

---

# Curso Preparatorio en Diagnóstico de Laboratorio en la Clínica Médica de hoy

---



Bioq César Yené

# Diabetes (ADA)

## ■ Clasificación:

- **DM1** (destrucción de células beta que lleva a deficiencia absoluta de insulina)
- **DM2** (defecto progresivo en la secreción de insulina, asociado a aumento en la resistencia a la insulina);
- **Diabetes gestacional** (diagnosticada durante el embarazo, que no cumple criterios posteriores de diabetes)
- Otros como los causados por defectos genéticos en la función de las células beta, defectos genéticos en la acción de insulina, enfermedad del páncreas exócrino (fibrosis quística) o inducida por sustancias químicas o medicamentos (tratamiento de HIV/ después de trasplante de órgano).

Standards of Medical Care in  
Diabetes—2014

American Diabetes Association

---

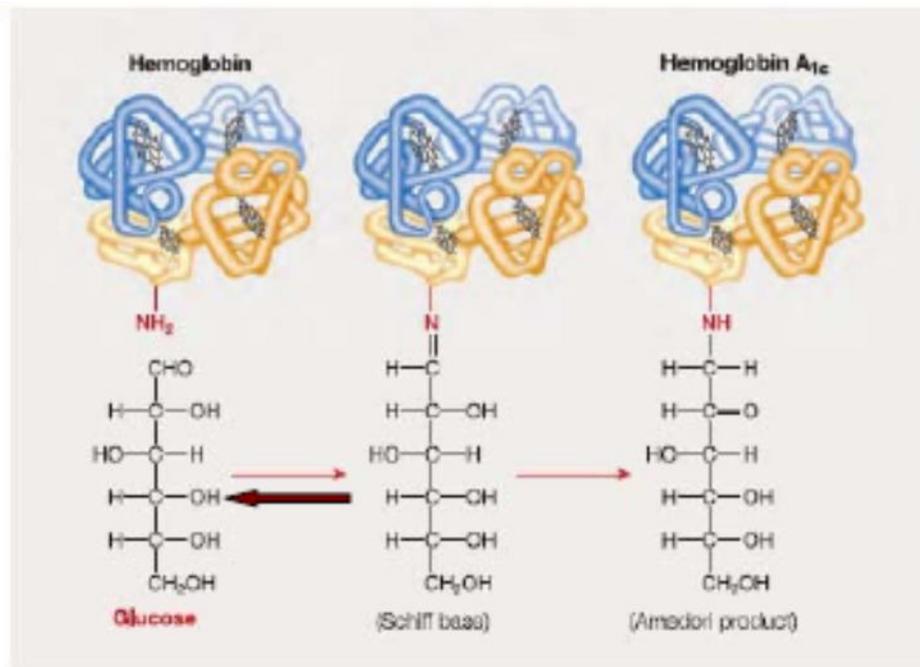
# Diabetes (ADA)

- **Diagnóstico de diabetes:** uno de los siguientes hace diagnóstico de DM2.
    - A1C > 6.5% ó
    - Glucemia en ayunas > 126 mg/dL ó
    - Glucemia 2 horas después de prueba de tolerancia a glucosa oral > 200 mg/dl ó
    - Glucemia tomada aleatoriamente >200 mg/dL
-

# HEMOGLOBINA GLICOSILADA (HbG)

Hemoglobinas en el adulto:

Especie	Subespecie	Estructura	Azucar	Porcentaje
HbA0	-	$\alpha_2\beta_2$	----	>90%
HbA1 (rápidas)	HbA1a1	$\alpha_2(\beta\text{-F-D-P})_2$	Fructosa-1,6-bifosfato unida a la valina en Nt de la cadena $\beta$ .	<1%
	HbA1a2	$\alpha_2(\beta\text{-G-6-P})_2$	Glucosa-6-fosfato unida a la valina en Nt de la cadena $\beta$ .	<1%
	HbA1b	?		<1%
	HbA1c	$\alpha_2\beta_2$	Glucosa unida a la valina en Nt de la cadena $\beta$ .	4-6%
	HbA1d	?	?	<0.1%
HbA2	-	$\alpha_2\delta_2$	----	2-3%
HbF	-	$\alpha_2\gamma_2$	----	0.8-2%

