



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

“COMPARACIÓN ENTRE DOS SISTEMAS ANALÍTICOS:
INMUNOTURBIDIMETRÍA Y CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE
ALTA EFICIENCIA, PARA LA DETERMINACIÓN DE
HEMOGLOBINA A1c EN EL LABORATORIO CENTRAL DEL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL C.M.N. S.XXI DEL IMSS”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

CRISTIAN IVAN CAZARES ULLOA

ASERORES:

M en C: ANA LAURA VÁZQUEZ MARTÍNEZ

M en C: HÉCTOR IVÁN SALDIVAR CERÓN

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx. Diciembre de 2017.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Comparación entre dos sistemas analíticos: Inmunoturbidimetría y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia, para la determinación de hemoglobina A1c en el Laboratorio Central del Hospital de Especialidades del C.M.N. S.XXI del IMSS.

Que presenta el pasante: Cristian Ivan Cazares Ulloa
Con número de cuenta: 303785989 para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de Febrero de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa	
VOCAL	M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez	
SECRETARIO	Q.F.B. Azucena Lee Mendoza	
1er. SUPLENTE	M. en C. Miriam Aide Castillo Rodríguez	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Luis Antonio Gordillo Reséndiz	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/mmgm*

AGRADECIMIENTOS

Gracias, de corazón a mis asesores de tesis la M en C Ana Laura Vázquez Martínez y al M en C Héctor Iván Saldivar Cerón por su tiempo y paciencia.

Gracias a todas las personas que me apoyaron en el Hospital de especialidades del Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y a mis Sinodales por su asesoría.

Gracias a mi universidad y a cada uno de dé los maestros que hicieron parte de mi proceso de formación.

Gracias a mis padres por su trabajo y sacrificios, y cada día demostrarme su cariño y apoyo en todo lo que realizo, gracias por cada una de sus palabras que me guiaron a lo largo de lo que hasta el momento llevo de vida, gracias madre por creer en mí y no dejarme desistir.

A mi abuela † Martha Ortiz Gutiérrez, siempre te recuerdo y te llevaré en el corazón hasta el último día.

Gracias a mis amigos a los que he robado horas de compañía, a las personas que me han tendido la mano, nombrar a cada uno sería muy extenso, y no me permitiría algún olvido injusto, por ello, gracias, amigos por estar ahí.

A mi familia y a todos aquellos que de una u otra forma están en mi corazón y forman parte de mi vida.

Gracias a Dios por ser quien soy y darme la oportunidad de estar y disfrutar cada momento al lado de las personas que amo.

ÍNDICE

CONTENIDO

Página

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	2
3. MARCO TEÓRICO	2
3.1 Diabetes Mellitus (DM)	
3.2 Antecedentes históricos de la diabetes mellitus (DM).....	2
3.2.1 La glucosa, los carbohidratos y las proteínas en la alimentación	4
3.3 Clasificación de la DM	5
3.4 Diabetes mellitus tipo 1	6
3.4.1 Subgrupos de DM1	7
3.4.1.1 DM1 autoinmune	7
3.4.1.2 DM tipo LADA.....	7
3.4.1.3 DM idiopática	8
3.4.2 Marcadores Inmunológicos de la DM1	8
3.5 DM2.....	9
3.5.1 Factores de riesgo y estilo de vida	9
3.5.2 Factores hereditarios en la DM2	9
3.5.3 Evolución natural de la DM2.....	10
3.6 Insulina.....	11
3.6.1 Estructura química	11
3.6.2 Biosíntesis de la insulina.....	11
3.6.3 Secreción de insulina	12
3.6.4 Activación del receptor de insulina	13
3.6.5 Función de la Insulina.....	14
3.6.5.1 Acciones sobre el metabolismo de los hidratos de carbono	14
3.6.5.2 Acciones en el metabolismo de los lípidos	14
3.6.5.3 Acciones en el metabolismo de las proteínas	15
3.6.6 Terminación de la acción	15
3.7 Resistencia Insulínica (RI).....	15
3.7.1 Papel del adipocito en la RI	16
3.7.2 ¿Cómo se diagnostica la resistencia a la insulina?	17
3.8 Niveles elevados de glucosa y las complicaciones vasculares en la DM	17
3.8.1 Hiperglucemia.....	17
3.8.2 Complicaciones vasculares en la DM.....	18

3.8.2.1	Neuropatía diabética (NAD)	18
3.8.2.2	Retinopatía	18
3.8.2.3	Nefropatía	19
3.8.2.4	Cardiopatía Isquémica	19
3.8.2.5	Accidente Cerebro Vascular	19
3.9	Epidemiología de la DM2	19
3.10	Cuadro clínico de la DM2	22
3.11	Prevención	23
3.12	Pruebas de detección para DM2	23
3.12.1	La HbA1c en el monitoreo de la diabetes	23
3.12.1.1	Valores de hemoglobina glicada y glucemia en sangre	24
3.12.1.2	Hemoglobina (Hb)	25
3.12.1.3	Tipos de hemoglobina	26
3.12.1.4	Glicación	27
3.13	Proceso de glicación	27
3.13.1	Etapa 1	27
3.13.2	Etapa 2	28
3.13.3	Etapa 3	29
3.13.4	Etapa 4	29
3.14	Ventajas y desventajas de medir HbA1c con respecto a la glucosa en sangre	30
3.15	Métodos actuales en la determinación de hemoglobina glicada	31
3.15.1	HPLC	31
3.15.2	Inmunoturbidimetría	32
3.15.3	Determinación enzimática	32
4.	OBJETIVOS	33
4.1	Objetivo general	33
4.1.1	Objetivos particulares	33
5.	HIPÓTESIS EXPERIMENTAL	33
6.	MATERIAL Y MÉTODOS	33
6.1	Diseño del estudio	33
6.1.1	Población y criterios de selección	34
6.1.2	Criterios de inclusión:	34
6.1.3	Criterios de exclusión:	34
6.1.4	Criterios de eliminación	34
6.1.5	Obtención de la muestra	34
6.1.6	Pruebas diagnósticas evaluadas	35
6.1.6.1	Medición de HbA1c por Inmunoturbidimetría:	35
6.1.6.2	Medición de HbA1c por HPLC	35

6.1.6.3	Procedimientos estadísticos empleados	36
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
7.1	Tamaño de muestra.....	37
7.2.	Distribución de la normalidad de los datos.....	37
7.2.2	Histogramas de distribución	38
7.2.3	Prueba de Kolmogórov-Smirnov	39
7.3	Análisis comparativo entre los dos métodos.....	40
7.4	Relaciones entre ambos métodos	40
7.5	Determinación del rendimiento diagnóstico	41
7.6	Pruebas de validez y seguridad	43
7.6.1	Sensibilidad, Especificidad y Valores Predictivos (VP).....	43
8.	CONCLUSIONES	46
9.	ANEXOS	46
9.1	Tabla de resultados generales de las muestras obtenidas por ambos métodos	47
9.2	Hoja de consentimiento para el estudio	50
9.3	Cromatogramas resultantes de algunas determinaciones de HbA1c por el equipo Variant II turbo	51
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

i. Índice de figuras

No. de	Figura	Título	Página
1		Evolución natural de la DM2.....	10
2		Estructura primaria de la insulina humana	11
3		Síntesis y secreción de insulina por las células β pancreáticas.....	12
4		Receptor de Insulina	13
5		Adultos que murieron por diabetes, VIH/SIDA, tuberculosis, y malaria a nivel mundial	20
6		Número estimado de personas con diabetes en el mundo y por región en 2015 y 2040 (20 – 79 años)	20
7		Prevalencia de la diabetes a nivel mundial	21
8		Distribución por genero de casos notificados a la plataforma SVEDT2 México, Cierre 2015	21
9		Diabetes por género a nivel mundial	22
10		Etapa 1 de Glicación	28
11		Etapa 2 de Glicación	28
12		Etapa 3 de Glicación	29
13		Etapa 4 de Glicación	29
14		Esquematización de la cromatografía líquida de alta eficiencia	31
15		Determinación por inmunoturbidimetría de la HbA1	32
16		Determinación enzimática de la HbA1c	32
17		Histograma de distribución del método inmunoturbidimétrico obtenido por medio del programa SPSS	38
18		Histograma de distribución del método HPLC obtenido por medio del programa SPSS	39
19		Gráfico de dispersión de datos realizado en SPSS	40
20		Curva ROC y área bajo la curva del método turbidimétrico	42

ii. Índice de tablas

No. de Tabla	Título	Página
1	Factores Causales de la DM2.....	10
2	Valores de hemoglobina glicada y glucemia en sangre	24
3	Cifras de hemoglobina glicada para diagnóstico de DM	25
4	Ventajas y desventajas de HbA1c con respecto a la glucosa en sangre	30
5	Resultados de cálculos estadísticos en tabla de frecuencias realizado en el programa (SPSS)	38
6	Resultado de la prueba de Kolmogórov-Smirnov realizado en el programa (SPSS)	39
7	Resultado de valor de P de la prueba de Wilcoxon realizada en el programa (SPSS)	40
8	Rho de Spearman realizada en el programa (SPSS)	41
9	Tabla de cruzada 2 x 2 para obtención de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN	43
10	Sensibilidad y Especificidad calculada en programa (SPSS)	43
11	Resumen de los resultados descriptivos de cada uno de los equipos tiempo de puesta en marcha, tiempo de apagado y determinaciones por hora de los analizadores	44

iii. Lista de abreviaturas

DNA	Ácido Desoxirribonucleico
AGL	Ácidos Grasos Libres
RNA	Ácido Ribonucleico
RNA _m	Ácido Ribonucleico mensajero
AMP _c	Adenosín Monofosfato Cíclico
ATP	Adenosine Triphosphate (Trifosfato de Adenosina)
ADA	American Diabetes Association (Sociedad Americana de Diabetes)
ADH	Antidiuretic Hormone (Hormona Antidiurética)
ALAD	Asociación Latinoamericana de Diabetes
BDC	Bayer Diabetes Care (Bayer cuidado de Diabetes)
CMN	Centro Médico Nacional
C/EBP- α	Enhancer Binding Protein Alpha (Potenciador de Unión a Proteína Alfa)
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial (Ensayo sobre el Control y Complicaciones de la Diabetes)
DM	Diabetes Mellitus
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
EDTA	Etilendiaminotetracetic Acid (Ácido Etilendiaminotetracético)
FID	Federación Internacional de Diabetes
GNE	Glicosilación no enzimática
GLUT-2	Glucose Transporter - 2 (Proteína Transportadora de Glucosa - 2)
GLUT-4	Glucose Transporter - 4 (Proteína Transportadora de Glucosa - 4)
GIT	Glutación-Insulina Transhidrogenasa
GAD	Glutamic Acid Descarboxylase Autoantibodies (Glutámico Acético Descarboxilasa)
GH	Growth hormone (Hormona de Crecimiento)
HbA1c	Hemoglobina A1c o glicada

HbF	Hemoglobina Fetal
Hb1	Hemoglobina Glicada Total
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de Alta Resolución)
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad
HPP	Hiperglucemia Postprandial
HLA	Human Leukocyte Antigen (Antígeno Leucocitario Humano)
ICA	Islet Cell antibodies (Anticuerpos Anti Islotes Pancreáticos)
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IAA	Insulin Autoantibodies (Anticuerpos anti-insulina)
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry (Federación Internacional de Química Clínica)
ITG	Intolerancia a la Glucosa
IA2	Islet Antigen-2 (Anti – tirosina fosfatasa)
ICA	Islet Cell Antibodies (Anticuerpos de células de Islotes)
IDE	Insulin - Degrading Enzyme (Enzimas Degradadoras de Insulina)
IMC	Índice de Masa Corporal
IRS	Insulin Receptor Substrate (Substrato Receptor de Insulina)
IRS-1	Insulin Receptor Substrate (Substrato Receptor de Insulina-1)
IRS-2	Insulin Receptor Substrate (Substrato Receptor de Insulina-2)
kDa	Kilo Dalton
LADA	Latent Autoimmune Diabetes of Adults (Diabetes Autoinmune Latente En Adulto)
NAD	Neuropatía diabética
NGSP	Nacional Glycohemoglobin Standardization Program (Programa de Estandarización Nacional de Glicohemoglobina)
OMS	Organización Mundial de la Salud
PPAR- γ	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Receptor de Peroxisoma Activado – gamma)
RD	Retinopatía diabética

RDNP	Retinopatía diabética no proliferativa
RDP	Retinopatía diabética proliferativa
ROC	Receiver Operating Characteristic (Característica Operativa del Receptor)
RI	Resistencia Insulínica
RER	Retículo Endoplasmático Rugoso
SM	Síndrome Metabólico
TAG	Tolerancia Anormal de la Glucosa
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study (Estudio Prospectivo de diabetes en Reino Unido)
VPN	Valor Predictivo Negativo
VPP	Valor Predictivo Positivo

RESUMEN

La hemoglobina A1c (HbA1c) es ampliamente utilizada en la determinación del estado glucémico de pacientes con diabetes mellitus (DM2). El objetivo de este estudio fue comparar 2 sistemas analíticos con fundamentos diferentes de medición: cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) e inmunoturbidimetría, evaluar la correlación entre ambos métodos, así como también su practicabilidad y concluir si existe o no diferencia significativa entre los dos métodos, para ello se analizaron 216 muestras mediante los 2 sistemas analíticos: El estándar de oro para HbA1c es el HPLC, para lo cual se empleó el analizador Bio-Rad modelo (Variant II Turbo), con el kit 2.0, y para el segundo sistema analítico fundamentado en la inmunoturbidimetría, se empleó el analizador Roche-Diagnostics modelo (Cobas 6000) y el kit (Tina-quant HbA1c III) con el que actualmente se trabaja en el Hospital de especialidades del Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Ambos métodos fueron calibrados según el procedimiento de referencia de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC). Se valoró si existe diferencia significativa entre los dos métodos por medio de la prueba estadística de Wilcoxon, así como la correlación entre ambos métodos mediante el análisis Rho de Spearman, y la comparación de Valor Predictivo Negativo (VPN), Valor Predictivo Positivo (VPP), sensibilidad, especificidad, así como el análisis del área bajo la Curva ROC para la prueba diagnóstica puesta a prueba. También se registraron tiempo de puesta en marcha, y el rendimiento de los 2 instrumentos. Concluyendo después de analizar y comparar todos los datos, sí, los resultados obtenidos en el laboratorio central del hospital de especialidades del CMN Siglo XXI del IMSS por el método de inmunoturbidimetría, a las condiciones de trabajo actuales, son confiables, tanto para control diabético como para el diagnóstico de la enfermedad ya sea en pacientes sintomáticos o asintomáticos, y las ventajas o desventajas de utilizar el método inmunoturbidimétrico en comparación con el estándar de oro HPLC para la determinación HbA1.

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día la humanidad enfrenta un grave problema de salud pública, ya que la diabetes se ha convertido en una epidemia que avanza de forma incontenible, y que va afectando cada vez, a personas más jóvenes sin deferencia de género. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es responsable de cerca del 95% de todos los casos de diabetes y de casi el 100% de los casos aun no diagnosticados (Dyck et al., 2010, p. 249).

Han pasado años antes de demostrar la utilidad de la hemoglobina glicada como un verdadero marcador de control glucémico, los primeros en identificarla fueron Huisman y Meyeing en 1958 usando un método cromatográfico (Vargas, Gómez y Conde, 2014). En 1968 Samuel Rahbar, describió un incremento inusual al que llamó “componente diabético” ya que estaba presente en las personas con diabetes (Pérez et al., 2009) y fue caracterizada como una glucoproteína por Bookchin y Gallop el mismo año. Más tarde en 1976 Anthony Cerami y Ronald Koenig propusieron el uso de la hemoglobina A1c para el monitoreo del control del metabolismo de la glucosa en pacientes diabéticos (Poretsky, 2010).

