

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a crown on top, flanked by two lions. Below the shield is a figure on horseback. The shield is supported by two pillars, one labeled 'PLUS' and the other 'ULTRA'. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the Latin motto 'CONSPICUA CAROLINA' at the top and 'SACRAE THEOLOGIAE' at the bottom. The text 'INFORME DE TESIS' is centered above the main title.

INFORME DE TESIS

**DETERMINACION DE VALORES BIOLÓGICOS DE REFERENCIA DE
GLUCOSA, CREATININA Y NITRÓGENO DE UREA EN UNA
POBLACION DE OBREROS, ENTRE 20 Y 30 AÑOS DE EDAD,
DEL AREA METROPOLITANA DE LA CIUDAD DE GUATEMALA**

PRESENTADO POR:
MARIA EUGENIA SIECKAVIZZA GIRON

PARA OPTAR EL TÍTULO DE
QUÍMICO BIÓLOGO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1,997

06
T(1878)
C.41

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y
FARMACIA.

DECANO:	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar.
SECRETARIO:	Lic. Oscar Federico Nave Herrera.
VOCAL I:	Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez.
VOCAL II:	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
VOCAL III:	Lic. Rodrigo Herrera San José.
VOCAL IV:	Br. Herbert Raúl Arévalo Alvarado
VOCAL V:	Br. Manola Anleu Fortuny.

TESIS QUE DEDICO

A Dios.

A mis padres:

Luis Sieckavizza Alvarez

Elizabeth de Sieckavizza

A mi esposo:

Enrique Alberto Juárez.

A mis hijos:

María Isabel y Enrique Alberto.

A mis hermanos:

Juan Luis y Angelis, Ana Elizabeth,

Mauricio y Lucky, Luis y Patricia

A mis sobrinos.

A mi madre política:

Leila De León.

A mis cuñados.

Agradecimientos:

A todas las instituciones y personas que en alguna forma intervinieron para llevar a cabo este trabajo de tesis.

Muy especialmente :

- A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- A la Escuela de Química Biológica.
- A Licenciada Alba Marina Valdéz de García, por su asesoría y su apoyo incondicional.
- A Licenciado Jorge Luis De León, por su colaboración en el diseño estadístico.
- Al Departamento de Estadística de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Indice:

	Página
1. Resumen	1
2. Introducción.	3
3. Antecedentes.	5
3.1.Aspectos estadísticos	5
3.2.Aspectos bioquímicos	17
4. Justificaciones	41
5. Objetivos	42
6. Hipótesis	43
7. Materiales y métodos	44
7.1. Universo	44
7.2. Muestra	44
7.3. Diseño de investigación	44
7.4. Recursos	45
7.5. Procedimiento de análisis	47
7.6. Control de calidad	55
8. Resultados	56
9. Discusión de resultados	58
10. Conclusiones	59
11. Recomendaciones	61
12. Referencias	62
13. Anexos	67

1. Resumen:

La utilidad clínica de los exámenes realizados en el laboratorio depende de la confiabilidad, veracidad de sus resultados y de que puedan compararse con valores biológicos de referencia adecuados. Un resultado de laboratorio clínico obtenido bajo las más estrictas normas de control de calidad carece de valor, si no se puede comparar con valores de referencia de una población sana.

En Guatemala no existen valores de referencia establecidos de la concentración de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea en sangre. Debido a que son pruebas de tamizaje para el diagnóstico de las diferentes patologías como trastornos hiperglucémicos y los complejos problemas renales, es necesario establecer valores de referencia nuestros para determinar el estado de salud o enfermedad de una persona.

El presente trabajo de investigación se realizó con el propósito de determinar los valores de referencia de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea en una población de obreros entre 20 y 30 años de edad.

Se muestrearon 195 obreros, de dos fábricas maquiladoras, tres supermercados de veinticuatro horas y cuatro centros de servicio para automóviles, los cuales fueron seleccionados a conveniencia y cumplieron estrictamente con los criterios de inclusión. Todas las personas estaban en ayunas y reposaron sentados por 10 minutos antes de la extracción de la sangre. Para la extracción sanguínea se efectuó una asepsia adecuada, se localizó la vena y sin hacer ningún torniquete se extrajeron 10 ml. de sangre sin anticoagulante, luego se separaron los sueros debidamente identificados y se guardaron a una temperatura de 2 centígrados, hasta el momento del análisis bioquímico.

El análisis bioquímico se realizó mediante técnicas colorimétricas; empleando el método de glucosa oxidasa para la determinación de glucosa. Para la determinación del nitrógeno de urea se utilizó el método de ureasa y para la creatinina la reacción de Jaffé.