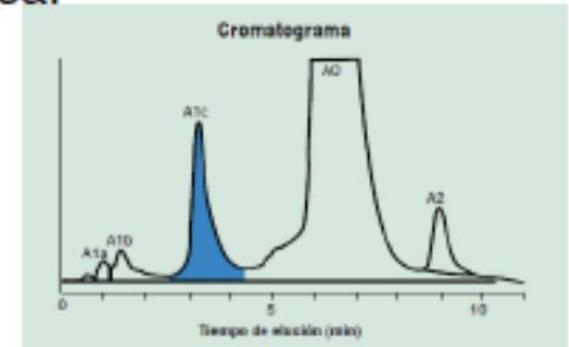


## Biosíntesis de la HbA<sub>1c</sub>:

Modificación postraducciona  
de la HbA<sub>1</sub>.

Proceso no enzimático.

La velocidad de formación  
dependerá de la concentración  
de glucosa.



## Un poco de historia...

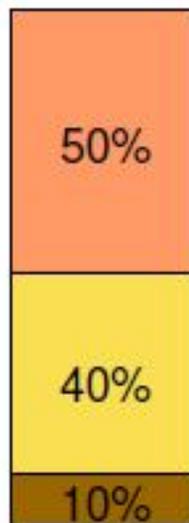
- ❑ **1958:** Allen separa por cromatografía de intercambio iónico al menos tres fracciones con carga más negativa que la HbA: HbA<sub>1a</sub>, HbA<sub>1b</sub> y HbA<sub>1c</sub>.
- ❑ **1968:** Rahbar descubre la **elevación** de estas Hb rápidas en pacientes **diabéticos**.
- ❑ A mediados de los **70**: se acepta la relación entre la Hb glicosilada, el promedio de la concentración de glucosa y las complicaciones a largo plazo de la diabetes.
- ❑ Desde principios de los **80** se extiende el análisis de hemoglobinas glicosiladas en el ámbito clínico

Vida media de la Hb glicosilada

=

Vida media del eritrocito

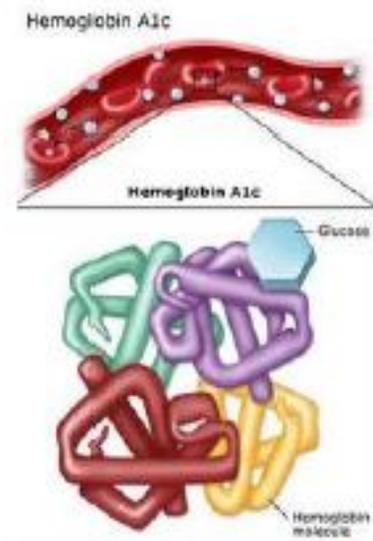
La concentración o el porcentaje de HbA1c se correlaciona con la glucosa media de los 120 días previos:



Glucemia media del último mes

Glucemia media entre los días 31-89

Glucemia de los días 90-120



# Métodos para la determinación de HbA1c

## I. Basados en diferencia de carga:

- Cromatografía de intercambio catiónico
- HPLC (intercambio catiónico)
- Electroforesis (gel o electroforesis capilar)