La HbA1c está disponible comercialmente como prueba de laboratorio para uso clínico desde finales de la década de los 70's. Las primeras pruebas fueron un caos debido a que no había calibradores y a que los pocos métodos disponibles para uso clínico no estaban estandarizados y además los resultados de un laboratorio no eran comparables con los de los otros laboratorios, tampoco de un método con los de otro método (Campuzano y Latorre, 2010). Actualmente con la estandarización alcanzada, se ha establecido en el Laboratorio Central de Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) y por el Programa Nacional de Estandarización de Hemoglobina Glicada (NGSP) como patrón de referencia el sistema BioRex 70 HPLC (Garry et al., 2007). Recientemente la American Diabetes Association, (ADA, 2017), ha incorporado a la HbA1C como primer criterio de diagnóstico de diabetes en individuos asintomáticos o con alguna sospecha clínica de la enfermedad, esto basado en el conocimiento que valores elevados de HbA1c aumentan la probabilidad de las complicaciones microvasculares de la diabetes (Álvarez et al., 2009).

2. JUSTIFICACIÓN

La imprecisión, como componente clave del análisis de HbA1c, ha ido cobrando importancia en la comunidad médica y científica mundial ya que podría enmascarar un diagnóstico de diabetes o un cambio clínicamente significativo en el control de la misma. Es por ello que es de gran importancia, el saber la magnitud del error en el método, mediante especificaciones de calidad y posterior comparación con su método de referencia, para saber si dicha imprecisión afecta o no a la interpretación de los resultados. Para determinar dicha imprecisión en el estudio, se realizó un análisis entre los resultados de HbA1c obtenidos por el método de inmunturbidimetría en el analizador Roche-Diagnostics modelo (Cobas 6000) y el High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Bio-Rad modelo (Variant II turbo) método de referencia actual o estándar de oro para HbA1c, a partir de un estudio de 216 muestras de sangre obtenidas por punción venosa y tratadas con anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y procesadas siguiendo las instrucciones de cada uno de los métodos. Evaluando así la correlación entre ambos métodos y su facilidad práctica, permitiéndonos concluir, si el resultado es confiable y útil para control de la enfermedad tanto como herramienta diagnóstica de la misma.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Diabetes Mellitus (DM)

Según la American Diabetes Association (ADA, 2017) “El término diabetes mellitus abarca un conjunto de patologías metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, consecuencia de defectos en la secreción de insulina, en su acción o en ambos”.

3.2 Antecedentes históricos de la diabetes mellitus (DM)

La DM es una enfermedad que se presenta desde hace siglos. En el papiro de Ebers (1550 años a.C), este menciona síntomas parecidos a los de la diabetes mellitus. En la India (1550-1000 a.C), en el libro de Ayur Veda Suruta (veda significa ciencia), se habla de una rara enfermedad, presentada en personas de clase alta, obesas, que comían muchos azúcares, también se menciona que la orina de estas personas tenía un olor dulce, a lo que llamaron *madhumeha* (orina de miel). Hacen referencia, que esta enfermedad afectaba a varios

miembros consanguíneos, incluso hicieron diferencia entre 2 tipos: una presentada en jóvenes y regularmente morían a corta edad y la segunda afectaba a los adultos.

No hay un origen establecido del término diabetes, pero proviene del griego que significa “*pasada a través de*”. Se piensa que el nombre fue acuñado por Apolonio de Menfis, mientras que otros reconocen como autor al médico turco Areteo de Capadocia (81-138 d.C), ya que este último describió la fatal evolución y desenlace de la enfermedad, mencionando lo siguiente: “A estos enfermos se les deshace el cuerpo poco a poco y como los productos de desecho tienen que eliminarse disueltos en agua, necesitan orinar mucho. Como la grasa se funde poco a poco hay pérdida de peso y como los músculos van deshaciéndose, el enfermo se queda poco a poco sin fuerza” (Casanueva et al., 2008, p. 474).

Durante el imperio Romano (120-200 d. C) Celso describió que la DM no era resultado de un mal funcionamiento del riñón, sino que se debía a un “mal de la sangre”, por otra parte, Galeno afirmó que esta enfermedad si se debía a una falla renal, ya que el riñón era incapaz de retener la orina (Casanueva et al., 2008, p. 474).

En la Edad Media, Avicena, comprobó que al evaporar la orina de un diabético dejaba residuos con sabor a miel e hizo una descripción de las complicaciones de lo que ahora se conoce como diabetes (Casanueva et al., 2008, p. 474).

En 1679, Thomas Willis probó la orina de un paciente diabético comprobando el sabor dulce de este líquido; encontrando también enfermos cuya orina no tenía ningún sabor; diferenciándolos en dos términos: diabetes mellitus (con sabor a miel) y diabetes insípida. Hoy en día se sabe que son dos entidades distintas. La diabetes insípida es caracterizada por un defecto en la hormona antidiurética (HAD); y la DM que no es una entidad patológica aislada, sino un conjunto de trastornos metabólicos con hiperglucemia como característica en común, esta hiperglucemia en la diabetes es la consecuencia de los defectos en la secreción de insulina, en la acción de la misma o frecuentemente de ambos (Casanueva et al., 2008, p. 474).

3.2.1 La glucosa, los carbohidratos y las proteínas en la alimentación

Se puede explicar la historia de la especie humana a través de la alimentación. La naturaleza ha ido ofreciendo a los seres humanos alimentos que han sido seleccionados por distintos factores como lo son la disponibilidad, las preferencias y accesibilidad a ellos, los descubrimientos alcanzados en la historia, las costumbres, tradiciones, creencias, el saber culinario y gastronómico, etcétera. El comportamiento alimentario ha cambiado considerablemente desde el hombre prehistórico hasta el hombre actual (De la Torre, 2004, pp. 31-32).

Por millones de años, la recolección de frutos, hojas y granos proporcionado al hombre prehistórico las calorías esenciales. Durante el periodo Paleolítico menor hasta el medio (200.000 - 40.000 a.C) la caza de animales (osos, rinocerontes, elefantes) fueron mayoritariamente su la alimentación. En el periodo paleolítico superior (40.000 - 10.000 a.C) se desarrolló una caza especializada de rebaños de caballos, bisontes y mamuts (De la Torre, 2004, pp. 31-32).

Después del recalentamiento del clima europeo, en periodo Mesolítico el hombre debió dedicarse a animales más pequeños característicos de la fauna actual (ciervos, jabalíes, liebres, pájaros incluso, caracoles) y se dio inicio a la pesca y a la recolección. Finalmente, con la revolución neolítica y las primeras civilizaciones la caza se redujo y se dio inicio al pastoreo de animales que hoy conocemos (ovinos, bovinos, caprinos, porcinos) (De la Torre, 2004, pp. 31-32).

Determinadas características biológicas han tenido un papel importante a lo largo de la evolución de la especie humana, contribuyendo a supervivencia. Las atracciones sentidas por las proteínas cárnicas responden a determinantes biológicos, como lo son procesos digestivos propios de nuestra especie que nos predisponen a aprender a preferir alimentos de origen animal ya que son excepcionalmente nutritivos y contienen una mayor fuente de proteínas que la mayoría de los alimentos de origen vegetal. Por otra parte, todos los mamíferos incluyendo los seres humanos poseemos un fuerte rasgo innato hacia el gusto por lo dulce o sabor azucarado. Es también de afirmarse que el gusto por los alimentos azucarados se

refuerza en cada generación gracias al dulzor de la leche materna y esto se puede observar por la preferencia que manifiestan niños de corta edad hacia un biberón de agua azucarada frente a otro de agua común. En el siglo XIX, con el inicio de las técnicas de extracción del azúcar de remolacha, esta se convirtió en un producto base e indispensable. En el este siglo los usos del azúcar aumentaron y se diversificaron de modo paralelo al propio aumento de su producción. El azúcar entró en un gran número de preparaciones salubres, generadas por las necesidades de los enfermos, los niños, y los ancianos. Su papel en la cocina fue el de un condimento universal, fue utilizado como corrector de la acidez y de la amargura, se utilizó descontroladamente en el café, el té, el chocolate y todas las bebidas calientes o refrescantes. Sus propiedades antisépticas fueron utilizadas para elaborar conservas y mermeladas. Sin duda, se convirtió en un ingrediente casi indispensable en donde el gusto, sinónimo de dulzor, se combinaba con el placer (De la Torre, 2004, pp. 31-32).

Después de 1900, el consumo de azúcar creció tanto, que hubo una ruptura de la congruencia entre la apetencia del azúcar y las capacidades metabólicas, contribuyendo así a una de las patologías llamadas de "civilización" ligadas a la nutrición: el exceso de azúcar que representa un alto aporte calórico y de rápida absorción acompañado del escaso gasto energético del ciudadano sedentario, conducen a la obesidad, y con esto a la aparición de nuevos problemas en el ámbito de salud, formando parte de la etiología de enfermedades como lo son problemas cardiovasculares, hipertensión o diabetes (De la Torre, 2004, pp. 31-32).

3.3 Clasificación de la DM

Aunque todos los tipos de DM producen hiperglucemia como manifestación en común, los procesos patogénicos que en ella implican, varían ampliamente. La clasificación de la DM en un inicio era basada en la edad al inicio de la enfermedad, o en el modo de tratamiento. Actualmente la clasificación refleja el conocimiento en la patogénesis de cada variante. La mayoría de los casos de DM encuadra en una de las dos clases generales: La DM1 y la DM2. (Sanz y Bascones, 2009, p. 250).

Según la ADA (2017), existen cuatro tipos de diabetes:

- 1) DM1: Debida a la de la destrucción autoinmune de las células β del páncreas; cursando una deficiencia absoluta de insulina.
- 2) DM2: Consecuencia de un defecto progresivo en la secreción de insulina tras un proceso de resistencia a la insulina.
- 3) DM gestacional (DMG): se diagnostica durante el embarazo sin antecedentes previos de DM
- 4) Otros tipos de diabetes: pueden deberse a defectos genéticos en las células β , defectos genéticos en la acción de la insulina, enfermedad exocrina del páncreas (tales como fibrosis quística), por fármacos (como en el tratamiento de VIH) o después de un trasplante de órganos.

3.4 Diabetes mellitus tipo 1

La patogénesis de la DM1 se centra en la incapacidad del páncreas para secretar insulina, ya que las células β de los islotes de Langerhans son destruidas mediante procesos autoinmunes, por lo que los pacientes con este tipo de DM dependen de la administración exógena de insulina para su supervivencia de no hacerlo producirían gran cantidad de cuerpos cetónicos “primera manifestación de esta enfermedad” como consecuencia de una excesiva lipólisis para la producción de ácidos grasos y consecuentemente de cetonas ante la imposibilidad de utilizar a la glucosa como fuente energía. Al menos una cuarta parte del total de personas con DM corresponde a este tipo (Pérez y Ruiz, 2008, p. 303).

3.4.1 Subgrupos de DM1

3.4.1.1 DM1 autoinmune

La ADA define que en estos sujetos existe una deficiencia absoluta en la secreción de insulina debido a un proceso autoinmune mediado celularmente que conlleva a la destrucción de las células β del páncreas (ADA, 2017).

Las primeras manifestaciones clínicas ocurren alrededor de la pubertad, cuando se ha perdido en gran medida la funcionalidad de las células β y la insulino terapia es necesaria para que el paciente sobreviva. Existe un pequeño grupo denominado DM latente en el adulto (LADA) que es una forma que se presenta en progresión lenta y que inicialmente puede no requerir insulina y tiende a manifestarse en etapas tempranas de la vida adulta. (Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD, 2008). El proceso posee una gran predisposición genética y está relacionado con factores ambientales aún poco conocidos. Si bien los pacientes no suelen ser obesos, pero la obesidad no es incompatible con el diagnóstico de este tipo de DM. El pico de incidencia encuentra, en la pubertad, en torno a los 10 – 12 años en niñas y un poco más en niños. (Sanz y Bascones, 2009, p. 249).

3.4.1.2 DM tipo LADA

Esta variante presenta autoanticuerpos circulantes dirigidos frente a células β beta pancreáticas, de una forma muy similar a la DM tipo 1 autoinmune, con la diferencia de presentar un título inferior y que es detectada en edades superiores a los 30 años ya que sigue un curso lento y progresivo. Los pacientes inicialmente eran tratados como pacientes con DM tipo 2 y comenzaron a ser identificados tras la introducción de un método para la detección de anticuerpos frente al enzima glutámico acético descarboxilasa (GAD) una proteína de 65 kDa presente en el islote pancreático, en el sistema nervioso central y en los testículos. En un estudio realizado por el United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS), resultó que cerca del 10% de los pacientes con DM tipo 2 incluidos tenían anticuerpos circulantes ICA (Islet Cell Antibodies) o anti – GAD. La mayoría de estos pacientes necesitaron insulina durante los 6 años siguientes (Costa y Ricart, 2009, p.55).

Según Costa y Ricart, (2009, p.55), aunque existe controversia sobre si la denominación LADA es la más apropiada, el diagnóstico se realiza en base a tres criterios:

- 1- Diagnóstico en la edad adulta más de 30 años generalmente.
- 2- Presencia de anticuerpos circulantes como anti-GAD que suele ser el más frecuente, anticuerpos anti-insulina (IAA), y/ o anticuerpos anti – tiroxina fosfatasa (IA2).
- 3- Sin necesidad de insulina al menos durante los primeros 6 meses después del diagnóstico.

3.4.1.3 DM idiopática

Dentro de esta categoría se encuentra una pequeña fracción de los pacientes con DM1, los cuales presentan episodios de cetoacidosis con grados variables de déficit de insulina. Suele ser hereditario, la mayoría de los pacientes con DM idiopática son de origen africano o asiático. Carece de evidencia de autoinmunidad y no está asociada al sistema Antígeno Leucocitario Humano (HLA) (Sánchez y Bascones, 2009, p. 249).

3.4.2 Marcadores Inmunológicos de la DM1

Los principales auto anticuerpos circulantes identificados en la DM1 son los que se dirigen contra componentes citoplasmáticos de las células β llamados anticuerpos anti islote (ICA), los más utilizados en la clínica son los anticuerpos dirigidos frente a la insulina (IAA), contra la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y contra la tirosina fosfatasa 2 (IA2). Cuando se presentan los tres tipos prácticamente aseguraría el desarrollo de la enfermedad, por otro lado, el valor predictivo no supera el 60 % cuando tan solo se presenta uno de ellos. (Calderon, 2007, p.7).

3.5 DM2

En la etiología y progresión de la DM2, se encuentran implicados tanto factores genéticos como ambientales. Dentro de los factores ambientales se encuentra la obesidad y el sedentarismo que son un detonante para el inicio de la intolerancia hidrocarbonada y su posterior deterioro. La resistencia insulínica (RI) es un factor determinante en la aparición de la DM2. En sus primeras fases la hormona es compensada por un aumento en la secreción por parte de las células β de los islotes de Langerhans, más tarde existe un fallo en la secreción de estas últimas que conduce inequívocamente al desarrollo de hiperglucemia con las consiguientes consecuencias metabólicas y complicaciones micro y macrovasculares. Tanto la resistencia, así como el fallo secretor, evolucionan en forma creciente desde las fases iniciales del trastorno como son los estadios de prediabetes hasta la expresión completa de la DM2 (Rodríguez y Escalada 2009, p. 141).

3.5.1 Factores de riesgo y estilo de vida

Dentro de los marcadores de riesgo en la DM2 se encuentran la edad avanzada, la historia familiar de diabetes, la raza, el nivel socioeconómico y estilo de vida actual (refiriéndose principalmente a la obesidad la cual se encuentra presente en más del 85 % de los enfermos con DM2, la dieta, el tabaquismo la inactividad física y el consumo de alcohol). Siendo estos precisamente los que entroncan, habitualmente, con el diagnóstico de síndrome metabólico y por tanto con la resistencia a la insulina como el elemento fundamental en su patogenia (Goday y Flores, 2009, p. 14).

3.5.2 Factores hereditarios en la DM2

La susceptibilidad genética está implicada en la patogenia de la DM2, ya que en la mayoría de los casos existen antecedentes familiares, se estima que hasta un 20-25 % de parientes de primer grado de personas con DM2 desarrollan la enfermedad. Si uno de los padres padece DM2, el riesgo para desarrollarla en los hijos es de un 38 % y cuando ambos padres la padecen, la prevalencia en la descendencia aumenta hasta en un 60 %. Se han estudiado muchos genes y polimorfismos en ellos, la presencia de estas mutaciones podría

estar influenciada por factores ambientales y constituiría el factor predisponente para el desarrollo de DM2 (Costa y Ricart, 2009, p. 52).

