



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA**

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

SISTEMA UNIVERSITARIO MINERVA

**“Comparación de tres métodos comerciales para la
determinación de HbA1c en pacientes diabéticos”**

TESIS

Que para obtener el Grado Académico de

LICENCIADO EN QUIMICOFARMACOBIOLOGO

P r e s e n t a

Mayra Denisse Santiago Leal

Directora de Tesis

M.C. Ma. Susana Pérez Fernández

Asesora de tesis

D.C. Addí Rhode Navarro Cruz

Puebla, Puebla

Diciembre, 2018

DEDICATORIA

A Dios padre:

Porque sin ti no soy nada, Tú me creaste, guías mi camino día a día, tú que me proteges y me bendices, tú que sabes cuál es mi destino, por eso estoy aquí terminando mi carrera. Gracias por nunca dejarme rendir, y siempre protegerme de todo mal.

A mis padres:

Lic. Guillermo Santiago Vázquez y Mtra. María Buenaventura Leal Ruiz. No tengo las palabras para decirles todo lo agradecida que estoy, sus sacrificios han valido la pena, ahora estoy aquí forjándome como profesionista, todo lo que soy y seré es gracias a ustedes, su apoyo incondicional, todos esos obstáculos que hemos pasado juntos como la distancia, el tiempo, pero todo ha valido la pena, espero que siempre estén orgullosos de mi porque yo siempre lo estaré de ustedes.

A mis abuelos:

Minerva Ruiz Salazar, Gracias por quererme como una madre, por cuidarme y estar en los momentos difíciles, pero aun así hemos salido adelante y quiero que este logro también sea de usted. A mis abuelos que ya no se encuentran con nosotros, (†) Arturo Leal Romero, (†) Josefa Salazar Castillo, (†) Raymundo Cruz Córdoba. Siempre estarán en mi corazón y mente, empezamos esto juntos y sé que celebran mi culminación de mi carrera desde el cielo. Gracias porque son los pilares de la familia y siempre me apoyaron en todo y me ayudaron mientras estudiaba lejos de ustedes.

A mis hermanos:

Nimbe Valeria Santiago Leal y Guillermo Salim Santiago Leal.

Les dedico mi éxito porque he aprendido de ustedes, el apoyo, la confianza y alegría que me dan me hace sentirme completa, los amo hermanos y siempre estaré para ustedes. Sean firmes en sus metas y verán que un día así como me ven, ustedes estarán celebrando sus triunfos.

A mi familia:

A mis tíos, primos, y amigos, Les agradezco y dedico mi éxito, porque sin ustedes y sus consejos, regaños, risas y demás, no sería posible estar aquí. Salud y mucha felicidad para todos y gracias por la compañía que me brindan al ser parte de mí.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis: MC. María Susana Pérez Fernández

Por el apoyo, la confianza y la oportunidad que me brinda al poder trabajar con usted para realizarme como profesional. Encontrar personas como usted en mi camino es un regalo. Mis más sinceros agradecimientos.

A mi codirector de tesis: D.C. Addí Rhode Navarro Cruz

Gracias por la ayuda brindada, sus conocimientos fueron fundamentales para realizar mi tesis, la disponibilidad, demuestran el profesionalismo y amor a su carrera. Sin duda alguna es excelente en lo que hace y siga formando mejores profesionistas para este mundo.

Al Lic. Ashuin Kammar García

Por su contribución estadística a mi investigación y por la información brindada para poder desarrollarlo.
Muchas gracias.

Mesa de jurado:

Gracias por brindarme un tiempo para evaluar mi desempeño de manera objetiva, sus aportaciones son muy importantes para reforzar mis conocimientos.

RESUMEN

Se realizó un estudio observacional transversal, descriptivo, utilizando estadística no paramétrica con el objetivo principal de comparar los tres métodos comerciales para determinación de HbA1c que cuenta el Laboratorio de Análisis Clínicos de Hospital Universitario de Puebla (HUP), utilizando una muestra de 200 pacientes voluntarios que acudieron al laboratorio, en el periodo de septiembre-octubre del 2018. Los pacientes voluntarios debieron cumplir en su solicitud la determinación de HbA1c, además de sus estudios adicionales como glucosa sérica en ayunas, perfil de lípidos (colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL, VLDL). Utilizando este criterio de selección, se continuó reforzando el estudio con datos extras de los pacientes como: peso, talla, IMC y edad. Los métodos utilizados en la fase analítica para la comparación de métodos fueron: determinación de HbA1c por el método espectrofotométrico de la casa comercial Siemens equipo Advia 1800, método cromatográfico de la casa comercial Bio Rad equipo D-10 y método electroforético de la casa comercial Sebia equipo Capillarys 2 flex-piercing. Para la determinación de glucosa en ayunas y perfil de lípidos se utilizó el método espectrofotométrico de la casa comercial Siemens equipo advia1800.

Los datos fueron comparados por U de Mann-Whitney en las variables continuas y por X^2 o prueba exacta de Fisher en variables categóricas. Los métodos fueron comparados por una prueba de Friedman, y comparaciones bivariadas por pares.

Las comparaciones de HbA1c por los tres métodos fueron estadísticamente diferentes entre cada uno. Al evaluar la interacción del estado de nutrición y la dislipidemia mixta, se observaron cambios en los valores de HbA1c en todos los métodos, sugiriendo que el IMC y las alteraciones de los triglicéridos y el colesterol influyen en la glucemia de los pacientes.

ÍNDICE

I. Introducción	1
II- Justificación	3
III. Objetivo General	4
IV. Revisión Bibliográfica	5
4.1. Diabetes	5
4.1.1. Definición	5
4.1.2 Clasificación	5
4.1.3 Diabetes como problema de salud en México	6
4.1.4 Atlas de diabetes	6
4.1.5 Factores de riesgo	9
4.1.6 Obesidad, el enemigo detrás de la diabetes	10
4.1.7 Complicaciones de la diabetes	10
4.1.8 Economía de la diabetes	11
4.1.9 Diagnostico de diabetes	12
4.1.10 Recomendaciones sobre el uso de HbA1cen pacientes con diabetes	15
4.1.11 HbA1c como prueba de diagnostico	16
4.1.12 HbA1c como prueba de seguimiento	16
4.2 HbA1c	16
4.2.1 Definición	16
4.2.2 Antecedentes	17
4.2.3 Estandarización	19
4.2.4 Terminología	21
4.2.5 Clasificación	21
4.2.6 Glicación	23

4.2.7 Características de la glicación	23
4.2.8 Bioquímica	24
4.2.9 Productos de glicación avanzada	27
4.3 Análisis clínicos de la HbA1c	28
4.3.1 Métodos basados en la diferencia de carga eléctrica	29
4.3.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)	31
4.3.3 Métodos inmunológicos	32
V. Diagrama de trabajo	35
VI. Material y Métodos	36
VII. Metodología	37
VIII. Resultados y Discusión de Resultados	39
IX. Conclusión	51
X. Bibliografía	52
Anexos	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de diabetes en el mundo	7
Figura 2. Top 10-países con mayor incidencia en adultos diabéticos	8
Figura 3. Etapa inicial del proceso de glicación	26
Figura 4. Mecanismo de formación de la base de Schiff	26
Figura 5. Formación del producto de Amadori	27
Figura 6. Mecanismo de reordenamiento de la base de Schiff hasta formar el producto de Amadori	27
Figura 7. Gráfico de un resultado de electroforesis por equipo Capillarys 2-flex piercing en un paciente normal	30
Figura 8. Gráfico de un resultado de electroforesis por equipo Capillarys 2-flex piercing en una paciente con una variante de hemoglobina	30
Figura 9. Gráfico de un resultado por HPLC, equipo D-10 en un paciente normal	32
Figura 10. Determinación de HbA1c por método de inmunoturbidimetría	33

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Top 10-países con mayor incidencia en adultos diabéticos (20-79 años de edad) y estimación para el año 204	9
Tabla 2. Costos de la diabetes en América latina	11
Tabla 3. Pruebas para el diagnóstico de diabetes mellitus	12
Tabla 4. Tipos de hemoglobina glicada.	22
Tabla 5. Principales interferentes en la determinación de HbA1c	31
Tabla 6. Principales interferentes en la determinación de HbA1c	34
Tabla 7. Comparación de las variables clínicas y de laboratorio entre hombres y mujeres	40

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1. Prevalencia de diabetes por género	39
Gráfico 2. Clasificación del IMC basados en la NOM-043-SSA2-2012	41
Gráfico 3. Glucosa sérica en ayunas basada en la clasificación de la ADA 2017.	42
Gráfico 4. Comparación de los tres métodos basado en la clasificación ADA 2017	43
Gráfico 5. Comparación de los porcentajes de HbA1c entre los distintos métodos de medición	44
Gráfico 6. Clasificación de colesterol basado en la NOM-037-SSA2-2002	46
Gráfico 7. Clasificación de triglicéridos basado en la NOM-037-SSA2-2002	47
Gráfico 8. Clasificación de colesterol HDL basado en la NOM-037-SSA2-2002	48
Gráfico 9. Clasificación de colesterol LDL basado en la NOM-037-SSA2-2002	49
Gráfico 10. Comparación de los porcentajes de HbA1c en los estados de nutrición y por la presencia de dislipidemia mixta	50

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son un reto que enfrenta el sistema de salud, y algunos factores que las afectan son: el gran número de casos afectados, su creciente contribución a la mortalidad, la complejidad y costo elevado de tratamientos. Su emergencia como problema de salud pública es el resultado de cambios sociales y económicos que modifican el estilo de vida de un gran porcentaje de la población. Las ECNT (diabetes, enfermedades cardiovasculares y enfermedad vascular cerebral) pueden modificarse con acciones que cambien el curso clínico de las condiciones que determinan su incidencia, entre ellas el sobrepeso y la obesidad, las concentraciones anormales de los lípidos sanguíneos, la hipertensión arterial, el tabaquismo, el sedentarismo, la dieta inadecuada y el síndrome metabólico. Esta característica introduce oportunidades para la prevención y el desarrollo de herramientas pronósticas ^[1].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que el número de personas con diabetes mellitus tipo 2 en el mundo es de 171 millones y pronostica que aumentará a 366 millones en el año 2030 ^[2]. En México la diabetes se postula como la primera causa de muerte es una enfermedad que no distingue sexo, raza, edad ni posición socioeconómica, que genera costos excesivos a nivel mundial ^[3].

La terapia para la diabetes se basa en el mantenimiento a largo plazo de la glucemia lo más parecida a la de un paciente normal. Se sabe que la glucosa en ayunas es un estudio que indica el estado del paciente en horas previas, pero no puede ser una prueba de valor ya que no refleja el verdadero estado de la regulación de la glucemia por múltiples causas como el ayuno, ^[4] que suele tener variaciones importantes a lo largo del día en un mismo individuo (la curva de tolerancia oral a la glucosa es costosa e incómoda para el paciente) ^[5], la administración de hipoglucemiantes orales o de insulina. Un índice específico puede ser la medición de hemoglobina A1c ya que es proporcional al nivel de glucosa en sangre en un periodo de 3 meses ^[4]. Cuanto más alto sea el nivel de HbA1c, mayor será el riesgo para el paciente de desarrollar complicaciones ^[6]. Diversos estudios

epidemiológicos primarios con base poblacional y estudios clínicos y revisiones sistemáticas reportan que la HbA1c tiene un buen rendimiento para el diagnóstico y predicción de diabetes mellitus tipo 2 con valores de sensibilidad y especificidad superiores al 80%.

A partir del momento en que la HbA1c fue mejorando su desempeño analítico y se difundió su conocimiento, rápidamente se convirtió en el “estándar de oro” para evaluar la respuesta al tratamiento instalado y así lo ha ratificado en los últimos años.

Determinar con qué instrumento y con qué tipo de prueba medir la HbA1c es una decisión de suma responsabilidad por parte del laboratorio clínico, si se tiene en cuenta que hay una gama de posibilidades que pueden modificar el resultado: la tecnología utilizada, el desempeño analítico, el impacto en la calidad analítica del resultado y el costo de la prueba, es importante para tener pruebas confiables y aplicables a los pacientes ^[8].

II. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con la organización mundial de la salud (OMS) la humanidad se enfrenta a una grave epidemia de diabetes. El aumento exagerado de la diabetes se relaciona con el crecimiento y el envejecimiento de la población mundial, la urbanización, y sobre todo con el incremento de la obesidad y la inactividad física, y lo más grave, que un número importante de individuos tendrán diabetes sin que ésta se les haya diagnosticado.

La importancia de la hemoglobina HbA1c como marcador del control glucémico en la diabetes mellitus cobró énfasis en los resultados del Estudio de Control y Complicaciones de la Diabetes (DCCT) y su contribución epidemiológica de la Intervención y Comunicaciones de la Diabetes (EDIC), así como el Estudio Prospectivo de Diabetes en el Reino Unido (UKPDS). Los resultados demostraron que el control intensivo de la glucemia reduce significativamente el riesgo de complicaciones microvasculares a largo plazo, tanto en la diabetes tipo 1 como tipo 2.

Es esencial que la HbA1c se mida con precisión y exactitud tanto para realizar el diagnóstico de diabetes como para distinguir un control glucémico óptimo por lo tanto, el profesional de laboratorio debe asegurar que un cambio en esta magnitud constituya una modificación clínica y no una variación analítica del método empleado.

La verificación del cumplimiento de los estándares internacionales es importante para que la prueba resulte en datos clínicos confiables, tanto para el diagnóstico como para el monitoreo de los pacientes.

III. OBJETIVO GENERAL

Comparar tres métodos comerciales (espectrofotométrico, electroforético y cromatográfico), para la determinación de HbA1c en pacientes diabéticos:

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la concordancia analítica de tres métodos comerciales de HbA1c (espectrofotométrico, electroforético y cromatográfico), con trazabilidad al método de referencia de la IFCC.
2. Examinar si el desempeño analítico de los tres métodos comerciales de HbA1c se modifica al realizar la estratificación por IMC, %grasa corporal, dislipidemia mixta, perfil de lípidos o alteración de la glucosa en ayunas.
3. Evaluar si existen asociaciones entre la hemoglobina glicosilada y el perfil de lípidos, dislipidemia mixta y el índice TGL/HDL.

IV. REVISION BIBLIOGRAFICA

4.1 DIABETES MELLITUS

4.1.1 Definición

La diabetes se define como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, que se presenta como consecuencia de defectos en la secreción de insulina, de la acción de la insulina ^[7], o de ambos, que a largo plazo con disturbios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas (lípidos) ^[8] y proteínas, se asocia con daño, disfunción o falla de varios órganos, especialmente los ojos, riñones, el sistema nervioso, el corazón y los vasos sanguíneos ^[9].

4.1.2 Clasificación

La diabetes se puede clasificar en las siguientes categorías generales:

1. Diabetes tipo 1 (causada por la destrucción de las células β autoinmunes, que suele provocar una deficiencia absoluta de insulina)
2. Diabetes tipo 2 (causada por una pérdida progresiva de la secreción de insulina por células β , con frecuencia superpuesta a una situación basal de resistencia a la insulina).
3. Diabetes mellitus gestacional (DMG) (diagnosticada durante el segundo o tercer trimestre del embarazo que no fue diabetes claramente manifiesta antes de la gestación).
4. Otros tipos específicos de diabetes por otras causas, por ejemplo: síndromes de diabetes monogénica (como diabetes neonatal, diabetes juvenil de inicio en la madurez), enfermedades del páncreas exocrino (como la fibrosis quística) y diabetes inducida por fármacos o productos químicos (como el uso de glucocorticoides, en el tratamiento de VIH/sida o después de un Transplante de órganos) ^[10].

4.1.3 Diabetes como problema de salud mundial, en México

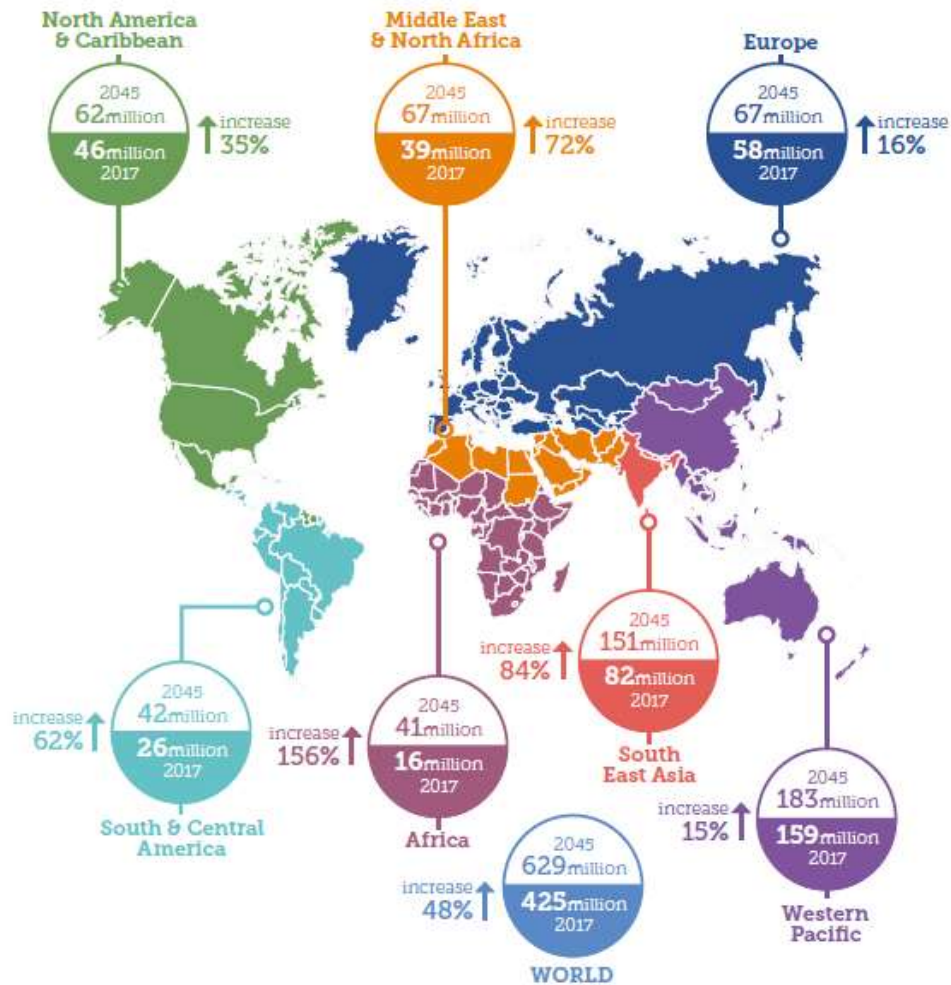
En el mundo hay más de 346 millones de personas con diabetes. Se estima que, en 2004, más de 3.4 millones de personas murieron por causa de la enfermedad; la cifra probablemente se duplicará para el 2030. En México, la diabetes es ya el padecimiento con tasa más alta de mortalidad.

