

Hemoglobina glicosilada:

Nuevo método control en el diabético

R. Linares Alvarez de Sotomayor*

V. Martínez Navas**

J. C. Castillo García***

L. González Aixela***

F. J. Cortés Ruiz***

INTRODUCCION

Durante las últimas décadas se han ido sumando nuevos métodos de exploración para el estudio del estado actual, ajuste de dosis y seguimiento del paciente diabético. De entre ellos ha sido el laboratorio el que más luces ha proporcionado sobre el Síndrome Hiperglucémico-Glucosúrico que forma parte de la diabetes mellitus.

La totalidad de pasos que se han dado para velar por el equilibrio del paciente diabético van desde la impresión clínica (polidipsia-polifagia, temblor...) hasta los parámetros actuales de diagnóstico: prueba de tolerancia oral a la glucosa, o de control (glucemia-glucosuria-colesterol-triglicéridos...), que nos permitan conocer el estado metabólico actual del paciente.

Hoy en día disponemos de un nuevo parámetro que añadir a esta serie. Se trata de la medición de la hemoglobina glicosilada en la sangre, de la que conocemos que su aumento corre paralelo al de la glucemia y entre los cuales puede establecerse una correlación directa y significativa.

La detección de la hemoglobina glicosilada no sólo resultaría una corroboración del perfil hidrocarbonatado, ya que como quiera que la vida media del hematíe oscila entre 90-120 días, la concentración de hemoglobina glicosilada nos permite estimar el nivel de

glucemia media en el período de al menos esas 12-15 semanas, revelándose así como una prueba idónea para un estudio retrospectivo del paciente diabético.

Este índice permite a posteriori:

- *Cuantificar el equilibrio del diabético.*
- *Asegurarse de la eficacia del tratamiento.*
- *El grado de adhesión al tratamiento por parte del paciente.*
- *Modificar la insulino terapia eventualmente.*

Su utilidad podría hacerse extensiva a:

- *Método de Screening para poblaciones de alto riesgo. (Familiares, antígenos de histocompatibilidad B-8, BW15, DW2, DW4, DR3 y DR4. Etnias: Indios Pimas. Tratamientos estroprogestágeno, embarazadas...)*
- *Método diagnóstico, aunque se ha mostrado más sensible y exacta la universalmente aceptada prueba de tolerancia oral a glucosa, en un futuro próximo puede adquirir en ciertos aspectos diagnósticos o predictivos, una importancia difícil de determinar en el presente.*

En 1958 Allen y colaboradores identificaron tres componentes menores de la hemoglobina humana normal. HbA_{1A}, A_{1B}, A_{1C} que presentan cualidades cromatográficas superiores a los tipos mayoritarios de la Hb.A.

Estos componentes conocidos como hemoglobina glicosilada difieren de la Hb.A sólo en que presentan un radical químico; la glucosa, unida a la

valina terminal de la cadena beta por medio de una base de Schiff, compuesta muy inestable y reversible, de rápida velocidad de formación y muy influenciada por las concentraciones de glucosa.

Durante la circulación de los hematíes sufre un reajuste de Amadori (formación de grupos cetónicos en el C₂).

La formación de este compuesto estabiliza la molécula y hace a la reacción irreversible para el establecimiento de un fuerte enlace covalente.

La velocidad de formación es mucho más lenta y no es influenciada por los niveles de glucosa.

La media de Hb.A_{1C} separada de las otras fracciones menores, probablemente no ofrezca ninguna ventaja especial desde un punto de vista clínico. Es por esto que la mayoría de los laboratorios miden la suma de las hemoglobinas menores: Hb.A_{1A+B+C} y es el conjunto de las tres a lo que se considera hemoglobina glicosilada A₁ desde el punto de vista clínico.

Sin duda el hecho de que la hemoglobina A_{1C} sea la más abundante del grupo hace que su investigación nos proporcione los datos que prácticamente obtendríamos del análisis de las otras.

La Hb.A_{1C} se sintetiza lenta y continuamente a lo largo de la vida de los hematíes por una reacción no enzimática y su velocidad de síntesis es función de la concentración intraeritrocitaria de la glucosa.

Así el porcentaje de Hb.A_{1C} nos informa de las concentraciones glucémicas a que han estado sometidos los

* Comandante Médico.

** Capitán Médico.

*** Teniente Médico.

Instituto de Medicina Preventiva «Capitán Médico Ramón y Cajal».

MÉTODOS DE ESTUDIO DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN SANGRE TOTAL

Los podemos agrupar en tres apartados:

1. Métodos electroforéticos:
 - *Electroforesis en agar-gel con buffer.*
 - *Electroforesis en gel de almidón.*
 - *Electroenfoque.*
2. Métodos químicos:
 - *Técnica de desnaturalización con álcali.*
 - *Procedimiento colorimétrico.*
3. Métodos cromatográficos de intercambio iónico:
 - *Macrocolumnas.*
 - *Microcolumnas.*

hematías a lo largo de su vida y es un fiel reflejo del control glucémico retrospectivo.