Tabla 1. Factores Causales de la DM2 (Pallardo et al. 2010).

<p>FACTORES GENÉTICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Existencia de mayor componente hereditario que en la DM1 • Herencia poligénica multifactorial
<p>FACTORES AMBIENTALES</p> <ul style="list-style-type: none"> • Obesidad (visceral) • Dieta (rica en grasas, pobre en fibra) • Sedentarismo • Edad

3.5.3 Evolución natural de la diabetes DM2

Como puede apreciarse en la figura 1, la disminución de los islotes de las células β pancreáticas precede al desarrollo de la diabetes clínicamente manifiesta. Cuando la masa de células β disminuye por debajo del 50 % comienza a alterarse la glucemia basal. No se conocen las causas de la reducción de la masa de células β , pero se ha señalado la presencia de un estado acelerado de apoptosis, el cual, podría estar determinado genéticamente. En análisis de autopsia se ha observado que la apoptosis es más intensa en pacientes diabéticos que en grupos control (Calderón, 2007, p. 7).

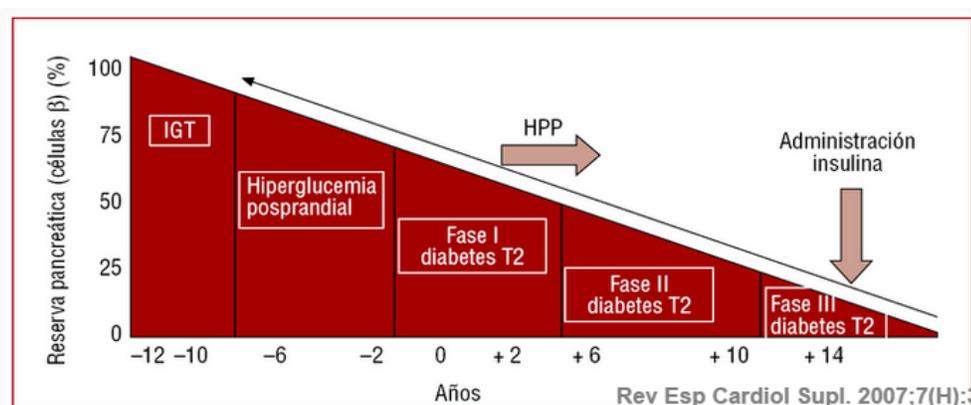


Figura 1. Evolución natural de la diabetes DM2 (Calderón, 2007, p. 8).

3.6 Insulina

La insulina es una hormona sintetizada y secretada por las células β de los islotes pancreáticos, y está implicada en la regulación del metabolismo, actuando sobre los niveles y utilización de la glucosa plasmática (Remington 2003, p. 631).

3.6.1 Estructura química

La insulina humana tiene un peso molecular de 5.8 kDa. Está compuesta de dos cadenas polipeptídicas unidas por dos puentes disulfuro. La cadena A, está constituida por 21 residuos de aminoácidos y es la cadena más corta, la cadena B está compuesta por 30 residuos de aminoácidos y es la cadena más larga (cadena B) (Remington 2003, p. 631).

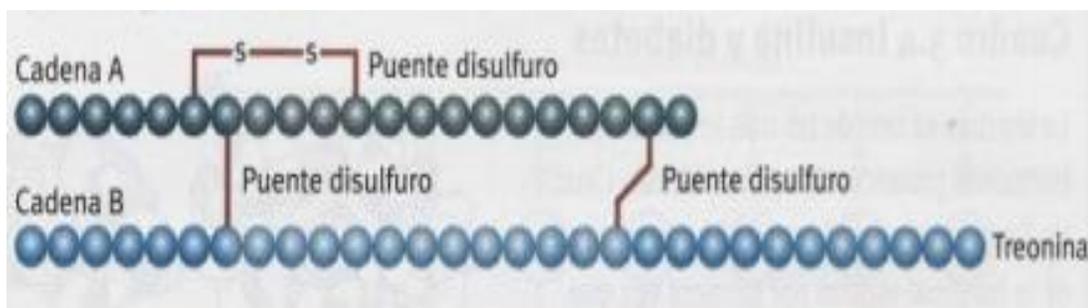


Figura 2. Estructura primaria de la insulina humana. (Reinhard, 2008, p. 73).

3.6.2 Biosíntesis de la insulina

La producción de la insulina es estimulada principalmente por la glucosa en sangre, la cual regula su expresión genética (el gen se encuentra en el brazo corto del cromosoma 11). La glucosa en la sangre actúa vía factores de transcripción que le dan estabilidad al RNAm (Ácido Ribonucleico mensajero), que posee una secuencia de señal y que se traduce en una molécula de preproinsulina por los ribosomas dentro del retículo endoplásmico rugoso (RER). La proinsulina se transporta al aparato de Golgi en donde se empaqueta en gránulos de secreción inmaduros. En presencia de zinc, la estructura madura forma una estructura cristalina densa rodeada por péptidos C (Welsh, 2010, p. 443).

Con dependencia de energía y calcio, el gránulo de secreción se fusiona con la membrana celular, se disuelven ambas en el punto de contacto y se produce la exocitosis del contenido del gránulo, de modo que la insulina se libera y pasa a la sangre (Welsh, 2010, p. 443).

La glucosa entra a la célula β a través de la proteína GLUT-2 (Transportadora de Glucosa – 2) independiente de la insulina y desencadena la liberación inmediata de la insulina. La glucosa también activa la expresión del gen *INS*, que es el gen de insulina. Esto quiere decir que la glucosa desencadena tanto la liberación como la síntesis de la insulina (Welsh, 2010, p. 443).

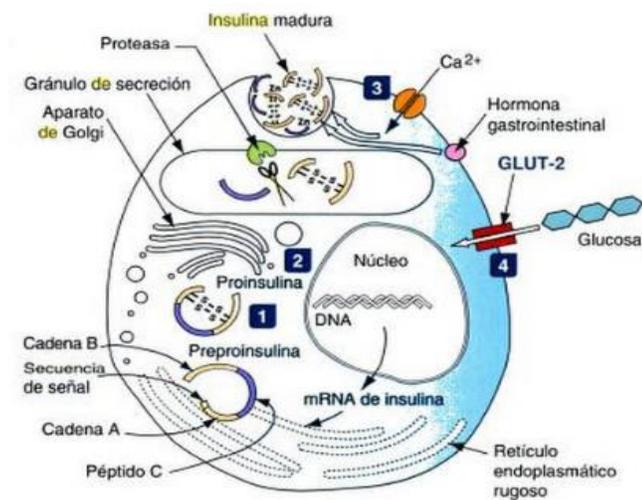


Figura 3. Síntesis y secreción de insulina por las células β (Welsh, 2010, p. 447).

3.6.3 Secreción de insulina

La secreción de insulina se lleva a cabo mediante transporte activo, mediado por el aparato microtubular y activado por el aumento de la concentración intracitosólica de Ca^{2+} , de los gránulos de secreción maduros e inmaduros (estos últimos en menor proporción), que mediante un proceso de exocitosis, liberarán su contenido, de esta manera, la célula β libera hacia la sangre: insulina y proinsulina que es secretada en cantidades bajas (en condiciones basales, un 7-15 % de la insulina detectada en plasma es proinsulina). La actividad biológica de la proinsulina es unas veinte veces menor que la insulina, y péptido C que carece de actividad biológica y es secretado en cantidades equimoleculares (Best & Taylor, 2010, pp. 761-762).

3.6.4 Activación del receptor de insulina

El receptor de insulina es un receptor extracelular con actividad de cinasa. Es una proteína de peso molecular = 340 kDa, integrada por cuatro unidades, unidas entre sí por puentes disulfuro, las dos subunidades α , se encuentran en el lado externo de la membrana y contienen el sitio de unión a la insulina, las dos subunidades β , atraviesan la membrana y realizan función de tirosín-cinasa. La unión de la insulina a la porción N-terminal de la subunidad α determina un cambio conformacional en la subunidad β , lo que induce una autofosforilación en residuos de tirosina. Tras esta autofosforilación el receptor fosforila un número de sustratos intracelulares con residuos específicos de tirosina. Esta familia de sustratos la componen los sustratos receptores de insulina (IRS), fundamentalmente sustrato receptor de insulina-1 (IRS-1) y sustrato receptor de insulina-2 (IRS-2) y de este modo, se inicia la señalización intracelular, conduciendo a diferentes cascadas de señalización. (García, 2012).

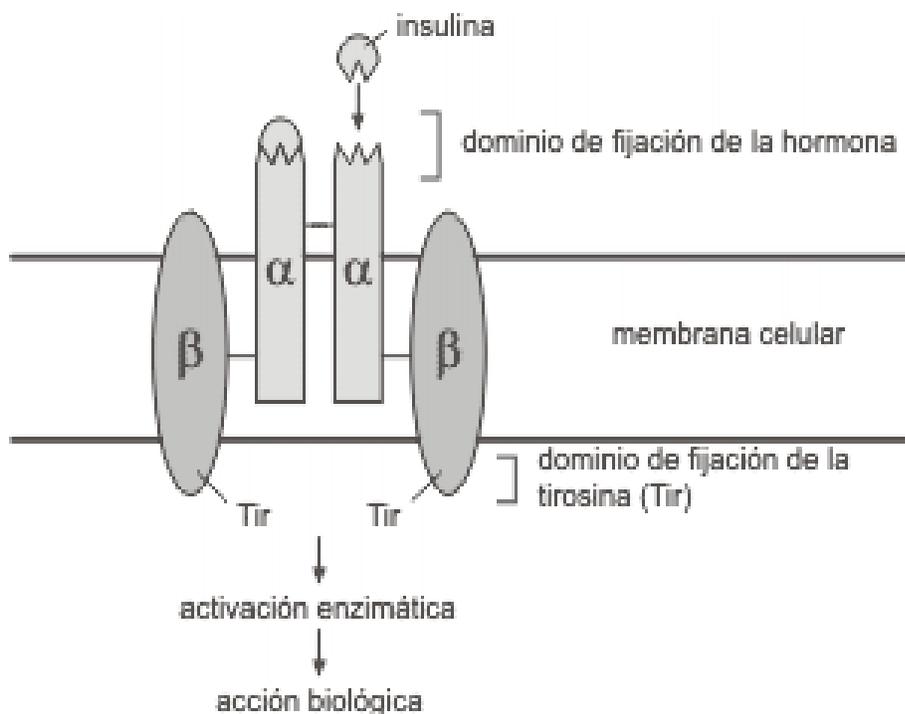


Figura 4. Receptor de Insulina. (García, 2012)

3.6.5 Función de la Insulina

La insulina desempeña un papel fundamental en el control del metabolismo intermediario. Es una hormona anabólica que favorece la captación, utilización y almacenamiento de glucosa, aminoácidos y lípidos después de la ingesta, al tiempo que ejerce una acción inhibitoria sobre procesos catabólicos, como la degradación de glucógeno, grasas y proteínas. Muchas de estas acciones dependen de los efectos de la hormona sobre la transcripción de genes, una vez que la insulina interactúa con los IRS. Las diversas proteínas IRS parecen desempeñar funciones celulares diferentes. El IRS-2 cumple un papel fisiológico fundamental en el hígado, el músculo y tejido adiposo. Su ausencia origina una síntesis reducida de glucógeno hepático y un débil efecto supresor sobre la gluconeogénesis y la lipólisis, que conducen a una DM2 (García, Iglesias & Moratinos, 2008).

3.6.5.1 Acciones sobre el metabolismo de los hidratos de carbono

Reduce los niveles de glucosa circulante. Efecto resultante por un aumento en la captación periférica de glucosa y una reducción en su liberación por el hígado. La insulina estimula la captación de glucosa en el músculo y en el adipocito al favorecer la translocación intracelular del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) hacia la membrana plasmática. (Serra, 2010).

3.6.5.2 Acciones en el metabolismo de los lípidos

Suprime de forma eficiente la liberación de ácidos grasos libres (AGL) al plasma, facilitando la captación de glucosa. Esta acción es más rápida que su acción sobre la glucosa, controlando así de forma eficaz los niveles de glucosa, cuando los AGL disminuyen aumenta la captación de glucosa y cuando aumentan disminuye la captación de glucosa (Efecto Randle). El efecto es controlar la liberación de AGL, la enzima dependiente es la lipasa, la cual está bajo el efecto tónico de las catecolaminas. La insulina impide el paso de lipasa b a lipasa a y de esta forma impide la lipólisis. En esta acción está implicado el AMPc, además de otros mensajeros (Serra, 2010).

La insulina estimula la biosíntesis de ácidos grasos tanto en el hígado como en el tejido adiposo, favoreciendo también la captación y depósito de triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (Serra, 2010).

3.6.5.3 Acciones en el metabolismo de las proteínas

Ejerce un efecto primario sobre el transporte de aminoácidos en la membrana, estimulando así mismo la biosíntesis de proteínas por su acción estimuladora de la síntesis de RNA y DNA. Por esta acción es fundamental para el crecimiento y actúa sinérgicamente con la GH (Hormona de Crecimiento) (Serra, 2010).

3.6.6 Terminación de la acción

La insulina unida al receptor es degradada después de ser internalizada en la célula. En el interior de la célula al menos dos enzimas: enzimas degradadoras de insulina (IDE) y glutatión-insulina transhidrogenasa (GIT), son las encargadas del metabolismo de la hormona. En el mecanismo de terminación de la señal iniciada por la insulina intervienen enzimas como la fosfotirosina fosfatasa (SHP-1), que tiene como función desfosforilar el receptor inactivándolo (Best & Taylor, 2010, p. 761).

3.7 Resistencia Insulínica (RI)

La resistencia a la insulina es una condición que aumenta las probabilidades de desarrollar diabetes mellitus tipo 2. En la RI las células del cuerpo desarrollan una menor sensibilidad a la acción de la insulina, ya sea porque la insulina no es secretada de forma suficiente o que se produzca de forma suficiente, pero que no pueda ejercer correctamente sus funciones biológicas. Aun así, la glucosa en la sangre llega hasta la célula, pero la insulina no puede trabajar eficazmente. El páncreas trata de normalizar los niveles de glucosa en la sangre mediante la producción de más insulina (hiperinsulinemia). Al principio, la sobreproducción de insulina ayuda. Pero después de un tiempo, incluso la insulina extra no ejerce su función en las células y la glucosa circulante aumenta. Si el nivel de su glucosa es alto y consistente durante un periodo de tiempo puede ser que se padezca de pre diabetes o, incluso, de diabetes, la elevación de los niveles de glucosa en sangre conocida también como

hiperglicemia, es la primera manifestación clínica que presenta una persona, para ser diagnosticada como diabética (ADA, 2017).

3.7.1 Papel del adipocito en la RI

La RI está íntimamente relacionada con el tejido adiposo, especialmente, con el depósito abdominal. El aumento de la grasa abdominal se relaciona tanto con el número como el tamaño de adipocitos presentes. Los adipocitos no sólo son un depósito de triglicéridos, sino que tienen una intensa actividad secretora de moléculas biológicamente activas, como leptina, adiponectina o resistina. La leptina parece ser que regula la ingesta alimentaria y la RI en el tejido muscular, mientras que la resistina se opone a la acción de la insulina y se encuentra elevada en sujetos obesos. De forma similar, la adiponectina, cuya concentración está disminuida en los sujetos obesos, reduce la RI por medio de la oxidación de los AGL, pero la grasa abdominal, más que otros tipos de grasa, puede provocar inflamación, cuando la grasa aumenta en esta área abdominal, los tejidos se estresan fácilmente y desarrollan una respuesta inflamatoria. Si es una situación a corto plazo, desaparece y todo regresa a la normalidad. Pero cuando se queda esa grasa en la cintura, esta inflamación puede resultar crónica y dañar el tejido. Esto por la producción de hormonas y químicos llamados citocinas pro inflamatorias, expresadas y secretadas por el tejido adiposo y que pueden causar que el cuerpo desarrolle resistencia a la insulina. Desembocando en muchas ocasiones en diabetes. (Calderón 2007, pp. 3-11).