Un estudio preparado por investigadores del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) con base de los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006 ^[11], indica que la prevalencia de diabetes tipo 2 fue de 14.4% en personas de 20 años o más, lo que implica que en 2006 había aproximadamente 8.9 millones de personas con diabetes. Además, se estima que entre el 30 y el 55% de las personas con diabetes no se dan cuenta de que padecen la enfermedad hasta que se le presentan complicaciones ^[13].

4.1.4 Atlas de Diabetes

El Atlas de la Diabetes de la FID es la fuente de evidencia sobre la carga de la diabetes. Se producen estimaciones mundiales, regionales y nacionales para la prevalencia de diabetes, tolerancia a la glucosa (IGT), diabetes no diagnosticada, mortalidad, gasto en atención médica, hiperglucemia en el embarazo y diabetes tipo 1 en niños y adolescentes.

Se ha mejorado la metodología para la 8ª edición del Atlas de la Diabetes de la FID. La relación de riesgo relativo de mortalidad se ha actualizado, el grupo de niños y adolescentes se ha ampliado a 0-19 años, y las estimaciones de prevalencia de diabetes entre el grupo de 18-99 años se han calculado además de la del grupo de edad 20-79 ^[12].



Diabetes by age

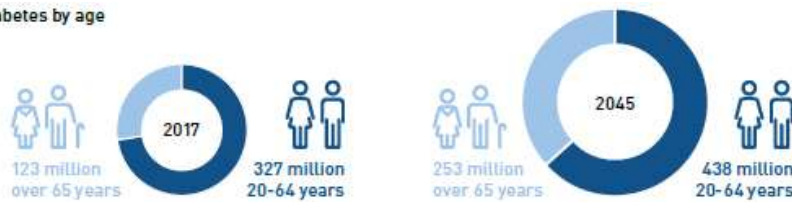


Figura 1. Prevalencia de diabetes en el mundo. Se muestra un rango de 20-79 años, y un incremento de diabetes hasta el año 2045 en porcentajes alarmantes, implicando gastos económicos excesivos, aumento de servicios médicos, deficiencia de centros de salud, disminución de la esperanza de vida, etc.

Tomado de: IDF Diabetes Atlas Eighth edition 2017.

México ocupa actualmente el quinto lugar mundial en la prevalencia de diabetes 2017 [12] (Figura 2). Este es un sitio alarmante, y más aún cuando las proyecciones de los especialistas internacionales refieren que para el año 2045, el país ocupará el cuarto lugar (Tabla 1).

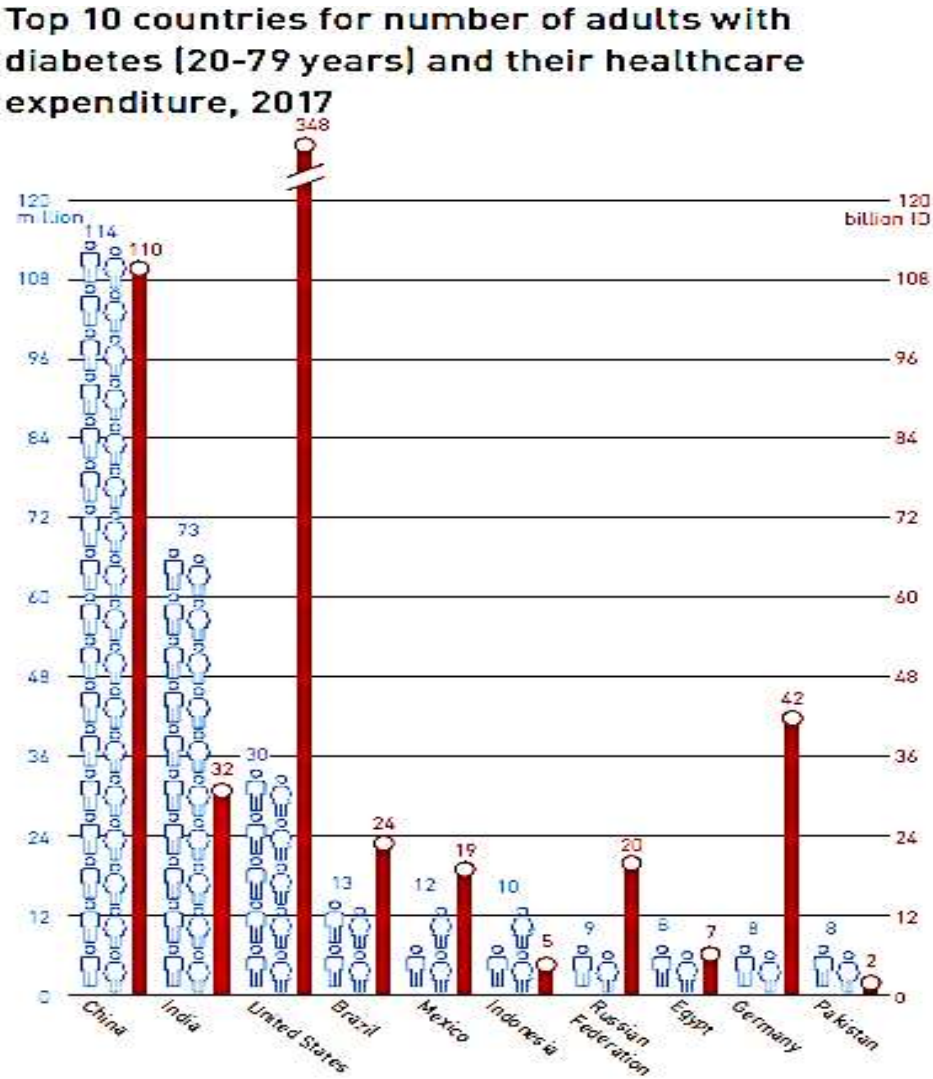


Figura 2. Top 10-países con mayor incidencia en adultos diabéticos

Tomado de: IDF Diabetes Atlas Eighth edition 2017.

Tabla 1. Top 10-países con mayor incidencia en adultos diabéticos (20-79 años de edad) y estimación para el año 2045

2017			2045		
Rank	Country/territory	Number of people with diabetes	Rank	Country/ territory	Number of people with diabetes
1	China	114.4 million (104.1-146.3)	1	India	134.3 million (103.4-165.2)
2	India	72.9 million (55.5-90.2)	2	China	119.8 million (86.3-149.7)
3	United States	30.2 million (28.8-31.8)	3	United States	35.6million (33.9-37.9)
4	Brazil	12.5 million (11.4-13.5)	4	Mexico	21.8 million (11.0-26.2)
5	Mexico	12.0 million (6.0-14.3)	5	Brazil	20.3 million (18.6-22.1)
6	Indonesia	10.3 million (8.9-11.1)	6	Egypt	16.7million (9.0-19.1)
7	Russian Federation	8.5 million (6.7-11.0)	7	Indonesia	16.7million (14.6-18.2)
8	Egypt	8.2million (4.4-9.4)	8	Pakistan	16.1 million (11.5-23.2)
9	Germany	7.5 million (6.1-8.3)	9	Bangladesh	13.7 million (11.3-18.6)
10	Pakistan	7.5 million (5.3-10.9)	10	Turkey	11.2 million (10.1-13.3)

Tomado de: IDF Diabetes Atlas Eighth edition 2017.

4.1.5 Factores de riesgo

- Antecedentes familiares de diabetes (20%)
- Obesidad (IMC>25)
- Inactividad física habitual
- Etnicidad
- Hipertensión (presión arterial \geq 140/90 mmHg)
- Concentración de colesterol HDL menor a 35 mg/dL
- Concentración de triglicéridos > 250 mg/dL
- Antecedentes de enfermedad vascular
- Índice de cintura cadera >80 cm en mujeres y hombres \geq 90 cm

4.1.6 Obesidad, el enemigo detrás de la diabetes

La diabetes tipo 2 está asociada con el consumo excesivo de azúcares y grasa, con un estilo de vida sedentario y, consecuentemente con la presencia de obesidad. Diversos estudios han demostrado que existe una relación estrecha y directa entre el Índice de Masa Corporal (IMC), un indicador que relaciona la estatura y el peso con el riesgo de padecer diabetes [33].

El hecho de que la obesidad sea una de las principales causas de diabetes es una mala noticia para nuestro país, ya que de acuerdo con estimaciones realizadas seis de cada diez mexicanos adultos presentan ya sea sobrepeso, u obesidad, sin importar su nivel de ingreso [13].

4.1.7 Complicaciones de la Diabetes

- Manifestaciones microvasculares

Dentro de este grupo se incluyen la retinopatía con posibilidad de evolucionar a ceguera, la nefropatía con posibilidad de evolucionar a insuficiencia renal crónica y la neuropatía con posibilidad de evolucionar a complicaciones como úlceras en los pies, amputaciones de extremidades, artropatía de Charcot y manifestaciones de disfunción autonómica, incluida la disfunción sexual. En la mayoría de estas complicaciones hay una buena correlación con la severidad y la duración de la hiperglucemia y puede aparecer entre 5 a 10 años después de haberse iniciado la enfermedad.

- Manifestaciones macrovasculares

A diferencia de las manifestaciones microvasculares que son específicas de la diabetes, las manifestaciones macrovasculares, como la enfermedad coronaria, la trombosis y la hipertensión arterial no son exclusivas de la diabetes. Además de ser una causa muy importante de mortalidad relacionada con la diabetes conlleva a un alto costo social y económico [9].

4.1.8 Economía en diabetes

Los altos costos en salud y el comportamiento demográfico en México, en el que se advierte un cambio en la pirámide poblacional, agregara mayores condiciones de riesgo para la población adulta. Tales incidencias aumentaran demanda en servicios de atención para diabetes en el corto, mediano y largo plazo.

Esto se ha convertido en una epidemia mundial debido a los altos índices de muertes y la creciente demanda de servicios que se han registrado en los últimos 10 años. En efecto, para cuando se diagnostica la diabetes y sus complicaciones, los costos para su tratamiento son muy elevados y el paciente va perdiendo sus años-vida productivos representando una enorme carga tanto para el individuo y su familia como para el sistema de salud y la sociedad en general (tabla 2) ^[14].

Tabla 2. Costos de la diabetes en América latina

ITEM	SSA(1)	IMSS(2)	ISSSTE(3)	USUARIOS(4)	Seguros Privados	TOTAL
	n(351,172)	n(443,279)	n(175,607)	n(249,619)	NA*	
COSTOS DIRECTOS (CD)						
Consulta/ Diagnóstico	7,101,113	16,029,089	3,750,300	31,061,914	1,792,032	59,734,448
Medicamentos	15,813,331	35,749,875	8,351,475	69,234,743	3,994,310	133,143,734
Hospitalización	4,747,670	10,716,748	2,507,381	20,767,414	1,198,118	39,937,331
Complicaciones	13,125,433	29,627,572	6,931,914	57,413,683	3,312,326	110,410,928
SUBTOTAL CD	40,787,547	92,123,384	21,541,070	178,477,754	10,296,786	343,226,541
COSTOS INDIRECTOS (CI)						
Costos por mortalidad prematura	2,267,624	5,326,703	1,217,070	10,811,632	NA*	19623029
Costos por discapacidad permanente	47,188,661	110,847,272	25,326,919	225,842,994	NA	409205846
Costos por discapacidad temporal	712,395	1,673,432	382,353	3,603,879	NA	6372059
SUBTOTAL CI	50,168,680	117,847,407	26,926,342	240,258,505	NA	43520093
COSTOS TOTALES	90,956,227	209,970,791	48,467,412	429,033,045	NA	778427475

Tomado de: Arredondo y De Icaza 2011. **1=Secretaria de Salud, 2=Instituto Mexicano del Seguro Social, 3=Instituto de servicios y Seguridad Social para los Trabajadores del Estado, 4=Gasto del bolsillo de usuarios en instituciones privadas de salud, *=No aplica las consecuencias financieras de la diabetes** Serian de mayor impacto para el IMSS, siguiendo en orden de importancia la SSA y finalmente el ISSSTE.

4.1.9 Diagnóstico de diabetes

Desde 1997 el comité de expertos de la American Diabetes Association (ADA) y un poco más tarde, el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), establecieron tres únicos métodos diagnósticos de diabetes mellitus y cada uno de ellos debe confirmarse en los días subsiguientes por cualquiera de los tres métodos. En la actualidad la ADA ha incluido la medida de la HbA1c como un nuevo método para definir el diagnóstico de la diabetes mellitus. Cada año, publica en enero una serie de artículos en los que declara su posición ante diversos aspectos de la diabetes y su manejo. En enero del 2010 sugirió retirar el término “prediabetes” y sustituirlo por el término “riesgo aumentado de diabetes” [15].

Diagnóstico de diabetes mellitus por la ADA:

- Glucosa en ayuno
- Glucosa al azar
- Curva de tolerancia oral a la glucosa 2 horas con carga de 75 g (PTGO).
- HbA1c

Tabla 3. Pruebas para el diagnóstico de diabetes mellitus

Prueba diagnóstica	Riesgo bajo de diabetes tipo 2	Riesgo aumentado de diabetes tipo 2	Diabetes mellitus tipo 2
Glucosa en ayuno	< 100 mg/dL	100 a 125 mg/dL	≥ 126 mg/dL
Glucosa 2 horas poscarga de 75g	< 140 mg/dL	140 a 199 mg/dL	≥ 200 mg/dL
Hemoglobina A1c	< 5.7 %	5.7 a 6.4 %	≥ 6.5 %

Tomado de: American Diabetes Association, 2017

- *Glucosa en ayuno*

Es un examen que mide la cantidad de glucosa en una muestra de sangre. La glucosa es una fuente importante de energía para la mayoría de las células del cuerpo, incluidas las del cerebro. Los carbohidratos que se encuentran en las frutas, los cereales, el pan, la pasta y el arroz se transforman rápidamente en glucosa en el cuerpo, lo que eleva el nivel de glucosa en sangre.

Las hormonas producidas en el cuerpo llamadas insulina y glucagón ayudan a controlar los niveles de glucosa en sangre.

Uno de los objetivos del tratamientos de la diabetes mellitus es lograr niveles de glucemia lo más cerca de lo normal, porque esto ayuda a eliminar el riesgo de desarrollar complicaciones en los pacientes.

Al realizar periódicas determinaciones de los niveles de glucemia, nos permite obtener información sobre la evolución de la enfermedad y constituir un elemento motivador que contribuye a implicar al paciente en el control de su diabetes; permitiendo comprender mejor los factores que influyen sobre los niveles plasmáticos de glucosa (ejercicio, comidas, medicación, enfermedades subsecuentes, etc.).

- *Glucosa al azahar*

Una lectura muestra la cantidad de glucosa que hay en sangre. Una prueba de su nivel podría hacerse para:

Verificar si tienes diabetes

Ver que bien está funcionando el tratamiento para diabetes

Verificar si tienes diabetes gestacional

Verificar si hay niveles bajos o altos de glucosa en sangre (hipoglucemia o hiperglucemia).

Existen varios tipos de pruebas de niveles de glucosa al azar. Los resultados normales pueden variar de un laboratorio a otro (> 200 mg/dL)

El nivel alto de glucosa al azar en sangre puede ser causado por: diabetes o prediabetes, ciertos medicamentos, como los corticosteroides.

El nivel bajo de glucosa en la sangre puede ser causado por: ciertos medicamentos, especialmente los utilizados para tratar la diabetes, enfermedades del hígado como

cirrosis. En muy pocas ocasiones, los niveles altos o bajos de glucosa pueden ser causados por otros problemas médicos que afectan los niveles hormonales.

- *Curva de tolerancia oral a la glucosa (PTGO)*

Los niveles de glucosa sanguínea son finamente regulados por mecanismos neuronales y hormonales. En ayunas, los niveles de glucemia dependen fundamentalmente de la producción hepática (endógena) de glucosa (85%). De este modo, los niveles de glucemia en ayunas deben permanecer entre 70 y 100 mg/dL después de 8 horas de ayuno. Si un individuo ingiere una comida rica en carbohidratos, la glucosa que es absorbida a nivel de intestino delgado ingresa en circulación sanguínea y, en segundos, estimula una rápida secreción de insulina por parte de células β -pancreáticas (páncreas endocrino). Del mismo modo, se produce una supresión de la secreción de glucagón por parte de las células α del páncreas. La insulina promueve la captación de glucosa por las células hepáticas, adiposas y principalmente en el tejido muscular (85%) para su posterior utilización. De este modo, los niveles de glucemia regresan a los valores normales. Se establece como normal que 2 horas después de una carga de 75 gramos de glucosa anhidra, los niveles de glucemia deben estar entre 70 y 140 mg/dL.