## II. Basados en diferencias estructurales:

### a) **Por afinidad:** al boronato; cuantifican **HbG total**

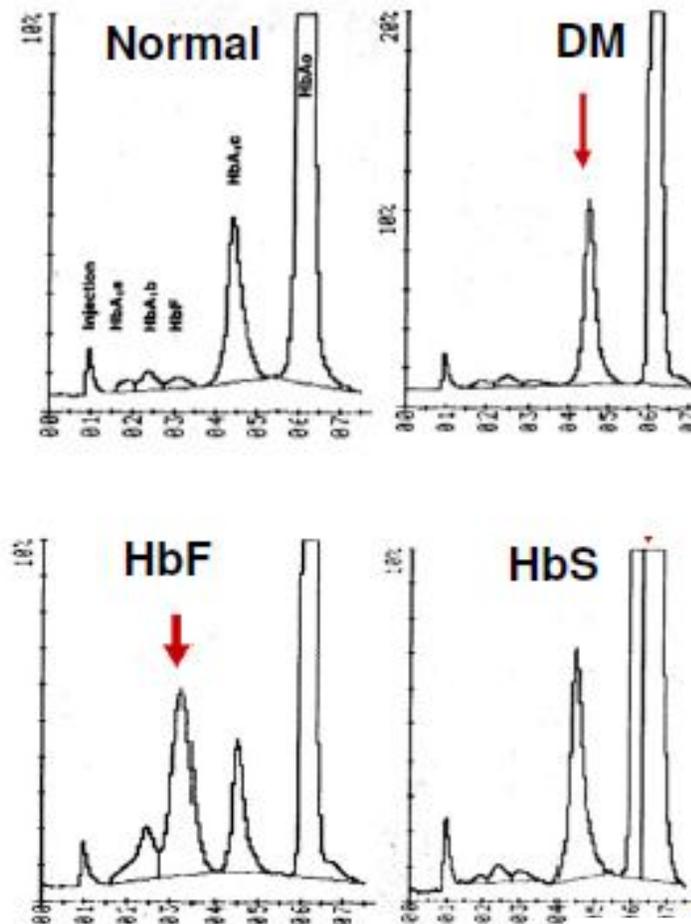
- Cromatografía de afinidad.
- HPLC de afinidad

### b) **Inmunoquímicos:**

- Inmunoturbidimetría
- Inmunoquimioluminiscencia
- Enzimoimmunoanálisis

# Interferencias por variantes anormales de la Hb

- Variantes anormales o Hb químicamente modificadas (carbamilada) interfieren con algunos métodos de ensayo dando resultados falsamente aumentados o disminuidos.
- La cromatografía por afinidad al boronato se considera el método menos afectado.
- Los ensayos modernos no se ven afectados por HbS, HbC o E en heterocigosis.
- Debemos sospechar esta interferencia en:
  - Muestras con HbA1c > 15% o < 4%.
  - Cambios significativos respecto a los previos.



# Otras proteínas glicosiladas

**Fructosamina:** proteínas séricas glicosiladas.

**Albúmina glicosilada:** vida media de 14-20 días.

❑ Los ensayos no están estandarizados

❑ No se han relacionado sus niveles con las complicaciones de la diabetes

❑ ¿Se deberían ajustar sus valores a la concentración total de albúmina?

○ Clínicamente superiores a la HbA1c en situaciones concretas:

○ Pacientes en hemodiálisis (EPO)

○ Insuficiencia renal crónica

○ Hemoglobinopatías severas.

❖ Su uso es necesario en circunstancias particulares.

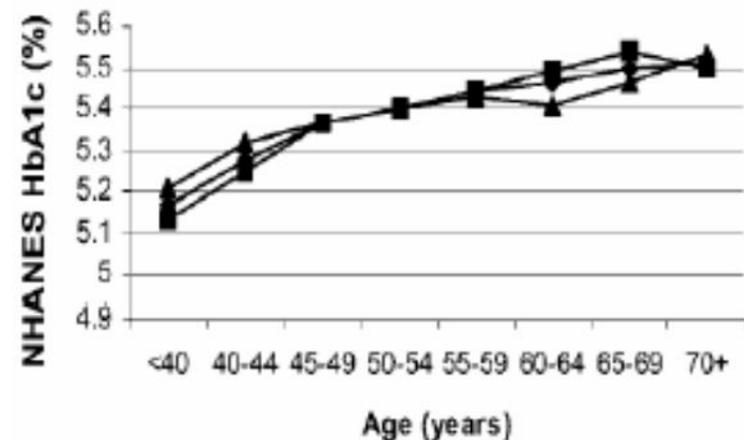
❖ No deben de ser sustitutos rutinarios de la HbA1c.