Según los análisis de la base de datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) se ha demostrado claramente que la sensibilidad a la insulina en la población mexicana general, es una variable continua la cual está inversamente relacionada con la adiposidad, la insulina plasmática en ayuno, las concentraciones de lípidos séricos y la presión sanguínea arterial. Incluso después de tomar el peso corporal en cuenta, la sensibilidad baja a la insulina estuvo asociada con las características metabólicas del síndrome metabólico (SM) en sujetos mexicanos no diabéticos. Sin embargo, aunque alterados estos parámetros en comparación con aquellos registrados en la mayoría de los individuos sensibles a la insulina, excedieron el límite superior del rango normal. (ENSANUT, 2016)

3.7.2 ¿Cómo se diagnostica la resistencia a la insulina?

Según la (ADA, 2017) hasta el momento, no existe un examen que se use comúnmente para el diagnóstico de la resistencia a la insulina. Las personas que padecen de este trastorno generalmente no presentan síntomas. Por lo que el médico debe examinar los factores de riesgo y considerar la probabilidad o no de padecer resistencia a la insulina. Si se presenta un factor de riesgo para la resistencia a la insulina. El médico debe examinar los niveles de glucosa en ayunas para verificar si tiene pre-diabetes o, incluso, diabetes.

Los factores de riesgo para padecer de resistencia a la insulina son:

- 1- Sobrepeso.
- 2- Sedentarismo.
- 3- Si se es mujer y se tiene una medida de cintura al nivel del ombligo de 88 cm, o es un hombre con una medida de cintura de más de 101 cm.
- 4- Antecedentes familiares de DM2.
- 5- Tener más de 45 años.
- 6- Presión arterial mayor de 140/90 mm Hg.
- 7- Niveles de colesterol HDL (Lipoproteínas de Alta Densidad) por debajo de (35 mg/dL)
- 8- Hipertrigliceridemia (>150 mg/dL). Además, estos factores también colocan en riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

3.8 Niveles elevados de glucosa y las complicaciones vasculares en la DM

3.8.1 Hiperglucemia

Según Mantilla, (2001, pp. 131) la hiperglicemia, es la primera manifestación clínica que presenta una persona para ser diagnosticada como diabética.

Los valores que deben oscilar son:

Ayuno: 80 – 120 mg/dL

Postprandial: <180 mg/dL

La glucosa puede dañar irreversiblemente el endotelio vascular por un mecanismo llamado “glicación”, que es el resultado de la unión de una molécula de azúcar a una proteína, sin la participación de ninguna enzima (Mantilla, 2001, pp. 131-141).

3.8.2 Complicaciones vasculares en la DM

Las complicaciones vasculares del diabético se dividen en microangiopáticas o microvasculares, cuando se afectan los pequeños vasos (retinopatía, nefropatía y neuropatía) y macroangiopáticas o macrovasculares, cuando están involucrados capilares, vénulas y arterias (cardiopatía isquémica, enfermedad cerebro vascular, enfermedad vascular periférica) (Mantilla, 2001, pp. 131-141).

El impacto de las complicaciones microvasculares y macrovasculares en la morbilidad, la mortalidad y la calidad de vida convierten a la DM en uno de los principales problemas socio sanitarios del mundo actual (Ortega, 2012).

3.8.2.1 Neuropatía diabética (NAD)

Es una complicación seria y relativamente frecuente de la DM. Puede afectar a cualquier tipo de fibra nerviosa del organismo. Sus principales factores determinantes son la edad y tiempo de evolución del paciente. Por lo que la NAD puede ser más o menos expresada clínicamente, generalmente en función de su estado evolutivo. Se manifiesta por una serie de signos y síntomas sugestivos de la función de la disfunción de uno o más órganos entre los que destacan los cardiovasculares, gastrointestinales, genitourinarios, termorreguladores y oculares (Sabán, 2009, pp. 763)

3.8.2.2 Retinopatía

La retinopatía diabética (RD) es una complicación ocular crónica en la DM, y se clasifica en dos grupos: I) RD no proliferativo (RDNP), esta es la etapa más temprana de la retinopatía diabética, en la que se presenta una alteración vascular retiniana con fenómenos como el aumento de la permeabilidad y la oclusión capilar. II) RD proliferativo (RDP), cuya característica es la presencia de neovasos retinianos anómalos, junto con el desarrollo de tractos fibrosos. Es un fenómeno tardío en la evolución de los pacientes con DM, ya que se requiere más de 10 años para que se desarrollen. Las afectaciones oculares, como las cataratas

y el glaucoma, son 25 veces más frecuentes respecto a la población general (Sabán, 2009, pp. 699).

3.8.2.3 Nefropatía

El riesgo de insuficiencia renal es 25 veces superior en la DM2. Hoy en día es la principal causa de diálisis. Aproximadamente el 50 % de los diabéticos posee una afectación renal, de modo que en la DM2 la prevalencia tanto de microalbuminuria como macroalbuminuria puede acercarse hasta en un 25 % y 5 % respectivamente (Calderón 2007, pp. 3-11).

3.8.2.4 Cardiopatía Isquémica

Es la principal causa de mortalidad en la población diabética. La prevalencia de esta afectación en pacientes con DM2 oscila entre el 2,4 y el 25,3%. La presencia de DM franca, glucemia basal alterada (GBA) o intolerancia a la glucosa (TAG) predice un peor pronóstico después de un infarto agudo de miocardio (Calderón 2007, pp. 3-11).

3.8.2.5 Accidente Cerebro Vascular

Se estima que aproximadamente el 40% de los pacientes que desarrollan un accidente cerebro vascular son diabéticos. La diabetes, además, es un factor de mal pronóstico para el accidente cerebrovascular agudo (Calderón 2007, pp. 3-11).

3.9 Epidemiología de la DM2

Según la Federación Internacional de Diabetes (FID, 2015), durante las últimas décadas el número de personas que padecen diabetes en México se ha incrementado y actualmente figura entre las primeras causas de muerte en el país. Los datos de la ENSANUT identificaron a 6.4 millones de adultos mexicanos con diabetes, es decir, 9.2% de los adultos en México han recibido ya un diagnóstico de diabetes. El total de personas adultas con diabetes podría ser incluso el doble, de acuerdo a la evidencia previa sobre el porcentaje de diabéticos que no conocen su condición (ENSANUT, 2016).



Figura 5. Adultos que murieron por diabetes, VIH/SIDA, tuberculosis, y malaria a nivel mundial. (Federación Internacional de Diabetes, 2015).



Figura 6. Número estimado de personas con diabetes en el mundo y por región en 2015 y 2040 (20 – 79 años) (FID, 2015).

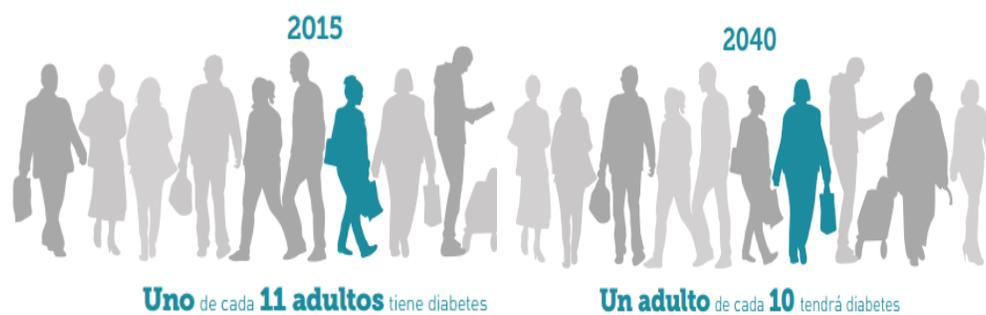


Figura 7. Prevalencia de la diabetes a nivel mundial (FID, 2015).

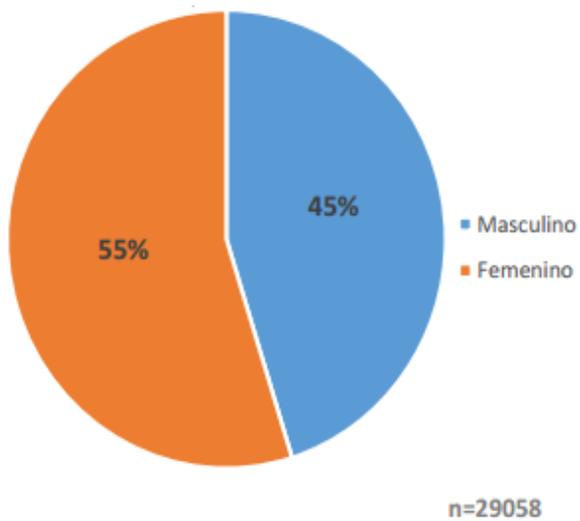


Figura 8. Distribución por sexo de casos notificados a la plataforma SVEDT2 México, Cierre 2015 (FID, 2015).

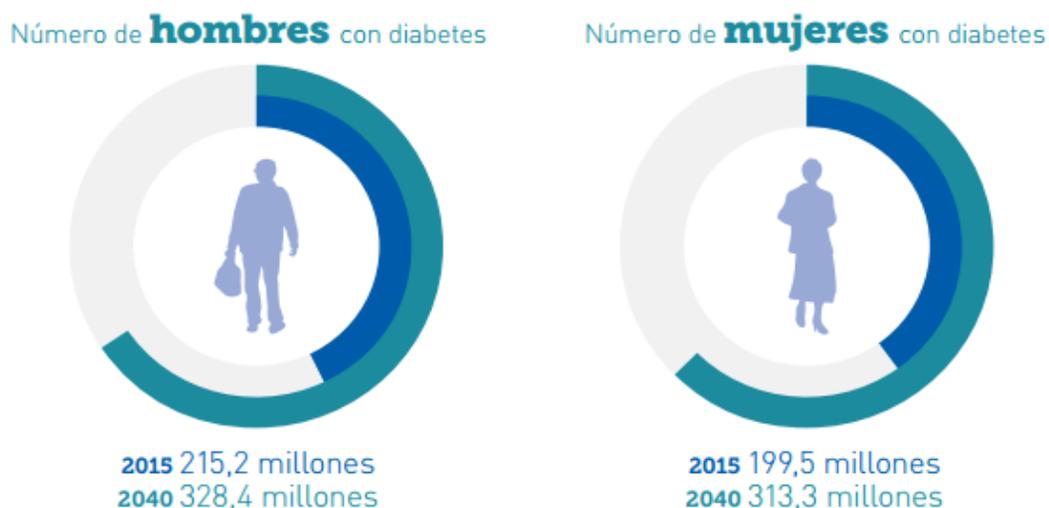


Figura 9. Diabetes por género a nivel mundial (FID, 2015).

3.10 Cuadro clínico de la DM2

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016), un nivel alto de azúcar en la sangre puede causar diversos síntomas, como:

- 1- Visión borrosa
- 2- Polidipsia
- 3- Pereza
- 4- Poliuria
- 5- Polifagia
- 6- Pérdida de peso

Debido a que el desarrollo de la DM2 es lento, algunas personas con hiperglucemia son asintomáticas.

“Los síntomas de la DM1 se desarrollan en un período de tiempo corto y las personas pueden estar muy enfermas para el momento del diagnóstico” (Organización Mundial de la Salud OMS, 2016).

3.11 Prevención

Según la (OMS, 2016), Se ha demostrado que medidas simples relacionadas con el estilo de vida son eficaces para prevenir la DM2 o retrasar su aparición.

El principal factor de riesgo modificable es la obesidad, en segundo lugar, la inactividad física, que es un mal hábito adquirido en la sociedad actual y que favorece tanto a la obesidad como al desarrollo de la DM2, y por último la alimentación, en donde posiblemente estarían involucradas dietas de alto contenido calórico, ricas en ácidos grasos saturados y bajas en ácidos grasos insaturados y fibra (Durruty y Garcia, 2009).

3.12 Pruebas de detección para DM2

Actualmente el diagnóstico de diabetes está basado principalmente en la medición de la glucosa en sangre que en ayunas no debe superar los 126 mg/dL, o no estar por encima de 200 mg/dL en cualquier momento del día, y en menor grado por la prueba de tolerancia oral a la glucosa (glucosa mayor a 200mg/dL después de 2 horas de haber tomado una bebida con 75g de azúcar) (Kim, Lee, Park y Cho, 2008).

3.12.1 La HbA1c en el monitoreo de la diabetes

El método se basa en la formación del complejo específico y su afinidad polianiónica con el reactivo que se utiliza para dicha técnica. A partir del momento en que se dispuso de metodología para medir en el laboratorio clínico la HbA1c a finales de la década de los 70, unos años más adelante, luego de que grandes estudios poblacionales demostraron su relación con el control de la DM1 y de la DM2 y, más recientemente, gracias a la estandarización y la armonización alrededor de los instrumentos y los reactivos para hacer la prueba en los últimos 5 años, la HbA1c se ha consolidado como el “estándar de oro” para medir el efecto de las diferentes opciones de tratamiento y de pronóstico y, sobre todo, la mejor manera de seguir el curso del paciente diabético y hacer los ajustes terapéuticos del día a día en estos pacientes (Bayer Diabetes Care [BDC], 2013).

“Desde 2010, la ADA estableció esta prueba como un examen de diagnóstico de la enfermedad: un resultado igual o superior a 6,5% determina que una persona tiene diabetes, mientras que uno de entre 5,7% y 6,4% se considera prediabetes” (Bayer Diabetes Care [BDC], 2013).

La (OMS, 2016) establece que para que esta prueba pueda ser usada para tal fin, lo más importante es que el método de laboratorio que se utilice cumpla con estricto control de calidad y cumpla con las normas establecidas por organismos internacionales como el programa nacional de estandarización de la glicohemoglobina de los Estados Unidos (NGSP), que cuentan con lo que conocemos como el “Método de referencia” que permite certificar todos aquellos métodos que sean utilizados para la determinación de HbA1c y que permiten contar con un valor seguro para ser utilizado tanto en el control como en el diagnóstico del paciente diabético.

3.12.1.1 Valores de hemoglobina glicada y glucemia en sangre

Cálculo aproximado entre hemoglobina glicada y promedio de glucemias en ayunas

Tabla 2. Valores de hemoglobina glicada y glucemia en sangre (Instituto Mexicano de Diabetes [IMD] 2014).

MEDIA DE GLUCEMIAS	HEMOGLOBINA GLICADA
80 mg/dL - 120 mg/dL	5% - 6%
120 mg/dL - 150 mg/dL	6% - 7%
150 mg/dL - 180 mg/dL	7% - 8%
180 mg/dL - 210 mg/dL	8% - 9%
210 mg/dL - 240 mg/dL	9% - 10%
240 mg/dL - 270 mg/dL	10% - 11%
270 mg/dL - 300 mg/dL	11% - 12%
300 mg/dL - 330 mg/dL	12% - 13%

Los especialistas sugieren que la medición simultánea de la glucosa en ayuno y la HbA1c puede ser más sensible como objetivo de identificar la diabetes en etapa temprana en personas con un elevado riesgo de diabetes (ADA ,2017).

Para hacer el diagnóstico y determinar el riesgo de desarrollar diabetes utilizando la hemoglobina glicada se sugieren las siguientes cifras:

Tabla 3. Cifras de hemoglobina glicada para diagnóstico de DM (ADA, 2017).

	% de HbA1c
Valores normales	< 5.6
Pre diabetes (o mayor riesgo de desarrollar diabetes)	5.7 – 6.4
Diagnóstico de Diabetes	> 6.5

3.12.1.2 Hemoglobina (Hb)

Es una proteína globular constituida por cuatro subunidades proteicas (estructura cuaternaria). Cada sub-unidad, está formada por una cadena polipeptídica denominada globina, que está unida a un grupo hemo mediante un enlace covalente. Su principal función es transportar oxígeno desde los pulmones a los tejidos y dióxido de carbono desde los tejidos hasta los pulmones, en donde se produce su eliminación. La síntesis de hemoglobina se inicia en los eritroblastos por medio de dos vías metabólicas diferentes:

I: Síntesis del grupo hemo, formado por una porfirina (protoporfirina Lx) que posee un átomo de hierro (II) unido a sus cuatro nitrógenos, y se sintetiza principalmente en la mitocondria a partir de succinil coenzima A.

II: La síntesis de la globina, esta codificada por genes situados en los cromosomas 11 y 16, y se lleva a cabo en los ribosomas

El grupo hemo y la cadena polipeptídica de globina se unen de forma no covalente para formar una cadena de hemoglobina. Dos cadenas de hemoglobina se unen entre si dando lugar a un dímero. La unión mediante interacciones no covalentes de estos dímeros da lugar a la molécula de hemoglobina (Fuentes, Castiñeiras y Queralto, 1998, pp.767-768).