La PTGO es una prueba que mide la capacidad del organismo para regular los niveles sanguíneos de glucosa. Es utilizada para establecer el diagnóstico de riesgo incrementado de diabetes o diabetes mellitus. También es utilizada para el diagnóstico de hipoglucemia reactiva (niveles de glucosa después de 2 horas con administración de 75 g de glucosa <70 mg/dL).

Para realizar la PTGO, luego de 8 horas de ayuno nocturno, se toma la muestra de sangre para medir los niveles de glucemia basal (ayunas). Posteriormente, el sujeto debe ingerir una carga de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua, siguiendo las especificaciones de la Organización Mundial de la Salud. Esta solución debe ser ingerida en un lapso de 5 minutos. Después, se toma una muestra de sangre a la 1 y 2 horas para medir los niveles de glucemia por carga.

Algunas limitaciones de PTGO incluyen:

1. No siempre está disponible
2. Es invasiva, costosa y consume tiempo.
3. La glucemia tiene una variación aleatoria amplia.
4. Solo da información del estado glucémico de un sujeto en un momento dado.

Un resultado anormal debe confirmarse con una segunda medición [32].

4.1.10 Recomendaciones sobre el uso de HbA1c en pacientes con diabetes

La HbA1c resulta de la unión no enzimática de la glucosa a la hemoglobina, y por lo tanto expresa las glucemias durante la vida media del eritrocito, ha constituido en la práctica clínica el principal método para evaluar el control de los pacientes con diabetes. La HbA1c no requiere ayuno, menor variabilidad individual, nula influencia de condiciones de estrés, entre otros.

Diversas asociaciones científicas internacionales coinciden que la HbA1c puede considerarse un examen adecuado para el diagnóstico de diabetes al efectuarse con metodología estandarizada [5], siempre y cuando no existan condiciones que afecten la prueba como en las siguientes situaciones:

1. Su uso no está recomendado para el diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1, ya que esta suele tener una presencia súbita y causa síntomas antes de los 3 meses de evolución, por lo que el valor de la HbA1c subestima el valor real de la glucosa.
2. La prueba pierde precisión en los extremos de hemoglobina total (Hb). Dado que la HbA1c se reporta en porcentaje del total de hemoglobina, el porcentaje cambiara aunque el total de hemoglobinas glicosiladas sea el mismo.
3. La prueba no se debe realizar en situaciones en las que el recambio de eritrocitos esta aumentado, tal es el caso de las enfermedades que causan hemolisis (anemia hemolítica, insuficiencia renal) y de estados que aumentan el nacimiento de glóbulos rojos (posterior a la administración de hierro). Estas situaciones siempre subestiman el valor real de la HbA1c [15].

4.1.11 HbA1c como prueba de diagnóstico

Los “Estándares de Cuidado Médico de Diabetes” (2010) reconocieron la HbA1c como prueba apta para el diagnóstico de diabetes, definiendo los puntos de corte para la HbA1c, con sus significados:

- Nivel no diabético: $\leq 5.6\%$; en la práctica descarta el diagnóstico de diabetes
- Nivel pre diabético (riesgo aumentado de diabetes): entre 5.7% y 6.4%
- Nivel diabético: $\geq 6.5\%$, que es compatible con el diagnóstico de diabetes.

4.1.12 HbA1c como prueba de seguimiento

La meta de tratamiento de acuerdo con la ADA, es llevar la HbA1c a un porcentaje $\leq 7\%$, con lo cual se logra reducir significativamente las complicaciones microvasculares y neuropáticas relacionadas con la diabetes. En el caso de no alcanzar este porcentaje se debe revisar y ajustar el plan terapéutico del paciente.

La meta de las guías europeas para la HbA1c es de 7.5%, tanto para diabetes tipo 1 y diabetes tipo 2.

La meta de la International Diabetes Federation (IDF) es de 6.5%, valor que no parece tener mejores resultados que la meta ADA

La meta de American College of Endocrinology es 6.5%

4.2 HbA1c

4.2.1 Definición

La HbA1c actualmente se define como la adición estable de la glucosa al extremo N-terminal del aminoácido de valina de la cadena β de la hemoglobina A. dicha unión se produce lentamente, de forma permanente, por vía no enzimática y es directamente proporcional a la concentración de glucosa en sangre debido a la permeabilidad del eritrocito y, por lo tanto, representa el valor medio glucémico de los últimos 90-120 días que es la vida media del eritrocito ^[16].

4.2.2 Antecedentes

Rahbar, médico iraní nacido en Teherán, inició en 1960 el estudio de la estructura de las proteínas ^[17], ya que debido a la prevalencia de anemias, y desórdenes genéticos de la población de Irán y por sus antecedentes étnicos era ideal utilizar el gen globina para sus estudios ^[18].

Para el año de 1960 la hemoglobina ya contaba con estructura resuelta, y se sabía que representa de 96-98% del peso seco de los eritrocitos en adultos normales ^[19]..

Linus Pauling trabajando en la proteína desde otro ángulo descubrió que la hemoglobina de las personas con anemia drepanocítica (HbS) era estructuralmente diferente de las personas sanas. Siendo uno de los primeros ejemplos de enfermedad genética.

El descubrimiento de HbS^[20] desencadenó una carrera para desenterrar otras variantes de hemoglobina encontrando una alta incidencia de talasemias, por esta razón comenzó a analizar muestras de sangre para detectar anomalías de la hemoglobina usando papel y electroforesis en gel. La electroforesis en gel tenía una mejor resolución, pero no era ideal para examinar una gran cantidad de muestras de sangre. En 1963, Graham y Grunbaum introdujeron un nuevo sistema para la electroforesis de hemoglobina utilizando membrana de acetato de celulosa como medio de soporte con alta resolución; este sistema fue capaz de separar diferentes bandas de hemoglobina en 20 minutos.

Rahbar investigó numerosas muestras de sangre para encontrar nuevas variantes de hemoglobina, examinó las muestras bajo toda una variedad de condiciones, alterando el pH y otras variables, para extraer distintas bandas de hemoglobina. Fue modificando el pH a 8.6 que observó una banda amplia de hemoglobina A y una banda de hemoglobina A2 más pequeña y más lenta, adicionalmente encontró en la sangre de una mujer diabética de 67 años una banda borrosa que parecía viajar al frente de la hemoglobina A.

Esta última banda no concordaba con ninguna de las hemoglobinas conocidas, por lo que se concluyó que podría haber sido una anomalía genética. Este hallazgo despertó el interés y adicionalmente se observó la sangre de 47 personas con diabetes y todas las muestras mostraron la misma banda que fue denominada “componente diabético de la hemoglobina”.

Para definir mejor la banda, se modificaron las condiciones de la electroforesis. Al bajar el pH a 6.2 y cambiar a un gel de agar, se pudo obtener una banda de diabetes más aguda, resultados que fueron publicados en 1968^[21].

Posteriormente, se encontró la hemoglobina inusual en 140 pacientes con diabetes, pero también se presentó en individuos sin diabetes en concentraciones menores, por lo que el siguiente paso fue determinar la identidad de esta extraña hemoglobina, encontrando cinco componentes menores de la hemoglobina A (HbA1a, HbA1b, HbA1c, HbA1d y HbA1e), y se observó que la movilidad electroforética de la hemoglobina diabética coincidía con la de HbA1c.

Además, en la separación cromatográfica, la banda HbA1c representaba entre el 7.5 y el 10.7% de la hemoglobina total, mientras que en los sujetos normales la HbA1c constituía solo el 4-6%.

Un estudio de 1968 estableció que la estructura de la HbA1c era la hemoglobina más una molécula de hexosa, pero aún no era claro si los niveles de HbA1c tenían relación con la glucosa en sangre.

Una razón por la cual no pensaban que la HbA1c era una medida del control de la diabetes es porque creían que era una enzima responsable de unir la glucosa a la hemoglobina, por lo que la HbA1c debería ser independiente de los niveles de glucosa en sangre. “Supusieron que tenía que ser una enzima”, en ese tiempo no se pensó que era una glicación no enzimática.

El eritrocito es una célula que no tiene núcleo, por lo que produce sus propias proteínas (en este caso hemoglobina) durante el desarrollo en la médula ósea ^[22]. Una vez en sangre, los niveles de hemoglobina deberían permanecer constantes.

Sin embargo, utilizando eritrocitos marcados con hierro radioactivo para rastrear la edad de las células en ratones, se encontró que los niveles de HbA1c aumentan a lo largo de la vida. En el estudio con ratones los niveles de HbA1c aumentaron 2.8 veces más rápido en ratones diabéticos que en ratones normales [22].

Posteriormente se descubrió que los niveles de HbA1c también reflejan los niveles de glucosa en orina en humanos, ofreciendo evidencia adicional de que la HbA1c podría ser una herramienta útil para las personas con diabetes.

Durante las siguientes décadas, grandes estudios prospectivos como el DCCT diabetes tipo 1 [23], los estudios clínicos multicéntricos de UKPDS (Estudio United Kingdom Prospective Diabetes Study) para diabetes tipo 2, EDIC y EPIC-NORFOLK fueron diseñados para investigar los riesgos a largo plazo de complicaciones de la diabetes y su correlación con los niveles de HbA1c.

Establecieron:

- Metas en el tratamiento específico basado en la HbA1c
- La cifra recomendada 6.5% o 7% de HbA1c como objetivo control de la glucemia en la mayoría de los pacientes diabéticos [24].

4.2.3 Estandarización

Al principio se presentaron muchos inconvenientes como sucede en la mayoría de las pruebas y la HbA1c no fue la excepción. Cuando en n 1993 finalizó el DCCT había considerables diferencias en la manera de expresar los resultados. El College of American Pathologist (CAP) reveló que solo el 50% de los laboratorios participantes reportaban sus resultados como HbA1c, mientras el 21% los reportaba como HbA1 y el 29% como hemoglobina glicosilada total. También existía una gran variabilidad entre los resultados de diferentes laboratorios clínicos; fue tan amplia que podían tener resultados tan dispares para la misma muestras de sangre como del 4% al 8%, coeficiente que hoy no sería aceptable debido a que podría ubicar a un mismo individuo en un nivel de glucosa normal o con el diagnostico de una diabetes [25].

Como respuesta a la situación y ante la necesidad de tener una prueba lo suficientemente confiable, en 1993, la Asociación Americana de Química Clínica (AACC) desarrolló un subcomité con el objetivo de estandarizar la medición de la HbA1c, incluida la preparación y evaluación de material de referencia y el desarrollo de un método de referencia internacional y en 1996 se inició el Programa Nacional de Estandarización de Hemoglobina Glicosilada (NGSP) para aplicar el protocolo de la AACC.

El objetivo del programa fue la estandarización de las pruebas de HbA1c para que los resultados de los laboratorios sean comparables con los del DCCT y el UKPDS

La red IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) fue iniciada en 1995 y fue la responsable de la preparación y evaluación de un material de referencia así como el desarrollo de un método de referencia para la medición de HbA1c. La razón fue la trazabilidad un método de orden superior, una necesidad que fue promulgada en 1998, los métodos aprobados por la IFCC son HPLC-espectrometría de masas o HPLC-electroforesis capilar.

Los resultados de estos estudios realizados en 2001 y 2006 han confirmado la capacidad del sistema para garantizar la estabilidad y continuidad del método de referencia internacional para HbA1c. En 2007 se publicó la Declaración del Consenso sobre la estandarización en todo el mundo de la HbA1c que fue revisada en 2010 y los valores de HbA1c deben ser reportados mundialmente en unidades internacionales (mmol/mol) usando la ecuación maestra IFCC (mmol/mol) –NGSP (%). Finalmente, la ADA, gracias a la estandarización y la madurez de la prueba alcanzada en la última década, como lo verificó el Comité Internacional de Expertos, en la revisión del año 2010 de los “Estándares de Cuidado Médico en Diabetes”, la incorporó como el primer criterio de diagnóstico de diabetes.

La HbA1c a partir del momento en que la prueba fue mejorando el desempeño analítico y se difundió su conocimiento rápidamente se convirtió en el “estándar de oro” para evaluar la respuesta al tratamiento instalado y así lo ha ratificado en los últimos años^[9].

Tomando de manera más estricta la exactitud del método podemos observar el avance de la prueba con el error total (ET%) aceptable en el año 2007 y era de 15.0% y disminuyó a 7.0% en 2012 y a 6.0% en 2013. Así mismo se recomienda que la imprecisión o coeficiente de variación total (CV%) intra-laboratorio debe ser menor de 2.0% y entre laboratorios de 3.5% [26].

4.2.4 Terminología

El termino glicosilada se refiere a la combinación de una proteína con cualquier hidrato de carbono. Su denominación exacta es hemoglobina glucada o glucohemoglobina, definición de la combinación de la glucosa con una proteína, la hemoglobina. Además se mantiene la abreviatura de uso clínico habitual HbA1c o A1c aunque la terminología química correcta sea DOF-Hb (N-1-Deoxyfructosyl beta hemoglobina) [16].

4.2.5 Clasificación

La hemoglobina (Hb) de los seres humanos adultos normales, está compuesta por tres fracciones llamadas: Hemoglobina A, Hemoglobina A2 y Hemoglobina F. La hemoglobina A (HbA), es la más abundante de todas, representando aproximadamente el 97%. A través de reacciones bioquímicas, parte de esta HbA se puede combinar con azúcares, convirtiéndose en glucohemoglobina o glicohemoglobina (HbA1). Dependiendo del azúcar que incorpore, se obtienen las diferentes subfracciones conocidas como hemoglobinas menores o rápidas (HbA1a, HbA1b y HbA1c).

Tabla 4. Tipos de hemoglobina glicada

Producto final	Reacción
HbA1a1	Glicación con fructuosa 1, bifosfato
HbA1a2	Glicación con glucosa 6 fosfato
HbA1b	Glicación con ácido pirúvico
HbA1c	Glicación con glucosa
L HbA1c	Denota la fracción lábil de la HbA1c, o la fracción aldimina
S HbA1c	Denota la fracción estable de la HbA1c, o la fracción cetoamina

Tomado de: Campuzano-Maya y Latorre-Sierra 2010.

La HbA1c es la más abundante de los componentes menores de la hemoglobina en los eritrocitos humanos (aproximadamente el 95% de la HbA1). Esta reacción, conocida desde hace muchos años, recibe el nombre de reacción de Maillard, glicosilación no enzimática o más recientemente, glicación.

HbA: Forma principal y nativa de la hemoglobina, es un tetrámero compuesto de dos cadenas alfa y dos cadenas beta.

HbA₀: Es el componente principal de la HbA, identificado por sus propiedades cromatográficas y de carga electrónica. Puede mostrar algún grado de glicación, pero insuficiente para afectar a las propiedades de la movilidad dependiente de la carga. En la práctica, considerando la fracción no glicosilada HbA.

HbA₁ total: Formar de HbA cargada más negativamente debido a la adición de glucosa y otros carbohidratos. Corresponde a la hemoglobina glicada total, que no tiene ningún valor clínico.

HbA_{1a1}, HbA_{1a2}, HbA_{1b}, HbA_{1c}: Representación de las diferentes formas químicas o fracciones de la hemoglobina glicosilada.

HbA_{1c} o A_{1c}: Corresponde a la fracción de hemoglobina glicosilada cuyo aminoácido valina situado en la porción terminal de la cadena beta de la hemoglobina A esta unido a la glucosa a través de una unión estable e irreversible. Corresponde a la parte clínica que evalúa los pacientes con diabetes mellitus.

Hb-carbamilada: corresponde a una forma que aparece en pacientes hiperurémicos debido a una reacción química entre el ácido isociánico producido en la disociación espontánea in vivo de la urea y el extremo N-terminal valina de la cadena β de la hemoglobina. Su concentración es proporcional a la concentración de urea del paciente, pudiendo alcanzar hasta el 3% de la concentración total de la hemoglobina.

Hb-acetilada: puede aparecer en mutaciones raras del extremo N-terminal de la cadena β favoreciendo la formación de Hb-acetilada in vivo. En mujeres embarazadas no diabéticas se han descrito porcentajes relativamente altos (1.9%), en individuos alcohólicos (2.7%) y tras la ingesta de ácido acetilsalicílico.

4.2.6 Glicación

La glicación o glicación, describe la modificación post-traducciona de los grupos amino de las proteínas por acción de azúcares reductores, sin participación enzimática. Desde el punto de vista químico, consiste en la unión de grupos amino primarios de aminoácidos, péptidos y proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares reductores (generalmente monosacáridos) de los cuales la glucosa es el más abundante.

La reacción entre grupos de amina de biomoléculas y carbonilo de azúcares tiene lugar en condiciones fisiológicas y sin control enzimático, causando modificaciones estructurales y funcionales en las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Estas reacciones son de enorme interés ya que están relacionadas con las complicaciones de la diabetes.

4.2.7 Características de la glicación

1. La glicación se produce en el interior del eritrocito, al ser la pared permeable a las moléculas de monosacáridos, posee características singulares:
2. Es un proceso continuo, ya que existe un incesante nacimiento y destrucción de los glóbulos rojos. Se produce alrededor de 1% de nuevos eritrocitos por día.

3. Es un proceso no enzimático, por lo que se ha llamado glucosilación no enzimática.
4. Es un proceso lento. Al no ser catalizado por enzimas, requiere que suceda en una serie de etapas para poder completarse.
5. Las etapas iniciales de la glicación son reversibles y se completan en tiempos relativamente cortos, mientras que las posteriores transcurren más lentamente y son irreversibles, por lo que la desaparición de los compuestos resultantes solo ocurre cuando el eritrocito se destruye.

