paciente no.-	Densidad óptica (505 nm)					
	0 min.	15 min.	30 min.	60 min	90 min.	120 min.
34	0.410	0.400	0.390	0.370	0.360	0.350
35	0.850	0.840	0.810	0.800	0.780	0.760
36	0.450	0.400	0.370	0.340	0.300	0.275
37	0.350	0.340	0.310	0.290	0.260	0.250
38	0.850	0.840	0.830	0.800	0.790	0.780
39	0.320	0.300	0.290	0.278	0.260	0.250
40	0.300	0.280	0.280	0.255	0.252	0.249
41	0.290	0.289	0.270	0.260	0.258	0.250
42	0.540	0.530	0.520	0.510	0.500	0.490
43	0.667	0.655	0.643	0.631	0.618	0.606
44	0.240	0.228	0.210	0.190	0.180	0.160
45	0.570	0.550	0.530	0.530	0.520	0.510
46	0.480	0.460	0.430	0.420	0.390	0.350
47	0.480	0.460	0.450	0.440	0.430	0.400
48	0.485	0.460	0.450	0.440	0.410	0.390
49	0.280	0.220	0.210	0.190	0.180	0.150
50	0.740	0.720	0.700	0.660	0.650	0.640
51	0.620	0.590	0.580	0.570	0.560	0.564
52	0.460	0.450	0.440	0.430	0.420	0.410
53	0.325	0.310	0.300	0.290	0.280	0.270
54	0.250	0.240	0.230	0.220	0.210	0.200
55	0.290	0.270	0.250	0.220	0.215	0.210
56	0.230	0.220	0.210	0.200	0.190	0.180
57	0.360	0.330	0.320	0.310	0.300	0.290
58	0.590	0.580	0.570	0.560	0.550	0.540
59	0.330	0.320	0.310	0.300	0.290	0.280
60	0.560	0.530	0.490	0.480	0.470	0.460
61	0.280	0.270	0.260	0.250	0.240	0.230
62	0.270	0.260	0.250	0.240	0.230	0.210
63	0.300	0.280	0.260	0.250	0.230	0.220
64	0.240	0.230	0.210	0.200	0.190	0.180
65	0.290	0.280	0.270	0.250	0.230	0.220

III.4.- Determinación de la glucosa.

III.4.1.- Fundamentos de la prueba.

La glucosa oxidasa** (GOD) cataliza la oxidación específica de la glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno según la reacción siguiente: (1, 8).



El peróxido de hidrógeno formado en esta reacción, en presencia de peroxidasa*** (POD) reacciona con 4-aminoantipirina y 2,4-diclorofenol, por copulación oxidante se forma antipirilquinonimina roja. La cantidad del colorante formado es proporcional a la concentración de glucosa.

** β -D-glucosa: oxígeno -1- oxidorreductasa.

*** Donador: hidrógeno-peróxido oxidorreductasa.

III.4.2.- Reactivos:

Reactivo de coloración:

- 0.1 mol/L de amortiguador de fosfatos.
- 0.1 mol/L de amortiguador tris, pH = 8.0
- 6 KU/L de GOD.
- 38 KU/L de POD.
- 0.25 mmol/L de 4-aminoantipirina (4-aminofenazona).
- 0.3 mmol/L de 2,4-diclorofenol.

Disolver el contenido del frasco del reactivo de coloración con 100 ml de agua destilada.

KU = Kilo unidades internacionales por litro

El reactivo de color (glucosa oxidasa) listo para el uso y bien cerrado, se conserva 4 semanas a temperaturas de entre +2° y +8° C y una semana entre temperaturas de -15° y +25° C.

Observación:

Durante el almacenamiento, el reactivo de color se colorea de rosa, con lo cual disminuye la extinción del estándar de glucosa. Esto no influye en la exactitud del resultado.

Todos los reactivos empleados en la valoración de glucosa son de grado analítico.

III.4.3.- Curva de calibración de glucosa.

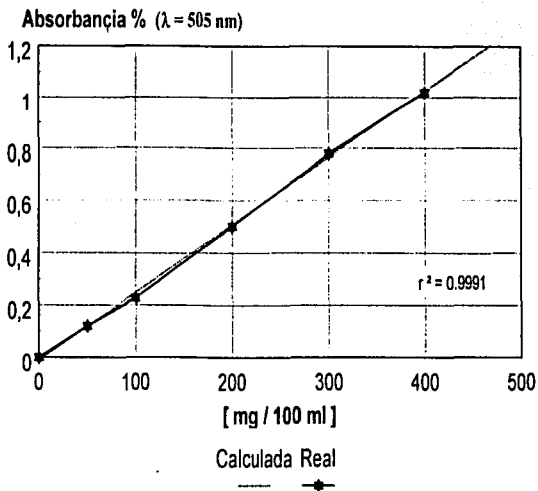
Se prepararon soluciones estándar de glucosa de, 50, 100, 200, 300 y 400 mg/100 ml, a partir de una solución stock de glucosa de 100 mg/ml, de la siguiente manera:

matraz aforado 100 ml	ml sol. stock 100 ml	agua destilada c b.p.	miligramos en 100 ml
1	0.5 ml	99.5 ml	50 mg
2	1.0 ml	99.0 ml	100 mg
3	2.0 ml	98.0 ml	200 mg
4	3.0 ml	97.0 ml	300 mg
5	4.0 ml	96.0 ml	400 mg

La curva estándar se trazó utilizando alícuotas de cada una de las soluciones estándar obtenidas (50, 100, 200, 300, 400 mg de glucosa/100 ml).

Se procedió a graficar la concentración de glucosa contra densidad óptica, obteniéndose la curva mostrada en la página siguiente.

Curva de calibración de glucosa



El límite de la curva es: 50 - 400 mg / 100 ml.

(2,8 - 28,2 mmol/L).

III.4.4.- Procedimiento para la determinación de glucosa por el método "glucosa - oxidasa" de Merck.

pipetear en tubos de ensayo			
	problema	estandar	blanco
Plasma	0.01 ml	----	----
Estandar	----	0.01 ml	----
Reactivo de color	2.00 ml	2.00 ml	2.00 ml

Mezclar, dejar reposar a temperatura ambiente, entre +15° a +25° C. durante 30 minutos a 3 horas y leer la extinción (absorción) del problema y del estándar contra el blanco, a una longitud de onda máxima de 510 nm. Incubando el mismo tiempo el estándar y los problemas, la lectura puede realizarse a los 15 minutos. El error máximo que puede presentarse en este caso es de $\pm 5\%$.

Para concentraciones de glucosa de más de 400 mg/100 ml (22.2 mmol/L), la muestra se diluyó de la siguiente forma.

0.1 ml de plasma + 0.1 ml de solución salina fisiológica al 0.9% y se repitió la determinación y el resultado obtenido se multiplicó por 2.

Cálculo: La concentración (c) de glucosa en plasma se calcula como sigue:

$$c = \frac{E \text{ problema}}{E \text{ estándar}} \times 100 \text{ mg/100 ml}$$

donde: c = concentración.

100 = concentración estándar de glucosa.

E = extinción.

valores de referencia (en ayunas): 50 - 100 mg/ 100 ml.

2.8 a 5.6 mmol/l

Tabla 3.- Resultados de la determinación de la concentración de glucosa

Paciente no -	Concentración de Glucosa [mg / 100 ml]					
	0 min.	15 min.	30 min.	60 min	90 min	120 min
1	105.0	100.0	97.0	94.0	88.0	82.0
2	88.0	82.0	79.0	76.0	68.0	62.0
3	376.0	370.0	365.0	359.0	353.0	347.0
4	300.0	294.0	290.0	289.0	287.0	278.0
5	145.0	142.0	137.0	132.0	126.0	121.0
6	113.0	110.0	110.0	103.0	100.0	97.0
7	166.0	158.0	155.0	147.0	142.0	134.0
8	463.0	452.0	442.0	431.0	421.0	410.0
9	116.0	110.0	108.0	108.0	108.0	105.0
10	79.0	68.0	62.0	58.0	45.0	37.0
11	134.0	131.0	125.0	122.0	111.0	101.0
12	243.0	234.0	231.0	231.0	225.0	218.0
13	147.0	147.0	147.0	140.0	134.0	131.0
14	97.0	87.0	86.0	81.0	75.0	69.0
15	150.0	147.0	144.0	140.0	134.0	125.0
16	580.0	567.0	547.0	528.0	515.0	502.0
17	109.0	106.0	101.0	100.0	97.0	90.0
18	184.0	174.0	167.0	164.0	158.0	148.0
19	148.0	148.0	142.0	138.0	137.0	135.0
20	326.0	316.0	313.0	312.0	312.0	310.0
21	132.0	93.0	90.0	73.0	72.0	70.0
22	533.0	519.0	506.0	493.0	486.0	473.0
23	103.0	100.0	100.0	98.0	97.0	90.0
24	147.0	140.0	130.0	117.0	113.0	110.0
25	150.0	147.0	144.0	141.0	138.0	135.0
26	78.0	72.0	69.0	67.0	66.0	57.0
27	200.0	185.0	182.0	178.0	172.0	169.0
28	219.0	213.0	210.0	207.0	203.0	200.0
29	532.0	520.0	501.0	488.0	476.0	463.0
30	110.0	100.0	97.0	95.0	93.0	88.0
31	94.0	88.0	85.0	82.0	82.0	79.0
32	291.0	288.0	285.0	279.0	273.0	270.0
33	539.0	533.0	521.0	509.0	491.0	485.0