# Consideraciones preanalíticas

- La muestra puede ser obtenida por punción venosa o capilar.
- Los tubos han de llevar el anticoagulante recomendado por el fabricante; en general, EDTA.
- La estabilidad de la muestra depende del método; normalmente:
  - ❑ Hasta una semana a 4°C
  - ❑ Al menos 1 año a -70°C

➤ Existe un incremento de HbA1c con la edad: 0.1% por década de vida a partir de los 30 años.

➤ Diversos estudios muestran una mayor concentración en afroamericanos e hispanos frente a caucásicos.



*Diabetes Care 31:1991–1996, 2008*

# Factores que alteran los niveles de HbA1c

## Disponibilidad de glucosa

Concentración de glucosa en sangre  
Permeabilidad de la membrana eritrocitaria

## Velocidad de glicación

Genética  
Toma regular de salicilatos  
Altas dosis de vitamina C y E  
Estrés oxidativo

## Recambio eritrocitario

### Descenso de la eritropoyesis:

- Déficit de Fe o vitamina B12
- Fallo renal
- Supresión en la médula ósea (embarazo, alcoholismo)

### Aumento de la eritropoyesis:

- Terapia con Fe o EPO

### Descenso de la hemólisis:

- Esplenectomía

### Aumento de la hemólisis:

- Anemia hemolítica
- Talasemia
- Hemoglobinopatías
- Esplenomegalia
- Enfermedad hepática crónica
- Farmacos (ribavirina, dapsona)

# Comparación de la HbA1c vs glucemia en ayunas en el diagnóstico

## VENTAJAS

- ✓ Mejor índice de exposición a la glucemia
- ✓ Menor variabilidad biológica (2% vs 12-15%)
- ✓ Métodos estandarizados
- ✓ Mayor estabilidad
- ✓ No requiere ayuno
- ✓ Menor influencia por complicaciones agudas

## INCONVENIENTES

- o Mayor coste
- o Interferencias:
  - o Hemoglobinopatias.
  - o Cambios en el recambio eritrocitario.
  - o Incremento con la edad y diferencias entre razas

Hb A1c	Glucosa Promedio Estimada (mg/dL)
6,0	126
6,5	140
7,0	154
7,5	169
8,0	183
8,5	197
9,0	212

# Test de tolerancia oral a la glucosa

Se realiza la prueba en ayunas a las 8 hs.

Se realizan extracciones de sangre: BASAL, 30', 60' 120' post ingesta de 75 g de Glucosa (en niños 1.75 g/kg peso hasta 75 g) diluida en 250 cc de líquido a tomar en 10', en ayunas.

**Pueden hacerse dosajes de Insulina en todos los tiempos y recolección de orina (glucosuria).**

**Según OMS:**

Glucemia: < 140 mg/dl a las 2 hs

Insulina : < 100 uU/ml a las 2 hs



# Test de tolerancia oral a la glucosa

- Los valores sanguíneos normales para una prueba de tolerancia a la glucosa oral con 75 gramos utilizada para detectar diabetes tipo 2 son:
  - *Ayunas*: 70 a 105 mg/dL
  - *1 hora*: menos de 200 mg/dL
  - *2 horas*: menos de 140 mg/dL.
- Entre 140 y 200 mg/dL se considera que existe deterioro en la tolerancia a la glucosa.
- Un nivel por encima de 200 mg/dL es un signo de diabetes mellitus.



# Test de tolerancia oral a la glucosa

- Los valores sanguíneos normales para una prueba de tolerancia a la glucosa oral con 50 gramos utilizada para detectar diabetes gestacional (semana 24 – 28) son:
  - *1 hora*: igual a o menos de 140 mg/dL.
- Los valores sanguíneos normales para una prueba de tolerancia a la glucosa oral con 100 gramos utilizada para detectar diabetes gestacional son:
  - Ayunas: menos de 105 mg/dL
  - 1 hora: menos de 190 mg/dL
  - 2 horas: menos de 165 mg/dL
  - 3 horas: menos de 145 mg/dL



**Aquí pasa algo**

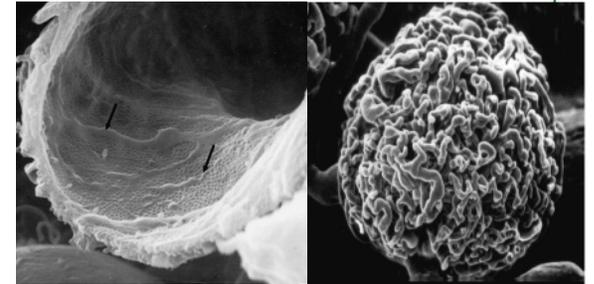


**Microalbuminuria**

- El riñón informa acerca del resto del árbol vascular .
- La albuminuria es un mensaje precoz del riñón acerca del estado del árbol vascular.