4.2.8 Bioquímica

A lo largo del proceso de glicación entre la cadena β de la hemoglobina A y la glucosa, se pueden distinguir tres etapas:

1. Etapa inicial

Con una tasa de reacción rápida (periodo de horas), donde se produce la condensación de la proteína con el azúcar. En esta unión covalente, el extremo N terminal (amino terminal) y más reactivo de la cadena beta de la globina, se enlaza por adición nucleofílica con el carbono carbonílico, por ser el más reactivo de la glucosa, dando lugar de forma reversible a un compuesto denominado base de Schiff, Aldimina o HbA1c lábil. La base de Schiff es estable por un corto tiempo, luego del cual se inicia un proceso de reordenamiento de los enlaces químicos.

2. Etapa de reordenamiento de la estructura de la base de Schiff

A continuación la aldimina (producto intermedio de la formación del amino terminal de la HbA con la glucosa) sufre una restructuración de doble enlace del tipo Amadori, en honor al químico que descubrió este tipo de reajuste, formándose de manera irreversible, un producto de Amadori, Cetoamina o HbA1c estable. Este complejo estable es el que se determina habitualmente a nivel de laboratorio. En esta etapa la tasa de reacción es mucho más lenta, sucede en un periodo de días.

3. *Etapa de transformaciones complejas del producto de Amadori*

Los productos de Amadori poseen un grupo carbonilo que puede seguir reaccionando con otros grupos amino. El mecanismo de estas reacciones no se conoce con detalle, aunque se sabe que es un proceso que involucra complejos reordenamientos intramoleculares y en algunos casos la asociación entre varios de estos compuestos. Los productos de Amadori pueden seguir dos vías: una es la deshidratación y reordenamiento del producto de Amadori, tanto en condiciones oxidativas como en no oxidativas. La segunda vía es por reacción de compuestos carbonílicos o dicarbonílicos altamente reactivos con grupos funcionales amino, tiol y guanidino. Ambas vías conducen, de manera irreversible y más lenta, a la formación de un conjunto complejo y heterogéneo de compuestos estables llamados Productos Finales de Glicación Avanzada (PGA o AGEs por sus siglas en inglés), estructuras generalmente coloreadas (presentan color pardo amarillento) y/o fluorescentes que resultan del entrecruzamiento con otras proteínas o con otras zonas de la misma proteína).

En condiciones fisiológicas la aparición de estos compuestos (PGA) está determinada por:

- La concentración de azúcares reductores, principalmente la glucosa.
- El tiempo durante el cual se mantiene esa cantidad de glucosa.
- El tiempo de exposición a la glucosa de la proteína, es decir, el tiempo que tarda en destruirse.

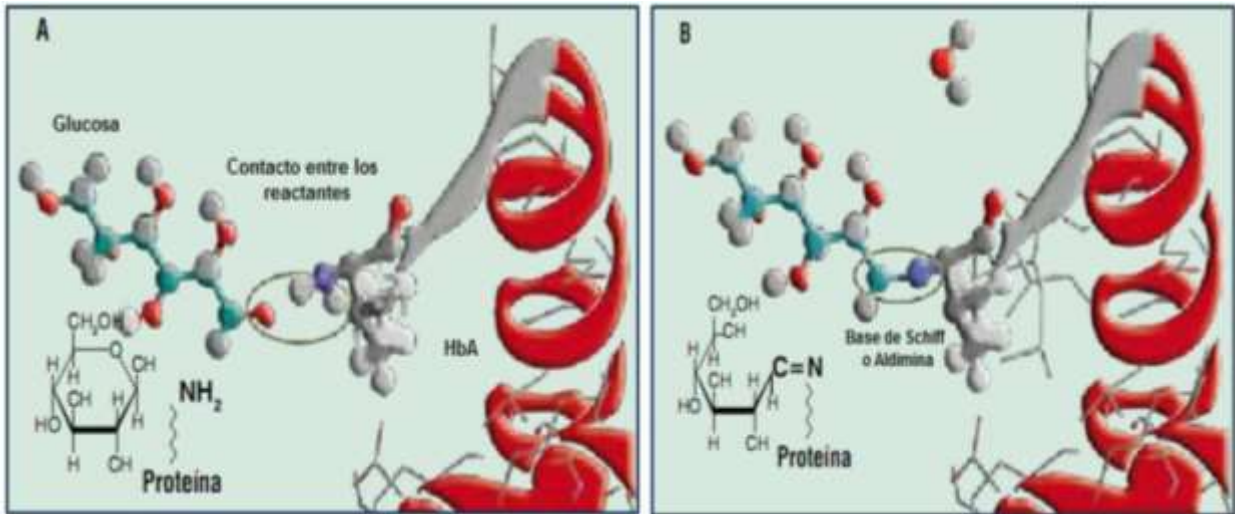


Figura 3. Etapa inicial del proceso de glicación

Tomado de: Campuzano-Maya y Latorre-Sierra 2010

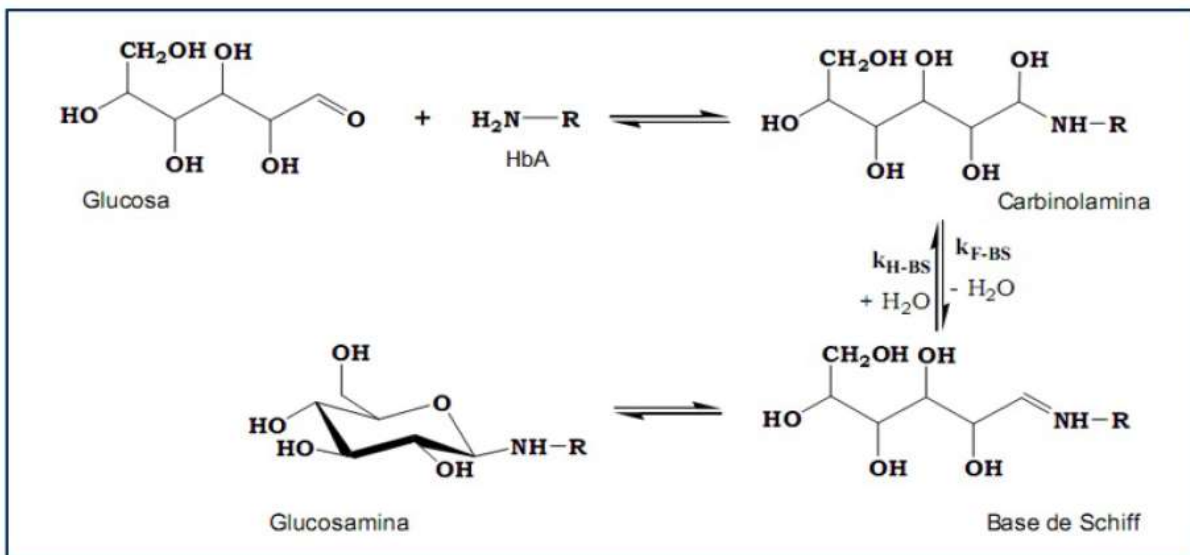


Figura 4. Mecanismo de formación de la base de Schiff. Se representa la unión del grupo amino terminal de la HbA con la glucosa, para formar un intermediario carbinolamina que se deshidrata espontáneamente para formar la base.

Tomado de: Caldés Melis, 2012

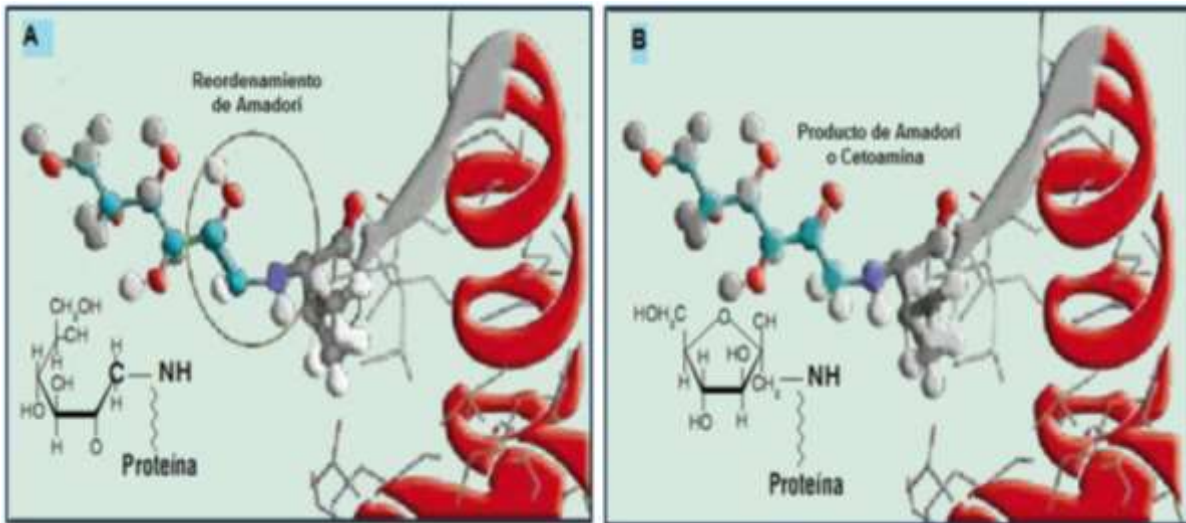


Figura 5. Formación del producto de Amadori

Tomado de: Campuzano-Maya y Latorre-Sierra 2010

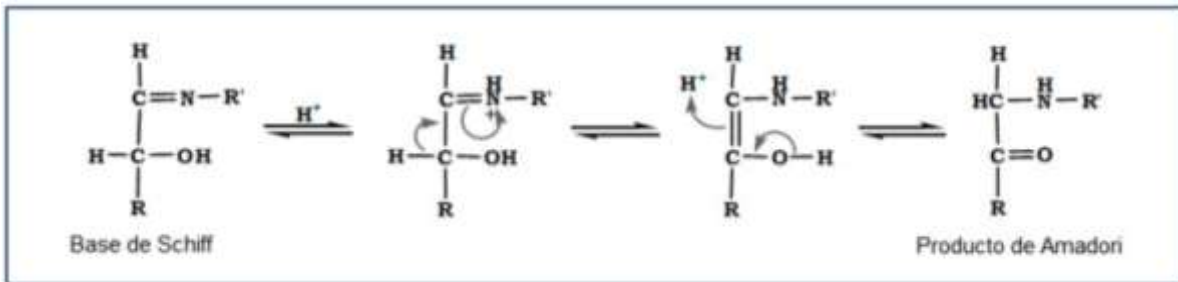


Figura 6. Mecanismo de reordenamiento de la base de Schiff hasta formar el producto de Amadori. Este mecanismo se inicia mediante la protonación del nitrógeno imínico de la base de Schiff, lo que provoca un descenso en la densidad electrónica del carbono alfa y débilmente de su enlace C-H. La eliminación de dicho protón mediante catálisis ácido-base general, genera una 1,2-enolamina que tautomeriza hacia la formación del producto de Amadori

Tomado de: Caldés Melis, 2012

4.2.9 Productos de Glicación Avanzada

La glicación de biomoléculas es un factor clave en muchas patologías asociadas a la diabetes (nefropatía, retinopatía, enfermedades cardiovasculares, etc.), así como del envejecimiento y otras enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o

el Parkinson; los niveles de glucosa en sangre, lo que afecta irreversiblemente a la integridad de las proteínas de larga vida.

Las PGA están implicados en el desarrollo de estas diversas patologías a través de tres mecanismos:

1. La modificación de proteínas estructurales que se encuentran fuera de la célula.
2. El desencadenamiento de procesos intracelulares a través de la unión a receptores extracelulares.
3. La alteración de proteínas intracelulares.

Los PGA se acumulan en el interior de las células insulino-dependientes y fuera de ellas, sobre todo en las proteínas de las membranas basales, en las proteínas circulantes y estructurales como el colágeno. A medida que pasa el tiempo, la acumulación de PGA a nivel tisular aumenta, contribuyendo incluida la piel ^[28].

4.3 Análisis clínico de la HbA1c

La disponibilidad que tiene el laboratorio clínico para medir la HbA1c es muy amplia; en el mercado los instrumentos y reactivos varían con relación al desempeño analítico, definir cuál método y con qué reactivo trabajar depende de muchos factores, en donde debe ser un método con resultados precisos y exactos, sobre el menor precio como es en la mayoría de los casos, que la prioridad sea el menor costo sin saber la variabilidad analítica que se presenta.

Los métodos para medir la hemoglobina glicada se basan en diferencias en las moléculas de la hemoglobina glicada y la hemoglobina no glicada, ya sean físicas, químicas o inmunológicas entre la fracción glicada, ya sea la HbA1 o sus fracciones como la HbA1c, y la fracción de la Hb0, esto es la fracción no glicada.

4.3.1 Métodos basados en la diferencia de la carga eléctrica

El principio se basa en el hecho de que la unión a la glucosa en el caso de la HbA1c, o de otro azúcar, como HbA1a o HbA1b, a un amino terminal de las cadenas beta de la Hb, altera la carga total de la hemoglobina, haciendo que la fracción de la hemoglobina glicada migre en forma diferente, más rápido a la hemoglobina no glicada (Hb0) cuando se pone en un campo eléctrico como sucede en los métodos electroforéticos y cromatográficos [9].

- *Electroforesis*

La electroforesis es una técnica en diferentes soportes, entre los que está el gel de agarosa, actualmente se ha desarrollado la técnica de electroforesis capilar, que ofrece ventajas en el análisis, haciendo separaciones rápidas y con excelente resolución. Se define como una técnica electroforética realizada en un tubo de diámetro interno inferior a 100 µm lleno de un tampón lleno de electrolitos. Se considera una técnica intermedia entre la electroforesis de zona en soporte y la cromatografía líquida.

El sistema CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING usa el principio de electroforesis capilar en solución libre, permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética. La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar. La detección directa de las hemoglobinas se efectúa en el lado catódico a 415 nm, que es la longitud de onda de absorción específica de las hemoglobinas. La elevada resolución de la técnica permite la cuantificación precisa de la HbA1c especialmente en presencia de la HbA1c lábil, hemoglobinas carbamiladas y acetiladas y de las principales variantes de hemoglobina (figura 7).

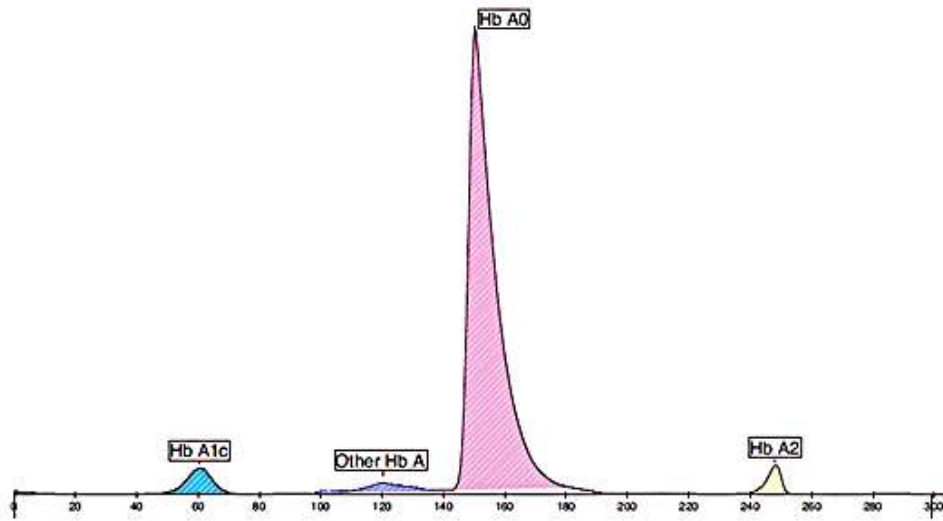


Figura 7. Gráfico de un resultado de electroforesis por equipo Capillarys 2-flex piercing en un paciente normal. La migración de las hemoglobinas es del cátodo al ánodo: A2/C, E, S/D, F, A0, otras Hb glicadas y HbA1c.

Sebia Capillarys HbA1c, 2015

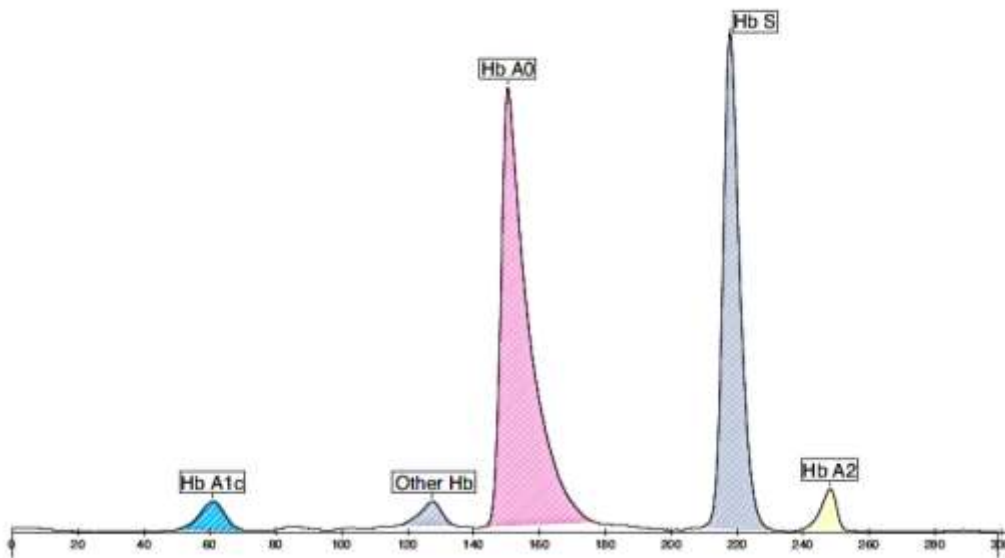


Figura 8. Gráfico de un resultado de electroforesis por equipo Capillarys 2-flex piercing en una paciente con una variante de hemoglobina.