Paciente no. -	Concentración de Glucosa [mg / 100 ml]					
	0 min	15 min	30 min.	60 min	90 min	120 min
34	124.0	121.0	118.0	112.0	109.0	106.0
35	258.0	255.0	245.0	242.0	236.0	230.0
36	136.0	121.0	112.0	103.0	91.0	83.0
37	106.0	103.0	94.0	88.0	790.0	76.0
38	258.0	255.0	251.0	242.0	239.0	236.0
39	97.0	91.0	88.0	84.0	79.0	76.0
40	91.0	85.0	85.0	77.0	76.0	75.0
41	88.0	88.0	82.0	79.0	78.0	76.0
42	180.0	176.0	173.0	170.0	167.0	163.0
43	222.0	218.0	214.0	210.0	206.0	202.0
44	80.0	76.0	70.0	63.0	60.0	53.0
45	190.0	183.0	176.0	176.0	173.0	170.0
46	160.0	153.0	143.0	140.0	130.0	117.0
47	160.0	153.0	150.0	147.0	143.0	133.0
48	162.0	153.0	150.0	147.0	137.0	130.0
49	93.0	73.0	70.0	63.0	60.0	50.0
50	246.0	240.0	233.0	220.0	216.0	213.0
51	206.0	196.0	193.0	190.0	186.0	188.0
52	153.0	150.0	147.0	143.0	140.0	137.0
53	108.0	103.0	100.0	97.0	93.0	90.0
54	83.0	80.0	77.0	73.0	70.0	670.0
55	97.0	90.0	83.0	73.0	72.0	70.0
56	77.0	73.0	70.0	67.0	63.0	60.0
57	120.0	110.0	107.0	103.0	100.0	97.0
58	196.0	193.0	190.0	186.0	183.0	180.0
59	110.0	107.0	103.0	100.0	97.0	93.0
60	186.0	176.0	163.0	160.0	157.0	153.0
61	93.0	90.0	87.0	83.0	80.0	77.0
62	90.0	87.0	83.0	80.0	77.0	70.0
63	100.0	93.0	87.0	83.0	77.0	73.0
64	80.0	77.0	70.0	67.0	63.0	60.0
65	97.0	93.0	90.0	83.0	77.0	73.0
Media	179.0	172.0	167.0	162.0	157.0	152.0
D. est. \pm	120.7	119.6	117.1	115.2	113.5	112.2

III.5.- Determinación del paquete celular.

El hematócrito o paquete celular es el volumen de eritrocitos expresado como un porcentaje del volumen total de la muestra de sangre.

El hematócrito venoso coincide estrechamente con el hematócrito obtenido por punción cutánea; ambos son mayores que el hematócrito corporal total.

La heparina, el oxalato y el EDTA resultan satisfactorios como anticoagulantes. (6)

III.5.1.- Técnica.

El tubo de microhematócrito (capilar) se llena por atracción capilar a partir de una muestra de sangre venosa bien mezclada.

Los tubos capilares deben llenarse por lo menos a la mitad. el extremo vacío se cierra con la ayuda del mechero.

La centrifugación durante 5 minutos a 3,000 rpm es satisfactoria a menos que el hematócrito exceda el 50 %, en este caso se requiere centrifugar durante 5 minutos adicionales, con el objeto de asegurar que se ha reducido al mínimo la cantidad de plasma atrapado.

Los tubos capilares no están graduados, por lo que deberá medirse con una regla milimetrada la longitud total y la parcial de cada una de las columnas; la columna que incluye el plasma y la columna de eritrocitos, en este caso se empleó un lector de microhematócrito.

En base a la longitud de la columna de hematócrito se determina el valor de éste en % de la longitud total.

La capa gris rojiza es de leucocitos y plaquetas, normalmente no se toma en cuenta (6), sin embargo en esta determinación si se tomará en cuenta para considerar todo el paquete celular (ver resultados en tabla 1)

III.5.2.- Valores de referencia.

Los valores de referencia del paquete celular para hombres y mujeres son los siguientes:

varones: $47 \pm 7\%$.

mujeres: $42 \pm 7\%$.

Un valor por abajo de lo normal en un individuo o del nivel correspondiente a la edad y sexo indica anemia y con un valor mas alto policitemia (6).

El hematócrito refleja la concentración de eritrocitos, no la masa total de los mismos. (6)

III.6.- Métodos Estadísticos.

En el análisis del comportamiento de los resultados de cualquier experimento es necesario aplicar métodos estadísticos para comprobar la existencia o no de la posible relación del fenómeno observado respecto al punto de vista bajo el cual se quiere estudiar la población, a partir de una muestra seleccionada. (27)

El análisis de los resultados obtenidos se inicia con la elaboración de tablas para mostrar los datos agrupados de una forma sencilla y simplificada para su rápida revisión y manipulación, así para cada agrupación podremos calcular el promedio del comportamiento y la medida de dispersión de los datos alrededor de este valor medio.

El valor promedio, media aritmética o media (denotada por \bar{X} o x media) se obtiene de dividir la suma de los valores parciales entre el número de ellos (cardinalidad de muestra o grupo denotado por "n"). (28)

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i$$

La dispersión o segregación de valores alrededor del valor promedio del grupo; \bar{X} ; generalmente se denomina; "Desviación Estándar" y se denota "s" para la muestra y como "σ" para la población. (28)

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}$$

Se puede comprender como la raíz cuadrada de "la desviación promedio de cada una de las desviaciones de los valores respecto al valor promedio de la muestra, llamada varianza" (28).

Continuando con el análisis del comportamiento de los resultados nos podemos auxiliar de gráficos; histogramas, polígonos de frecuencia y curvas de comportamiento.

Esto último es muy útil en el caso de inferir la existencia de relación entre dos o más variables, donde hay dependencia de la variación de una variable respecto a otra u otras. El graficar la posible relación entre estas variables, una dependiente y otra independiente, nos da una rápida y plena idea visual de la existencia o no de esta correlación supuesta.

El graficar y cuantificar la posible relación se denomina "regresión" y esta puede ser lineal, exponencial, cuadrática, logarítmica, etc., es decir cualquier función a la que se aproxime el comportamiento de la muestra o grupo, la medida de hasta donde se aproxima el comportamiento a la función se denomina, "Coeficiente de Correlación", se denota por r^2 , y para la correlación perfecta $r^2=1.0000$.

No es objetivo del presente trabajo mostrar cada uno de los métodos de correlación, no obstante a continuación se muestra el método de regresión para una curva cuadrática de la forma $f(x)=a+bx+cx^2$ (28). Sin embargo en la actualidad existe software, del tipo "paquetería" para computadoras personales (PC's) que efectúan las regresiones de diferentes tipos de curvas o funciones con solo proporcionarles los datos.

sea la curva: $y = a + bx + cx^2$

donde:

- y = valor estimado de y para una x dada.
- a = intersección de la curva con el eje y.
- b = coeficiente de linealidad
- c = coeficiente de curvatura de 2º grado.

para obtener los coeficientes anteriores; a, b y c, y de esta forma obtener los valores de "y" corregidos, se deben efectuar los cálculos indicados en la siguiente tabla a partir de los valores de la población.

Tabla 4.- Método de regresión exponencial

Variable	x	y	x ²	x ³	x ⁴	xy	x ² y	y ²
1er. Valor	x ₁	y ₁	x ₁ ²	x ₁ ³	x ₁ ⁴	x ₁ y ₁	x ₁ ² y ₁	y ₁ ²
.
.
.
n-ésimo	x _n	y _n	x _n ²	x _n ³	x _n ⁴	x _n y _n	x _n ² y _n	y _n ²
Valores calculados	Σ x	Σ y	Σ x ²	Σ x ³	Σ x ⁴	Σ xy	Σ x ² y	Σ y ²
Parámetros	\bar{x}	\bar{y}	$\frac{1}{n} \Sigma x^2$	$\frac{1}{n} (\Sigma x)(\Sigma x^2)$	$\frac{1}{n} (\Sigma x^2)^2$	$\frac{1}{n} (\Sigma x)(\Sigma y)$	$\frac{1}{n} (\Sigma x^2)(\Sigma y)$	$\frac{1}{n} (\Sigma y)^2$
Valores corregidos			Σ x ²	Σ x ³	Σ x ⁴	Σ xy	Σ x ² y	Σ y ²

Los valores corregidos se evalúan de la siguiente forma:

$$\text{Valor corregido} = \text{Valor calculado} - \text{parámetros.}$$

Y los coeficientes de la curva se determinan de la siguiente manera, a partir de los valores corregidos:

$$D = (\Sigma x^2)(\Sigma x^4) - (\Sigma x^3)^2.$$

$$b = \frac{(\Sigma xy)(\Sigma x^4) - (\Sigma x^2y)(\Sigma x^3)}{D}$$

$$c = \frac{(\Sigma x^2y)(\Sigma x^2) - (\Sigma xy)(\Sigma x^3)}{D}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} - c(\Sigma x^2)/n$$

$$r^2 = \frac{b(\Sigma xy) + c(\Sigma x^2y)}{\Sigma y^2} = \text{coeficiente de correlación.}$$

Ahora bien, conocemos las medidas de agrupamiento y dispersión, conocemos la correlación entre una variable y otra para un grupo determinado pero ¿Cómo comprobar que la diferencia entre dos grupos de valores se debe a que son grupos diferentes o a cierto error de medición?, ¿Será correcta la agrupación dada?

