

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGIA

Niveles de hemoglobina glicosilada en sujetos normales y en pacientes diabéticos

Lie. Enrique Ezcurra Ferrer*

Ezcurra Ferrer, E.: *Niveles de hemoglobina glicosilada en sujetos normales y en pacientes diabéticos.*

El montaje y estandarización de la determinación de hemoglobina glicosilada en nuestro laboratorio requirió el establecimiento de valores de referencia para población normal y la corroboración de que la misma es capaz de medir grados diversos de control metabólico en pacientes diabéticos. Se estudiaron 126 sujetos normales y 163 diabéticos, a los que se les midió el nivel de hemoglobina glicosilada por el método colorimétrico de Fluckiger y Winterhalter. Todos los casos estudiados fueron agrupados por edad sexo y en el caso de los diabéticos atendiendo, además, al tipo de diabetes. Ni en los normales ni en los diabéticos se encontraron diferencias significativas en los niveles de hemoglobina glicosilada atendiendo a la edad y el sexo. La media encontrada para el grupo normal ($6,30 \pm 0,43$ %) resultó diferente de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$) a la hallada para el grupo de diabéticos ($10,73 \pm 2,58$ %). A su vez al agrupar a los diabéticos según el tipo de diabetes, el nivel promedio de hemoglobina glicosilada en los diabéticos tipo I ($12,17 \pm 2,44$ %) fue significativamente superior ($p < 0,001$) al encontrado para los diabéticos tipo II ($9,83 \pm 2,26$ %). Se confirma por nuestros resultados que el método empleado en nuestro laboratorio para medir los niveles de hemoglobina glicosilada resulta adecuado para los fines asistenciales e in-vestigativos que sustentan su utilidad.

INTRODUCCION

Varios estudios han demostrado que la hemoglobina sanguínea sufre *in vivo* una glicosilación no enzimática^{1,2} cuya magnitud depende fundamentalmente de la concentración glicémica a que se han visto expuestos los hematíes circulantes durante su vida media. La dosificación del producto de esta reacción, la hemoglobina glicosilada, ha resultado de enorme interés en los últimos años en el campo de la diabetología y está bien establecido que su concentración representa un índice integral del control glicémico en pacientes diabéticos,^{3,6} lo que le confiere una gran importancia clínica.^{7,8}

La introducción en nuestro medio de la metodología analítica requerida para dosificar este parámetro trae como consecuencia necesariamente el establecimiento de valores de referencia y la corroboración de que en nuestras condiciones el método empleado discrimina entre sujetos normales y pacientes diabéticos con diversos grados de control metabólico y constituyen ambos aspectos el objetivo del presente trabajo.

* Licenciado en Bioquímica.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 126 sujetos supuestamente normales, de los cuales 81 eran hombres donantes de sangre y 45 mujeres que concurrieron a la Clínica de Contracepción, pero que nunca habían utilizado contraceptivos hormonales. La tabla 1 resume la distribución de los 126 sujetos del grupo normal por grupos etéreos y sexo.

Tabla 1. *Distribución por edad y sexo en el grupo normal (N = 126)*

Edad	Hombres	Mujeres	Total
16-25	35	18	53 (42 %)
26-35	28	27	55 (44 %)
36-45	18	—	18 (14 %)
> 45	—	—	—
Total	81 (64%)	45 (36 %)	126 (100 %)

Tabla 2. *Distribución de los diabéticos por edad, sexo y tipo de diabetes*

Edad	Diabetes tipo I		Diabetes tipo II		Total
	H	M	H	M	
16-25	5	11	—	—	16 (10%)
26-35	13	9	5	1	28 (17%)
36-45	4	2	17	16	39 (24 %)
46-55	2	12	8	24	46 (28 %)
> 55	—	4	11	19	34 (21 %)
	24 (15%)	38 (23 %)	41 (25%)	60 (37 %)	
Total	62 (38 %)		101 (62 %)		163 (100 %)

La muestra de diabéticos la constituyó un grupo de 163 pacientes que asistieron a la Clínica de Diabetes, cuya distribución por sexo, grupos etéreos y tipo de diabetes se resumen en la tabla 2.

A las 45 mujeres normales y a todos los diabéticos se les dosificó hemoglobina glicosilada en una muestra de sangre correspondiente a una glicemia en ayunas indicada por razones clínicas y a los donantes de sangre se les recogió especialmente la muestra para este estudio.

En todos los casos se dosificó la glicemia en el plasma sobrenadante por el método de la hexoquinasa⁹ en un autoanalizador Technicon MT-II (coeficiente de variación en rutina: 2,4 %) y la hemoglobina glicosilada por el método de Fluckiger¹⁰ (coeficiente de variación en rutina: 6,8 %), cuyo montaje y estandarización ha sido objeto de una reciente publicación.¹¹ Se aplicó la prueba "t" para muestras Independientes en la evaluación estadística de los resultados.