Los datos obtenidos se procesaron mediante el análisis estadístico que realiza el programa de computación Epi Info 6 de la Organización Mundial de la Salud. Los límites de referencia fueron enmarcados por los percentiles 2.5 a 97.5 de las muestras estudiadas.

El rango de referencia encontrado en este estudio para glucosa sérica es de 58-109 mg/dl, el de nitrógeno de urea es de 7.9 - 21.0 mg/dl, el de creatinina en hombres es de 0.5 - 1.4 mg/dl y en mujeres es de 0.4 - 1.3 mg/dl.

Según el análisis estadístico, se determinó que si existe diferencia significativa entre los rangos determinados en el presente estudio y los reportados por la literatura.

Los resultados obtenidos de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea tanto de hombres como de mujeres no se ven afectados por la variable edad según se comprobó en el análisis de tendencias, r^2 , el cual se interpreta como el porcentaje de relación existente entre cada uno de los metabolitos determinados y la edad, siendo en todos los casos menor de 60 por ciento.

Las diferencias significativas encontradas entre los límites de referencia obtenidos en el presente estudio y los reportados en la literatura hacen necesario la realización de más estudios para ampliar el grupo etario y grupos de individuos con diferentes hábitos alimenticios.

2. Introducción:

Los límites de referencia se definen como el ámbito de valores que corresponden al 95% de una subpoblación de referencia. Estos límites son comunmente usados como patrones de comparación para evaluar el resultado obtenido en un paciente, con la finalidad de tomar una decisión médica acerca de la presencia o ausencia de enfermedad.

Los valores biológicos de referencia son significativos sólo cuando los individuos y los métodos de producción de tales valores son descritos adecuadamente, siendo imprescindible definir los criterios de inclusión y exclusión para identificar a la población de referencia. Las variables existentes referidas a edad, sexo, grupo étnico, factores socio-económicos, condiciones fisiológicas y ambientales, inciden en la valorización de las referencias, siendo necesario su clasificación en grupos y sub-grupos para poder caracterizar los términos de referencia identificándolos más adecuadamente conforme a criterios de selección, inclusión y exclusión.

El establecimiento de los límites de referencia para cualquier componente químico del organismo es complejo y para determinarlos debe considerarse el analito de que se trata, así como las características de la muestra de referencia.

Dada la importancia del establecimiento de valores de referencia, en el presente estudio se determinó los mismos para glucosa, creatinina y nitrógeno de urea séricos, haciendo un muestreo a priori, usando los criterios de exclusión, en obreros entre 20 y 30 años de edad del área metropolitana de la ciudad de Guatemala; debido a que aquí los laboratorios clínicos juegan un papel central en el diagnóstico, el manejo y el seguimiento de las enfermedades, conforme los lineamientos de la FEDERACION INTERNACIONAL DE QUIMICA CLINICA (1).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE LOS CARIBOS, DE GUATEMALA
BIBLIOTECA CENTRAL

3. Antecedentes:

3.1. Aspectos estadísticos:

3.1.1. Individuos de referencia:

Son las personas seleccionadas específicamente, cuyas características sean claramente definidas para que los resultados obtenidos en óptimas condiciones de recolección de las muestras, puedan ser comparados con los valores de los individuos bajo investigación clínica (1).

Es importante definir el estado de salud del individuo de referencia, sin embargo ninguna definición de salud parece ser completamente satisfactoria, incluyendo la de la Organización Mundial de la Salud que literalmente dice: **"UN ESTADO COMPLETO DE BIENESTAR FISICO, MENTAL Y SOCIAL Y NO MERAMENTE LA AUSENCIA DE ENFERMEDAD O DOLENCIA"**. El concepto de salud es diferente en los distintos países, en el mismo país en distintas épocas y en el mismo individuo, en diferentes edades. Por eso es un concepto relativo y no absoluto (2,3):

3.1.2. Valores biológicos de referencia:

El valor biológico de referencia es el resultado de una cantidad medible obtenida de un único individuo o un grupo de individuos correspondientes a un estado de salud definida; los cuales deben ser detallados y accesibles para que otras personas puedan utilizarlos (4).

3.1.3. Tipos de valores biológicos de referencia:

Existen diversos parámetros para determinar los valores de referencia, cuyas

características es necesario completar con una descripción, que permita un mejor conocimiento de las condiciones de los pacientes y que evite el mal entendido que resulta de hacer referencia sólo sobre la salud (4).

3.1.4. Estado de referencia:

El conocimiento del estado de referencia puede ser usado para facilitar comparaciones con otras poblaciones. Para tales comparaciones, la influencia de las variaciones biológicas debe ser mínima y esto sucede entre los veinte y treinta años de edad, luego que han sido excluidos otros factores de variación.