Para determinar si existe diferencia entre dos o más grupos de resultados de una determinación o medición y que tan significativa es esta diferencia necesitamos recurrir al "Análisis de Varianza", denominado "ANOVA", esta prueba determina si la variación de las medias de un grupo a otro es mas significativa que la variación dentro de un mismo grupo, por lo que fundamentalmente es un método para estudiar la variación entre medias (28), en las tablas siguientes se observa la metodología de esta técnica.

Tabla 5.- ANOVA para el diseño experimental completamente al azar

(Muestras del mismo tamaño: $n_1 = n_2 = \dots = n_t$) (27)

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	t-1	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n \cdot c$	CMTR = SCTR / (t-1)	CMTR / CMER
Error	t (n-1)	SCER = SCTL - SCTR	CMER = SCER / (t (n-1))	
Total	nt - 1	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 \cdot c$		

Donde:

t = número de tratamientos

n = número de repeticiones por tratamiento.

$$G = \text{Gran Total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}$$

c = factor de corrección = $G^2 / (nt)$ x_i = total del i-ésimo tratamiento. F_c = Valor crítico calculado de la distribución F de Fisher. F_t = Valor crítico de tablas de la distribución F de Fisher.La regla de decisión es: "Si F_c es mayor que F_t rechazar H_0 "

$$H_0: \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \dots = \bar{X}_t$$

Tabla 6.- ANOVA para el diseño experimental completamente al azar.

(Muestras de tamaño diferente; $n_1 \neq n_2 \neq \dots \neq n_t$) (27)

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	$t - 1$	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n_i - c$	$CMTR = SCTR / (t-1)$	$CMTR / CMER$
Error	$N - t$	$SCER = SCTL - SCTR$	$CMER = SCER / (N-t)$	
Total	$N - 1$	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}^2 - c$		

Donde:

 t = número de tratamientos n_i = número de repeticiones del i -ésimo tratamiento. N = tamaño total de todas las muestras = $\sum_{i=1}^t n_i$ G = Gran Total = $SCTR = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}$ c = factor de corrección = G^2 / N x_i = total del i -ésimo tratamiento. F_c = Valor crítico calculado de la distribución F de Fisher. F_t = Valor crítico de tablas de la distribución F de Fisher.La regla de decisión es: "Si F_c es mayor que F_t rechazar H_0 " $H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2 = \bar{x}_3 = \dots = \bar{x}_t$

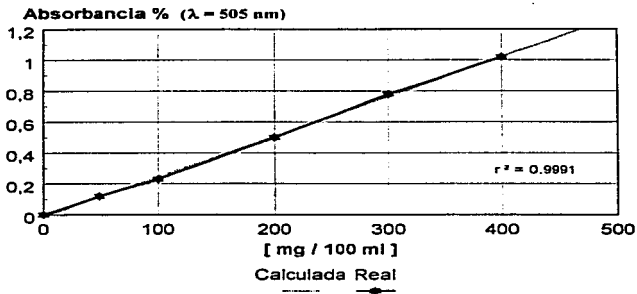
En los dos casos, ya sean muestras del mismo o de diferente tamaño, el valor crítico de la distribución F de tablas se obtiene fijando un nivel de significancia $\alpha = 5\%$ o 1% de acuerdo al grado de precisión requerido y con los grados de libertad del error, calculados de acuerdo a lo indicado en las tablas de ANOVA, y considerando el tamaño total de la muestra se determina de tablas el valor F requerido para la prueba de hipótesis H_0 : "no hay diferencia significativa entre las medias". (28, 39)

IV.- Resultados y discusión.

IV.1. Curva de calibración.

La absorbancia es usualmente lineal con la concentración de glucosa hasta 400 mg/100 ml; sin embargo, esta linealidad se comprobó con cada nuevo lote del reactivo de glucosa oxidasa, para lo cual se usaron estándares de: 50, 100, 200, 300, 400 mg de glucosa/100 ml.

La curva estándar de glucosa resultó lineal en una amplitud de 50 a 400 mg/100 ml (2.8-2.2 mmol/L), obteniéndose un coeficiente de correlación; r^2 igual a 0.9991.



IV.2.- Presentación de resultados.

Como se indicó inicialmente, los resultados obtenidos del análisis de las muestras de la población de estudio fueron enmarcados en dos grupos: pacientes sin problemas en el manejo de glucosa y pacientes con DM, estos grupos a su vez se reagruparon internamente para contrastar la disminución de la concentración de glucosa en función del sexo y paquete celular de los pacientes a fin de comprobar con cierto nivel de significancia la probable dependencia de la disminución

Por lo tanto primero se presentan los resultados globales observados en las muestras de estudio respecto a la disminución de la concentración de glucosa en plasma en función del tiempo de procesamiento, luego para las muestras agrupadas en pacientes no DM y por último para el grupo de muestras de los pacientes DM.

IV.2.1.- Resultados globales sin agrupar.

Las muestras de estudio comprenden 65 individuos, 37 mujeres y 28 hombres, los resultados globales se pueden observar en la tabla IV.2.1.1, en todas las tablas el porcentaje de disminución se calculó considerando la concentración determinada en cada intervalo de tiempo respecto a la concentración inicial (basal, $t=0$), los valores promedio para cada uno de los intervalos de tiempo se pueden observar en la tabla IV.2.1.2, estos valores graficados se observan en las gráficas IV.2.1.1, IV.2.1.2 y IV.2.1.3.

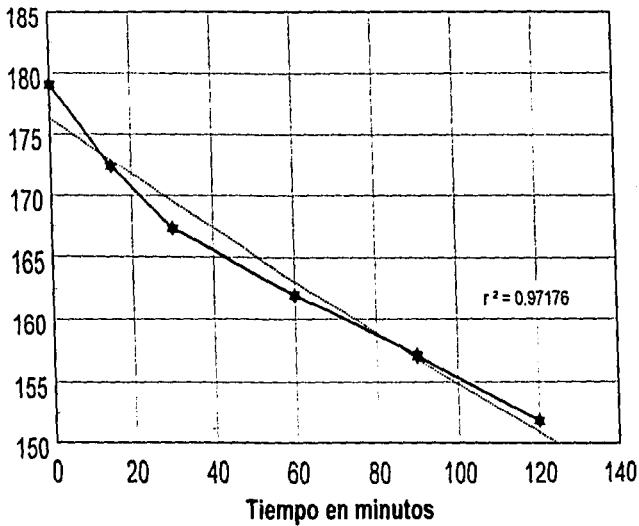
Tabla IV.2.1.1.- Resultados globales sin agrupar, datos generales.

Grupo	n	Sexo		Edad (años)	Paquete Celular	% de disminución de la concentración	Consumo Total. mg / 100 ml
		F	M				
no DM	26	14	12	18 a 67	28 a 56	$\bar{x} = 23.2\%$ $s = \pm 10.4$	$\bar{x} = 25.4$ $s = \pm 11.8$
DM	39	23	16	23 a 89	12 a 63	$\bar{x} = 15.1\%$ $s = \pm 8.4$	$\bar{x} = 28.6$ $s = \pm 15.4$
Total	65	37	28	18 a 89	12 a 63	$\bar{x} = 18.3\%$ $s = \pm 9.9$	$\bar{x} = 27.3$ $s = \pm 14.2$

Tabla IV.2.1.2.- Resultados globales sin agrupar, valores promedio en función del tiempo.