## Microalbuminuria en la DM

- ✓ **El riñón informa precozmente acerca del resto del árbol vascular**
- ✓ **Marcador de enfermedad de pequeños vasos tanto en riñón como en corazón**
- ✓ **Indicador de lesión vascular**
- ✓ **Marcador precoz de nefropatía diabética y RCV**
- ✓ **Predictor de mortalidad cardiovascular**
- ✓ **Incrementa la tasa de mortalidad 20-40 veces**



# Afectación Renal en la Diabetes

25 - 30% DM tipo 1

25 - 40% DM tipo 2

Nefropatía diabética  
(proteinuria, HTA y ↓  
progresivo función renal)

↑ 20 - 40 veces mortalidad CV

# Definición de microalbuminuria para riesgo de nefropatía

## Muestra: Orina

Unidades

	<i>Aislada</i>	<i>Minutada</i>	<i>24 horas</i>
mg/24 h			>30
µg/min		>20	
mg/L	> 20		
µg/g Cr	> 20		

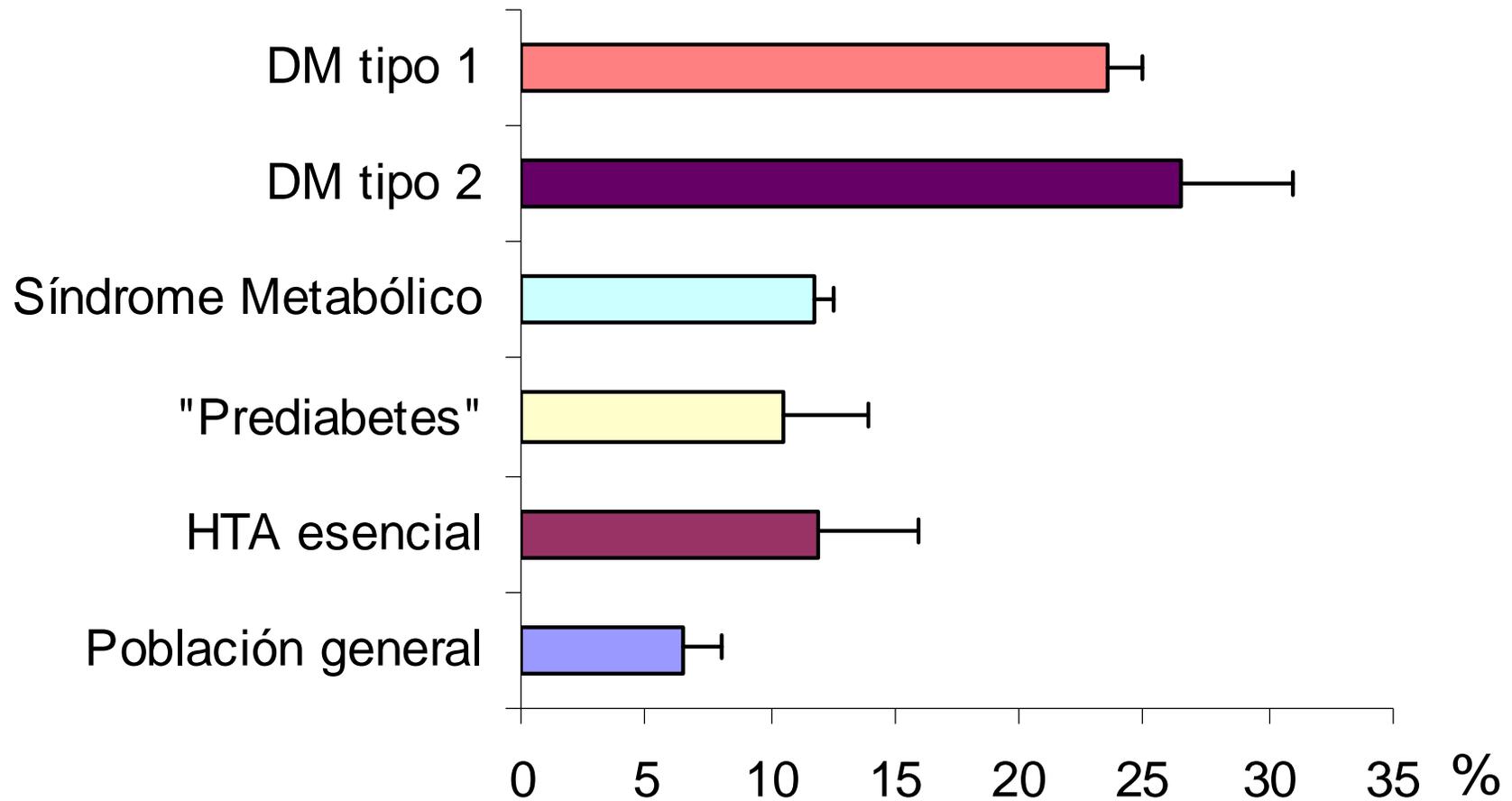
# Parámetros que pueden influir en la albuminuria