RESULTADOS

No se encontró ningún caso en el grupo normal con cifras de glicemia en ayunas superiores a 140 *mg/dl*. (Rango: 76-106; $\bar{x} = 88,5 \pm 7,3$ *mg/dl*). Los valores de glicemias en los diabéticos tipo I oscilaron en el rango de 93-415 *mg/dl*, con una media de 218 ± 46 *mg/dl*, mientras que en los diabéticos tipo II se encontraron glicemias entre 86 y 478 *mg/dl* con una media de 161 ± 32 *mg/dl*. Ambas medias difieren de formas estadísticamente significativa tanto entre sí ($p < 0,01$) como en relación con la del grupo normal ($p < 0,01$).

La tabla 3 muestra los niveles promedio de hemoglobina glicosilada en los diferentes subgrupos en los que se dividió el grupo normal. Como se desprende de la simple observación de los resultados y como corroboramos al aplicar la prueba "t", ni el sexo ni la edad arrojan diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos para cada celda. El rango de valores de hemoglobina glicosilada en el grupo normal fue del 5,4 a 7,5 %, no se presentó ningún caso con cifras mayores del 7,5 % la media para todo el grupo fue del $6,30 \pm 0,43$ %.

Al tener en cuenta las conocidas diferencias entre la diabetes tipo I y la tipo II, el grupo de 163 diabéticos se subdividió correspondientemente y los resultados se agruparon atendiendo al tipo de diabetes.

Tabla 3. Niveles de hemoglobina glicosilada (%) en el grupo normal ($\bar{x} \pm DS$) (N = 126)

Edad	N	Hombres	N	Mujeres	Total
16-25	35	$6,41 \pm 0,45$	18	$6,23 \pm 0,42$	$6,29 \pm 0,46$
26-35	28	$6,33 \pm 0,43$	27	$6,34 \pm 0,45$	$6,31 \pm 0,41$
36-45	18	$6,34 \pm 0,38$	—	—	$6,34 \pm 0,38$
Total		$6,31 \pm 0,42$		$6,30 \pm 0,44$	$6,30 \pm 0,43$

La tabla 4 recoge los resultados obtenidos en los diabéticos tipo I, en los que tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con la edad ni con el sexo. La única diferencia con significación estadística ($p < 0,05$) se presentó al comparar el subgrupo de edades de 46-55 con el de mayores de 56 años, pero al considerar el reducido número de pacientes en este último subgrupo (N = 4), la significación

pierde validez. El nivel promedio de hemoglobina glicosilada en el grupo de pacientes diabéticos tipo II fue del $12,17 \pm 2,44\%$ con un rango del 7,1-15,8 %.

Tabla 4. Niveles de hemoglobina glicosilada (%) en el grupo de diabéticos tipo I ($x \pm DS$) (N = 62)

Edad	N	Hombres	N	Mujeres	Total
16-25	5	$11,86 \pm 2,50$	11	$12,25 \pm 2,40$	$12,13 \pm 2,36$
26-35	13	$12,35 \pm 2,45$	9	$12,63 \pm 2,54$	$12,46 \pm 2,43$
36-45	4	$11,95 \pm 3,26$	2	$13,70 \pm 1,27$	$12,53 \pm 2,74$
46-55	2	$9,75 \pm 1,63$	12	$11,30 \pm 2,62$	$11,08 \pm 2,52$
> 55	—	—	4	$14,02 \pm 1,07$	$14,02 \pm 1,07$
Total	24	$11,96 \pm 2,50$	38	$12,30 \pm 2,43$	$12,17 \pm 2,44$

Los niveles promedios de hemoglobina glicosilada en la submuestra de pacientes diabéticos tipo II se presentan en la tabla 5. Al igual que en los grupos de normales y de diabéticos tipo I, ni el sexo ni la edad influyen de forma significativa sobre los resultados, se observan diferencias sólo entre los grupos de 36-45 y de 46-55 al ser comparados con el de 26-35 años ($p < 0,1$) en ambos casos. De nuevo el tamaño de la muestra en el último grupo referido (N = 6) limita en gran medida la validez de la significación. Se presentaron en este grupo de pacientes diabéticos tipo II niveles de hemoglobina glicosilada en el rango del 6,8 y 15 %, y el promedio de los mismos fue del $9,83 \pm 2,26$ %.