Sebia Capillarys HbA1c, 2015

- *Interferencias*

Los interferentes (tabla 5) analizados a las concentraciones indicadas, no interfieren en la cuantificación de HbA1c [30]:

Tabla 5. Principales interferentes en la determinación de HbA1c

Interferente	Concentración
Triglicéridos	1,12 g/dL (12,8 mM)
Bilirrubina	25,6 mg/dL (438 µM)
Ácido ascórbico	60 mg/dL (3,41 mM)
Urea	291 mg/dL (48,5 mM)
Factor reumatoide	2178 IU/mL
Glibendámda	3 mg/dL

Sebia Capillarys HbA1c, 2015

4.3.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

El método de cromatografía líquida de alta eficiencia de intercambio iónico fue utilizado por el DCCT y se recomienda como un método de referencia para la determinación provisional de los organismos internacionales relacionados con la hemoglobina glicada hasta que decidan sobre el método de referencia definitivo.

Partiendo de la diferencia estructural que hay entre la hemoglobina glicada en general y de la HbA1c en particular, y la Hb0 es posible separar y cuantificar estas fracciones [9].

Las muestras se diluyen automáticamente en D-10y se inyectan en el cartucho de análisis. El D-10 crea un gradiente de tampones programado de fuerza iónica creciente en el cartucho, donde las hemoglobinas se separan en función de sus interacciones iónicas con el material del cartucho. Después, las hemoglobinas así separadas atraviesan las células de flujo del fotómetro, donde se miden los cambios de absorbancia a 415 nm [4].

Este método no se afecta por el pH ni la temperatura, como tampoco afecta la presencia de hemoglobinopatías o falla renal por la presencia de hemoglobina carbametilada, ni por la fracción lábil de la hemoglobina glicada.

Estos sistemas utilizan una columna para eluir la solución en diferentes fracciones: HbA1a, HbA1b, HbA1c y la HbA0 [9].

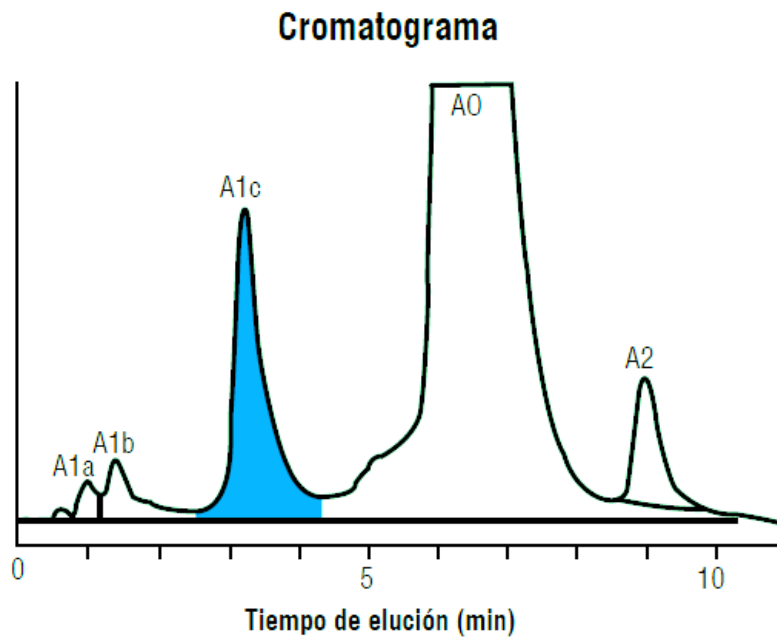


Figura 9. Gráfico de un resultado por HPLC, equipo D-10 en un paciente normal.

Campuzano-Maya y Latorre-Sierra 2010

4.3.3 Métodos inmunológicos

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 ya sea por métodos de inmunoturbidimetría o de inmunoanálisis enzimáticos en donde se utilizan proteasa para digerir la hemoglobina.

En el sistema Advia 1800, la muestra de sangre se mezcla con el reactivo desnaturante de hemoglobina. Los eritrocitos se disuelven y la cadena de hemoglobina se hidroliza por la proteasa presente en el reactivo.

Para la medición de la hemoglobina total, se usa el reactivo aglutinador, el análisis se basa en la determinación de hemo detectada en la región Soret a 410 nm.

Para la medición de HbA1c específica, se usa un análisis de inhibición de la aglutinación en látex. Una segunda proteína en el reactivo hidroliza aún más la muestra de HbA1c en un glucopentapeptido, que compite con el aglutinador (polímero sintético que contiene múltiples copias de la porción inmunoreactiva de HbA1c) para el anticuerpo anti-HbA1c, de manera que se reduce la velocidad de aglutinación. Se obtiene una curva de concentraciones mediante el control del cambio en la luz dispersa a 694 nm como cambio de absorbancia. El cambio real en la absorbancia es inversamente proporcional a la concentración de HbA1c en la muestra.

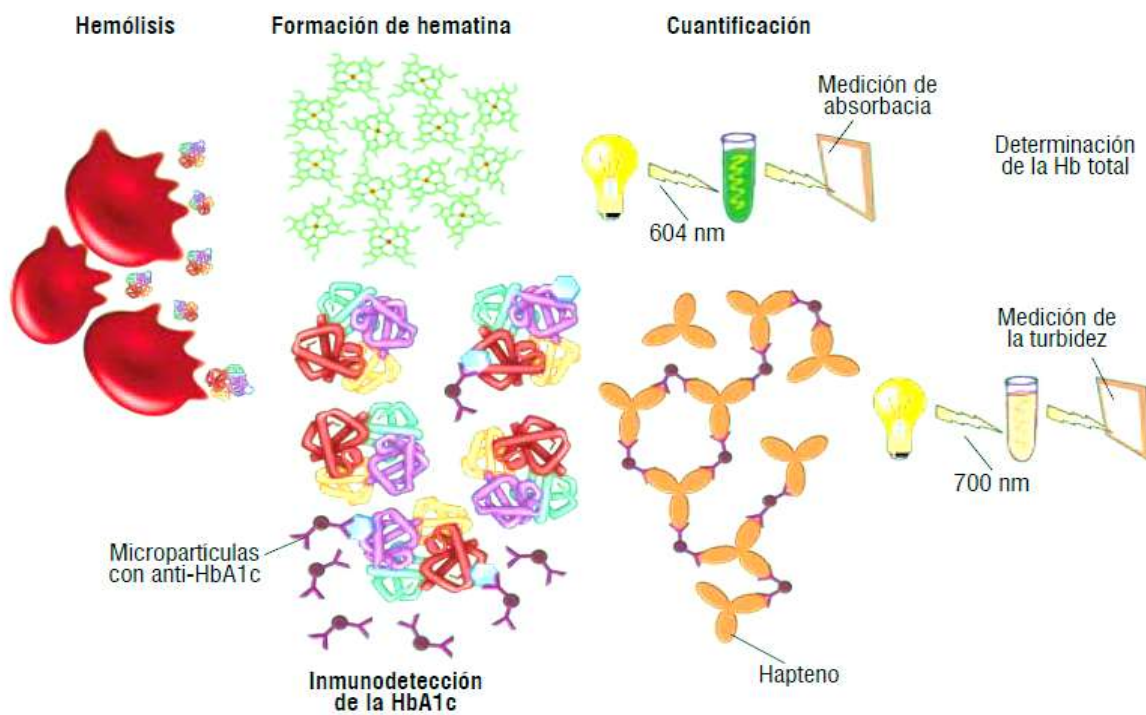


Figura 10. Determinación de HbA1c por método de inmunoturbidimetría. La técnica es inversamente proporcional a la concentración de HbA1c, es decir a mayor aglutinación, mayor cantidad de anticuerpos libres y menor concentración de HbA1c disponible para unir las macropartículas a los anticuerpos, como consecuencia de que la HbA1c compite con el hapteno por la unión del anticuerpo.

Tomado de: Campuzano-Maya y Latorre-Sierra 2010

- *Interferencias*

Las principales interferencia y concentraciones que no son significativas en el análisis de HbA1c (Tabla 6) ^[31].

Tabla 6. Principales interferentes en la determinación de HbA1c.

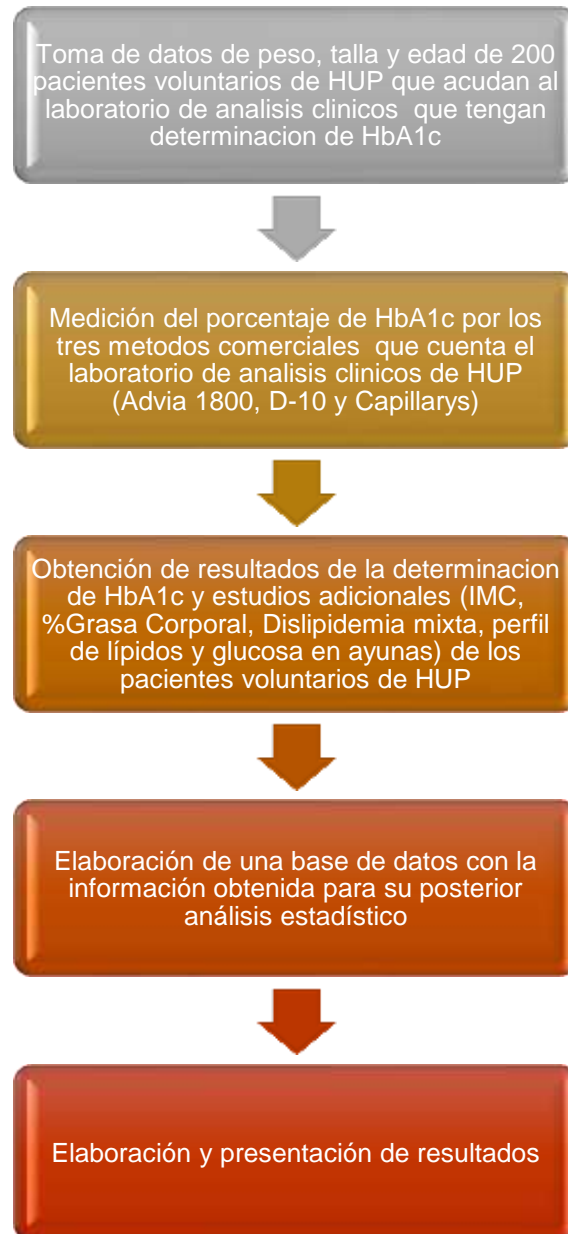
Sustancia interferente	Concentración de la sustancia interferente	Concentración de la muestra de HbA1c	Interferencia
Bilirrubina (conjugada)	60 mg/dl (1026 µmol/l)	5,26%, 9,81% (34 mmol/mol, 83 mmol/mol)	INS*
Bilirrubina (no conjugada)	60 mg/dl (1026 µmol/l)	5,30%, 9,85% (34 mmol/mol, 84 mmol/mol)	INS*
Lipemia (por Intralipid)	1000 mg/dl (11,3 mmol/l)**	5,20%, 9,46% (33 mmol/mol, 79 mmol/mol)	INS*
Factor reumatoide (FR)	936 IU/ml	5,25%, 10,24% (34 mmol/mol, 88 mmol/mol)	INS*

*INS = Interferencia no significativa. Se considera interferencia significativa un porcentaje $\geq 10\%$.

**como trioleína

Siemens Advia Chemistry, 2011

V. DIAGRAMA DE TRABAJO



VI. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Material ocupado en toma de muestra para medir peso y talla

Estadímetro de pared, báscula digital, libreta, lapicero.

7.2 Material biológico

Sangre completa con EDTA tomada en tubo BD Vacutainer® lila.

7.3 Reactivo utilizado en el análisis de HbA1c por los tres métodos (ver anexo 1-9)

- Control
- Calibrador
- Reactivo

7.4 Consumibles

Copas de dilución para equipo D-10

Segmentos de dilución para equipo Capillarys 2 Flex-Piercing

Micropipetas de 5 µL y 1000 µL,

Guantes desechables

Puntas para micropipeta azul y amarillo

Gasas

Agua inyectable marca PISSA

Agua destilada.

Aplicadores de madera

Rotor de muestras

7.5 Métodos y equipo

Determinación	Método	Equipo
Hemoglobina fracción A1c	Inmunoensayo espectrofotométrico	SIEMENS Advia 1800
Hemoglobina fracción A1c	HPLC	Bio-Rad D-10
Hemoglobina fracción A1c	Electroforesis	Sebia CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING

VII. METODOLOGÍA

8.1 Tipo de estudio

El estudio tuvo un diseño observacional, descriptivo y transversal.

8.2 Población

Pacientes que acudieron al Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario de Puebla en el periodo septiembre-octubre 2018.

8.3 Muestra

Constituida por 200 pacientes

8.4 Criterios de inclusión

Se incluyeron pacientes voluntarios, que tuvieran en su orden de estudios la determinación de HbA1c como estudio principal y con estudios adicionales como perfil de lípidos y glucosa sérica en ayunas aceptando participantes de todas las edades y géneros.

8.5 Criterios de exclusión

Pacientes sin indicación de determinación de HbA1c, pacientes que estuvieran acudiendo por segunda vez y pacientes que no desearan participar en el estudio.

8.6 Obtención de datos

Se apoyó con el programa que utiliza el Hospital Universitario de Puebla (GWLab) con el fin de recopilar los datos de los pacientes que fueron voluntarios, excepto el peso, talla y edad, que fueron recopilados en la toma de muestra con un formato (ver anexo 10). Todos ellos se organizaron en el formato de resultados (ver anexo 11) y se transfirió a una base de datos de Excel (ver anexo12) para el análisis estadístico.

8.7 Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados, se utilizó el programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 21.0 y Microsoft Excel 2013 para Windows.

Los datos fueron comparados por U de Mann-Withney en las variables cuantitativas y por X^2 o prueba exacta de Fisher en variables categóricas.

El nivel de significación se consideró toda vez que p fuera menor de 0.05, el resultado se consideró estadísticamente significativo.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se contó con una población de 200 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, 63% fueron mujeres (n=126) y 37% hombres (n=74) (gráfico 1).

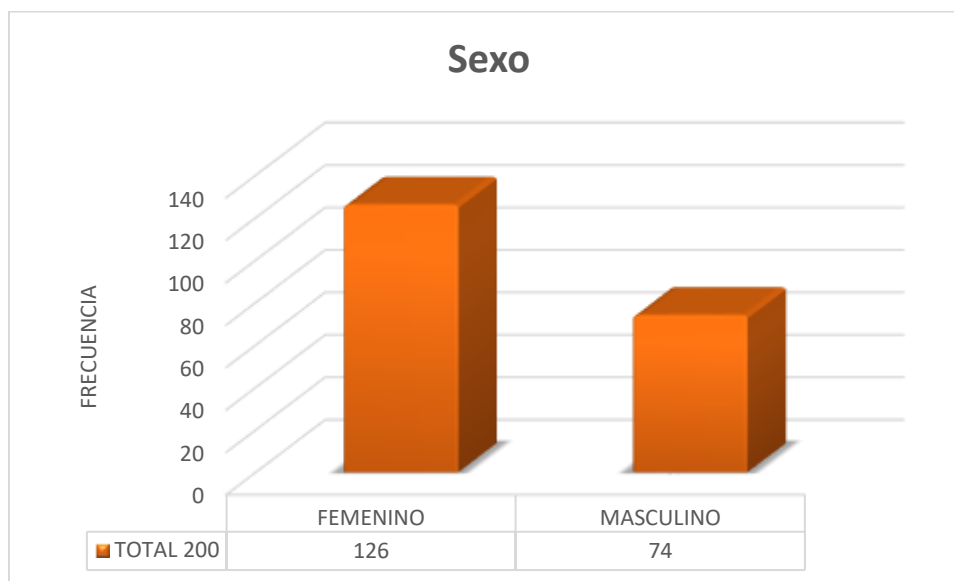


Gráfico 1. Prevalencia de diabetes por género.

Las edades estuvieron comprendidas entre 54-68 años de edad, en la tabla 7 se pueden observar las características generales de la población, así como sus parámetros clínicos.

De esta tabla y de la gráfica 1, se podría inferir que a mayor edad se incrementa la prevalencia de diabetes y por el número de participantes, que las mujeres padecen mayor incidencia de diabetes. De acuerdo con algunos autores, la mayor incidencia en mujeres se debería a diferentes factores dependiendo de la edad: en la juventud tienen riesgo por trastornos de conducta alimenticia y de ánimo; en la edad fértil por el embarazo y en la edad madura por la menopausia.

Tabla 7. Comparación de las variables clínicas y de laboratorio entre hombres y mujeres.