La hemoglobina glicosilada se expresa en porcentaje respecto a la hemoglobina total y por el método de cromatografía en columna con resina de intercambio catiónico, los valores normales oscilan entre un 5-8%, considerando los valores comprendidos entre 8-11% como dudosos o como posibles prediabéticos y patológicos por encima de once.

Esta técnica es relativamente nueva, ya que hasta el año 1975 no se empieza a aplicar a la determinación de la hemoglobina glicosilada. En nuestro país es reciente su aplicación y ahora empiezan a recoger resultados de estos pocos años de aplicación y estudio.

La fijación de una o varias moléculas de carbohidratos a una proteína es denominada glicosidación.

La glicosidación es muy importante en el mantenimiento de la integridad de las membranas, ya que facilita la secreción de las proteínas requeridas en el espacio extra-celular.

Hay, sin embargo, ciertas proteínas que sufren glicosidación no enzimática. Este fenómeno en particular depende de la presencia de altas concentraciones de azúcares libres. Una de las proteínas de importancia en el organismo que demuestra este fenómeno es la Hb.

La glicosidación de la hemoglobina incluye la condensación de la glucosa y hemoglobina. Esta modificación se presenta en la circulación periférica. Es una reacción no enzimática y se presenta continua y lentamente.

La modificación postsintética de la hemoglobina es prácticamente irreversible y de esta manera, una vez que las moléculas de carbohidratos se fijan a la molécula de hemoglobina, permanecen unidas y son detectables hasta que concluye la sobrevivencia del glóbulo rojo.

La cantidad de hemoglobina glicosilada presente en un momento dado no se ve afectada por las fluctuaciones a corto plazo del azúcar sanguíneo del

paciente (variaciones hora a hora), es un índice del nivel promedio de glucosa sanguínea en el paciente durante un largo período de tiempo.

Uno de los impulsos que está originando un gran interés en el empleo de las hemoglobinas glicosiladas es el deseo de poder reconocer durante un largo plazo de tiempo cuál es el promedio del nivel circulante de glucosa en pacientes diabéticos.

Muchos autores piensan que se ha generado suficiente información, y que en la mayoría de los casos se está en el buen camino para prevenir complicaciones secundarias a la diabetes.

Así podemos concluir que el control de la hemoglobina glicosilada suministra datos sobre el estado metabólico glucídico de ese paciente con el tratamiento a que está sometido. Si bien hay que aclarar que los niveles elevados de hemoglobina glicosilada no son diagnósticos para diabetes mellitus.

Otra aplicación que caería más dentro de la medicina preventiva es la detección precoz de diabetes latentes, que junto a las pruebas de tolerancia constituye un método diagnóstico de primer orden. De hecho, algunos autores creen que el ensayo de las hemoglobinas glicosiladas es más discriminatorio que la prueba de tolerancia de la glucosa oral.

Los más utilizados son los métodos cromatográficos en microcolumnas por las ventajas que rápidamente podemos explicar:

- *Las necesidades de sangre son mínimas (el que se utiliza en nuestro servicio no requiere más de 20 microlitros).*
- *Se tarda menos de 40 minutos en realizar la prueba.*
- *El número de muestras a analizar puede ser elevado con escaso personal.*

CUADRO I

— *Bajo coste.*

Una vez realizada la técnica, pasamos a su interpretación, en la que ya hemos adelantado los valores que se consideran dentro de la normalidad, como los patológicos, así como una franja, en la que no se ponen de acuerdo los autores sobre su significación. Esta será dada por las sucesivas muestras de población que se consideran en el límite de la sospecha de una posible diabetes, o bien tras muchos trabajos y comprobaciones se irán reduciendo hasta darnos una mayor seguridad en los resultados.

Entre tanto, hay una serie de factores que pueden alterar los resultados y que es preciso conocer.

FACTORES QUE PUEDEN INTERFERIR EL RESULTADO

- *No se aprecian variaciones importantes con el uso de distintos anticoagulantes, aunque para uniformidad de resultados se recomienda el uso de uno para todas las muestras que por su comodidad y disponibilidad puede ser el EDTA.*
- *Hasta la fecha no se dispone de información que demuestre que la terapia con drogas interfiere en las medidas de hemoglobina glicosilada usando el método de columna.*
- *Las medidas de hemoglobina glicosilada utilizando resinas de intercambio catiónico son afectadas por la presencia de cantidades anormales de hemoglobina F. La presencia de cantidades anormalmente altas de hemoglobina F incrementa proporcionalmente el porcentaje de hemoglobina glicosilada.*