Para ser escogido como individuo adulto de referencia la persona **DEBE TENER DE 20 A 30 AÑOS DE EDAD, UNA MASA CORPORAL IDEAL, AYUNADO DURANTE 10 HORAS, NO TOMAR MEDICAMENTOS, CONSUMIR MENOS DE 45 GRS. DE ALCOHOL POR DIA, FUMAR MENOS DE 12 CIGARRILLOS POR DIA Y NO TENER ENFERMEDAD APARENTE (4).**

Tanto la preparación de los individuos, la obtención y posterior manipuleo de los especímenes en la producción de los valores de referencia y la de los valores clínicos, deberán ser lo más idénticos posibles. El efecto de la estandarización es clínicamente significativo. Los valores biológicos de referencia presentados y descritos deben ser puestos a disposición del usuario, al igual que los procedimientos para estandarizar a los individuos, obtener y procesar las muestras (6)

Los valores biológicos de referencia de un individuo, o de un grupo de individuos, son significativos sólo cuando él o los individuos y los métodos de producción de los

valores son descritos adecuadamente, por lo que resulta esencial que los siguientes criterios sean especificados para establecer y usar los valores de referencia:

- Criterio de inclusión y exclusión usado para definir la población de referencia.
- El criterio de selección usado para caracterizar subconjuntos de la población de referencia con respecto a la edad, sexo, grupos étnicos y factores socio-económicos.
- Condiciones fisiológicas y ambientales bajo las cuales se estudió la población de referencia y fueron obtenidos los especímenes del grupo muestra.
- El procedimiento de obtención de especímenes incluyendo la preparación del individuo, sitio de obtención, manipuleo y almacenamiento del espécimen.
- El método analítico utilizado, incluyendo detalles de su límite de detección, especificidad, precisión y exactitud, con especial énfasis en las variaciones a largo plazo, si la población o los individuos son estudiados a través de un largo período de tiempo.
- El método estadístico usado para la estandarización de los límites de referencia (1).

3.1.5. Selección de individuos para la producción de valores biológicos de referencia:

La selección de individuos para la producción de valores biológicos de referencia ha sido enfocadas desde muchos ángulos, de acuerdo con las diferentes filosofías, necesidades y recursos disponibles (5).

Son usados dos tipos de selección (4):

3.1.5.1. La selección a posteriori (retrospectiva) de individuos de una muestra de población obtenida al azar o no al azar , seguida por el agrupamiento y exclusión de

acuerdo a las características del grupo de muestra de referencia.

3.1.5.2. La selección a priori (prospectiva) de una población general usando criterios de exclusión y partición establecidos, determinados por estudios previos sobre la misma población u obtenidos de la literatura.

Para ambos tipos de selección el tamaño del grupo muestra es determinado por la naturaleza del criterio de exclusión y por el número de criterios de selección a ser aplicados. La selección a posteriori es más conveniente para la producción de valores de referencia de individuos sanos, pero la selección a priori podría ser aplicada en todas las situaciones (6).

3.1.5.3. Selección al azar es un proceso que permite a cualquier individuo ser escogido.

3.1.5.4. Selección específica es un proceso que no permite la oportunidad de selección o es una selección desigual: Selección directa (que incluye individuos elegidos directamente de la población usando un criterio definido) o Selección indirecta (que no se considera a los individuos, pero aplica reglas definidas a la base de datos para obtener un valor con las características requeridas) (7).

3.1.6. Exclusión de individuos del grupo de muestra referente:

Los factores que contribuyen a la variabilidad biológica, que pueden causar la exclusión de los individuos de referencia y el uso que se hará de los valores de biológicos referencia determinará el criterio de exclusión a ser aplicado, siendo los siguientes:

- Estado fisiopatológicos: Individuos que padecen enfermedades sistémicas o desórdenes fisiopatológicos, obesidad, hipertensión, alteraciones genéticas.
- Ingestión de medicamentos: Se excluirán individuos que reciben agentes para tratamiento de enfermedades, anticonceptivos orales, fármacodependientes, tabaco y alcohol.
- Estados fisiológicos modificados: Embarazos, ejercicios o actividad física, estrés (6,7).

3.1.7. Selección de los grupos muestra de referencia:

La necesidad de estratificar a los grupos de referencia puede diferir con las cantidades medidas y con el uso pretendido para los valores biológicos de referencia (7).

- La edad y el sexo: No deben necesariamente estar jerarquizadas. Siendo la edad elegible la que tome en cuenta la variación proporcional (4).