La degradación de la hemoglobina se produce en el sistema reticuloendotelial, donde se produce la fagocitosis de los eritrocitos maduros. La hemoglobina liberada se divide en globina y grupo hemo. Posteriormente se produce la apertura del anillo de hemo para formar biliverdina y se separa el hierro del tetrapirrol, que es metabolizado a bilirrubina. En los macrófagos el hierro procedente de la degradación de la hemoglobina es reutilizado en la eritropoyesis para formación de hemoglobina, previo transporte a la medula ósea por la transferrina. Mientras que la cadena polipeptídica de globina es digerida, y sus aminoácidos son utilizados en diferentes vías metabólicas (Fuentes, Castiñeiras y Queralto, 1998, pp.767-768).

3.12.1.3 Tipos de hemoglobina

La hemoglobina de un individuo sano está compuesta por tres tipos:

- 1- Hemoglobina A (HbA): También llamada hemoglobina de adulto o hemoglobina normal, está formada por dos globinas alfa y 2 globinas beta y representa aproximadamente el 96% de la hemoglobina en el adulto.
- 2- Hemoglobina A2 (HbA2): Representa menos del 2,5% de la hemoglobina después del nacimiento. Está formada por dos globinas alfa y dos globinas delta. Se encuentra aumentada en la beta-talasemia, al no poderse sintetizar globinas beta.
- 3- Hemoglobina F o fetal (HbF) Representa menos del 5 % y se produce durante toda la vida en pocas cantidades. Está formada por 2 globinas alfa y dos globinas gamma.

Existe una variedad de HbA de movilidad rápida conocidas como fracción HbA1a, HbA1b y HbA1c, y de estas variedades la HbA1c es la más abundante (Bioquimed, 2015).

Estas hemoglobinas experimentan una modificación mediante la formación no enzimática de un enlace covalente entre la glucosa y otros azúcares y la molécula de hemoglobina, resultando las denominadas hemoglobinas glicada. En la práctica clínica, se miden tres especies de hemoglobinas glicadas, que dependen del carbohidrato unido al nitrógeno de la

valina terminal de la cadena b de la hemoglobina. El carbohidrato puede ser la glucosa-6-fosfato, la fructosa-1,6-difosfato o la glucosa. El conjunto forma la hemoglobina glicada total (también llamada hemoglobina rápida por migrar más rápidamente en los sistemas de electroforesis) (Selvin et al., 2010, p.800).

3.12.1.4 Glicación

La glucosa, es el azúcar reductor más abundante en nuestro organismo. Los azúcares reductores (así denominados porque son oxidados fácilmente por otras sustancias) son aquellos que poseen un grupo químico llamado carbonilo, que tiene una alta reactividad. La unión de estos azúcares a proteínas tiene lugar a través de una reacción tradicionalmente denominada reacción de Maillard y, más recientemente, glicación (González, Castello, Gangliardino y Rossi, 2000, pp. 2-4).

La glicación de la hemoglobina se da por un fenómeno adquirido, no enzimático, producto de una unión irreversible, entre la Hb y la glucosa sanguínea. Esta reacción está directamente relacionada con la cantidad de glucosa circulando en sangre y la vida media de los glóbulos rojos (eritrocitos) que es de aproximadamente 120 días, por lo tanto, los resultados de la misma son un indicador de las concentraciones de glucosa en sangre en un tiempo promedio de alrededor de 1 a 3 meses anteriores a la fecha de realizado el análisis. Por esta razón ha sido empleada desde hace más de 30 años para evaluar el control de la diabetes (Kim et al., 2008).

3.13 Proceso de glicación

3.13.1 Etapa 1

Condensación de un grupo amino terminal libre con el grupo carbonilo de la glucosa, resultando una base de Schiff, este compuesto es inestable experimentando un reajuste (reacción de Amadori) formando una cetoamina más estable, prácticamente irreversible. La velocidad de formación de la hemoglobina glicada es directamente proporcional a la concentración de glucosa en sangre (Selvin et al., 2010).



Figura 10. Etapa 1 de glicación (Campuzano y Latorre, 2010, p. 217)

3.13.2 Etapa 2



Figura 11. Etapa 2 de glicación (Campuzano y Latorre, 2010, p. 217).

3.13.3 Etapa 3



Figura 12. Etapa 3 de glicación (Campuzano y Latorre, 2010, p. 217).

3.13.4 Etapa 4

"Hemoglobina A1c" (HbA1c): Es un tipo específico de hemoglobina glicada, la cual se forma por la reacción entre glucosa y el grupo amino terminal de la cadena β de la Hb. (Colina, 2010).

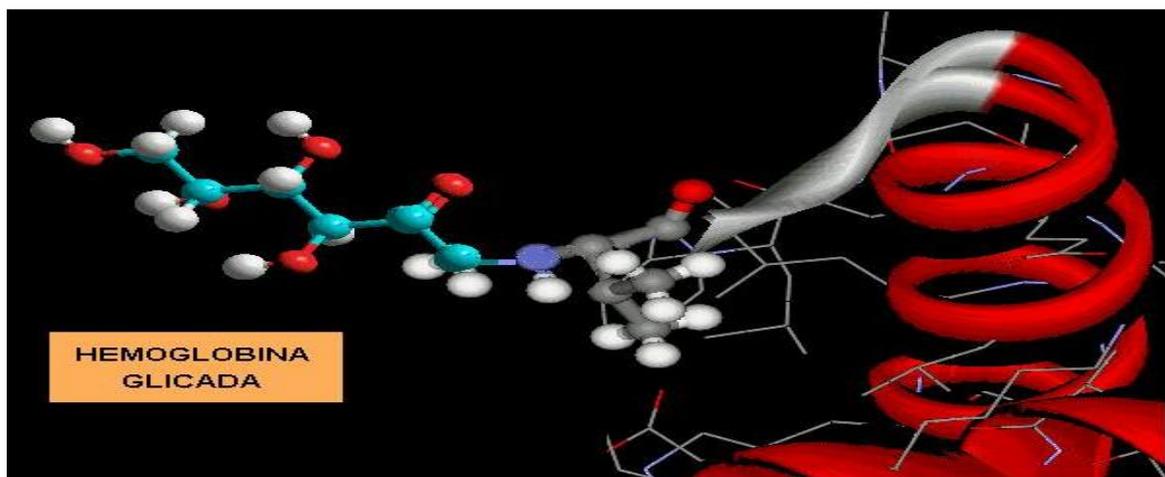


Figura 13. Etapa 4 de glicación (Campuzano y Latorre, 2010, p. 217).

El hematíe (eritrocito humano o glóbulo rojo) es libremente permeable a la Glucosa. Dentro de cada eritrocito la glicación de hemoglobina ocurre a un ritmo proporcional a la concentración de glucosa en el medio. La hemoglobina se va glicando de manera continua a lo largo de los 120 días de vida de los hematíes. Esta reacción es relativamente lenta en su desarrollo, ya que no está mediada por ninguna reacción enzimática, que son muy rápidas en su ejecución. Los estudios realizados hasta el momento, ponen de manifiesto que el proceso de acumulación de HbA1c en un hematíe es directamente proporcional al tiempo medio de exposición a la glucosa de ese hematíe, por lo que periodos cortos de glucemia muy alta es improbable que tengan un impacto significativo sobre el nivel de HbA1c (Campuzano & Latorre, 2010, pp. 218).

3.14 Ventajas y desventajas de medir HbA1c con respecto a la glucosa en sangre

Tabla 4. Ventajas y desventajas de HbA1c con respecto a la glucosa en sangre

VENTAJAS	DESVENTAJAS
No es necesario que el paciente este en ayunas.	La estandarización de la determinación de HbA1c, no es tan buena como la de la glucosa.
La estabilidad preanalítica de la HbA1c es mayor que la glucosa.	La HbA1c, no es fiable en situaciones en que la formación y la destrucción de eritrocitos es más rápida de lo normal (anemia crónica, hemólisis y hemoglobinopatías.)
Detecta hemoglobinas variantes	Es de uso exclusivo, no un analizador para múltiples propósitos.

3.15 Métodos actuales en la determinación de hemoglobina glicada.

Según Diaz, Fernández y Paredes, (1997, p.36) sea cual sea el método empleado en la determinación de HbA1c, se tiene como fase preliminar la obtención de un hemolisado y la determinación de la concentración de la hemoglobina total, ya que la HbA1c se expresa como porcentaje de Hb total.

Hoy en día los métodos más utilizados a nivel mundial en la química clínica para la determinación de HbA1c son:

- 1: Cromatográficos: HPLC
- 2: Inmunológicos: Inmunoturbidimetría
- 3: Enzimáticos

3.15.1 HPLC

Este método está basado en los distintos tiempos de retención de las moléculas de interés, en este caso la hemoglobina sobre una columna de intercambio iónico, que es eluida con soluciones tampón (Henry, Hernan y Zak, 2009).

Una vez inyectada la muestra en el cartucho analítico, las soluciones tampón entregan un gradiente buffer de fuerza iónica al cartucho, en donde las hemoglobinas se separan en función de sus interacciones iónicas con el material del cartucho, las hemoglobinas separadas pasan a través de la celda de flujo del fotómetro de filtro, donde se miden los cambios en la absorbancia a 415 nm (Roche Laboratories, 2015).

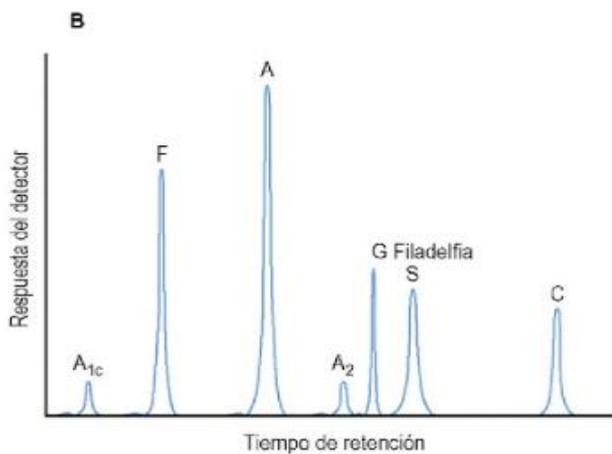


Figura 14. Esquematización de la cromatografía líquida de alta eficiencia (Helkamp, 2011, p.54)

3.15.2 Inmunoturbidimetría

Los métodos inmunológicos utilizan anticuerpos contra una secuencia de aminoácidos que varían de 3 a 8 de la fracción N-terminal de la hemoglobina glicada. Tienen como ventaja el que son específicos contra la HbA1c y pueden ser incorporados a los autoanalizadores de química clínica ya sea por métodos de inmunoturbidimetría, como se esquematiza en la figura 15, o de inmunoanálisis enzimático en donde se utiliza una proteasa para digerir la hemoglobina y producir fructosil-aminoácido que por la acción de una oxidasa produce peróxido de hidrógeno, como se esquematiza en la figura 16 (Campuzano y Latorre, 2010, pp. 225).

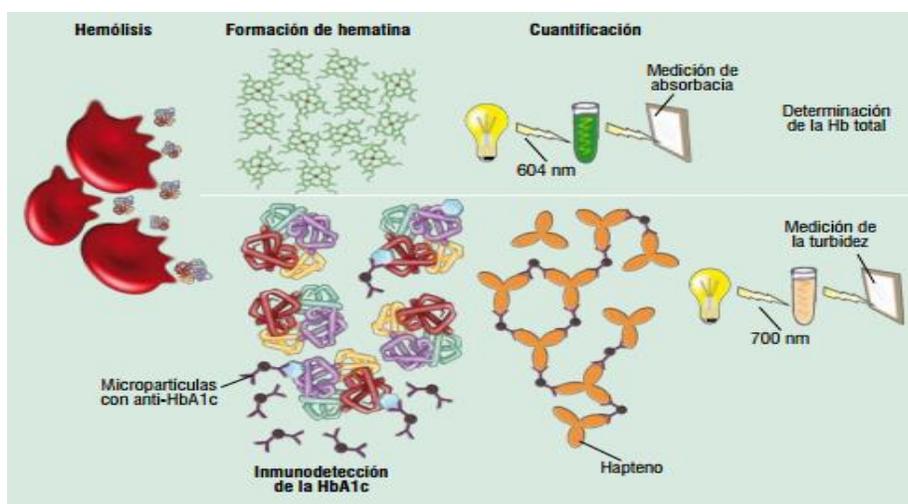


Figura 15. Determinación por inmunoturbidimetría de la HbA1c (Campuzano y Latorre, 2010, pp. 225).

3.15.3 Determinación enzimática

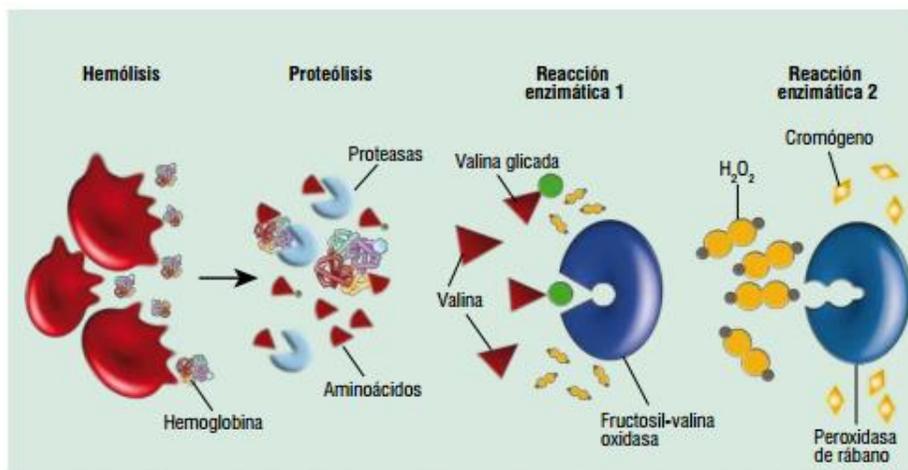


Figura 16. Determinación enzimática de la HbA1c (Campuzano y Latorre, 2010, pp. 225).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Comparar los resultados de hemoglobina glicada (HbA1c) en muestras pareadas, mediante los métodos inmunoturbidimetría y cromatografía líquida en alta resolución (HPLC), para determinar con base en cálculos estadísticos, si existe o no diferencia significativa entre los resultados obtenidos por ambos métodos.

4.1.1 Objetivos particulares :

- 1- Determinar el porcentaje de HbA1c en los pacientes con sospecha clínica de DM2 mediante inmunoturbidimetría y por HPLC.
- 2- Determinar la correlación entre ambos métodos para determinación de HbA1c.
- 3- Calcular la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del método turbidimétrico con el estándar de oro (HPLC) para la detección de DM2.
- 4- Analizar las ventajas y/o desventajas de los equipos Variant II Turbo y el Módulo P800 para Modular Analytix Evo Analyzer, con respecto a muestras analizadas por tiempo, tareas de mantenimiento diario, el tiempo de puesta en marcha de cada uno de los equipos y el tratamiento de la muestra.

5. HIPÓTESIS EXPERIMENTAL

No existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por el método cromatografía líquida en alta resolución (HPLC) y los resultados obtenidos por el método de inmunoturbidimetría para la determinación de HbA1c con el que actualmente se trabaja en el hospital de especialidades del CMN Siglo XXI del IMSS.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diseño del estudio

El presente estudio consiste en un estudio transversal comparativo de evaluación de dos pruebas diagnósticas para evaluar la precisión y concordancia para la determinación de HbA1c. Se ha realizado para ello un estudio comparativo para variables cuantitativas en una

medición de HbA1c realizadas durante un estudio de rutina en el laboratorio central de especialidades médicas del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

6.1.1 Población y criterios de selección

El estudio se centra en la población mexicana derecho-habiente del CMN Siglo XXI del IMSS que acudieron a toma de muestra para estudio de rutina.

Se ha realizado un muestreo consecutivo, no probabilístico de todos los pacientes atendidos que accedieron a la participación en el estudio con consentimiento previo, a los que se realizó un estudio de la determinación de HbA1c en sangre venosa.