EXAMENES COMPLEMENTARIOS PARA EL SEGUIMIENTO DE LA EVOLUCION DE UN ENFERMO DIABETICO

Prueba	Frecuencia	Observaciones
Glucemia	7 veces/24 h. (1 vez semana)	Grado de cultura Carga financiera
Autocontrol Laboratorio	1 muestra/3 meses	
Glucosuria	3 muestras/24 h. (diario)	Tendencia al abandono
Autocontrol Laboratorio	3 muestras/24 h. (3 meses)	
Hemoglobina A _{1c}	1 muestra/6 meses	
Colesterol	1 muestra/año	Uso cuestionado
HDL/LDL		
Triglicéridos	1 muestra/año	
Creatinina sérica	1 muestra/6-12 meses	
BUN		
Sedimento	1 muestra/6 meses	Caso de nefropatía
Albuminuria		
ECG	Triannual	Neuropatía autónoma
Oscilometría	3 años	C ₂ No siempre útil
Fondo de ojo	1 vez/año	Sin patología = a los 10 años de evolución
EMG	1 vez/5 años	

TABLA I

COMENTARIO

De todo lo dicho podemos concluir que nos encontramos con un método de gran interés para el seguimiento de los diabéticos insulínodépendientes, una especie de memoria glucémica.

Método que por su sencillez y rapidez de ejecución, economía de gastos y personal, así como escasas molestias para el enfermo por la pequeña cantidad de sangre necesitada, permite ser realizado en laboratorios con escasos medios.

Por otra parte, no hemos agotado sus posibilidades diagnósticas, pudiendo en un futuro aplicarlo, preventivamente, a un diagnóstico precoz de diabetes subclínicas.

BIBLIOGRAFIA

- Erslew, A. J., y Gabuzca, T.: *Hematología, aspectos fisiopatológicos*. Ed. Interamericana, 1981, 2.ª ed., págs. 76-85.
- Villaverde, C.; Fernández, M.; Blázquez, A.: «Determinación de la hemoglobina A_{1c} en sujetos normales y pacientes diabéticos por cromatografía en microcolumnas». *Laboratorio*, año 37, vol. 74, núm. 443, nov. 1982, págs. 407-423.
- Koennig, R. L.; Peterson, C. M.; Jones, R.; Sandek, C.; Cerami, A.: «Correlation of glucose regulation and hemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus». *N. Engl. J. Med.*, 1976, 295: 417-420.
- Goven, B.; Rubenstein, A. H.; Rochman, H.; Tanega: «Hemoglobin A_{1c}: an indicator of the metabolic control of diabetic patient». *Lancet*, 1977, 734-737.
- Gabbay, K. H.; Hasty, K.; Breslow, J. L.; Ellison, R.: «Glycosylated hemoglobins and long-term blood glucose control in diabetes mellitus». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1977, 44: 859-864.
- Vague, P.; Vovan, L.; Viatetles, B.; Boustieres, C.: «Concentration sanguine en hemoglobine glycosulée. Indice du contrôle du diabète dans le mois précédent». *Nouv. Presse Méd.*, 1979, 8: 491-494.
- Richard, J. L.; Bringer, J.: «¿Cómo elegir y adaptar la insulínoterapia del diabético?» *La Vie Médicale*, 1982, 10-20.
- Whitehouse, F. W.: «Complicaciones de la diabetes». *T. Médicos*, 1983, 239: 33-41.
- Kozak, G. P.: *Clinical Diabetes Mellitus*. Ed. New England, 1982, págs. 253-257.
- Platt, W. R.: *Atlas de Hematología*. Ed. Jins, 1982, 2.ª ed., págs. 45-50.

Las hemoglobinas S y C se unen más fuertemente a la resina de las columnas que la hemoglobina A. Por tanto, si estas hemoglobinas se hallan presentes y están glicosiladas entonces los tantos por ciento de hemoglobina glicosilada serán más bajos que los reales.

- El almacenamiento de las muestras por más de una semana muestran alteraciones en el porcentaje con respecto a las realizadas en los cinco primeros días desde la toma.
- En pacientes con anemia hemolítica el porcentaje de hemoglobina glicosilada será más bajo.
- Los resultados óptimos se obtienen con temperaturas de muestras y reactivos entre 21-24° C. En caso contrario se debe recurrir a tablas de corrección, ya que los porcentajes de hemoglobina glicosilada se incrementan al subir la temperatura y decrecen al descender ésta.
- Por supuesto, la aplicación defectuosa de muestras y reactivos, tanto en la cantidad como en su aplicación por pipeteo, es esencial para el desarrollo, ya que las cantidades ya son de por sí mínimas (20 microlitros, 100 microlitros).
- Una sangre con gran contenido de lípidos puede alterar el resultado, por lo que se requiere lavados repetidos de esta sangre previos al análisis.

Finalmente, tal como al principio explicábamos, sigue siendo importante que junto a la hemoglobina glicosilada, a la que hemos dado un papel preponderante en el seguimiento del paciente diabético, se realicen una serie de exámenes complementarios (Tabla I) que ayudarán a conseguir un control más estricto, con vistas fundamentalmente a la detección de las complicaciones secundarias de la diabetes, que son, eliminados los accidentes de urgencia (coma diabético, hipoglicémico), las causas más importantes de fallecimiento de estos pacientes.