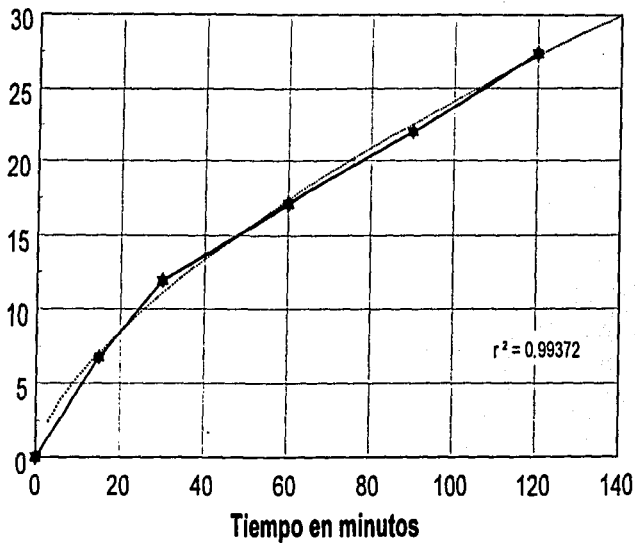
Tiempo Minutos	Concentración mg / 100 ml		Consumo mg / 100 ml		disminución %	
	\bar{x}	$\pm s$	\bar{x}	$\pm s$	\bar{x}	$\pm s$
0	179.1	120.7	—	—	—	—
15	172.4	119.6	6.8	5.6	4.7	4.6
30	167.3	117.1	11.9	7.4	7.9	5.3
60	162.0	115.2	17.1	10.4	11.4	7.1
90	157.1	113.5	22.0	12.3	14.7	8.4
120	151.8	112.2	27.3	14.2	18.3	9.9

Gráfica IV.2.1.1- Cambio de la concentración promedio durante el tiempo de análisis.

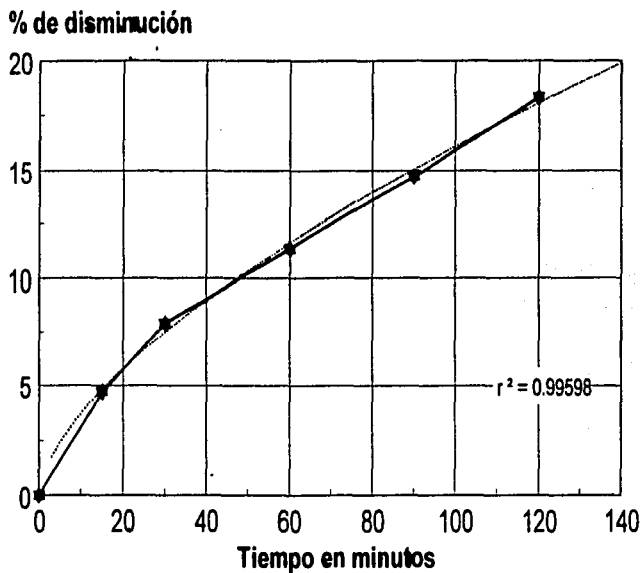
Concentración de glucosa (mg / 100 ml)

Gráfica IV.2.1.2.- Consumo promedio de glucosa durante el tiempo de análisis.

Consumo de glucosa (mg / 100 ml)



Gráfica IV.2.1.3- Porcentaje de disminución promedio de la concentración durante el tiempo de análisis.



IV.2.2.- Resultados agrupando los pacientes no DM y pacientes DM.

Los resultados de acuerdo a los grupos de estudio se pueden observar en las siguientes tablas y gráficas, comprenden 26 pacientes No DM y 39 pacientes DM:

Tabla IV.2.2.1.- Resultados agrupando a los pacientes No DM, valores promedio en función del tiempo.

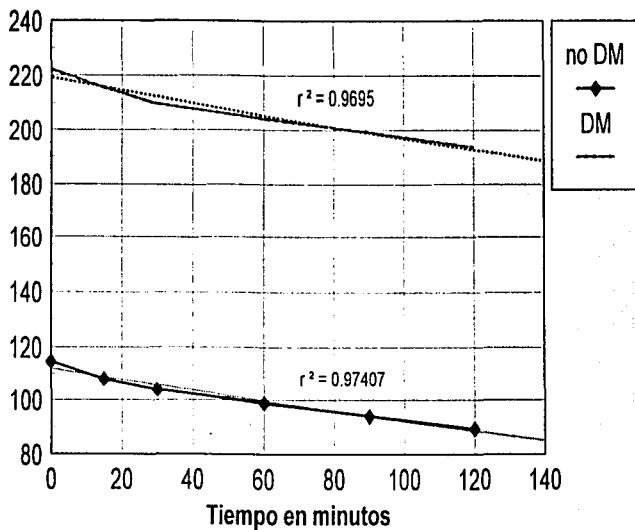
Minutos	Concentración mg / 100 ml		Consumo mg / 100 ml		Disminución %	
	\bar{X}	$\pm s$	\bar{X}	$\pm s$	\bar{X}	$\pm s$
0	114.7	36.2	—	—	—	—
15	107.9	35.5	6.9	7.4	6.0	5.7
30	103.8	35.4	10.9	7.8	9.8	6.1
60	98.8	35.4	16.0	10.6	14.3	8.0
90	94.0	35.5	20.7	11.6	18.7	9.6
120	89.4	35.9	25.4	11.8	23.2	10.4

Tabla IV.2.2.2.- Resultados agrupando a los pacientes DM, valores promedio en función del tiempo.

Minutos	Concentración mg / 100 ml		Consumo mg / 100 ml		Disminución %	
	\bar{X}	$\pm s$	\bar{X}	$\pm s$	\bar{X}	$\pm s$
0	222.1	137.0	—	—	—	—
15	215.3	135.6	6.7	4.1	3.9	3.5
30	209.6	132.4	12.5	7.1	6.7	4.3
60	204.2	129.8	17.9	10.2	9.5	5.7
90	199.2	127.3	22.9	12.7	12.0	6.2
120	193.5	125.7	28.6	15.4	15.1	8.0

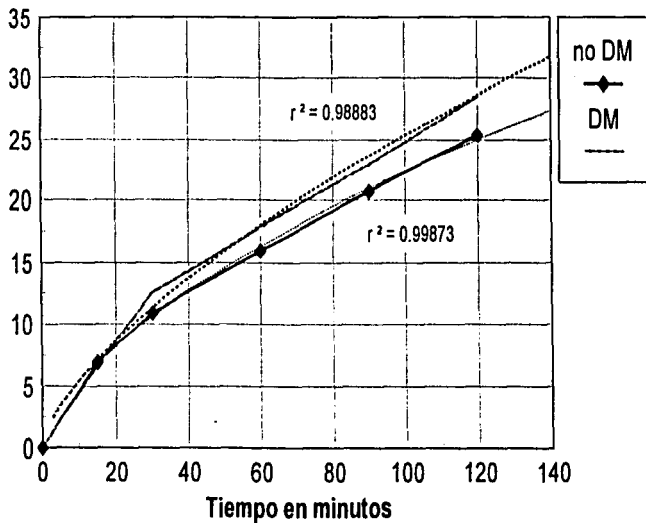
Gráfica IV.2.2.1.- Pacientes no DM y DM, cambio de la concentración en el tiempo.

Concentración de glucosa (mg / 100 ml)

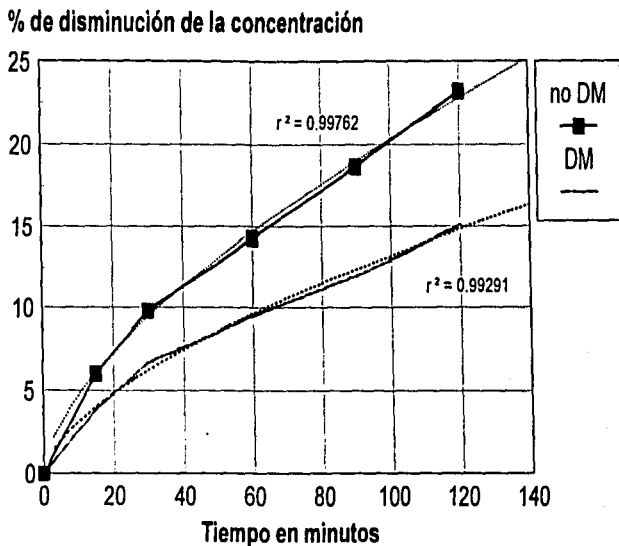


Gráfica IV.2.2.2.- Pacientes no DM y DM, consumo de glucosa en el tiempo.

Consumo de glucosa (mg / 100 ml)



Gráfica IV.2.2.3.- Pacientes no DM y DM, porcentaje de disminución de la concentración de glucosa en el tiempo.



IV.2.3.- Agrupamiento considerando el sexo de los pacientes.

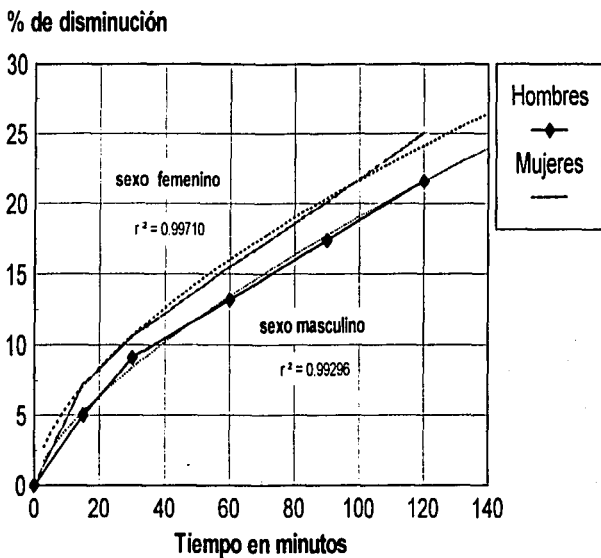
Para el análisis de los resultados de las muestras de estudio de acuerdo al sexo de los pacientes se consideraron solo los pacientes no DM ya que el comportamiento de ambos grupos es similar y las gráficas de los pacientes no DM tienen un mayor índice de correlación de las variables; disminución vs. tiempo.