INCREMENTO	INCIERTO	REDUCCIÓN	FACTORES R. (UKPDS)
P. ERECTA	IMC	RAZA BLANCA	TASA INICIAL
EJERCICIO	EDAD	IECA (HOPE, IRMA II)	CONTROL GLUCEMIA
>DIURESIS	SEXO	AINE	RETINOPATIA D.
DIURNO (25%+)		ARA II (MARVAL)	TABAQUISMO
ICC		IECA+DIU (PREMIER)	DISLIPEMIA
FIEBRE			PA
INF. VIAS U.			
FLUJO VAG.			

\*Variación biológica entre días de un 40-50%.

\*Dos de tres muestras + en 6 meses.

# MAU - Prevalencia



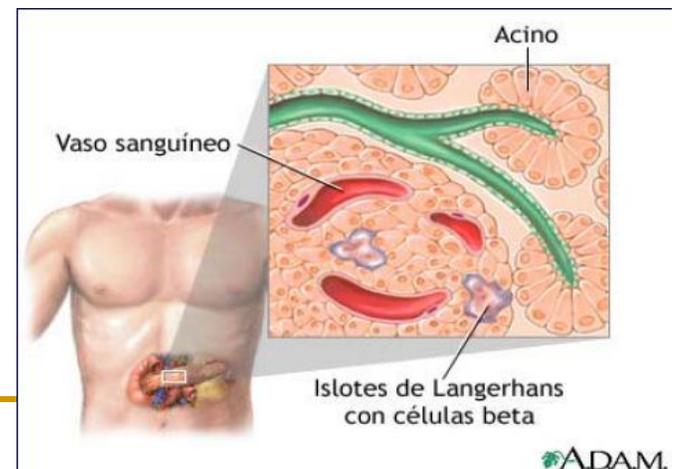
# Microalbuminuria

- Todos los diabéticos tipo 2 deberían ser sometidos a screening para microalbuminuria al momento del diagnóstico de diabetes, y anualmente a posteriori.
- La microalbuminuria progresa hacia Proteinuria franca hasta en un 50% de los diabéticos tipo 2 a los 5-10 años.