	Total	Mujeres	Hombres	P
n (%)	200 (100)	126 (63)	74 (37)	
Edad, años	62 (54-68)	63 (54-67)	61 (53-69)	0.9
Peso, Kg	69 (62-82)	68 (60-78)	71 (63-85)	0.1
Estatura, cm	156 (151-168)	153 (151-159)	160 (153-165)	0.001
IMC	28 (25.6-31.9)	28 (25.4-32.4)	28 (25.9-31.4)	0.6
ADVIA 1800 (HbA1c), %	6.6 (6.2-7.6)	6.6 (6.2-7.6)	6.6 (6.3-7.6)	0.5
D10 (HbA1c), %	6.3 (5.8-7.23)	6.2 (5.9-7.4)	6.4 (5.8-7.2)	0.9
CAPILLARYS (HbA1c), %	6.1 (5.7-6.9)	6.1 (5.7-7.05)	6.2 (5.7-6.9)	0.6
Glucosa, mg/dL	102 (93-122)	102 (88-132)	102 (95-117)	0.4
Colesterol, mg/dL	165 (140-189)	166 (139-194)	157 (139-175)	0.003
Triglicéridos, mg/dL	152 (107-205)	148 (106-194)	155 (116-212)	0.8
cHDL, mg/dL	50 (43-61)	55 (47-65)	45 (38-51)	<0.0001
cLDL, mg/dL	76 (50-103)	81 (48-114)	72 (54-95)	0.07
Hiperglucemia, n (%)	73 (38)	46 (37)	27 (39)	0.9
Hipercolesterolemia, n (%)	32 (19)	25 (25)	7 (11)	0.04
Hipertrigliceridemia, n (%)	76 (51)	46 (53)	30 (49)	0.7
cHDL disminuido, n (%)	15 (10)	8 (9.2)	7 (12)	0.4
cLDL elevado, n (%)	111 (75)	69 (79)	42 (69)	0.2
Dislipidemia Mixta, n (%)	23 (15)	17 (19)	6 (10)	0.2

En la comparación del peso de los pacientes, el valor que se obtuvo para las mujeres fue de 60-78 kg y en hombres de 63-85. Al analizar el IMC (Índice de masa corporal) que es una medida de mayor correlación con sobrepeso y/u obesidad (gráfico 2), ninguno de los pacientes se encontraba por debajo de su peso, lo que indica que no tienen riesgo de padecer desnutrición. El porcentaje de mujeres que se encuentran en el rango normal es de 22.5 y para hombres de 15.5, sin diferencia entre sexos, por lo que aproximadamente el 20% de la población del HUP se encuentra en su peso ideal y menor riesgo de desarrollar complicaciones de salud por causa de diabetes.

Para los pacientes que se encuentran en sobrepeso la incidencia fue mayor en hombres que en mujeres en una relación 36.7% para mujeres y 48.3% para

hombres, pero los valores se invierten al pasar a obesidad en la cual las mujeres tienden a aumentar el porcentaje y los hombres disminuyen en una relación 40.8% para mujeres y 36.2% para hombres. Esto puede deberse a que la obesidad y el sobrepeso afectan a todas las etapas de la vida, y sobre todo los pacientes con la edad descuidan tanto su peso como su forma de comer y a esto se suma la falta de actividad física, lo que hace de la diabetes una situación más difícil de tratar.

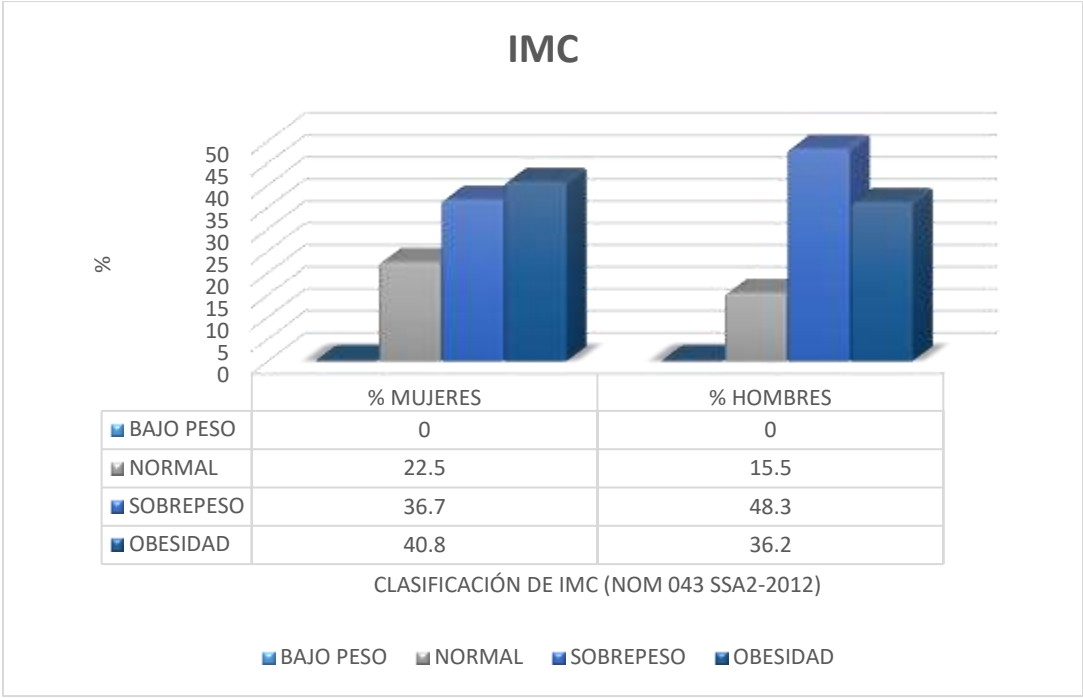


Grafico 2. Clasificación del IMC basados en la NOM-043-SSA2-2012.

Se determinó que la obesidad es un factor crítico para pacientes que padecen diabetes lo cual indica que la alimentación que se lleva no es la adecuada, una dieta rica en carbohidratos y lípidos provoca que la regulación no se lleve a cabo de manera adecuada en el paciente. Mantener los niveles de glucosa en sangre dentro de los valores normales es un reto para los pacientes, ya que su regulación de glucosa en sangre se hace prácticamente imposible por la acción de la insulina. Por ello se analizó la glucosa sérica en ayunas.

En cuanto a la glucosa en ayunas (gráfico 3), se observó que el promedio de glucemia en ayunas en la población general presentó un valor de 102 mg/dL, donde el intervalo normal para las mujeres fue de (88-132) y para hombres de (95-117) sin significancia estadística ($p > 0.05$). De acuerdo al criterio de clasificación de la ADA, 2017, se observa mayor incidencia de Diabetes mellitus en mujeres, mientras que en hombres se observó una mayor prevalencia de riesgo incrementado de diabetes, sin embargo debe tomarse en cuenta que esto es basados únicamente en la glucosa sérica, y no es una prueba confirmatoria de diabetes.

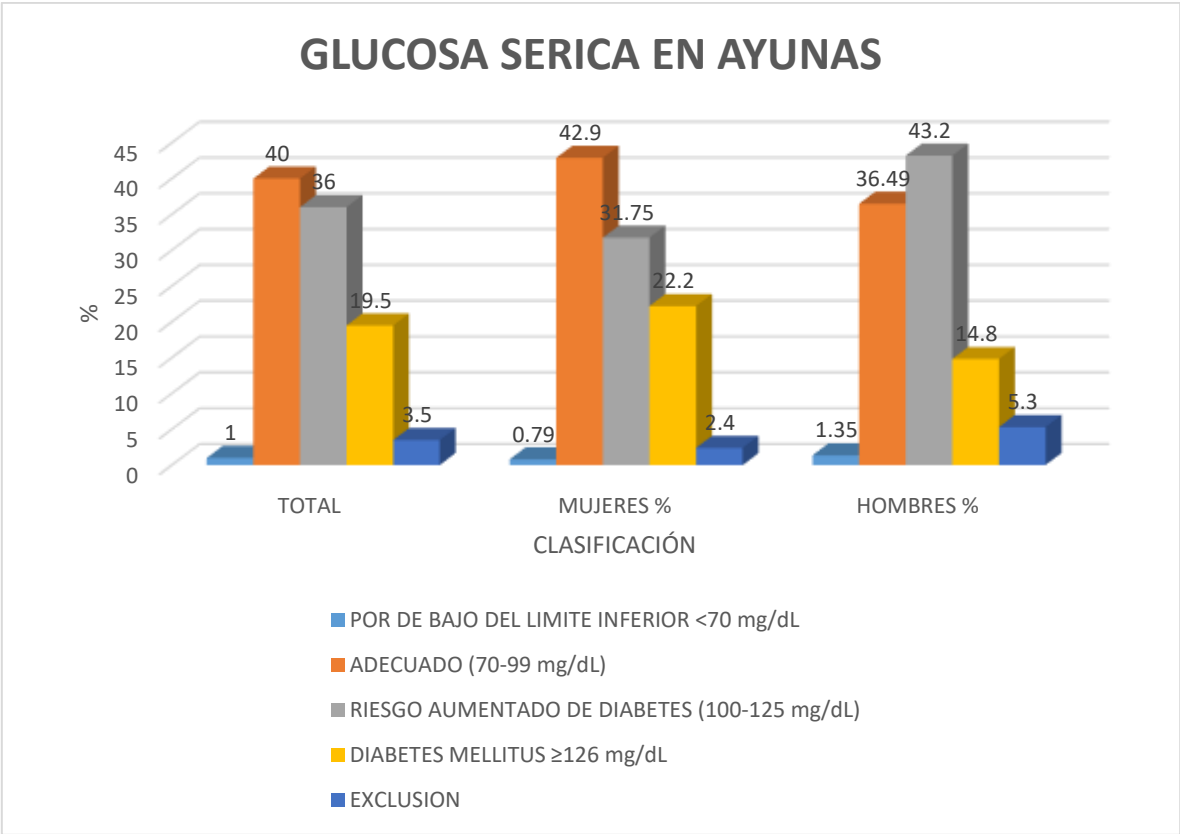


Grafico 3. Glucosa sérica en ayunas basada en la clasificación de la ADA 2017

Los puntos de corte utilizados se muestran en la misma tabla y son los establecidos por la ADA (2017). Se observa que hay mayor incidencia en mujeres para diagnóstico de diabetes mellitus con un 22.2% contra un 14.8% en hombres, aunque los hombres muestren un incremento en riesgo aumentado de diabetes, esto

significa que si se tiene una dieta adecuada podrían disminuir estos valores de riesgo.

Se resalta que el estudio de glucosa sérica en ayunas no es muy preciso porque la glucosa varía de un individuo a otro en el día y es alterada por otros factores como el estrés, ejercicio y la medicación, aunque el objetivo es mantener los niveles de glucosa plasmática dentro del intervalo adecuado (70-99 mg/dL) para poder disminuir el riesgo de padecer complicaciones microvasculares.

Basarse solo en la glucosa sérica no es factible para determinar si el paciente presenta riesgo de padecer complicaciones microvasculares. Por ello siguiendo el objetivo del presente trabajo se compararon los métodos utilizados para la determinación de HbA1c utilizando la clasificación de la ADA 2017 (gráfico 4).

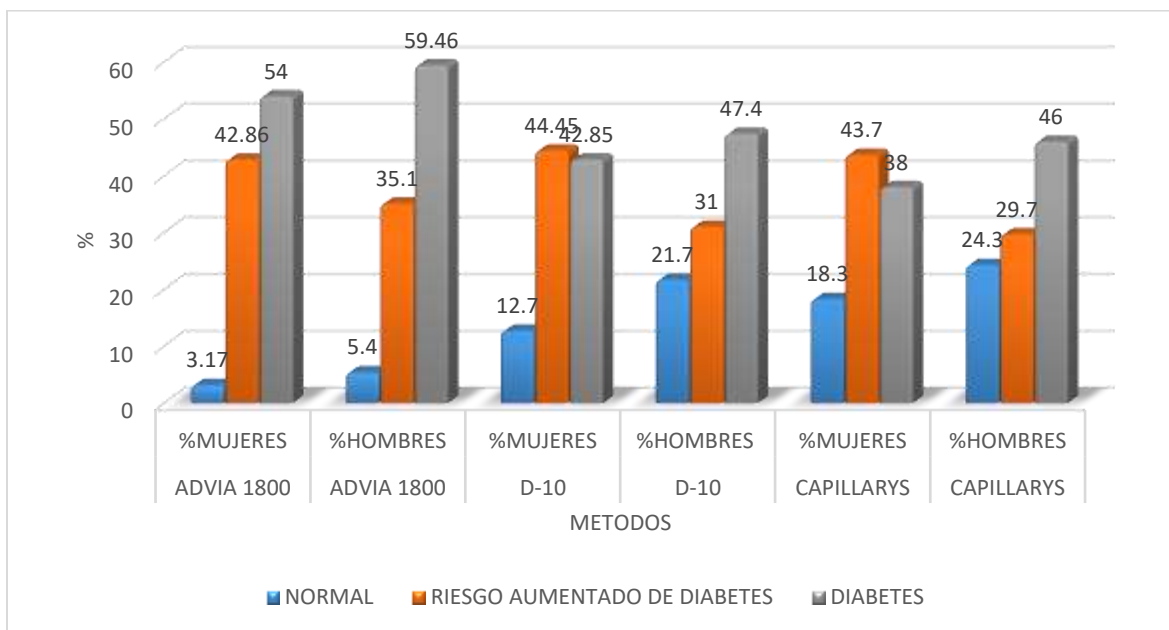


Gráfico 4. Comparación de los tres métodos basados en la clasificación ADA 2017.

Es posible observar en el gráfico que si se utiliza el equipo ADVIA 1800 (método basado en inmunoensayos espectrofotométricos), para mujeres y hombres la incidencia se encuentra en el rango de diabetes con 54% en mujeres y 59.46% para hombres, dejando un porcentaje mínimo de pacientes normales, en cambio si se analiza por el equipo D-10 (método basado en la cromatografía), el porcentaje

disminuye de un 54 a 42.85% en pacientes mujeres con diabetes y un 59.46 a 47.4% en pacientes hombres con diabetes, mostrando un incremento de pacientes normales de un 3.17 a 12.7 en mujeres y un 5.4 a 21.7 en hombres. Si simplemente se compararan estos dos métodos se estimaría que el método cromatográfico es más preciso para el control de los pacientes, sin embargo, comparando contra el tercer método, el equipo Capillarys (método basado en la electroforesis) se observa una disminución de 42.85 a 38% para mujeres y de 47.4 a 46% para hombres en el rango de diabetes y un incremento de pacientes normales de 12.7 a 18.3% en mujeres y de 21.7 a 24.3% en varones, mostrando que el método que muestra mejorías en las determinaciones de HbA1c es el electroforético utilizando el equipo Capillarys.

Para decidir si estas diferencias son realmente significativas, se utilizó la prueba de Friedman y comparaciones bivariadas por pares, obteniendo la información mostrada en el gráfico 5.

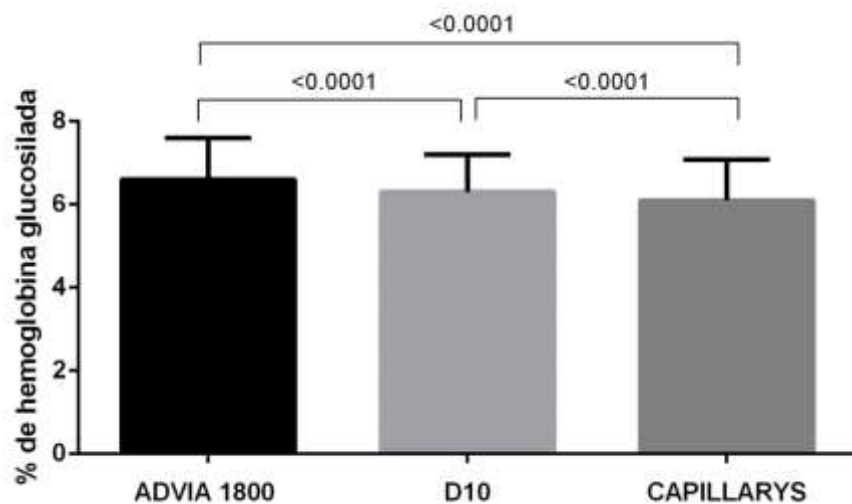


Gráfico 5. Comparación de los porcentajes de HbA1c entre los distintos métodos de medición. Se muestran medidas y rangos intercuartílicos. Los valores de HbA1c son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

De acuerdo con este análisis, no existe correlación entre los tres métodos empleados y los tres métodos son diferentes, y ya que utilizan metodologías diferentes, significaría que cada metodología es independiente y única. La pregunta sería ¿cuál método sería más adecuado para la determinación de la HbA1c?

Para contestar a esta pregunta, se utilizaron las fórmulas empleadas para la determinación por cada equipo. Para el equipo Advia 1800 (método inmunoenzimático) la fórmula empleada para la determinación de HbA1c es:

$$\text{HbA1c} = \text{HbA1c} / \text{Hb Total}$$

Como se sabe, la hemoglobina total incluye a la HbA, HbF y HbA₂ y otras variantes de Hb, si el paciente presenta hemoglobinopatías, en donde la Hb A incluye a la HbA1c y otras hemoglobinas glicosiladas. Por ello al realizar la medición, el valor aumenta ya que no toma solo la HbA1c que es la que indica el promedio de glucosa en sangre en 3 meses, sino el total de las hemoglobinas glicadas.

Para el equipo D-10 (métodos HPLC) la fórmula empleada es:

$$\text{HbA1c} = \text{HbA1c área} / \Sigma \text{HbA área}$$

Separa la fracción A1c basándose en la afinidad de cargas y lo divide entre la Hb A en las que se incluyen HbA₀, HbA₁ y las hemoglobinas glicadas en el extremo N-terminal (HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}) lo que hace que el valor disminuya y sea más preciso. Aunque es necesario considerar que la interferencia de las HbA₀, HbA₁ causa inexactitud en el resultado obtenido.

El equipo Capillarys (método electroforesis) se basa en la fórmula de la IFCC:

$$\text{HbA1c} = \text{HbA1c} / [\text{HbA}_0 + \text{HbA1c}]$$

Utiliza una fórmula estandarizada precisa donde no interfieren más variantes de hemoglobina como Hb carbamylada o acetilada separándolas por corrimiento electroforético, lo que otorga mayor precisión y exactitud de la prueba, resultando de ello que los resultados muestren valores más bajos y superiores al nivel esperado como meta para el diagnóstico y control.

De esto se desprende entonces, resumiendo, que los tres métodos son diferentes, los tres son útiles, y cualquiera de ellos que se tenga disponible en el laboratorio de análisis clínicos, tomando en cuenta las consideraciones anteriores, podría utilizarse sin problema.