Por otra parte solo se muestra la gráfica de la disminución de la concentración de glucosa en función del tiempo.

Tabla IV.2.3.- Resultados agrupando a los pacientes de acuerdo a su sexo, valores promedio en función del tiempo.

Minutos	Concentración mg / 100 ml		Consumo mg / 100 ml		Disminución %	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
	\bar{x} $\pm s$	\bar{x} $\pm s$	\bar{x} $\pm s$	\bar{x} $\pm s$	\bar{x} $\pm s$	\bar{x} $\pm s$
0	124.8 44.4	103.0 17.1	— —	— —	— —	— —
15	118.7 43.2	95.3 16.0	6.1 3.9	7.8 9.9	5.0 2.6	7.2 7.7
30	114.1 43.3	91.8 16.0	10.7 5.2	11.2 10.0	9.1 3.9	10.6 7.9
60	109.1 43.1	86.7 16.7	15.6 7.3	16.3 13.5	13.2 5.1	15.5 10.3
90	104.3 43.3	82.1 17.0	20.5 9.5	20.9 13.7	17.4 7.2	20.1 11.7
120	99.8 43.8	77.2 16.8	25.0 9.8	25.8 13.8	21.6 8.1	25.0 12.3

Gráfica IV.2.3.1.- Agrupamiento de acuerdo al sexo de los pacientes, porcentaje de disminución de la concentración de glucosa en función del tiempo



IV.2.4.- Agrupamiento considerando el paquete celular de los pacientes.

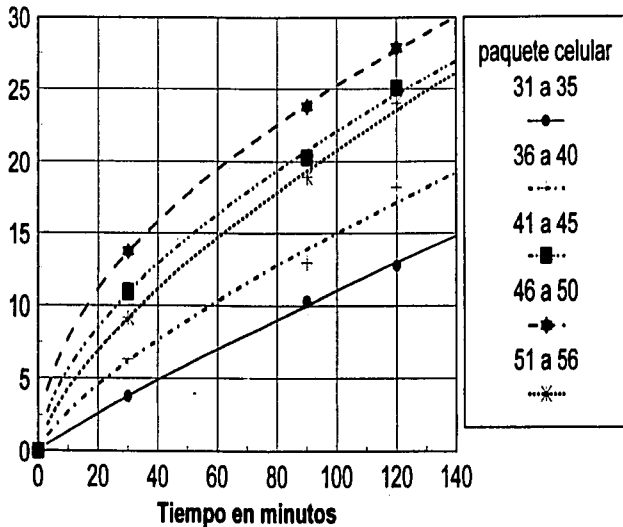
Analizando los resultados de las muestras de estudio de los pacientes no DM en función del paquete celular, se consideraron cinco rangos del valor del paquete celular, observándose lo siguiente:

Tabla IV.2.4.- Agrupamiento de las muestras de acuerdo al paquete celular de los pacientes.

Paquete Celular (rangos)	Concentración mg / 100 ml				Consumo mg / 100 ml			Disminución %		
	0 min	30 min	90 min	120 min	30 min	90 min	120 min	30 min	90 min	120 min
	\bar{x} $\pm s$				\bar{x} $\pm s$			\bar{x} $\pm s$		
31 - 35 n = 3	139.0 29.3	133.7 28.0	125.3 29.7	122.0 24.2	5.3 1.7	13.7 0.9	17.0 0.8	3.8 0.9	10.3 2.2	12.7 2.3
36 - 40 n = 4	142.5 47.2	134.3 47.3	125.5 47.2	118.8 48.5	8.3 0.4	17.0 3.9	23.8 5.5	6.3 1.6	12.9 4.0	18.2 5.9
41 - 45 n = 7	104.4 24.3	92.6 19.5	82.1 14.8	77.4 15.9	11.9 5.9	22.3 11.6	27.0 12.6	10.9 3.2	20.3 6.3	25.1 7.3
46 - 50 n = 7	112.6 39.6	97.1 36.8	86.6 37.9	82.6 38.5	15.4 12.0	26.0 16.7	30.0 16.4	13.7 9.1	23.8 14.3	27.9 15.1
51 - 56 n = 5	95.4 3.5	86.6 2.2	77.2 1.6	72.4 2.8	8.8 2.7	18.2 4.4	23.0 4.5	9.2 2.6	18.9 4.0	24.0 4.1

Gráfica IV.2.4.1- Agrupamiento de acuerdo al paquete celular de los pacientes, porcentaje de disminución de la concentración de glucosa en función del tiempo.

% de disminución de la concentración



IV.3. Discusión de resultados.

IV.3.1.- Globales.

A partir de la tabla IV.2.1.1 de resultados globales podemos observar que existe claramente una disminución de la concentración de la glucosa en plasma, esta disminución en promedio representa un 18.3% menos que el promedio de la concentración inicial (basal) de glucosa, correspondiente al tiempo 0 del análisis de las muestras.

Por otra parte la gráfica IV.2.1.1 correspondiente a la concentración promedio respecto al tiempo de procesamiento resulta un coeficiente de correlación del 0.97176, con una relación del tipo exponencial; $y = a e^{bx}$.

El consumo total promedio de glucosa llega a un valor de 27.3 mg/ 100 ml, lo cual representa la disminución promedio mencionada, su gráfica correspondiente (gráfica IV.2.1.2.) nos da una curva con un coeficiente de correlación de 0.99372 y una relación del tipo potencial; $y = a x^b$.

La gráfica IV.2.1.3 del porcentaje de disminución de la concentración en función del tiempo tiene un coeficiente de correlación del 0.99598 con una curva del tipo potencial $y = a x^b$.

Estas correlaciones de datos nos indican fuertemente la existencia de una disminución real de la concentración de glucosa en sangre, pero se debe analizar si esta variación es por error experimental o realmente obedece a un cambio en la concentración de la glucosa en el tiempo de procesamiento mediante el análisis de varianza (ANOVA).

IV.3.1.1 Análisis de varianza para la concentración global:

Para el análisis de varianza de los resultados globales se consideró toda la población de estudio, esto es, las 65 muestras procesadas:

t = número de tratamientos = 6

n_i = número de repeticiones del i -ésimo tratamiento. = 65

	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
sumatoria x_i	11,644.0	11,203.0	10,872.0	10,531.0	10,212.0	9,868.0
media x_i	179.1	172.4	167.3	162.0	157.1	151.8
desv. estándar	120.7	119.6	117.1	115.2	113.5	112.3
sumatoria x_i^2	3'032,108.0	2'861,091.0	2'709,550.0	2'568,757.0	2'441,970.0	2,316,768.0
Gran total; G	64,330.0					
Fact. corr.: $C = G^2/(t \cdot n) = 10'611,151.0$						

con estos valores ya determinados se procede a calcular la Fc para la prueba de hipótesis:

"Los promedios de concentración son iguales a cualquier tiempo de procesamiento"

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	$t-1$	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n_i - c$	CMTR = SCTR / (t-1)	CMTR / CMER
	5	32,766.79	6,553.36	
Error	$t(n-1)$	SCER = SCTL - SCTR	CMER = SCER / (t(n-1))	
	384	5'286,326.18	13,766.47	
Total	$nt-1$	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - c$		
	389	5'319,092.97		

Con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$ y 5 y 384 grados de libertad se encuentra el valor de F_t en tablas, obteniéndose un valor de 3.86

Como $F_c = 0.48 < F_t = 3.86$ aceptamos H_0 , es decir el promedio de concentración en los seis tiempos de procesamiento es similar, esto es el promedio no es significativamente diferente

En este momento surge la pregunta ¿Como es posible que no sea significativa la diferencia entre las medias de las concentraciones en los cinco intervalos de tiempo si gráficamente se observa una disminución de las medias?.

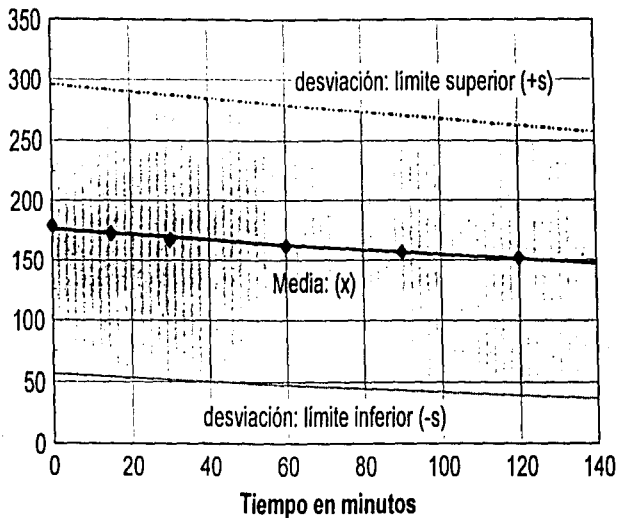
Precisamente la respuesta del Anova a la pregunta anterior es de que los valores de concentración están muy "dispersos", esto es la "varianza" o "desviación" de cada uno de los valores de concentración respecto a la concentración media es tan grande en cada intervalo de tiempo que no es significativa la diferencia de las concentraciones promedio.