# Autoanticuerpos

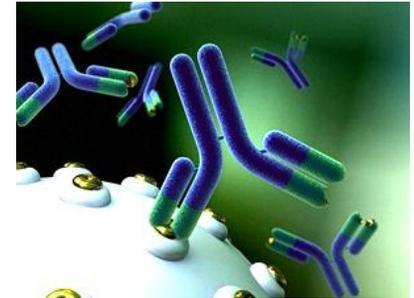
- ICA: Anticuerpos anti - células de los islotes pancreáticos.
- Preceden en años la aparición de síntomas y pueden desaparecer a los 5 – 10 años.
- Están dirigidos contra distintos antígenos: GAD, IA 2, GP3.
- Sensibilidad diagnóstica: 70 a 90 % en niños
- Especificidad 90 – 98 %
- Aparecen en 2 – 4 % de pacientes sanos



# Autoanticuerpos

## Ac a GAD (GAD 64). Ac a decarboxilasa del ácido glutámico.

- No varían con la edad
- No decaen en el tiempo
- Más sensible para la adolescencia y en LADA
- Puede aparecer en otras autoinmunes
- Aproximadamente el 70% de los pacientes caucásicos con DM1 de inicio los presentan y sus niveles son estables después de 10 años del diagnóstico.

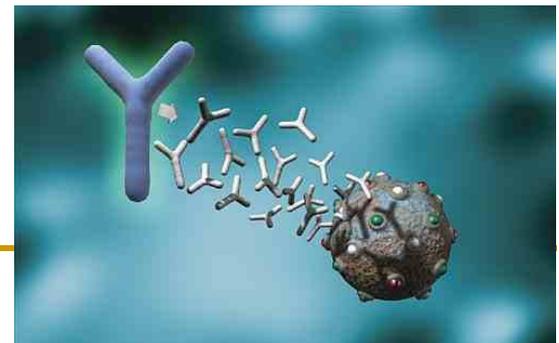


## Ac a Insulina (IAA)

- Correlación inversa con la edad
  - Mayor prevalencia en pacientes que debutan a edades más tempranas.
  - Se relacionan con los ICA. La asociación de ambos predice mejor la insulinopenia y la destrucción pancreática.
-

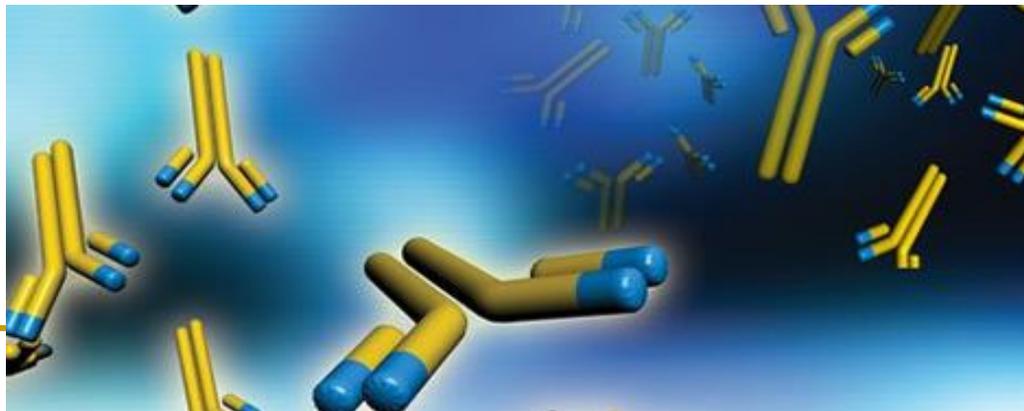
# Autoanticuerpos

- IA-2 o ICA 512 (Ac a tirosina fosfatasa pancreática de membrana)
- Pertenece al grupo de los ICA
- Puede dar positivo en pacientes sin GAD o sin ICA.
- Aparecen en el 60% de los pacientes con DM1 de inicio.
  
- La presencia de ICA, GADA e IAA juntos implica una probabilidad del 100% de desarrollo de DMID.



# Autoanticuerpos

- **UTILIDAD:** permiten la predicción de la DM1A y la tipificación de la diabetes autoinmune en su inicio
- Se postula que los pacientes LADA con múltiples autoanticuerpos positivos y/o niveles altos de éstos tienen un fenotipo similar a los DM1.
- Aquellos con niveles bajos de GADA, tienen características clínicas similares a DM2, siendo independientes de la insulina durante varios años.



---



¡Gracias!

[cyene@cibic.com.ar](mailto:cyene@cibic.com.ar)