6.1.2 Criterios de inclusión:

- 1- Paciente que acudió a toma de muestra de laboratorio para estudios de rutina, y accedieron a participar en el estudio.

6.1.3 Criterios de exclusión:

- 1- Muestras altamente lipémicas.
- 2- Pacientes recientemente transfundidos.
- 3- Pacientes con anemia de cualquier etiología (déficit de hierro, déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, drepanocitosis, paludismo, pérdida de sangre crónica, o alguna otra condición que cause muerte prematura de las células rojas o con macrocitemia por deficiencia de vitamina B12 o de ácido fólico).
- 4- Pacientes esplenectomizados.

6.1.4 Criterios de eliminación

- 1- Pacientes que ya no desearon participar en el estudio.
- 2- Pacientes que durante el estudio no cumplieron con los criterios establecidos.

6.1.5 Obtención de la muestra

A todos los pacientes se les solicitó que acudieran en ayuno de 8 hrs y con base en las recomendaciones establecidas por la NOM-003-SSA2-1993 para la disposición de sangre humana, se procede a la toma de muestra sanguínea. Brevemente: Se verificó que el paciente esté en las condiciones requeridas para el examen, se explicó al paciente el procedimiento

que se realizaría para la obtención de la muestra. Con ayuda de un torniquete y continuando con una asepsia del tercio inferior del brazo donde se encuentran las venas cefálica o basílica se procedió a la punción y obtención de sangre venosa (4 mL) empleando para su colección un tubo con vacío (Vacutainer) el cual contenía EDTA, la muestra obtenida se mezcló por inversión y fue dividida en dos alícuotas (1 mL y 3 mL) posteriormente almacenadas a una temperatura de 4° C para su posterior determinación de HbA1c por cada uno de los métodos.

6.1.6 Pruebas diagnósticas evaluadas

6.1.6.1 Medición de HbA1c por Inmunoturbidimetría:

Para la realización del estudio inmunoturbidimétrico se utilizó el analizador Roche-Diagnostics modelo (Cobas 6000), y bajo las instrucciones y recomendaciones del kit (Tinaquant HbA1c III). Brevemente: Se ingresan los reactivos al equipo y se corren los controles (preciphat y precinorm) después para hacer la lisis sanguínea, en un tubo de 5 mL, se agregó 1 ml de solución de lisis más 10 µL de sangre total de la alícuota de 1 mL almacenada anteriormente, esta mezcla se homogenizó suavemente y se dejó reposar por 1 min, después se ingresó al equipo para la obtención de HbA1c, una vez obtenido el resultado se procede a la validación de los datos.

6.1.6.2 Medición de HbA1c por HPLC

Para la realización del estudio por medio de HPLC se utilizó el equipo Bio-Rad modelo (Variant II Turbo), con el empleo y recomendaciones del kit 2.0. Brevemente: Una vez verificados los niveles de reactivos (Buffer de elución A, Buffer de elución B, Solución de lavado/diluyente) así como también la columna y el pre filtro se ingresan controles bajo, control medio y control alto al equipo (proporcionados por el kit), después se ingresa al equipo la alícuota de 3 mL de sangre con EDTA obtenida y almacenada anteriormente sin tratamiento previo alguno, y se espera para la obtención de resultados impresos para su posterior validación.

6.1.6.3 Procedimientos estadísticos empleados

El análisis estadístico de los datos ha sido realizado con el programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versión 24.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago IL USA) considerando estadísticamente significativo un valor $p < 0,05$.

Se realizó el cálculo del tamaño de muestra para el estudio, para después calcular medidas de tendencia central y dispersión para la variable cuantitativa de la muestra (cálculo de frecuencias, media, mediana, moda, varianza, asimetría, curtosis) así como la realización del histograma para cada uno de los métodos, para visualizar la normalidad en los datos, para el contraste de la normalidad se empleó la prueba Kolmogórov-Smirnov. Cuando la variable no sigue una distribución normal, es decir no presenta una forma gaussiana, la medida de tendencia central se expresa en el texto en forma de mediana.

Para cuantificar las diferencias entre las medias se empleó la prueba no paramétrica de Wilcoxon, y se llevó a cabo una regresión lineal para establecer la asociación lineal, así como r de Spearman para cuantificar dicha correlación.

Se realizó un comparativo entre los dos métodos por medio de una curva ROC y posteriormente se evaluó la sensibilidad y especificidad de la turbidimetría para el diagnóstico de DM2 en comparación con el estándar de oro (HPLC), y para determinar la seguridad que se tiene al dar tanto un resultado negativo o positivo, se realizó el cálculo de VPP y VPN.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La DM2 constituye un problema de salud pública de primera magnitud que ha pasado de ser una enfermedad característica de los países desarrollados a ser una epidemia en países en desarrollo.

El diagnóstico oportuno de la DM2 es de gran importancia ya que tiene una elevada morbimortalidad, siendo las complicaciones microvasculares las principales responsables de la morbilidad y las complicaciones macrovasculares las que determinan las altas cifras de mortalidad en esta enfermedad, en la actualidad el diagnóstico de DM tipo 2 se basa principalmente en la medición de la glucosa plasmática en ayuno y la prueba de tolerancia a

la glucosa. Recientemente por recomendaciones de la ADA se introdujo a la HbA1c como prueba diagnóstica y de seguimiento. Los métodos disponibles para su determinación se dividen en dos categorías principales, la primera basados en las diferencias de cargas, tal es el caso de la electroforesis, la cromatografía por intercambio iónico y el HPLC (estándar de oro de la prueba) y la segunda basados en diferencias estructurales como la cromatografía por afinidad y el inmunoensayo. En el Centro Médico Nacional Siglo XXI se cuenta con las técnicas de HPLC e inmunturbidimetría, con la desventaja de que la inmunturbidimetría requiere de un recurso humano altamente entrenado y calificado para su aplicación en comparación con el HPLC que no requiere un tratamiento previo de la muestra, sin embargo, el HPLC en comparación con el método inmunturbidimétrico tiene un mayor costo, tanto en equipo, en reactivo, así como el empleo de más tiempo por muestra, lo que dificultaría el estudio de grandes volúmenes de muestras. Por lo tanto, nuestro objetivo fue determinar si hay alguna diferencia significativa entre la aplicación de turbidimetría o HPLC para la medición de HbA1c en Centro Médico Nacional Siglo XXI.

7.1 Tamaño de muestra

El tamaño de muestra fue calculado en el programa estadístico (SPSS), bajo los siguientes parámetros, sensibilidad asignada de 0.85 (15 %), a un nivel de confianza de 95% ($\alpha=0-0.5$), $Z_{\alpha}=1.96$ e intervalo de confianza 0.1 o 10 %, dando un resultado de 185 muestras, se recolectaron 216 muestras de las cuales fueron descartadas 31 pacientes por no cumplir con los criterios establecidos, quedando 185 muestras finales para el estudio.

7.2. Distribución de la normalidad de los datos

Para determinar si las muestras seguían una distribución normal se realizaron los cálculos de frecuencias con sus distribuciones correspondientes (Tabla 5), una vez calculadas, se realizaron los histogramas (Fig. 18 y 17) con los que se pudo asumir que no existía una distribución normal. Para verificar y contrastar que no había tal distribución, se aplicó el test de Kolmogórov-Smirnov.

7.2.1 Tabla de Frecuencias

Tabla 5. Resultados de cálculos estadísticos en tabla de frecuencias realizado en el programa SPSS

	Turbidimetría	Hplc
Media	7.2	7.2
Mediana	6.1	6.1
Moda	5.9	5.9
Varianza	5.5	5.1
Asimetría	1.4	1.4
Curtosis	1.4	1.1

7.2.2 Histogramas de distribución

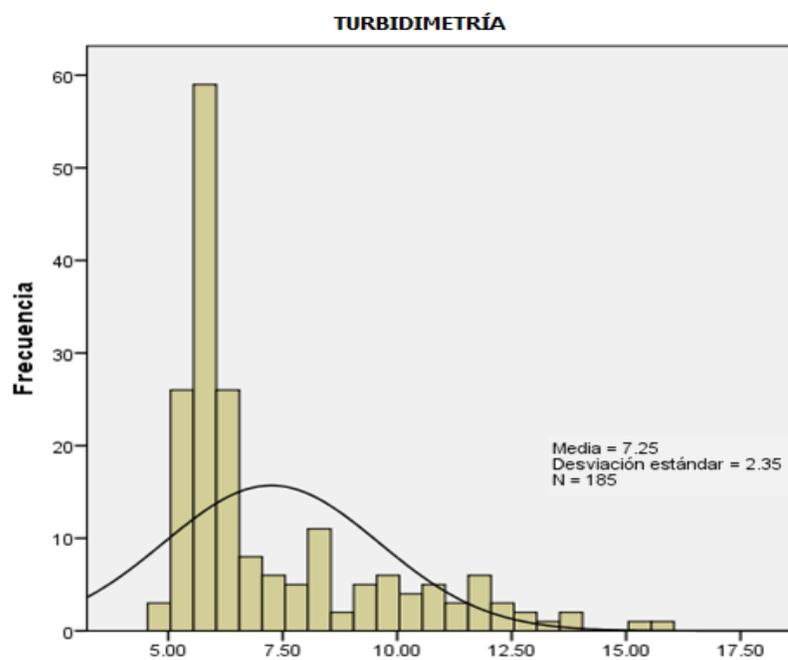


Figura 17. Histograma de distribución del método inmunturbidimétrico obtenido por medio del programa (SPSS).

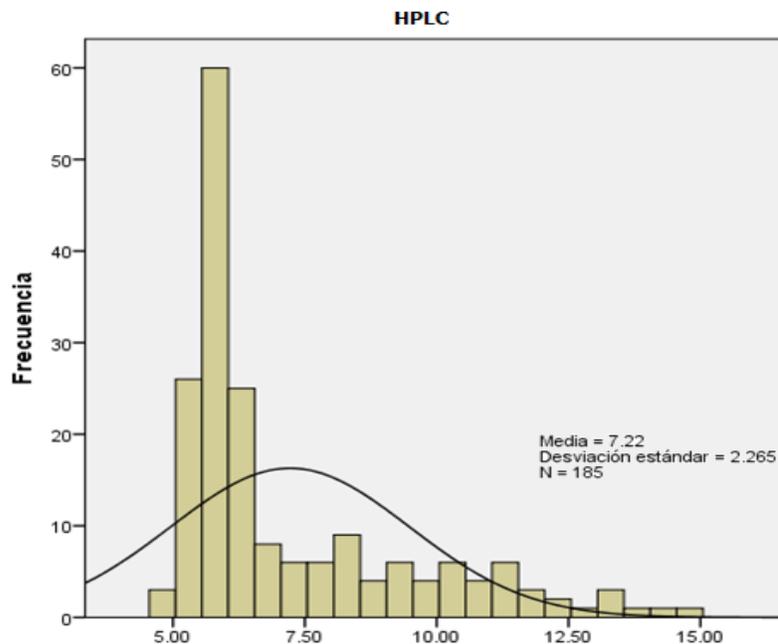


Figura 18. Histograma de distribución del método HPLC obtenido por medio del programa (SPSS).

7.2.3 Prueba de Kolmogórov-Smirnov

Tabla 6. Resultados de la prueba de Kolmogórov-Smirnov realizado en el programa (SPSS).

	Inmunoturbidimetría	HPLC
W	0.7874	0.7974
P valor	<0.0001	<0.0001

Al realizar el cálculo del test Kolmogórov-Smirnov, se obtuvo un valor de p de <0.0001 (tabla 6), menor al nivel de significancia establecido por lo que se considera que hay evidencia para concluir que la muestra no proviene de una distribución normal, y por lo tanto aplicamos pruebas no paramétricas.

7.3 Análisis comparativo entre los dos métodos

Para constatar que los resultados obtenidos por el método inmuniturbidimétrico no son diferentes significativamente de los resultados obtenidos por HPLC (estándar de oro), se procedió a realizar la comparación de las medianas de los dos métodos por medio de la prueba no paramétrica de Wilcoxon con un nivel de significancia de 0.05, en la cual se obtuvo una $p > 0.05$ (Tabla 7) lo que quiere decir que no existe diferencia significativa entre las medianas de los dos métodos.

Tabla 7. Resultado de valor de P en la prueba de Wilcoxon calculado con la mediana de cada método y realizado en el programa (SPSS).

P valor	0.0899
---------	---------------

7.4 Relaciones entre ambos métodos

Se determinó la correlación entre ambos métodos para la medición de HbA1c a través de un gráfico de dispersión entre los resultados obtenidos (fig. 19), para así describir y mostrar gráficamente dicha relación, en donde puede observarse que las distribuciones entre los resultados por ambas pruebas, cuentan con un alto grado de asociación positiva lineal, lo cual también supone buena proporcionalidad directa entre medidas.

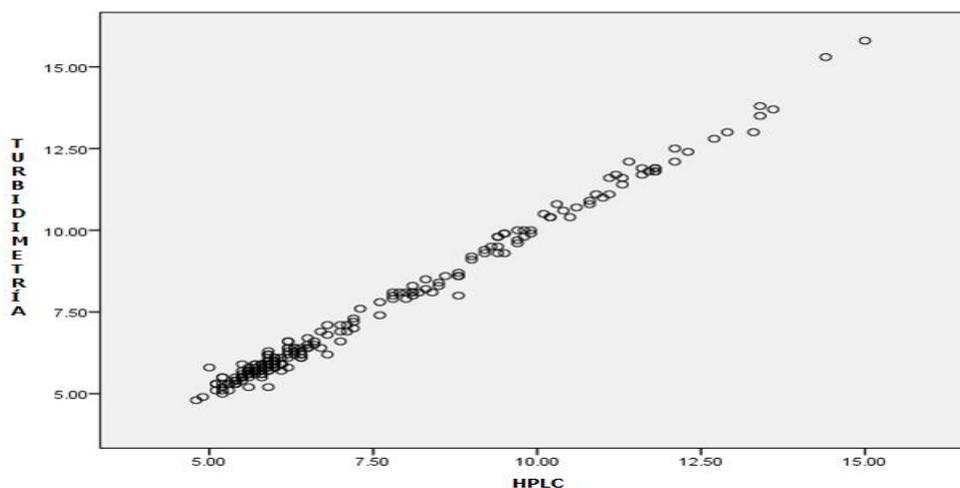


Figura 19. Gráfico de dispersión de datos “Inmuniturbidimetría vs HPLC realizado en (SPSS).

Después de observar la asociación tan alta entre los dos métodos se procedió a cuantificar este grado de asociación lineal mediante un análisis de correlación de Spearman en donde el valor de p resulto menor que el nivel de significancia establecido y por lo tanto podemos decir que existe una correlación lineal, y que esta correlación es muy buena, ya que el índice de concordancia (Rho de Spearman) resulto de 0.966 es decir una concordancia entre pruebas cercana al 97%, lo cual se considera una correlación muy alta.

Tabla 8. Rho de Spearman realizada en el programa (SPSS).

		Turbidimetría	HPLC
Turbidimetría	Coefficiente de correlación	1.000	0.966**
	Sig. (bilateral)		0.000

7.5 Determinación del rendimiento diagnóstico

Debido a que se requiere una alta precisión en la determinación de HbA1c, por el margen tan estrecho que se maneja en el intervalo de referencia tanto para control glucémico como para diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 se realiza la comparación del método turbidimétrico con el HPLC por medio de una curva ROC y el cálculo de área bajo la curva, con un nivel de confianza de 95% y en el cual se eligió como punto de corte 6.5, según criterios clínicos habituales. El área resulto elevada (cercana a 1) lo que indica que estamos ante un proceder diagnóstico de alta precisión y se corrobora con un desplazamiento "hacia arriba y a la izquierda" de la curva ROC.