Esto lo podemos observar gráficamente si mostramos el rango de la desviación estándar de la curva de la disminución de la concentración, en la gráfica IV 3.1.1 de la página siguiente se observa claramente que dentro del área de desviación puede existir cualquier familia de curvas para el cambio de la concentración respecto del tiempo.

Gráfica IV.3.1.1

Rangos de variación para la concentración global de glucosa:

Concentración de glucosa (mg / 100 ml)



IV.3.1.2 Análisis de varianza para el consumo global de glucosa:

Es de esperarse de acuerdo a los resultados gráficos y a la lógica del cálculo del porcentaje de disminución que el Anova correspondiente al consumo será similar a los resultados obtenidos para la disminución de la concentración, sin embargo se presenta el análisis de varianza del consumo y de la disminución para corroborar lo antes dicho y a partir del siguiente agrupamiento solo se presentará el Anova para los datos correspondientes a la disminución de la concentración de glucosa

t = número de tratamientos = 5

n_i = número de repeticiones del i -ésimo tratamiento. = 65

	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
sumatoria x_i	441.0	772.0	1,113.0	1,432.0	1,776.0
media x_i	6.8	11.9	17.1	22.0	27.3
desv. estándar	5.6	7.4	10.4	12.3	14.2
sumatoria x_i^2	5,039.0	12,770.0	26,079.0	41,436.0	61,624.0
Gran total; G	5,534.0				
Fact. corr.: $C = G^2/(t \cdot n)$	94,231.2				

con estos valores ya determinados se calcula la F_c para la prueba de hipótesis:

“El consumo promedio de glucosa igual a cualquier tiempo de procesamiento”

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	t-1	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n_i \cdot c$	CMTR = SCTR / (t-1)	CMTR / CMER
	4	17,061.6	4,265.40	
Error	t(n-1)	SCER = SCTL - SCTR	CMER = SCER / (t(n-1))	
	320	35,655.2	111.42	
Total	nt-1	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 \cdot c$		
	324	52,716.8		

Con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$, 4 y 320 grados de libertad se encuentra el valor de Ft en tablas, obteniéndose un valor de 2.37

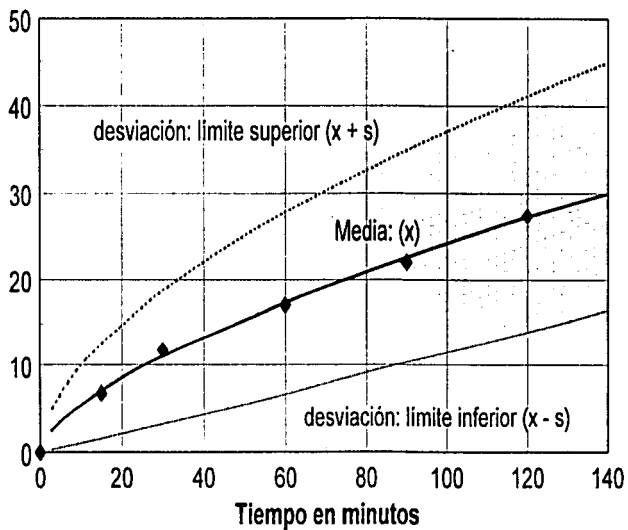
Como $F_c = 38.28 > F_t = 2.37$ rechazamos H_0 , es decir el "consumo promedio de glucosa en los cinco intervalos de tiempo de procesamiento es significativamente diferente.

Ahora surge la pregunta ¿Como es posible que los consumos promedio si sean significativamente diferentes mientras que los promedios de concentración no lo son?, la respuesta es de que el cálculo del consumo elimina la "dispersión de valores" que se tiene al tomar el valor absoluto de la concentración ya que el consumo es el resultado de la resta del valor particular de concentración de una muestra en el tiempo t_i respecto al valor inicial de la concentración en el tiempo t_0 (t_{base}), esto lo podemos observar gráficamente en la siguiente página.

Gráfica IV.3.1.2

Rangos de variación para el consumo global de glucosa.

Consumo de glucosa (mg / 100 ml)



IV.3.1.3 Análisis de varianza para la disminución global de la concentración de glucosa:

t = número de tratamientos = 5

n_i = número de repeticiones del i -ésimo tratamiento. = 65

	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
sumatoria x_i	306.8	515.7	742.1	953.6	1,191.0
media \bar{x}_i	4.7	7.9	11.4	14.7	18.3
desv. estándar	4.6	5.3	7.1	8.4	9.9
sumatoria x_i^2	2,840.8	5,930.6	11,774.1	18,594.5	28,172.3
Gran total; G	3,709.1				
Fact. corr.; C = G ² /(t*n)	42,331.0				

con estos valores ya determinados se calcula la Fc para la prueba de hipótesis;

“El porcentaje promedio de disminución de la concentración de glucosa es igual a cualquier tiempo de procesamiento”

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	$t-1$	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n_i - c$	$CMTR = SCTR / (t-1)$	34.27
	4	7,492.0	1,873.0	
Error	$t(n-1)$	$SCER = SCTL - SCTR$	$CMER = SCER / (t(n-1))$	54.7
	320	17,489.4		
Total	$nt-1$	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - c$		
	324	24,981.4		

Con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$, 4 y 320 grados de libertad se encuentra el valor de F_t en tablas, obteniéndose un valor de 2.37

Como $F_c = 34.27 > F_t = 2.37$ rechazamos H_0 , es decir el porcentaje promedio de disminución de la concentración de glucosa en los cinco análisis es significativamente diferente.

Este resultado confirma que la disminución al igual que el consumo de glucosa son significativamente diferentes para cualquier intervalo del tiempo de procesamiento.

IV.3.2.- Dependencia de la disminución respecto a pacientes DM y No DM.

Se puede observar en las gráficas de comportamiento de la concentración, disminución y porcentaje de disminución promedios, que estos son similares en los agrupamientos de pacientes DM y No DM.

A partir de las tablas de resultados también podemos observar que existe claramente una disminución de la concentración promedio de la glucosa en plasma en ambos casos, sin embargo el cambio absoluto en la población NO DM es mayor, llegando a ser de hasta un 23.2%, contra solo un 15.1% en los pacientes DM al $t=120$ min., pero la concentración inicial de glucosa de los pacientes DM es mayor; 222.1 mg/100 ml contra 114.7 mg/100 ml en los NO DM.

Si comparamos los comportamientos independientes de ambos grupos se observa el mismo tipo de tendencia, resulta inclusive que en ambos casos la ecuación de ajuste es la misma, con coeficientes de correlación mayores a 0.9 prácticamente.

La hipótesis a probar en este caso es: "los valores promedio de consumo de glucosa son iguales para ambas poblaciones" esto se prueba comparando las medias de consumo de los pacientes DM y los pacientes NO DM para un tiempo determinado.

Se efectuó el Anova para cada uno de los intervalos de estudio obteniéndose resultados similares en todos los casos, se muestra el análisis correspondiente al $t = 120$ minutos considerándolo como representativo.

	Consumo Pacientes DM	Consumo Pacientes NO DM
sumatoria x_i	660.0	1,116.0
No. de repeticiones	26	39
media x_i	25.4	28.6
sumatoria x_i^2	20,392.0	41,232.0
Gran total; G	1,776.0	
Fact. corr.; $C = G^2/N$	48,525.8	

con estos valores ya determinados se puede proceder a calcular la Fc para la prueba de hipótesis;

“El consumo promedio de glucosa es igual a cualquier tiempo de procesamiento para cualquier grupo de población”

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	t-1	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n_i - c$	CMTR = SCTR / (t-1)	CMTR / CMER
	1	162.8	162.8	0.83
Error	N-t	SCER = SCTL - SCTR	CMER = SCER / (N-t)	
	63	12 935.4	205.3	
Total	N-1	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - c$		
	64	13 098.2		

Con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$, 1 y 63 grados de libertad se encuentra el valor de Ft en tablas, obteniéndose un valor de 3.98.

Como $F_c = 0.8 < F_t = 3.98$ aceptamos H_0 , es decir la consumo promedio de la concentración de glucosa del grupo de pacientes DM no es significativamente diferente del consumo promedio de glucosa del grupo de pacientes NO DM.

Por lo anterior para los agrupamientos siguientes no se considerará ANOVA para los agrupamientos DM, se tomará el ANOVA del grupo DM como representativo.

IV.3.3.- Dependencia de la disminución respecto al sexo del paciente.

El análisis consiste en verificar si la concentración de la glucosa varía en forma diferente para la población de un sexo que para la del otro.