Como una opción para reforzar el diagnóstico independientemente del equipo que se utilice para la determinación de HbA1c, se procedió a analizar si existían variantes de lípidos en asociación con Diabetes mellitus. Los valores de los parámetros a analizar se clasificaron en grupos basados en la NOM-037-SSA2-2012 para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias (gráfico 6).

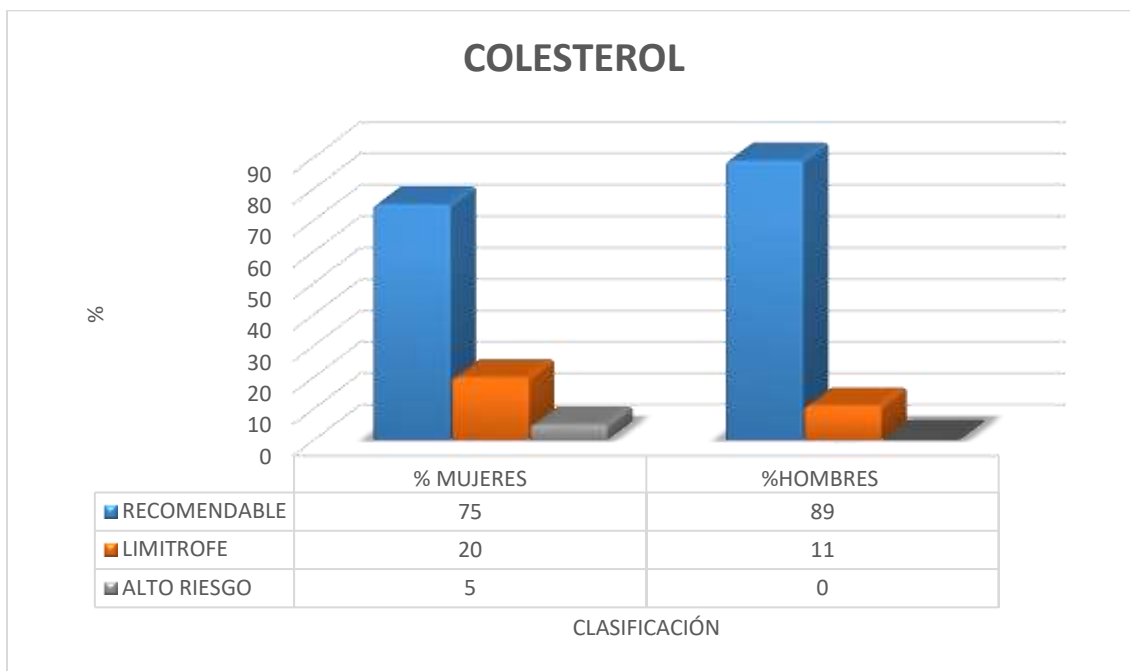


Gráfico 6. Clasificación de colesterol basado en la NOM-037-SSA2-2002.

Se mostró una mayor incidencia de alto riesgo en mujeres con diferencia entre hombres y mujeres ($p < 0.05$), lo que podría deberse a que en la población en la cual se realizó el estudio, las mujeres son en mayor porcentaje diabéticas.

En contraste con lo encontrado en el colesterol total, los triglicéridos (gráfico 7), se encuentran más aumentados en hombres que en mujeres (alto riesgo) en un 25%

vs 33%, lo que difiere del estudio de Fernandez y Cayao (2015) [8], quienes obtuvieron una mayor prevalencia de hipertrigliceridemia en pacientes hombres.

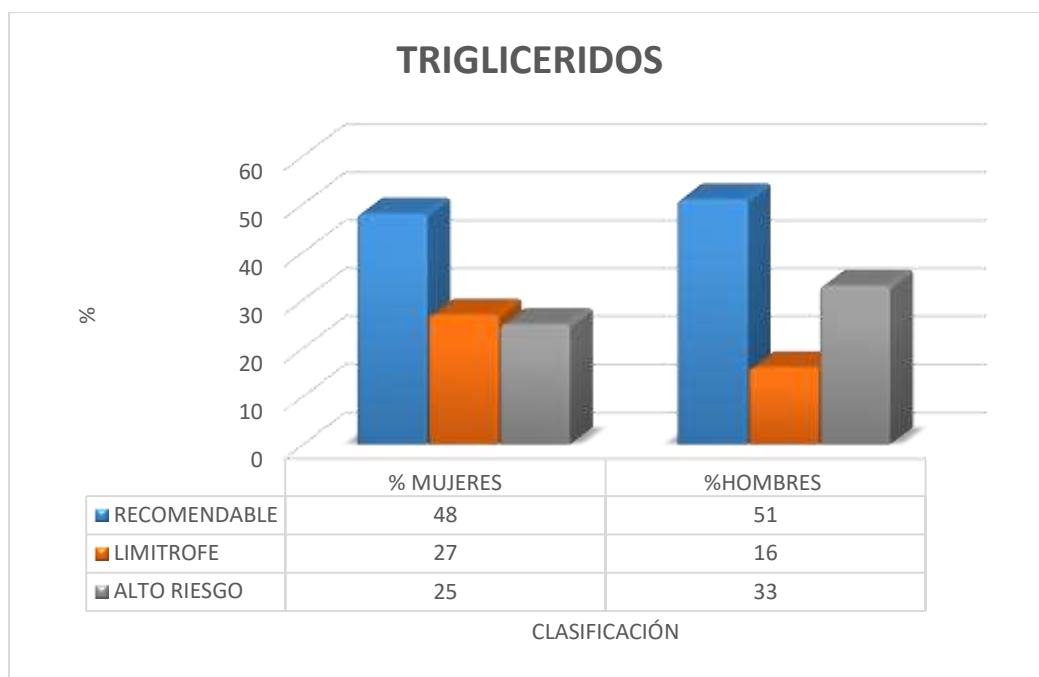


Gráfico 7. Clasificación de triglicéridos basado en la NOM-037-SSA2-2002

En lo referente a colesterol HDL (gráfico 8), el promedio fue de 45 mg/dL en hombres y 55 mg/dL en mujeres y un promedio total de la población de 50 mg/dL superior a los límites inferiores de riesgo y a lo reportado por Fernandez y Cayao (2015) [8] quienes señalan una media de 43.32 mg/dL.

Utilizando la clasificación de la NOM-037-SSA2-2012 para observar la prevalencia por género, se aplicaron los valores de colesterol HDL en nivel recomendable >35 mg/dL y alto riesgo <35 mg/dL. Como se sabe el colesterol HDL o comúnmente colesterol bueno, entre mayor nivel menor riesgo de complicaciones microvasculares y macrovasculares. Utilizando los rangos, se muestra que los hombres presentan niveles bajos de colesterol HDL (15%) en comparación con las mujeres (8%), con significancia estadística ($p < 0.05$).

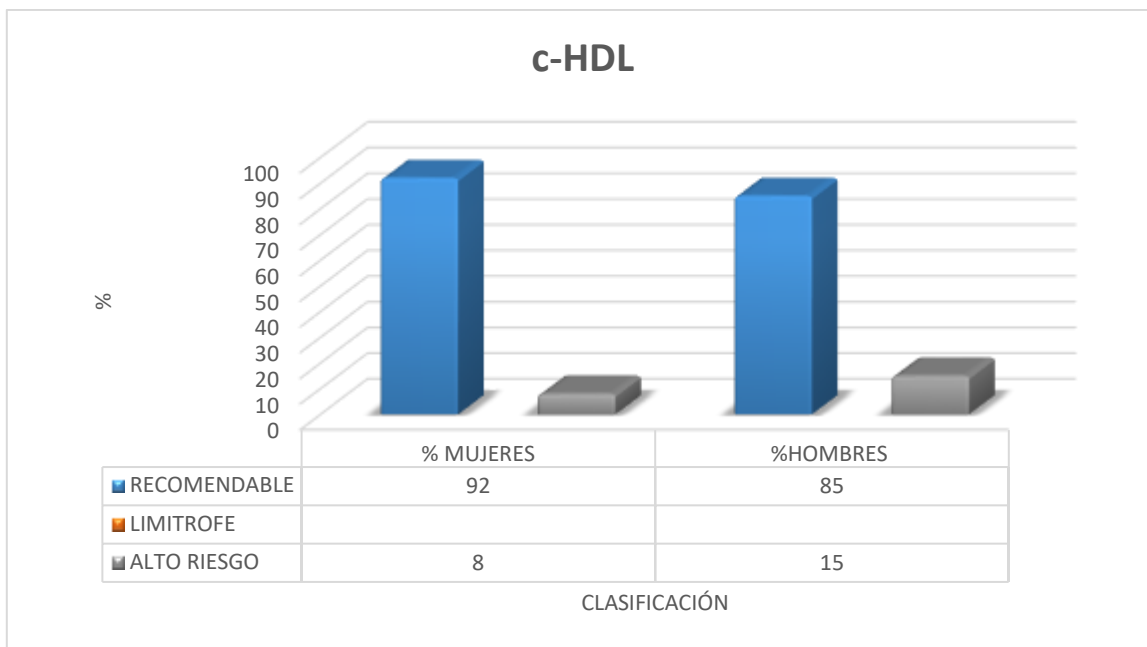


Gráfico 8. Clasificación de colesterol HDL basado en la NOM-037-SSA2-2002

En el caso del colesterol LDL (gráfico 9), se obtuvo un promedio de 76 mg/dL en el total de la población, y 72 mg/dL para hombres contra un 81 mg/dL en mujeres, muy por debajo de lo obtenido por Fernandez y Cayao (2015) [8] que es de 116.76 mg/dL.

Al relacionar el colesterol LDL con el género con base en la NOM-037-SSA2-2002 se encontró que el género femenino tiene mayor prevalencia de colesterol LDL obteniendo un 2% para mujeres en el rango de alto riesgo contra un 0% en hombres, sin embargo estos valores estadísticamente no son diferentes ($p > 0.05$), de la misma manera, en el rango límite la prevalencia es mayor en mujeres con un 9% contra 3% en los hombres, nuevamente diferente al estudio realizado por Fernández y Cayao (2015), [8] en donde se obtuvo mayor prevalencia en mujeres (19.8%) que en hombres (13.5%).

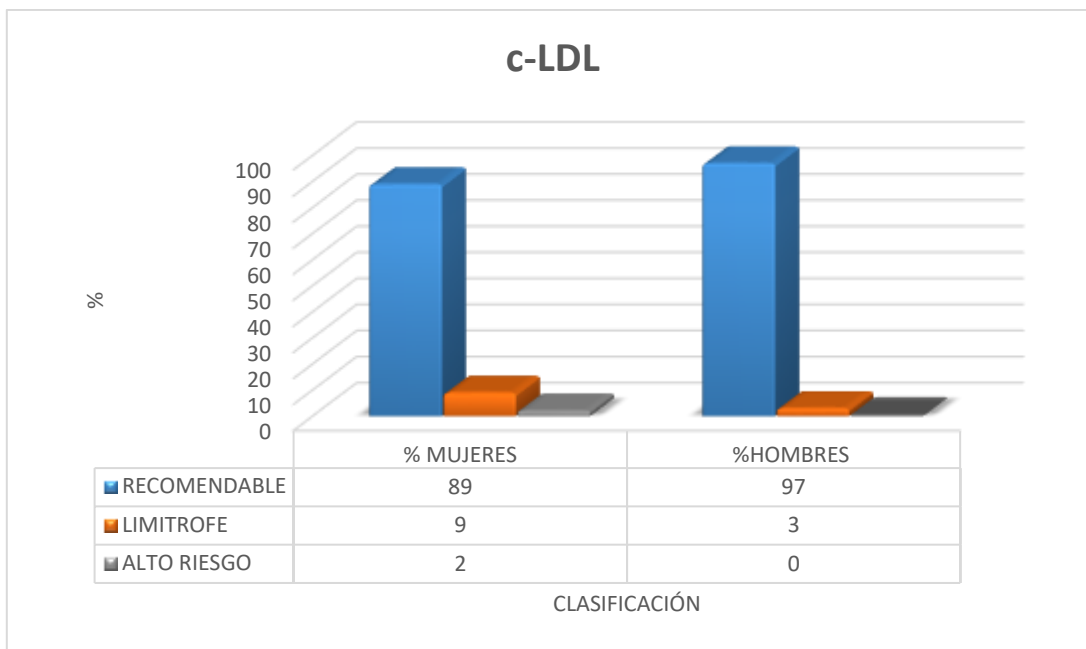


Gráfico 9. Clasificación de colesterol LDL basado en la NOM-037-SSA2-2002

Finalmente, en el gráfico 10 se muestran las comparaciones de los porcentajes de HbA1c tomando en consideración los estados de nutrición (peso normal, sobrepeso y obesidad) en pacientes con y sin dislipidemia mixta, encontrando que los porcentajes de HbA1c no son estadísticamente diferentes entre los pacientes con sobrepeso u obesidad y los pacientes con peso normal. Pero cuando se evaluó la interacción del estado de nutrición y la dislipidemia mixta, sí se observaron cambios en los valores de la HbA1c en todos los métodos. Sugiriendo que el IMC y las alteraciones de los TGL y el colesterol influyen en la glucemia de los pacientes.

Sin embargo, estos resultados deben ser tomados con cautela, ya que al tratarse de un estudio transversal, no es posible saber a ciencia cierta si son los triglicéridos o el colesterol quienes afectan a la HbA1c, o es la HbA1c quienes afectan los perfiles de lípidos.

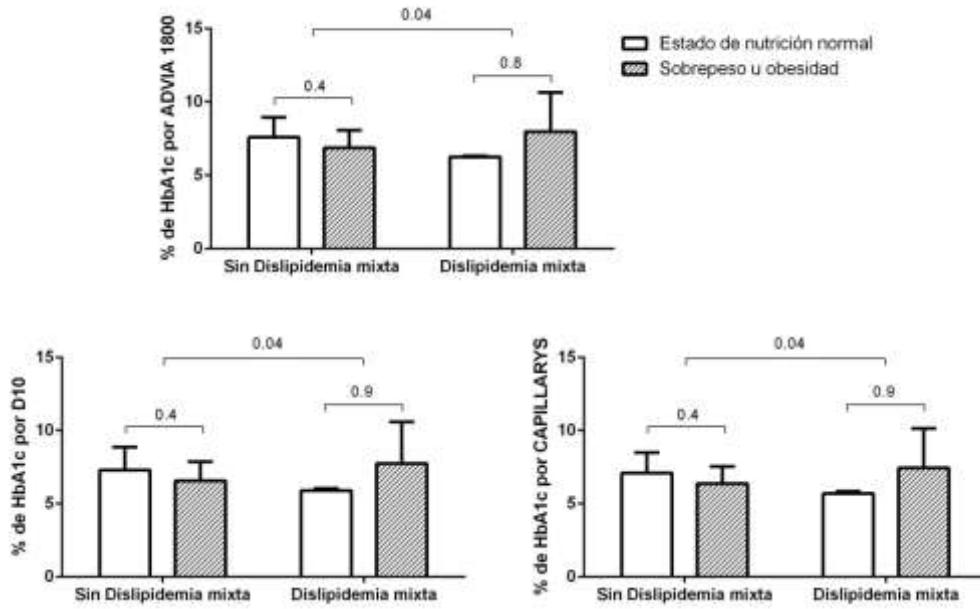


Gráfico 10. Comparación de los porcentajes de HbA1c en los estados de nutrición y por la presencia de dislipidemia mixta.

IX. CONCLUSIÓN

La población estudiada se caracterizó por presentar una prevalencia alta de HbA1c, siendo mayor en mujeres que en hombres en una relación 2:1 en el HUP.

La HbA1c al ser evaluada por tres metodologías diferentes, se concluye que los métodos son estadísticamente diferentes con significancia estadística $p < 0.05$ entre cada método, las diferentes metodologías y el equipo utilizado tiene variabilidad debido a la fórmula aplicada para determinar el nivel de HbA1c.

El método que mostró mayor precisión y exactitud para la determinación de HbA1c fue el método electroforético utilizando el equipo Capillarys de la casa comercial Sebia, el cual separa las fracciones de hemoglobina por su corrimiento electroforético, haciendo más preciso el valor obtenido, porque solo toma en su fórmula el valor de HbA1c y no otras variantes de hemoglobinas glicadas, sin embargo, es necesario considerar si vale la pena realizar una medida más precisa a costa de modificar significativamente el diagnóstico y control del paciente que podría colocar al paciente en una clasificación errónea.

El estado de nutrición y la dislipidemia mixta influyen en la glucemia de los pacientes, permitiendo reafirmar que existe una relación significativa entre la HbA1c y el perfil de lípidos.