Tabla 5. Niveles de hemoglobina glicosilada (%) en el grupo de diabéticos tipo II ($x \pm DS$) (N = 101)

Edad	N	Hombres	N	Mujeres	Total
16-25	—	—	—	—	—
26-35	5	$10,80 \pm 2,43$	1	$12,50 \pm 0,00$	$11,08 \pm 2,28$
36-45	17	$10,20 \pm 2,28$	16	$9,89 \pm 2,63$	$10,05 \pm 2,42$
46-55	8	$9,65 \pm 1,95$	24	$9,49 \pm 2,17$	$9,53 \pm 2,09$
> 55	11	$9,62 \pm 2,02$	19	$9,72 \pm 2,42$	$9,67 \pm 2,22$
Total	41	$10,01 \pm 2,13$	60	$9,72 \pm 2,35$	$9,83 \pm 2,26$

La tabla 6 facilita un análisis comparativo de los niveles promedio de hemoglobina glicosilada obtenidos en los 3 subgrupos estudiados: normales, diabéticos tipo I y diabéticos tipo II. Los resultados en este caso alcanzan diferencias estadísticamente significativas muy altas, pues tanto al comparar los subgrupos de diabéticos entre sí como al comparar cada subgrupo de diabéticos con el normal, la p obtenida es menor que 0,001.

La media de todos los diabéticos reunidos [$10,73 \pm 2,58$ % de hemoglobina glicosilada) resultó también diferente de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$) a la del grupo normal ($6,30 \pm 0,43$ %).

Tabla 6. *Análisis comparativo de los niveles de hemoglobina glicosilada (%) entre los grupos de normales y diabéticos tipo I y tipo II ($x \pm DS$)*

Edad	Normales	Diabéticos tipo I	Diabéticos tipo II
16-25	$6,29 \pm 0,46$	$12,13 \pm 2,36$	—
26-35	$6,31 \pm 0,41$	$12,46 \pm 2,43$	$11,08 \pm 2,28$
36-45	$6,34 \pm 0,38$	$12,53 \pm 2,74$	$10,05 \pm 2,42$
46-55	—	$11,08 \pm 2,52$	$9,53 \pm 2,09$
> 55	—	$14,02 \pm 1,07$	$9,67 \pm 2,22$
		$12,17 \pm 2,44$	$9,83 \pm 2,26$
Total	$6,30 \pm 0,43$	$10,73 \pm 2,58$	

DISCUSION

Al corroborar lo informado por otros autores¹²⁻¹⁴ encontramos que los niveles de hemoglobina glicosilada en sujetos normales son significativamente menores que los que se encuentran en pacientes diabéticos. En estos últimos los niveles de hemoglobina glicosilada pueden ser superiores en un orden de magnitud de 2-3 veces la cifra promedio de la población normal, tal y como confirman nuestros resultados.

Como por definición la tasa de hemoglobina glicosilada depende del nivel promedio de glicemias a que se han visto expuestos los hematíes circulantes durante su vida media, es de esperar y así lo encontramos, que existe un cierto solapamiento entre el límite superior del rango normal y algunos valores hallados en la población diabética, lo que confirma la sensibilidad de la determinación de medir grados diversos de control metabólico.

La mayor labilidad del control glicémico que se encuentra generalmente en los diabéticos tipo I fue igualmente confirmada por el nivel promedio significativamente superior de hemoglobina glicosilada encontrado en estos pacientes, en comparación con el hallado en los diabéticos tipo II.

La introducción de una determinación con fines diagnósticos y terapéuticos para la asistencia y la investigación biomédica, requiere no sólo de un estudio metodológico puramente de laboratorio, sino, además, el corroborar que dicha determinación posea la

necesaria sensibilidad y especificidad que le confiera una real utilidad bajo diversas condiciones clínicas.

En el caso que nos ocupa podemos afirmar que el método empleado en nuestro laboratorio para dosificar los niveles de hemoglobina glicosilada resulta adecuado para los fines asistenciales e investigativos que sustentan su utilidad.

SUMMARY

Ezcurra Ferrer, E.: *Levels of glycosylated hemoglobin in normal subjects and in diabetic patients.*

Setting up and standardization of glycosylated hemoglobin determination in our laboratory required the establishment of reference values for normal population and to corroborate that it is able to measure different degrees of metabolic control in diabetic patients. To 126 normal subjects and 163 diabetic patients, glycosylated hemoglobin was measured by Fluckiger and Winterhalter colorimetric method. All the cases under study were clustered by age, sex and, in the case of diabetics, taking into account, in addition, type of diabetes. Neither in normal subjects nor in diabetic patients significant differences were found in glycosylated hemoglobin levels, considering age and sex. Mean found for the normal group ($6,30 \pm 0,43$ %) resulted different in a significant statistically form ($p < 0,001$) to that found for the diabetic group ($10,73 \pm 2,58$ %). On the other hand, when diabetics were clustered according to type of diabetes, mean level of glycosylated hemoglobin in type I diabetics ($12,17 \pm 2,44$ %) was significantly higher ($p < 0,001$) than that found for type II diabetics ($9,83 \pm 2,26$ %). Our results prove that the method used in our laboratory to measure levels of glycosylated hemoglobin are appropriate for the assistance and investigative purposes which support its usefulness.