En las tablas y gráficas de concentración, consumo y disminución de glucosa en plasma agrupando los datos de acuerdo al sexo del paciente se observa el mismo tipo de comportamiento respecto a la población global del estudio ya sea grupo de hombres o mujeres, tanto NO DM como DM.

Los valores y gráficas de consumo y disminución son muy cercanos para hombres y mujeres, inclusive se pueden considerar similares observando los valores de las desviaciones estándar en cada punto (rebasando el 50% del valor de la media).

Esto se confirma mediante el ANOVA siguiente (considerando la población NO DM como representativa):

IV.3.3.1 Análisis de varianza para la disminución respecto al sexo del paciente.

Se consideraron los cinco momentos o tiempos de análisis para comparar las medias de la disminución de la concentración de glucosa de ambos sexos obteniéndose el mismo resultado en todos los casos, se muestra el análisis para el $t = 120$ minutos como representativo.

	Hombres	Mujeres
sumatoria x_i	301.7	300.3
No. de repeticiones	14	12
media x_i	21.6	25.0
sumatoria x_i^2	7,422.5	9,340.6
Gran total; G	602.0	
Fact. corr.; $C = G^2/N$	13,938.6	

con estos valores ya determinados se puede proceder a calcular la F_c para la prueba de hipótesis:

“La disminución promedio de la concentración de glucosa es igual para hombres y mujeres.”

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F_c
Tratamiento	$t-1$	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n_i - c$	$CMTR = SCTR / (t-1)$	$CMTR / CMER$
	1	78.0	78.0	0.7
Error	$N-t$	$SCER = SCTL - SCTR$	$CMER = SCER / (N-t)$	
	24	2 746.4	114.4	
Total	$N-1$	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - c$		
	25	2 824.5		

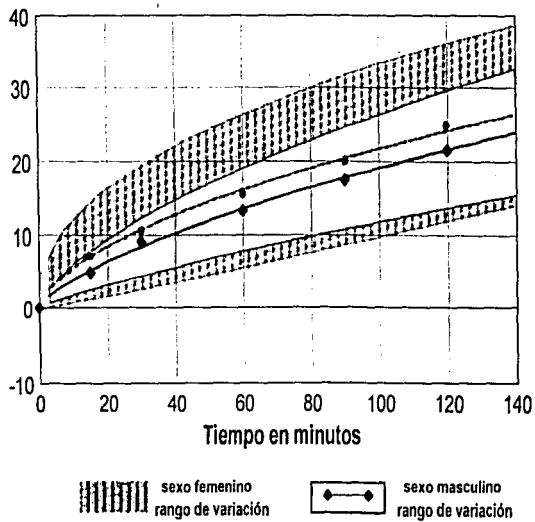
Con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$, 1 y 24 grados de libertad se encuentra el valor para F_t en tablas, obteniéndose un valor de 4.26

Como $F_c = 0.7 < F_t = 4.26$ aceptamos H_0 , es decir la disminución promedio de la concentración para los hombres no es significativamente diferente a la disminución de la concentración en las mujeres.

Este resultado concuerda con la gráfica IV.3.3.1 que nos muestra los rangos de “desviación” de las curvas de disminución de la concentración para ambos sexos en función del tiempo de procesamiento, en la cual se observa claramente que el rango de variación de la curva de la disminución de la concentración para los hombres se encuentra comprendida dentro del rango de variación de la curva de disminución de concentración para los hombres.

Gráfica IV.3.3.1 Disminución de la concentración de glucosa respecto al sexo del paciente, áreas de variación.

% de disminución respecto al sexo



IV.3.4.- Dependencia de la disminución respecto al paquete celular de los pacientes.

De los agrupamientos efectuados, el agrupamiento de muestras considerando el paquete celular de cada una de ellas fue el que mostro cierta dependencia de la disminución de la concentración de glucosa en plasma en función del tiempo de procesamiento de las muestras.

Se observa en la gráfica IV.2.4 de la disminución de la concentración en función del tiempo que entre mayor es el paquete celular mayor es el porcentaje de disminución de la concentración de glucosa en plasma para cualquier momento dado, existiendo claramente separación de grupos.

Las gráficas de consumo tienen índices de correlación muy cercanos a 1.000 lo cual nos indica fuertemente la existencia de la dependencia del consumo de la glucosa respecto al paquete celular del paciente.

Para revisar el nivel de significancia de estas observaciones se efectuó el ANOVA para la población NO DM, descartándose cualquier posible análisis del agrupamiento DM.

IV.3.4.1 Análisis de varianza para la disminución respecto al paquete celular de los pacientes:

La hipótesis a probar en este caso es: "la disminución promedio de glucosa es igual a cualquier tiempo de procesamiento para cualquier paquete celular" esto se prueba comparando los promedios de disminución de los pacientes agrupados de acuerdo a su paquete celular para un intervalo de tiempo determinado.

Se efectuó el Anova para cada uno de los intervalos de estudio obteniéndose resultados similares en todos los casos, se muestra el análisis correspondiente al $t = 120$ minutos considerándolo como representativo

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA 79**

Paquete Celular					
	31 a 35	36 a 40	41 a 45	46 a 50	51 a 56
sumatoria x_i	38.1	21.9	29.5	53.2	24.7
No. repeticiones	3	4	7	5	5
media x_i	12.7	18.2	25.1	33.8	24.0
sumatoria x_i^2	500.3	1 468.5	4 872.2	6 705.4	2 963.0
Gran total; G	575.8				
Fact. corr.; $C = G^2/N$	13 814.4				

con estos valores ya determinados se puede proceder a calcular la Fc para la prueba de la hipótesis nula;

“La disminución promedio de glucosa es igual a cualquier tiempo de procesamiento para cualquier paquete celular”

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	t-1	$SCTR = \sum_{i=1}^t x_i^2 / n_i \cdot c$	CMTR = SCTR / (t-1)	CMTR / CMER
	4	1 005.4	251.3	3.0
Error	N-t	SCER = SCTL - SCTR	CMER = SCER / (N-t)	
	19	1 599.6	84.2	
Total	N-1	$SCTL = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 \cdot c$		
	23	2 605.0		

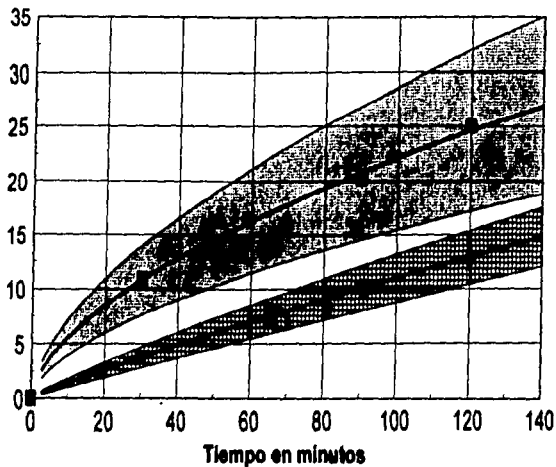
Con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$, 4 y 19 grados de libertad se encuentra el valor de Ft en tablas, obteniéndose un valor de 2.90.

Como $F_c = 3.0 > F_t = 2.90$ rechazamos H_0 , es decir la disminución promedio de la concentración de glucosa agrupada de acuerdo al paquete celular es significativamente diferente de un rango a otro.

Es importante recalcar que este resultado se repite para cualquier intervalo de tiempo, y estos valores confirman lo observado gráficamente "Existe dependencia del consumo de glucosa respecto al paquete celular de la muestra de estudio", podemos observar la diferencia de áreas de variación en la gráfica de la siguiente página para dos grupos de paquete celular.

Gráfica IV.3.4.1 Disminución de la concentración de glucosa respecto al paquete celular del paciente, áreas de variación:

% de disminución de la concentración



Paq. celular 48 a 50
rango de variación



Paq. celular 31 a 35
rango de variación

V.- CONCLUSIONES

V.- CONCLUSIONES.

Después de revisar los resultados gráficos y estadísticos, cualitativa y cuantitativamente, es evidente que existe un cambio en la concentración de glucosa en plasma a partir del momento de toma de muestra, disminuyendo la concentración hasta un 18.3% en promedio o un 28.2% si consideramos la desviación estándar, este resultado del análisis tiene un nivel de significancia ($\alpha = 5\%$) que no deja lugar a dudas.

Las gráficas y el análisis estadístico para el consumo y disminución de la concentración de glucosa indican que los valores promedio de la concentración de glucosa de las muestras de estudio dependen del tiempo de procesamiento, los índices de correlación muy cercanos a 1 y valores estadísticos demuestran que el consumo y disminución dependen del tiempo de análisis de la muestra.

Los valores obtenidos para la concentración de glucosa en sangre se encuentran muy dispersos (hasta $\pm 74\%$ del valor promedio) dentro de la muestra de estudio, el valor de la concentración en sangre es intrínseco a cada muestra (pacientes no DM y DM, hombres y mujeres, adolescentes y ancianos, etc.) lo cual produce variabilidad en el comportamiento de las gráficas y errores en el análisis de varianza, este efecto se minimiza al graficar y analizar el comportamiento del consumo y disminución, ya que estos se calculan en base al valor de la concentración al tiempo basal, filtrando el efecto de la dispersión de valores de la concentración, al obtener nueva base de referencia.