Analizando los grupos la relación HbA1c vs perfil lipídico, el nivel de HbA1c aumenta en mujeres con edades avanzadas. Por lo que el riesgo de diabetes es mayor a mayor edad del paciente en la población del HUP muestreada.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Córdova Villalobos José Ángel. (2008). Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud Pública de México*, 50, 419-427.
2. Pérez Páez, I. (2019). Mitos y realidad de la hemoglobina glucosilada. *Medicina Interna de México*, 25(3), 202-209. Recuperado de http://www.cmim.org/boletin/pdf2009/MedIntContenido03_08.pdf
3. Guía. (2016). Asumiendo el control de la diabetes. 2016, de Fundación Mídete Sitio web: http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/11/FMídete_Asumiendo-Control-Diabetes-2016.pdf
4. Manual de Instrucciones. D-10™ Hemoglobin A1c Program. de BIO-RAD Sitio web: <file:///C:/Users/Propietario/Downloads/5468384.pdf>
5. Anabalón Soto, J. P. BQ(2013, 14 enero). RECOMENDACIONES SOBRE EL USO DE HEMOGLOBINA GLICADA A1c (HbA1c) EN EL DIAGNOSTICO DE DIABETES MELLITUS EN ADULTOS. Recuperado20 de septiembre, 2018, de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/hemoglobina%20glicada%20-%2022022013A.pdf>
6. Álvarez Seijas Eduardo. (2009). Algunos aspectos de actualidad sobre la hemoglobina glucosilada y sus aplicaciones. *Revista Cubana de Endocrinología*, 20, pp. Sitio web: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532009000300007
7. Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Definición y diagnóstico de la diabetes mellitus y otros problemas metabólicos asociados a regulación alterada de la glucosa. , de Pan American Health Organization Sitio web: http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Guias_ALAD_2009.pdf
8. Fernández Espejo José Abel, Cayao León Miguel Nino. (2015). Relación entre la hemoglobina glicosilada (HbA1c) y el perfil lipídico en pacientes que acudieron al SAAAC durante el período 2010-2013. 2015, de Universidad Nacional Mayor De San Marcos Sitio web: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4595/Fern%C3%A1ndez_ej.pdf?sequence=1

9. Campuzano-Maya Germán, Latorre-Sierra Guillermo. (2010). La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la diabetes. Medicina & Laboratorio, Volumen 16. pp.
Sitio web: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2010/myl105-6b.pdf>
10. William T. Cefalu, MD. (abril 2017). Estandares para la atencion medica de la diabetes . diabetes Care , sv, 1-148. 2018, De ADA Base de datos.
11. Responsables de la ENSANUT MC. (2016). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 INFORME FINAL DE RESULTADOS . 2018, de ENSANUT Sitio web: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf>
12. S/A. (2017). IDF Atlas de diabetes . 2018, de International Diabetes Federation Sitio web: <http://diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html>
13. Fundación IDEA. (sa). Diabetes: ¿Qué hacer con el principal problema de Salud Pública en México?. 2018, de Fundación IDEA Sitio web: <http://fundacionidea.org.mx/assets/files/Quehacerconladabetes.pdf>
14. Arredondo, Armando, PhD*. (2011). Costos de la Diabetes en América Latina: Evidencias del Caso Mexicano. ELSEVIER, 14, 85-88.
15. Zamudio-Villarreal Juan Fernando. (2010). Diagnóstico de diabetes con hemoglobina glicosilada. 2010, de Revista de Evidencia e Investigación Clínica Sitio web: <http://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2010/eo101f.pdf>
16. J. Escribano-Serrano at col. (2009). Glucohemoglobina HbA1c. Primera parte: conocerla. 2010, de Elsevie Sitio web: file:///C:/Users/Propietario/Downloads/S1138359309000173_S300_es.pdf
17. Rahbar Samuel . (2005). The Discovery of Glycated Hemoglobin A Major Event in the Study of Nonenzymatic Chemistry in Biological Systems. Annals New York Academy of Sciences, pp.
18. Sacks David B.. (2012). Measurement of Hemoglobin A1c. 2012 Nov 14, de American diabetes Association Sitio web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3507560/>
19. Tintinalli, Judith E. (2013). Tintinalli: medicina de urgencias. Ed Mac Graw Hill. 1481 pp sitio web: https://books.google.com.mx/books?id=1F-NCgAAQBAJ&pg=PA1481&lpg=PA1481&dq=porcentaje+de+hba+en+eritrocitos&source=bl&ots=GwFnzrBxsa&sig=u5eQMXS9XW9MavC1-2bizvF_3Wc&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwia9IPWjqidAhUp5IMKHUHDDBZA

Q6AEwFHoECAQQAQ#v=onepage&q=porcentaje%20de%20hba%20en%20eritrocitos&f=false

20. Brandan, Nora. (2008). Hemoglobina . Facultad de Medicina UNNE. pp.
21. Gebel E.. (2012). The start of something good: the discovery of HbA(1c) and the American Diabetes Association, Samuel Rahbar Outstanding Discovery Award.. 2012 Nov 14, de Diabetes Care Sitio web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3507589/>
22. Rodríguez Romero, Walter E. Sáenz Renauld, Germán F. y Chaves Villalobos, Mario A. Haplotipos de la hemoglobina S: importancia epidemiológica, antropológica y clínica. de Revista Panamericana Salud Publica Sitio web: <https://www.scielosp.org/pdf/rpsp/1998.v3n1/1-8/es>
23. Kilpatrick, Eric S, at col . (2008). HbA1c variability and the risk of microvascular complications in type 1 diabetes: data from the DCCT. 2008, de American Diabetes Association Sitio web: <http://care.diabetesjournals.org/content/diacare/early/2008/07/23/dc08-0864.full.pdf>
24. Little, Randie R. RohlXng, Curt L. Sacks, David B. (2011). Estado actual de la medida de hemoglobina A1c y objetivos para su mejora: del caos al orden para mejorar la atención de la diabetes. de Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, pp.
25. Terrés Speziale Arturo M. (2006). Estandarización de Glicohemoglobina. Revista Mexicana de Patología Clínica, 53, 157-165.
26. Gisela Ungera, Gustavo Ruiz1b at col. (2014). Analytical performance evaluation of three methods for hemoglobin A1c quantification. Acta Bioquímica Clínica latinoamericana 183-189pp.
27. J. Escribano-Serrano at col. (2009). Glucohemoglobina HbA1c. Primera parte: conocerla. 2010, de Elsevie Sitio web: file:///C:/Users/Propietario/Downloads/S1138359309000173_S300_es.pdf
28. Bracho Nava Mariela, at col. (2015). Hemoglobina Glicosilada O Hemoglobina Glicada, ¿Cuál de las dos?. 2015, de SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente Sitio web: <http://www.redalyc.org/pdf/4277/427744808002.pdf>
29. Zamudio-Villarreal Juan Fernando. (2010). Diagnóstico de diabetes con hemoglobina glicosilada. 2010, de Revista de Evidencia e Investigación

Clínica Sitio web: <http://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2010/eo101f.pdf>

30. Manual de procedimiento para sistema CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING. (2013). CAPILLARYS Hb A1c. 2013, de Sebia Sitio web: <http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/electroforesis-y-hemoglobina-glicosilada/2015-capillarys-hba1c-062014-espano2011348826.pdf>
31. Manual de procedimientos. (2011). Hemoglobina A1c_3M Análisis de Tratamiento Previo Manual. 2011, de Slide Share Sitio web: <https://es.slideshare.net/RodrigoVargas47/test-de-hemoglobina-glicosilada>
32. Sin autor. (2017). prueba de tolerancia oral a la glucosa. 2018, de sa Sitio web: <http://www.ucla.edu/ve/dmedicin/DEPARTAMENTOS/fisiologia/VARIOS/PR%C1CTICA%20No%207.pdf>
33. NORMA OFICIAL MEXICANA . (2013). NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación.. 2017, de Secretaria de Salud Sitio web: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013

ANEXOS

Anexo 1.

DATOS DE CONTROL DE CADA EQUIPO PARA DETERMINACION DE HbA1c					
METODO		ESPECTROFOTOMETRICO		CROMATOGRAFICO	ELECTROFORETICO
EQUIPO		ADVIA 1800		D-10	CAPILLARYS
CONTROL					
DENOMINACION		DCA SYSTEMS HEMOGLOBIN A1c (2 levels)		Lyphocheck Diabetes Bi-Level Control, 6 x 0.5 MI	MULTI-SYSTEM Hb A1c CAPILLARY CONTROLS (2 levels)
CONTROL 1 (BAJO)	LOTE	135		33941	03117/xx
	CADUCIDAD	2020/06		26/09/2018	2020/09
	LIMITE INFERIOR	4.2	22.4	4.8	± 0.6
	MEDIA	5.2	33.3	5.4	5.4
	LIMITE SUPERIOR	6.2	44.3	6	± 0.6
	UNIDADES	%	mmol/mol	%	%
	CONCENTRACION	-----		-----	36 ± 6 mmol/mol
CONTROL 2 (ALTO)	LOTE	135		33942	06117/xx
	CADUCIDAD	2020/06		20/09/2018	2020/09
	LIMITE INFERIOR	8.3	67.2	8.4	± 0.7
	MEDIA	10.4	90.2	9.6	8.3
	LIMITE SUPERIOR	12.5	113.1	10.8	± 0.7
	UNIDADES	%	mmol/mol	%	%
	CONCENTRACION	-----		-----	67 ± 7 mmol/mol

Anexo 2.

DATOS DE CALIBRADOR DE CADA EQUIPO PARA DETERMINACION DE HbA1c				
METODO		ESPECTROFOTOMETRICO	CROMATOGRAFICO	ELECTROFORETICO
EQUIPO		ADVIA 1800	D-10	CAPILLARYS
CALIBRADOR				
DENOMINACION		A1c_3 CAL	CALIBRADOR NGSP HbA1c	Hb A1c CALIBRADOR
CALIBRADOR 1	LOTE	7ED129	AA70313	06096/xx
	CADUCIDAD	01/08/2019	30/04/2019	2021/07
	CONCENTRACION	$A1c_3/A1c_3M = 2.67$	5.4	35.8
	UNIDADES	mmol/mol	%	mmol/mol
CALIBRADOR 2	LOTE	7ED229	AA70314	07096/xx
	CADUCIDAD	01/08/2019	30/04/2019	2021/07
	CONCENTRACION	$A1c_3/A1c_3M = 3.84$	10.8	84.5
	UNIDADES	mmol/mol	%	mmol/mol
CALIBRADOR 3	LOTE	7ED329	----	----
	CADUCIDAD	01/08/2019	----	----
	CONCENTRACION	$A1c_3/A1c_3M = 5.04$	----	----
	UNIDADES	mmol/mol	----	----
CALIBRADOR 4	LOTE	7ED429	----	----
	CADUCIDAD	01/08/2019	----	----
	CONCENTRACION	$A1c_3/A1c_3M = 6.70$	----	----
	UNIDADES	mmol/mol	----	----

Anexo 3.

DATOS DE REACTIVO DE CADA EQUIPO PARA DETERMINACION DE HbA1c			
METODO	ESPECTROFOTOMETRICO	CROMATOGRAFICO	ELECTROFORETICO
EQUIPO	ADVIA 1800	D-10	CAPILLARYS
REACTIVO			
DENOMINACION	A1c_3	TAMPON DE ELUCION 1	TAMPON/BUFFER
USO	Reactivos A1c_3 de hemoglobina	No indica	Tampón para el análisis de la HbA1c mediante electroforesis capilar.
PRESENTACION	No indica	2000 mL de tampón Bis-Tris/fosfato con pH 6.0	700 mL
LOTE	370	AA70307	02018/01
CADUCIDAD	2019/02	01/09/2019	2021/01
DENOMINACION	A1c_3 R1	TAMPON DE ELUCION 2	SOLUCION HEMOLISANTE
USO	Reactivo aglutinador/hemoglobina total 1	No indica	Para la dilución y la hemólisis de la sangre total
PRESENTACION	2 x 8.0 MI	1000 mL de tampón Bis-Tris/fosfato con pH 6.7	700 mL
LOTE	370	AA70308	30117/80
CADUCIDAD	2019/02	31/08/2019	2020/11
DENOMINACION	A1c_3 R2	SOLUCION DE LAVADO/DILUYENTE	SOLUCION DE LAVADO
USO	Reactivo de anticuerpos 2	No indica	Para lavar los capilares después de la separación electroforética de HbA1c
PRESENTACION	2 x 6.0 mL	1600 mL de agua desionizada.	Concentrado de 75 mL. Diluirlo en agua inyectable hasta un volumen final de 750 mL
LOTE	370	AA70361	08038/01
CADUCIDAD	2019/02	11/09/2019	2021/03
DENOMINACION	A1c_3 DENAT	----	----
USO	Reactivo desnaturalizante	----	----
PRESENTACION	1 x 31.0 mL	----	----
LOTE	370	----	----
CADUCIDAD	2019/02	----	----

Anexo 4.

DATOS DE CONTROL PARA DETERMINACION DE ESTUDIOS ADICIONALES				
METODO		ESPECTROFOTOMETRICO	ESPECTROFOTOMETRICO	ESPECTROFOTOMETRICO
EQUIPO		ADVIA 1800	ADVIA 1800	ADVIA 1800
ANALISIS		GLUCOSA	TRIGLICERIDOS	COLESTEROL TOTAL
CONTROL				
DENOMINACION		Lyphocheck Assayed Chemistry Control levels 1 and 2	Lyphocheck Assayed Chemistry Control levels 1 and 2	Lyphocheck Assayed Chemistry Control levels 1 and 2
CONTROL 1	LOTE	26420	26420	26420
	CADUCIDAD	30/09/2019	30/09/2019	30/09/2019
	LIMITE INFERIOR	-----	-----	-----
	MEDIA	86.7	185	264
	LIMITE SUPERIOR	-----	-----	-----
	UNIDADES	mg/dL	mg/dL	mg/dL
	RANGO	76.2-97.1	71-200	245-283
CONTROL 2	LOTE	26420	26420	26420
	CADUCIDAD	30/09/2019	30/09/2019	30/09/2019
	LIMITE INFERIOR	-----	-----	-----
	MEDIA	273	102	108
	LIMITE SUPERIOR	-----	-----	-----
	UNIDADES	mg/dL	mg/dL	mg/dL
	CONCENTRACION	248-297	91-113	98.3-118

Anexo 5.

DATOS DE CALIBRADOR PARA DETERMINACION DE ESTUDIOS ADICIONALES				
METODO		ESPECTROFOTOMETRICO	ESPECTROFOTOMETRICO	ESPECTROFOTOMETRICO
EQUIPO		ADVIA 1800	ADVIA 1800	ADVIA 1800
ANALISIS		GLUCOSA	TRIGLICERIDOS	COLESTEROL TOTAL
CALIBRADOR				
DENOMINACION		Chemistry calibrator CHEM_CAL	Chemistry calibrator CHEM_CAL	Chemistry calibrator CHEM_CAL
CALIBRADOR	LOTE	135808B	135808B	
	CADUCIDAD	31/03/2019	31/03/2019	
	DENOMINACION	GLUH_c	GLUO_c	-----
	CONCENTRACION	234	235	180
				166

	UNIDADES	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
--	----------	-------	-------	-------	-------

Anexo 6.

DATOS DE REACTIVO PARA DETERMINACION DE ESTUDIOS ADICIONALES			
METODO	ESPECTROFOTOMETRICO	ESPECTROFOTOMETRICO	ESPECTROFOTOMETRICO
EQUIPO	ADVIA 1800	ADVIA 1800	ADVIA 1800
ANALISIS	GLUCOSA	TRIGLICERIDOS	COLESTEROL TOTAL
REACTIVO			
DENOMINACION	GLUH_3	Triglycerides_2 Reagent	Cholesterol 2 reagent
USO	Reactivos glucosa Hexokinase_3	Reactivo de trigliceridos	Reactivo de colesterol total
PRESENTACION	No indica	No indica	No indica
LOTE	439435	441532	441116
CADUCIDAD	2020/03	2019/04	2019/07

Anexo 7.

DATOS DE CONTROL PARA DETERMINACION DE ESTUDIOS ADICIONALES			
METODO	ESPECTROFOTOMETRICO	ESPECTROFOTOMETRICO	----
EQUIPO	ADVIA 1800	ADVIA 1800	----
ANALISIS	c-HDL	c-LDL	----
CONTROL			
DENOMINACION	Lyphocheck Assayed Chemistry Control levels 1 and 2	Lyphocheck Assayed Chemistry Control levels 1 and 2	----
CONTROL 1 (BAJO)	LOTE	26420	26420
	CADUCIDAD	30/09/2019	30/09/2019
	LIMITE INFERIOR	----	----
	MEDIA	56.9	143
	LIMITE SUPERIOR	----	----
	UNIDADES	mg/dL	mg/dL
	CONCENTRACION	47.8-66	119-167
CONTROL 2 (ALTO)	LOTE	26420	26420
	CADUCIDAD	30/09/2019	30/09/2019
	LIMITE INFERIOR	----	----
	MEDIA	24.1	57.6
	LIMITE SUPERIOR	----	----
	UNIDADES	mg/dL	mg/dL
	CONCENTRACION	19.7-26.5	46.8-68.4

Anexo 8.

DATOS DE CALIBRADOR PARA DETERMINACION DE ESTUDIOS ADICIONALES					
METODO		ESPECTROFOTOMETRICO		ESPECTROFOTOMETRICO	-----
EQUIPO		ADVIA 1800		ADVIA 1800	-----
ANALISIS		c-HDL		c-LDL	-----
CALIBRADOR					
DENOMINACION		HDL/LDL Cholesterol calibrator		HDL/LDL Cholesterol calibrator	-----
CALIBRADOR	LOTE	420308		420308	-----
	CADUCIDAD	2019/04		2019/04	-----
	DENOMINACION	Direct HDL	HDL II	-----	-----
	CONCENTRACION	73	N/A	137	-----
	UNIDADES	mg/dL	mg/dL	mg/dL	-----

Anexo 9.

DATOS DE REACTIVO PARA DETERMINACION DE ESTUDIOS ADICIONALES					
METODO		ESPECTROFOTOMETRICO		ESPECTROFOTOMETRICO	-----
EQUIPO		ADVIA 1800		ADVIA 1800	-----
ANALISIS		c-HDL		c-LDL	-----
REACTIVO					
DENOMINACION		Direct HDL Cholesterol		LD (L-P) Reagent	-----
USO	Reactivos colesterol HDL		Reactivo de colesterol LDL		-----
PRESENTACION	No indica		No indica		-----
LOTE	439456		421344		-----
CADUCIDAD	2019/03		2018/11		-----