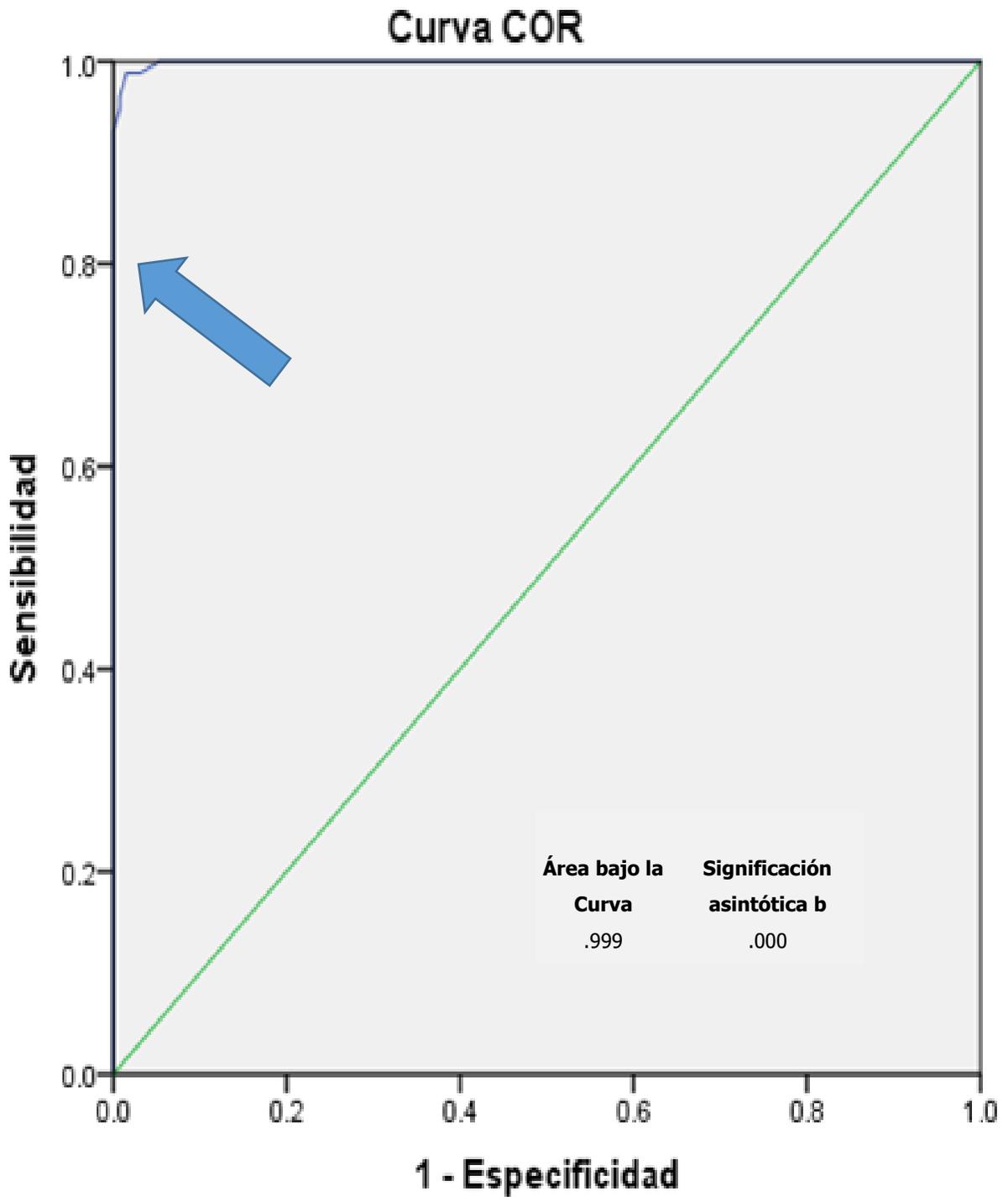


Figura 20. Curva ROC y área bajo la curva del método turbidimétrico (punto de corte= 6.5) a. Bajo el supuesto no paramétrico, 95% de intervalo de confianza asintótico, realizado en el programa estadístico SPSS.

7.6 Pruebas de validez y seguridad

7.6.1 Sensibilidad, Especificidad y Valores Predictivos (VP)

Tabla 9. Tabla cruzada 2 x 2 para obtención de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN.

		TURBIDIMETRÍA		Total
		Sanos	Enfermos	
HPLC	Sanos	119	1	120
		99.2%	0.8%	100.0%
	Enfermos	2	63	65
		3.1%	96.9%	100.0%
Total		121	64	185
		65.4%	34.6%	100.0%

Tabla 10. Sensibilidad y Especificidad calculada en programa (SPSS).

Especificidad = 99.2%	sensibilidad = 96.9%
VPP: 0.97	VPN: 0.99

Después de que la prueba resultó con una alta precisión en la curva ROC se procede a evaluar la validez de éste en el estudio, para ello se calculó la sensibilidad y especificidad del método turbidimétrico en comparación con el estándar de oro, con un punto de corte de 6.5, resultando que la prueba turbidimétrica acertó en el 96.9% de los casos diagnosticados como diabéticos, es decir tan solo clasificó erróneamente 2 pacientes de 65 diagnosticados como diabéticos y 1 paciente de 120 con diagnóstico sano, por lo que acertó 99.2% de los casos, los cuales son valores muy altos que nos indican la alta certeza del método tanto para diagnosticar correctamente a una persona enferma, como para descartar la enfermedad.

Por último y debido a la importancia de que una persona diagnosticada por el método inmunoturbidimétrico ya sea tanto con un resultado positivo o un resultado negativo, tengan la seguridad de tener o no la enfermedad se realizó el cálculo de los Valores Predictivos, dándonos como resultado una muy buena seguridad en la prueba ya que se puede decir que el 97% de los pacientes que en la prueba resultaron positivos, realmente padecen la enfermedad, en tanto a los pacientes que obtuvieron un resultado negativo, el 99% de ellos realmente están sanos.

Tabla 11. Resumen de los resultados descriptivos de cada uno de los equipos, tiempo de puesta en marcha, tiempo de apagado y determinaciones por hora de los analizadores.

	Tiempo de puesta en marcha			Tiempo de apagado		
	Encendido	Control de calidad	Proceso de lisis	Carga de reactivos	Fin de día	
Analizadores						Determinaciones
Variant II Turbo	10 min proceso manual	15 min	Proceso automatizado	15 min	10 min	40
Cobas 6000	Proceso automatizado	15 min	Proceso manual (20 s)	Proceso Manual 3 min	Proceso automatizado	102

Al registrar los datos relativos al tiempo de puesta en marcha de ambos analizadores, se encontró que el Variant II Turbo requiere de 25 min, incluyendo el encendido manual e inicialización del equipo (10 min) y la implementación de los procedimientos de control de calidad (15 min). Para el analizador Cobas 6000 el inicio de día se realiza de forma automatizada mediante un proceso de inicio a las 6:30 h, a lo que el personal técnico

encuentra listo el autoanalizador a su llegada. El proceso de control de calidad está integrado en el sistema, solicitándose junto con el resto de los parámetros, lo que requiere 15 min.

En cuanto al proceso de lisis de la muestra, en el Variant II turbo se lleva de forma automática al ingresar la muestra, lo que no ocurre en el equipo Cobas, en el que previamente personal calificado en el área, realizara un método tal vez rápido y simple pero que a la vez requiere de un gran adiestramiento y conocimiento de la técnica.

El tiempo de Apagado, incluyendo los lavados correspondientes y la recarga y sustitución de reactivos fue de 15 min en el Variant II turbo, sin contar el tiempo que se gasta cuando hay cambio de pre filtro (15 min) o cambio de columna (15 min). Lo que daría como resultado 45 min aprox. En el Cobas 6000 la reposición de reactivos para HbA1c fue de no más de 3 min, el cual se realiza junto con la carga del resto de los reactivos, y el proceso fin de día se realiza de forma automatizada.

Al evaluar el rendimiento de cada analizador, se encontró que el Variant II turbo es capaz de procesar 40 muestras /h, cifra que para el Cobas correspondió a 102 muestras/h.

Los cromatogramas obtenidos por el Variant II turbo requirieron de personal especializado con el fin de descartar la presencia de variantes de hemoglobina, y así obtener la validación de los datos para lo que también lleva más tiempo y dedicación tras cada resultado que la validación de los resultados obtenidos por el Cobas 6000 la cual se hace al finalizar todas las muestras.

A nivel económico se sabe, que tanto el equipo como el “kit” para el Variant II turbo es tres veces más caro en comparación con el equipo y kit para el Cobas, ya que aparte de reactivos, ocupa cada 2,500 muestras un cambio de columna analítica y cada 500 muestras cambio de pre filtro, y estas son muy sensibles por lo que un cambio en alguna solución buffer o cambio de reactivo (Kit), implica cambiar de igual manera estas dos, todo esto dándonos como resultado una mayor inversión en cuanto a equipo y material se refiere

8. CONCLUSIONES

Se compararon los resultados de hemoglobina glicada (HbA1c) en muestras pareadas, mediante los métodos inmunoturbidimetría y cromatografía líquida en alta resolución (HPLC) y con base en cálculos estadísticos, no se encontró diferencia significativa entre los resultados obtenidos por ambos métodos. Lo anterior se logró cumpliendo los objetivos específicos:

- Se determinó el porcentaje de HbA1c en los pacientes con sospecha clínica de DM2 mediante inmunoturbidimetría y HPLC.
- Se determinó que existe una correlación muy alta entre ambos métodos, así como una muy buena seguridad en nuestra prueba diagnóstica inmunoturbidimétrica al determinar los valores de VPP y VPN.
- Las características de practicabilidad y rapidez de análisis de muestras para la determinación de HbA1c por el método inmunoturbidimétrico en el Cobas 6000 lo convierten en una alternativa más práctica y eficiente, la optimización del tiempo de puesta en marcha diaria, así como el menor número de acciones de mantenimiento y servicio, reducen el tiempo del operador, agiliza el tiempo de procedimiento de las determinaciones de HbA1c y reduce el costo unitario de la prueba. Si bien, aunque el HPLC presenta la ventaja de poder detectar variantes de hemoglobina inusuales, es un instrumento exclusivo, no un analizador para múltiples propósitos.

El uso de la HbA1c en el diagnóstico y manejo de la diabetes es costoso, pero se lograría una reducción significativa de la morbilidad y mortalidad asociada con esta enfermedad, pero, para alcanzar estos objetivos es indispensable afinar las herramientas que como la HbA1c han demostrado a la sociedad su bondad. Si bien los resultados no se pueden extrapolar a otro hospital, pueden servir de base para que otras instituciones revisen sus métodos, y verifiquen su manejo y evalúen a su personal en el manejo de la turbidimetría.9. ANEXOS

9.1 Tabla de resultados generales de las muestras obtenidas por ambos métodos

#	Turbidimetría	HPLC
1	5.90	5.80
2	6.20	6.80
3	5.50	5.50
4	6.20	5.90
5	6.60	6.20
6	8.10	7.90
7	12.10	11.40
8	6.40	6.30
9	9.30	9.40
10	11.60	11.10
11	11.70	11.20
12	9.90	9.50
13	10.80	10.30
14	9.80	9.40
15	15.30	14.40
16	6.90	6.70
17	7.60	7.30
18	5.50	5.20
19	4.90	4.90
20	7.10	6.80
21	5.90	5.50
22	5.30	5.10
23	5.80	5.60
24	6.20	5.90
25	6.10	6.00
26	5.90	5.70
27	15.80	15.00
28	12.50	12.10
29	5.50	5.20
30	5.70	5.60
31	6.20	6.20
32	5.70	5.60
33	5.60	5.60
34	5.60	5.60
35	5.50	5.50
36	5.70	5.90
37	5.90	5.80
38	5.70	5.70
39	6.30	6.40
40	5.70	5.60

#	Turbidimetría	HPLC
41	5.20	5.20
42	5.30	5.10
43	6.10	6.00
44	6.40	6.20
45	5.70	5.60
46	5.70	5.50
47	5.00	5.20
48	5.90	5.80
49	5.90	5.90
50	6.30	5.90
51	5.30	5.30
52	5.50	5.40
53	5.70	5.80
54	6.00	5.90
55	5.60	5.50
56	9.90	9.90
57	13.50	13.40
58	7.40	7.60
59	8.20	8.30
60	9.60	9.70
61	5.60	5.80
62	6.60	6.20
63	11.10	10.90
64	5.80	5.80
65	5.30	5.40
66	6.40	6.50
67	5.40	5.50
68	5.60	5.80
69	5.70	5.70
70	5.70	6.10
71	6.40	6.70
72	5.90	6.10
73	5.50	5.60
74	5.20	5.60
75	6.10	6.20
76	5.90	6.00
77	6.40	6.40
78	5.70	5.90
79	5.60	5.60
80	6.00	6.00

#	Turbidimetría	HPLC
81	8.60	8.80
82	5.30	5.20
83	5.60	5.80
84	5.50	5.50
85	5.30	5.40
86	5.10	5.30
87	5.60	5.60
88	5.60	5.70
89	5.60	5.80
90	5.80	6.20
91	5.50	5.80
92	9.40	9.20
93	11.90	11.80
94	5.80	6.00
95	13.00	13.30
96	5.20	5.90
97	7.10	7.00
98	10.90	10.80
99	6.10	6.40
100	5.90	6.10
101	5.80	6.00
102	5.90	6.10
103	5.90	5.90
104	5.30	5.40
105	5.40	5.40
106	6.00	6.00
107	10.40	10.20
108	4.80	4.80
109	5.10	5.10
110	6.00	6.00
111	6.50	6.60
112	6.00	5.90
113	6.70	6.50
114	6.60	6.60
115	6.10	6.00
116	5.80	5.00
117	5.30	5.30
118	5.80	5.90
119	5.60	5.60
120	5.70	5.70

#	Turbidimetría	HPLC
121	5.80	6.00
122	10.80	10.80
123	6.60	7.00
124	5.90	6.10
125	5.90	6.10
126	6.10	6.40
127	5.50	5.50
128	5.70	5.70
129	5.70	5.60
130	12.40	12.30
131	5.70	5.80
132	5.80	5.70
133	5.80	5.90
134	6.20	6.40
135	6.10	6.10
136	5.40	5.40
137	7.80	7.60
138	11.60	11.30
139	9.10	9.00
140	8.50	8.30
141	7.30	7.20
142	6.40	6.20
143	5.90	5.70
144	13.80	13.40
145	5.40	5.40
146	6.40	6.50
147	8.10	8.00
148	5.90	5.90
149	6.20	5.90
150	6.50	6.50
151	5.70	5.70
152	11.40	11.30
153	9.30	9.20
154	11.10	11.10
155	8.40	8.50
156	10.40	10.20
157	10.50	10.10
158	8.10	8.20
159	8.10	8.10
160	10.60	10.40

#	Turbidimetría	HPLC
161	8.60	8.60
162	8.00	7.80
163	7.10	7.10
164	6.90	7.10
165	6.10	5.90
166	6.40	6.30
167	5.90	5.80
168	7.20	7.20
169	5.90	5.90
170	10.70	10.60
171	9.80	9.80
172	8.10	8.10
173	8.10	7.80
174	11.90	11.80
175	9.70	9.70
176	8.00	8.80
177	10.40	10.50
178	8.00	8.10
179	9.30	9.50
180	8.10	8.40
181	13.00	12.90
182	13.70	13.60
183	8.30	8.50
184	11.70	11.60
185	7.00	7.20

9.2 Carta de consentimiento informado para participación

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: Determinación de Hemoglobina glicada

Lugar y Fecha:

Numero de registro:

Objetivo del estudio: En la determinación de Hb glicada, comparar el método actual (turbidimetría) con el "Gold Standard".

Posibles beneficios que recibirá al participar en caso de colección de material biológico (si aplica): Resultado de hemoglobina glicada

No autorizo que se tome la muestra.

Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

Correo electrónico de participante:

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a: pQFB: Cristian Ivan Cazares Ulloa

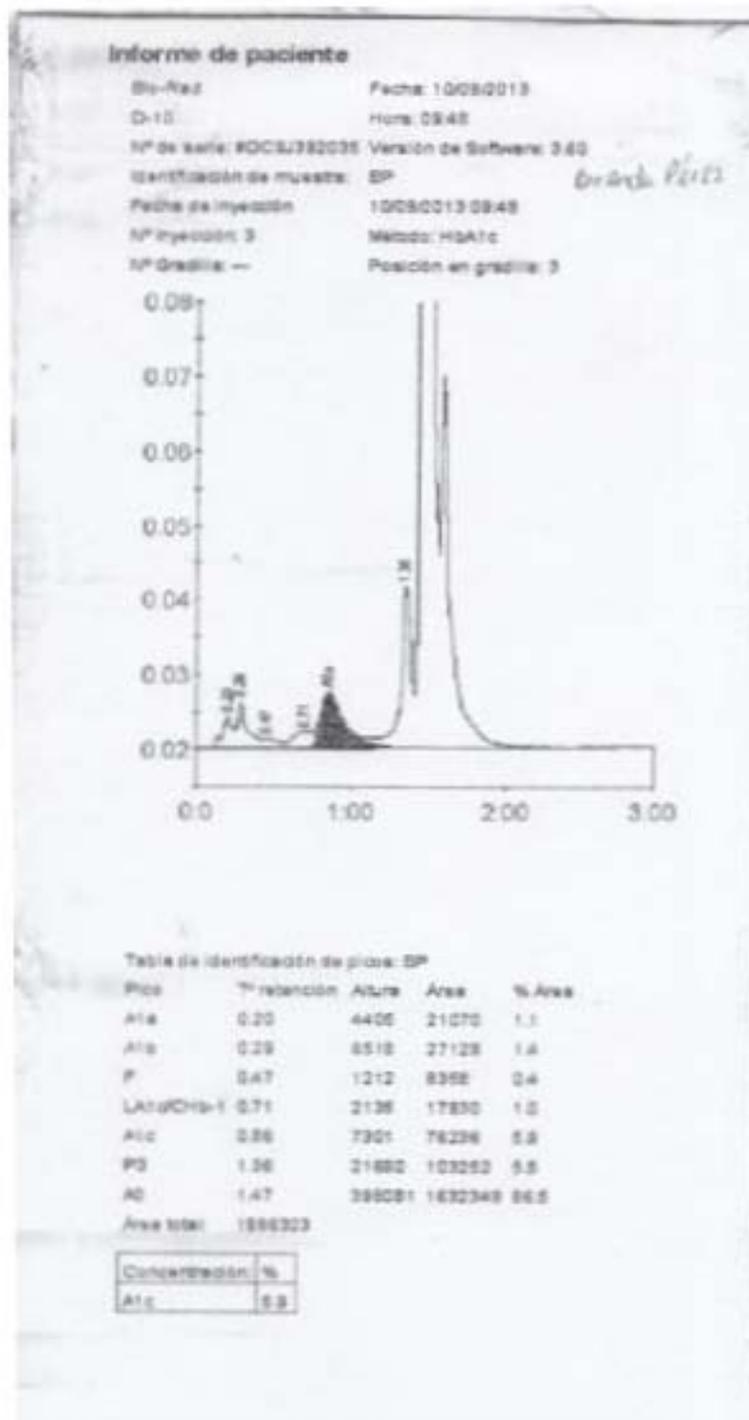
Telefono: 5549550003

Correo electrónico: garxcazares_260787@hotmail.com

Nombre y firma del sujeto de estudio.

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

9.3 ALGUNOS CROMATOGRAMAS RESULTANTES



Informe de paciente

Bio-Rad Fecha: 10/09/2013
 D-10 Hora: 08:54
 Nº de serie: #DCS2392035 Versión de Software: 3.60
 Identificación de muestra: AC *Appt. Coyle*
 Fecha de inyección: 10/09/2013 09:54
 Nº inyección: 5 Método: HSA1c
 Nº Gradilla: — Posición en gradilla: 5

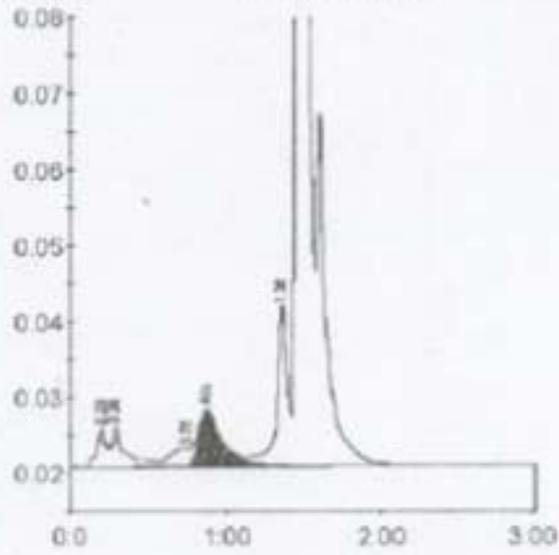


Tabla de identificación de picos: AC

Pico	T _r retención	Altura	Área	% Área
A1a	0.20	5195	23381	1.3
A1b	0.28	5466	31965	1.8
LA10CHO-1	0.76	2439	22455	1.2
A1c	0.88	7237	77724	6.2
P3	1.36	21470	102685	5.6
A0	1.47	389095	1853629	85.8
Área total:			1816751	

Concentración	%
A1c	6.2

Informe de paciente

Bio-Rad Fecha: 10/09/2013
 D-10 Hora: 09:57
 N° de serie: #DC3J392035 Versión de Software: 3.80
 Identificación de muestra: AP *Alicia Pérez*
 Fecha de inyección: 10/09/2013 09:57
 N° inyección: 6 Método: HPA1c
 N° Gradilla: — Posición en gradilla: 6

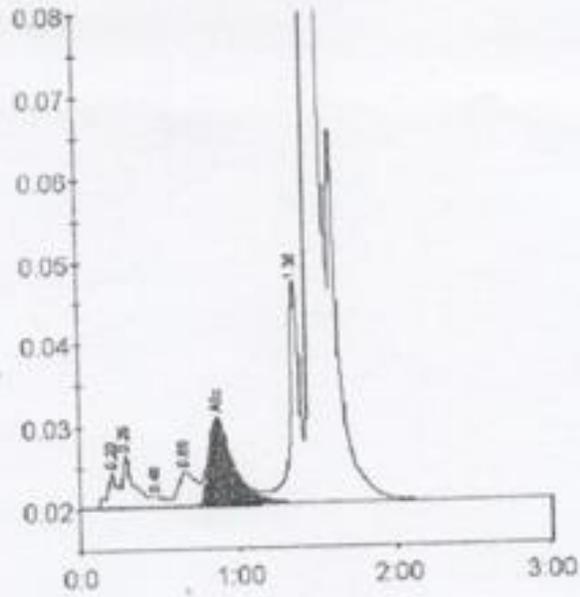


Tabla de identificación de picos: AP

Pico	Tª retención	Altura	Área	% Área
A1a	0.20	4381	16628	0.8
A1b	0.29	6637	36652	1.8
F	0.48	1303	7526	0.4
LA1d/CHb-1	0.66	4201	34049	1.7
A1c	0.87	10403	111763	7.9
P3	1.36	27236	117662	6.0
A0	1.47	412405	1649292	83.6

Área total: 1972472

Concentración:	%
A1c	7.9

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez Seijas, E., Gonzáles Calero, TM., Cabrera Rode, E., Conesa Gonzáles A.I., Parlá Sardiñas, J. y Gonzáles Polanco, E. (2009). Algunos aspectos de actualidad sobre la hemoglobina glucosilada y sus aplicaciones. *Rev. Cubana Endocrinología*, 20(3).
2. American Diabetes Association. (2017). Standards of Medical Care in Diabetes. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education*. Recuperado de : http://care.diabetesjournals.org/content/diacare/supPI/2016/12/15/40.Supplement_1.DC1/DC_40_S1_final.pdf
3. Best & Taylor. (14^a ed.). (2010). *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*. (pp.761-762). México: Editorial Médica Panamericana.
4. Asociación Latinoamericana de Diabetes. (2008). *Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2*. (2008 ed.). Washington: Guías ALAD. <http://conferenciasindromemetabolico.org/wp-content/uploads/2013/02/diagui-a-alad-pdf-march-4-2010-11-56-am-764k1.pdf>
5. Bayer Diabetes Care [BDC], (2013). Recuperado de: <http://www.bayer.com.uy/acerca-de-bayer/perfil-y-organizacion/bayer-healthcare.html>
6. Bio-Rad Laboratories (2015). Variant II turbo HbA1c Kit 2.0. Guía rápida, incertos.
7. Bioquimed. (2015). *Bases bioquímicas de los métodos para la determinación de hemoglobina glicosilada y lípidos*. Recuperado de: <https://bioquimed.wikispaces.com/Bases+bioqu%C3%ADmicas+de+los+m%C3%A9todos+para+la+determinaci%C3%B3n+de+hemoglobina+glicosilada+y+l%C3%ADpidos>
8. Calderón-Montero, A. (2007). Epidemiología, genética y mecanismos patogénicos de la diabetes mellitus. *Revista Española de Cardiología*, 7(H), 3-11.
9. Campuzano-Maya, G. & Latorre-Sierra, G. (2010). La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la diabetes. *Medicina & Laboratorio*. 16(5-6): 211-241. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2010/myl105-6b.pdf>.

10. Casanueva, E., Kaufer-H, M., Pérez-Lizaur, A. B., & Arroyo, P. (2008). Diabetes mellitus y nutrición. (3a ed.), *Nutriología Médica*. (pp. 473-500). México: Editorial Médica Panamericana.
11. Centelles, J.J, & Peralta, M.F. (2008). El milagro de la ingeniería genética. En Reinhard. (2a ed.), *Biotecnología para principiantes*. (p. 73). México: Editorial Reverté.
12. Contreras-Hernández, J., & Saldaña-García, C. (2004). Evolución Secular de los Hábitos Alimentarios en el Mundo Occidental. En A. Miján de la Torre (2a ed.), *Nutrición y Metabolismo en Trastornos de la Conducta Alimentaria*. (pp. 27-38). Barcelona: Glosa.
13. Costa-Lima, E., & Ricart-Engel, W. (2009). Fisiopatología y clínica general de la diabetes mellitus. En F. Tébar Massó & F. Escobar-Jiménez, (1a ed.), *La diabetes Mellitus en la Práctica Clínica*. (pp. 53-73). Madrid: Médica Panamericana.
14. Díaz-Portillo, J., Fernández del Barrio, M., & Paredes-Salido, F. (1997). Metabolismo de los Hidratos de Carbono. (3a ed.), *Aspectos Básicos de Bioquímica Clínica*. (pp. 34-37). Madrid: Díaz de Santos.
15. Durruty, P., & García, M. (2009). Prevención de la Diabetes Mellitus tipo 2. *Revista médica Clínica las Condes*, 20(5), 580-587.
16. Dyck, R., Osgood, N., Lin, T., Gao, A & Stang M. (2010). Epidemiology of diabetes mellitus among first nations and non-first nations adults. *CMAJ's*, 182(3), 249-256.
17. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición [ENSANUT], (2016). Recuperdo de: http://promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/doctos_2016/ensanut_mc_2016-310oct.pdf
18. Federación Internacional de Diabetes [FID], (2015). Recuperado de: https://www.fundaciondiabetes.org/upload/publicaciones_ficheros/95/IDF_Atlas_2015_SP_WEB_oct2016.pdf
19. Fuentes-Arderiu, X., Castiñeiras-Lacambra, M., & Queraltó-Compañó, J. (1998). Metabolismo de la hemoglobina. (2ª ed), *Bioquímica clínica y Patología molecular*. (pp. 767-768). Barcelona: Reverté.
20. Gail, G.G. (2003). Pruebas Biológicas. En Gennaro, A.R. (2ª ed.), *Remmington Farmacia*. (p.631). México: Editorial Panamericana.

21. García, C. (2012, Diciembre, 7). La insulina y su señalización: mecanismos de transducción de la señal y efectos metabólicos diciembre. Recuperado de <http://derefexion.wordpress.com/2012/12/07/la-insulina-y-su-senalizacion-mecanismos-de-transduccion-de-la-senal-y-efectos-metabolicos/>
22. Garry W, Mosca A, Weykamp C y Goodall I. (2007). HbA_{1c} Standardization: History, Science and Politics. *Clin Biochem Rev*, 28(4), 163-168.
23. García, M.J., Iglesias, M.C., & Moratinos, J. (2008). Fármacos antidiabéticos. En Velázquez, P.L., Moreno, A., Lizasoani, I., Leza, J.C., Moro, M.A. (18^a ed.), *Farmacología Básica y Clínica*. (p. 625). México: Editorial Panamericana.
24. Goday, A., & Flores, J. (2009). Epidemiología de la diabetes mellitus. En Fisiopatología y clínica general de la diabetes mellitus. En F. Tebár Massó & F. Escobar-Jiménez, (1^a-ed), *La Diabetes Mellitus en la Práctica Clínica*. (p.14). Madrid: Médica Panamericana.
25. González-Fleha, L., Castello, P., Gangliardino, J., & Rossi, P. (2000). La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. *Ciencia al Día Internacional*, 3(2), 1-17.
26. Helkamp, G.M. (2011). Transporte de Oxígeno. En Baynes, J.W., & Dominiczak, M.H. *Bioquímica Médica* (3^a ed.), (p. 54) España: Editorial Elsevier.
27. Henry DE, Hernan S, and Zak K. Rapid Quantitation of Hemoglobin S in Sickle Cell Patients Using the Variant II Turbo Analyzer. *Annals of Clinical & Laboratory S*. 2009; 39:1:32-38
28. Kim, S., Lee, K., Park, W & Cho, W. (2008). Diagnostic value of glyated haemoglobin HbA_{1c} for the early detection of diabetes in high-risk subject. *Diabet Med*, 25(8), 997-1000.
29. Organización Mundial de la Salud [OMS], (2016). Recuperado de: <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2016/event/es/>
30. Ortega-López, C. (2012). *La incidencia de diabetes en Almería* (Tesis de fin de grado de Enfermería). Universidad de Almería, España.
31. Pallardo-Sánchez, L., Lucas-Morante, T., Marazuela Azpiroz, M., Rovira-Loscos, A. (2010). Epidemiología y etiopatogenia de la diabetes mellitus. En L. Pallardo Sanchez, (2^a-ed.) *Endocrinología Clínica*, (p. 253). Madrid: Díaz de Santos

32. Pérez, I., Rodríguez, F., Díaz, E., & Cabrera R. (2009). Mitos y realidades de la hemoglobina glucosilada. *Med Int Mex*, 25(3), 202-209.
33. Pérez-Ruiz, M., & Ruiz-Laiglesia, J. (2008). Ejercicio y diabetes. En J. López Chicharro. & L. López Mojares. *Fisiología clínica del ejercicio*. (p. 303). Madrid: Médica Panamericana.
34. Poretsky L. (2010). Principles of diabetes mellitus. *NYS*, 163–168.
35. Rodríguez, J., & Escalada, J. (2009). Fármacos secretagogos de insulina. En F. Tebár Massó & F. Escobar-Jiménez, (1ª-ed.), *La Diabetes Mellitus en la Práctica Clínica*. (pp. 141-142). Madrid: Médica Panamericana.
36. Roche Laboratories (2015). Hemoglobin A1c III. Insertos.
(http://labmed.ucsf.edu/labmanual/db/resource/proc-HgbA1c_NU_VariantII.pdf)
37. Sabán-Ruiz, J. (2009). *Control global del riesgo cardiometabólico*. (pp. 699-763). España: Editorial Díaz de Santos
38. Sanz-Sánchez I., & Bascones-Martínez A. (2009). Diabetes mellitus: Su implicación en la patología oral y periodontal. *Scientific Electronic Library Online*, 25(5), 249-263. Recuperado de <http://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v25n5/original2.pdf>.
39. Selvin, E., Steffes, M., Zhu, H., Matsushita, K., Wagenknecht, L., Pantow, J., Coresh, J., & Brancati, F. (2010). Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. *N Engl J Med*, 362(9), 800.
40. Serra, R. (2010, junio, 19). Fisiología Médica II. Recuperado de <http://www.Webfisio.es/fisiologia/endocrino/textos/textos/insulina.htm>
41. Triana-Mantilla, M. (2001). La hiperglicemia y sus efectos tóxicos: Un concepto patogénico para la micro y macroangiopatía diabética. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vasculat*, 2(2), 131-141.
42. Vargas, E., Gómez, J., & Conde, J. (2014). Medición de la hemoglobina glucosilada capilar como tamizaje en diabetes mellitus tipo 2. *Med Int Mex*, 30(5), 38-545.
43. Welsh, U. (2010). Sistema Endócrino. (2ª ed.). Histología. (pp. 443-447). México: Editorial Panamericana.