Una vez determinada la existencia de la disminución de la concentración de glucosa en plasma en función del tiempo de análisis de muestra, es requerido analizar el factor o factores que producen o intervienen en este cambio.

Los resultados gráficos y estadísticos nos indican que el análisis del cambio es más adecuado en la población NO DM, ya que la población DM, si bien tiende a seguir el comportamiento

de la población NO DM, presenta cierta anormalidad en la concentración de glucosa provocando traslapes de gráficas.

Sin embargo se observa la repetibilidad de comportamientos al separar las poblaciones en función del sexo y paquete celular de los pacientes, por lo cual se toma la población NO DM como representativa para analizar estos factores, ya que al efectuarse el análisis de las gráficas y de varianza se determina que no existe dependencia de la disminución o consumo de la glucosa respecto al agrupamiento pacientes DM o NO DM.

El análisis respecto al sexo de los pacientes de estudio nos indican que no interfiere este factor con el consumo o disminución de la concentración de glucosa en plasma, lo único que se observó en este agrupamiento fué que las concentraciones promedio de glucosa fueron mayores en el grupo del sexo masculino que en el femenino, pero no es significativa esta diferencia.

Por último el agrupamiento considerando rangos del paquete celular de los pacientes nos indica que existe dependencia con respecto al valor del hematócrito, resultando en términos generales que entre mayor hematócrito mayor es el consumo de glucosa, como se puede observar en las gráficas correspondientes y el análisis de varianza respectivo.

Si se controlara adecuadamente la muestra sanguínea tomando el tiempo real entre la toma de muestra y el tiempo de análisis se podría entonces, mediante los ensayos adecuados, tratar de determinar la velocidad de consumo y por lo tanto; de transporte de glucosa, para asociar en forma directa las células del hematócrito como las responsables del consumo y por lo tanto de la disminución de la concentración de glucosa.

También se podrían determinar gráficas y ecuaciones que, en función del tiempo de procesamiento y la concentración determinada, nos permitieran ajustar el valor de la concentración al momento de la toma de muestra, cuando no sea posible su centrifugado, para evitar errores de apreciación de los resultados.

VI.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Ganong F. William; Fisiología Médica, 12ª ed., México 1990, Ed. El Manual Moderno.
- 2.- David W. Martin , Jr. Peter A. Mayes, Ph.D., Victor W. Rodwell, Ph.D., Bioquímica de Harper, 12ª ed., México, 1992. Ed. El Manual Moderno.
- 3.- Dr. Norbert W. Tietz y col Quimica Clínica Moderna, Ed. Interamericana, 1972.
- 4.- Lehninger, Albert. Bioquímica, Las bases moleculares de la estructura y función celular, 2ª ed., Barcelona, 1980, Ed. Omega.
- 5.- Cantarow, A.; Shepartz, B., Bioquímica, 4ª ed., Ed. Interamericana, México 1969.
- 6.- Tood - Sanford, Diagnóstico clinico por el laboratorio, 6ª ed., Salvat editores, S:A. 1978.
- 7.- Morrison R.T., Boyd R.N., Química orgánica, Fondo educativo interamericano, S.A., 1976.
- 8.- Bergmeyer, H.U. and Gawehn, K. (eds.), Methods of enzymatic analysis, Academic Press, Inc. New York (1974), p 175.
- 9.- Lienhard, Gustav E. et. al., How cells absorb glucose, Scientific American, January 1992, pp. 34-39.

- 10- White, A.P. Handler and E.L. Smith, *Principios de Bioquímica*, Mc Graw Hill, 2ª ed., 1983, caps. 23, 46.
- 11.- Hedo, José A., et al. Myristyl and Palmityl Acylation of the insulin receptor. *The journal of biological chemistry*. 1987 262(3) pp. 954-957.
- 12.- Wong, K. Y. et al., Comparison of solubilized and purified plasma membrane and nuclear insulin receptor. *Biochemistry* 1988. 27(1) pp. 375-379
- 13.- Rouller, Dominique G et al. Hormonal regulation of insulin receptor gene expression. *The journal of biological chemistry* 1988 263(26) pp. 13183-13190.
- 14.- Neufeld, Naomi D. et al. Effects of caloric restriction and exercise on insulin receptors in obesity: Association with changes in membrane lipids. *Metabolism* 1986 37(7) pp. 580-587.
- 15.- Shoelson, Steven E. et al. Triptych activation of the insulin receptor. *The journal of biological chemistry*. 1988. 263(10) pp. 4852-4860.
- 16.- Goren, H.J. et al. Separate domains of the insulin receptor contain sites of autophosphorylation and Tyrosine Kinase Activity *Biochemistry*. 1987 26(8) pp. 2374-2382.
- 17.- Gherzi, R. et. al. An extracellular domain of the insulin receptor β subunit with regulatory function on protein-tyrosine kinase. *The journal of biological chemistry*. 1988 264(15) pp. 8627-8635.

- 18.- Pang, Dennis T. et. al. Predominance of tyrosine phosphorylation of insulin receptors during the initial response of intact cells to insulin. *The journal of biological chemistry* 1985, 260(11) pp. 7131-7136.
- 19.- Forsayeth, John R. et. al. Effect of monoclonal antibodies on human insulin receptor auto phosphorylation, negative cooperativity and down-regulation. *The journal of biological chemistry* 1987, 262(9) pp. 4134-4140.
- 20.- Susuky Kazuo et. al. Alteration in activities of N. K. Atpase, sugar transport, and insulin receptor in erythrocytes from hyperthyroid patients. *Metabolism*. 1986, 35(4) pp. 371-377.
- 21.- Golden, Michael P. et. al. Insulin resistance in total lipodystrophy: evidence for a prereceptor defect in insulin action. *Metabolism*, 1985, 3(1)(4) pp. 330-335.
- 22.- Hatada, Eunice N. et. al. Effects of growth and insulin treatment on the levels of insulin receptors and their mRNA in hep G₂ cells. *The journal of biological chemistry* 1989, 264(12) pp. 6741-6747.
- 23.- Ascaso Gimilio J.F. Patogenia de la diabetes mellitus tipo II. *Endocrinología y metabolismo* 1986, 16 pp 32-40.
- 24.- Torres, Montes, Erick. Mas Kilos más diabetes. *Actualidades Médicas*. 1982, 13(9) pp. 42-51.
- 25.- Landau Richard L. *Endocrinology and metabolism*: JAMA 1984 252(16) pp. 2172-2176.

- 26.- M. L. Bishop, *Clinical Chemistry, Principles, Procedures and Correlations.*, 2ª ed., J.B. Lippincott Company, 1991, pp 299-315
- 27.- D. Hurley, A. Aguilar, et al., *Técnicas de Diseño Experimental, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, F.E:S. Cuautitlán Izcalli*, 1981.
- 28.- Murray R. Spiegel, *Estadística, Teoría y Problemas, Serie Schaum, McGraw Hill*, 1969.
- 29.- Brow, P.M., et. al. Gluconeogenesis and its regulation of glucose production in vivo. *Biochem. Soc. trans.* 1978, 6 pp. 1134-1138.
- 30.- Kventny J and L. Matzen. Thyroid hormone stimulated glucose uptake in human mononuclear blood cells from normal persons and from patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Acta Endocrinológica* 1989, 120 pp. 715-770
- 31 - Jerrold M Olefsky. Pathogenesis of non-insulin-dependent (type II) diabetes 1990 cap. 82 tomo IV pp. 1369-1390. *Encyclopedia endocrinology.* ed.
- 32.- Teh Lancet *Diabetes tipo II o DMNID, En busca de nombre-mejor* 1989, 15(2) pp. 115-116.
- 33.- Kergoat Micheline. Effect of exogenous insulin on glucose kinetics in rats with non-insulin-dependent diabetes. *Metabolism* 1985, 34(4) pp. 337-382.

- 34.- Salmon Fanghanel Guillermo et. al. Diabetes mellitus. Asociación de medicina interna de México, Ed. Clínico Médicas Mexicanas. 1985, No. 5.
- 35.- Schade David S. et. al. Addition of sulfonylurea to insulin treatment controlled type II diabetes, JAMA, 1987, 257(18) pp. 2441-2448.
- 36.- M.S. WU. CY Jeng. et. al. Does glucagón increase plasma free fatty acid and concentration in humans with normal glucose tolerance. Journal of clinical endocrinology and metabolism 1990 70(2) pp. 410-16.
- 37.- Andres Sestier, Diccionario Enciclopédico de las Matemáticas, Tomo II, 1978, De. Del Valle de México, S.A.
- 38.- Richard D. Remington, M. Anthony Schork, Estadística Biométrica y Sanitaria, Ed. Prentice/Hall International, 1974.
- 39.- Dr Sergio Islas Andrade, Dr. Alberto Lifshitz G., Diabetes Mellitus, 1° ed., Ed. Interamericana Mc. Graw Hill, 1993.