RÉSUMÉ

Ezcurra Ferrer, E.: *Niveaux d'hémoglobine glycosylée chez des sujets normaux et chez des diabétiques.*

La mise au point et la standardisation du dosage de l'hémoglobine glycosylée dans notre laboratoire a imposé l'établissement de valeurs de référence pour la population normale et la constatation de ce qu'elle soit capable de mesurer divers degrés de contrôle métabolique chez des patients diabétiques. L'étude a porté sur 126 sujets normaux et 163 diabétiques, chez lesquels on a mesuré le taux d'hémoglobine glycosylée par la méthode colorimétrique de Fluckiger et Winterhalter. Tous les cas étudiés ont été groupés suivant l'âge, le sexe et, dans le cas des diabétiques, suivant le type de diabète. Ni chez les normaux ni chez les diabétiques on n'a pas rencontré de différences significatives dans les niveaux d'hémoglobine glycosylée suivant l'âge et le sexe. La moyenne du groupe normal ($6,30 \pm 0,43$ %) a été différente avec signification statistique ($p < 0,001$) de celle obtenue pour le groupe de diabétiques ($10,73 \pm 2,58$ %). De même, lors de grouper les diabétiques d'après le type de diabète, le taux moyen d'hémoglobine glycosylée chez les diabétiques type I ($12,17 \pm 2,44$ %) a été significativement supérieur ($p < 0,001$) à celui rencontré pour les diabétiques du type II ($9,83 \pm 2,26$ %). Il est confirmé d'après ces résultats, que la méthode employée dans notre laboratoire pour mesurer les niveaux d'hémoglobine glycosylée est adéquate pour les buts d'assistance et de recherche qui soutiennent son utilité.

BIBLIOGRAFIA

1. Bunn, H. F.; D. N. Haney; K. H. Gabbay y otros: Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A_{1c}. Biochem Biophys Res Comm 67: 103, 1975.

2. *Me Donald, M.; R. Shapiro; M. Bluchman y otros:* Glycosylated minor components of human adult hemoglobin. *J Biol Chem* 253: 2327, 1978.
3. *Gabbay, K. H.; J. M. Sosenko; G. A. Babuchi y otros:* Glycosylated hemoglobins: increased glycosylation of hemoglobin A in diabetic patients. *Diabetes* 28: 337, 1979.
4. *Bartley, P. C.; T. E. Hambling:* Hemoglobin A, in diabetes mellitus. *Aust N Z J Med* 9: 49, 1979.
5. *Graf, R. J.; J. B. Halter; D. Porte:* Glycosylated hemoglobin in normal subjects and subjects with maturity-onset diabetes. *Diabetes* 27: 834, 1978.
6. *Gabbay, K. H.; K. Hasty; J. L. Breslow y otros:* Glycosylated hemoglobins and long- term blood glucose control in diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 44: 859, 1977.
7. *Jovanovic, L.; C. M. Peterson:* The clinical utility of glycosylated hemoqjabin. *Am J Med* 70: 331 (1981).
8. *Nathan, D. M.; D. E. Singer; K. Hurxthal y otros:* The clinical information valué of the glycosylated hemoglobin assay. *New Eng J Med* 310: 341, 1984.
9. *Schmidt, F. H.:* Die enzymatische Bestimmung von Glukose und Fruktose Nebe- neinander. *Klin Wschr* 39: 1244, 1961.
10. *Fluckiger, R.; K. H. Winterhalter:* in vitro synthesis of hemoglobin A... *FEBS Lett.* 71: 356, 1976.
11. *Ezcurra, E. J.:* Montaje y estandarización de la determinación colorimétrica de hemoglobina glicosilada (en prensa).
12. *Gonen, B.; A. H. Rubinstein:* Hemoglobin A, and diabetes mellitus. *Diabetologia* 15: 1, 1978.
13. *Dolhofer, R.; A. Stadele; O. H. Wieland:* Clinical and biochemical studies on the significance and formation of hemoglobins A_{1c} and A_{al b} in diabetes mellitus. *Klin Wschr* 55: 945, 1977.
14. *Lecomte, M. J.; R. Schoos; S. Schoos-Barbette y otros:* Hemoglobine A_{1c} et control du Diabete. *Diabete Metab* 5: 57 (1979).

Recibido: 9 de septiembre de 1985 Aprobado: 13 de febrero de 1986

Lic. *Enrique Ezcurra Ferrer* Instituto Nacional de Endocrinología Zapata y D, Vedado, Ciudad de La Habana Cuba