- Criterio genético, socio-económico y ambiental: Los estudios efectuados para determinar los parámetros de referencia para diferentes componentes biológicos han tenido en cuenta los siguientes aspectos: origen étnico, ubicación geográfica y morfología, los cuales se correlacionan con la cantidad de casos y la realidad económico-social de América Latina (7).

3.1.8. Preparación de los individuos de referencia:

La preparación de los individuos de referencia, el muestreo y los análisis de las muestras son condiciones que deberán ser las mismas que cuando se trabaja con pacientes. Cuando es posible conocer los factores que afectan el resultado de un análisis

debería controlarse y asegurarse que estos mismos factores se presenten en una situación clínica. Se sabe que la posición de cuerpo afecta la concentración de albúmina en el plasma y si los pacientes al ser examinados están acostados, los sujetos de referencia tendrán que reposar en cama antes de ser muestreados. Los factores que no pueden ser controlados en una situación clínica no deberán evitarse cuando las muestras de referencia se estén recolectando (7).

3.1.9. Estandarización de factores preanalíticos en el establecimiento de valores biológicos de referencia de adultos:

Las causas de variación preanalíticas están claramente establecidas y no son iguales para todo los análisis efectuados. Se podría argumentar que se consideran sólo los factores que causan un variación indeseable para los valores biológicos de referencia. En contraposición muchos constituyentes son rutinariamente analizados en la misma muestra clínica y suele ser poco práctico utilizar un plan especial para cada tipo de análisis. Por esta razón han recomendado tres procedimientos para la recolección de sangre por venopunción:

1. Recolección por la mañana en pacientes hospitalizados.
2. Recolección por la mañana en paciente ambulatorio.
3. Recolección por la tarde en pacientes ambulatorios.

Estos esquemas de estandarización pueden modificarse en una situación especial y necesaria y con el propósito de utilizarse en la producción de valores de referencia (7).

Recomendaciones del Comité Escandinavo de Valores de Referencia:

Un día antes de la toma de muestra se debe tener un dieta ordinaria; la última comida

debe ser antes de la 22:00 hrs; como máximo se puede tomar una pequeña botella de cerveza o su equivalente de otra bebida con la comida. Después de la 22:00 hrs. sólo se puede tomar un vaso de agua (8).

Recolección matutina de muestra de sujetos ambulatorios:

Levantarse de 1 a 3 horas antes de la toma de muestra. Trasladarse en transporte público o en automóvil por un tiempo máximo de 45 minutos, caminando como máximo 500 metros a una velocidad moderada.

Reposo sentado por lo menos durante 15 minutos, no está permitido el trabajo de los músculos de los brazos. Cuando se extraiga la sangre el individuo tiene que estar sentado con su brazo a 45 grados de la posición horizontal, el proceso de extracción se deberá efectuar entre la 08:00 y las 10:00 hrs.

Recolección matutina de muestras de sujetos hospitalizados:

Reposar en cama desde las 22:00 hrs. del día anterior hasta la hora de recolección; se permite una pequeña visita al baño pero deberá ser antes de una hora del momento de la recolección de la muestra. La toma de la muestra deberá efectuarse entre las 7:00 y las 9:00, en posición supina, con el brazo aproximadamente en el plano horizontal.

Recolección vespertina de muestras de sujetos ambulatorios:

Se puede tomar un desayuno ligero en la mañana, (aproximadamente unas 310 kcal.) en el cual se incluirá leche, café o té (máximo dos tazas), dos rodajas de pan con mantequilla, queso o mermelada.

Durante el día no se deberá hacer ejercicio o trabajo pesado.

Al igual que la recolección matutina, el sujeto deberá reposar por lo menos 15 minutos

antes de la toma de muestra sin efectuar ningún esfuerzo con los brazos.

La extracción de la muestra deberá realizarse entre las 13:00 y las 15:00 hrs., como mínimo 4 horas después del desayuno.

Recolección y manipulación de las muestras:

La punción deberá efectuarse en la fosa antecubital, sin torniquete, sólo se permite una pequeña presión con el dedo para localizar la vena. Las muestras se deberán trabajar de acuerdo con lo que se está investigando.

3.1.10. Manejo estadístico de los valores biológicos de referencia:

El manejo estadístico de los valores biológicos de referencia se hace en base a métodos paramétricos como la distribución de probabilidades de Gauss, que da un estimado de la media y la desviación estándar, y de otras distribuciones paramétricas como la de Kurtosis. Con esta aproximación el intervalo de referencia es usualmente de 95% de la distribución de referencia y es delimitado por los límites de referencia, los percentiles 2.5 y 97.5 que gradúan la admisión de la distribución (8).

En el manejo estadístico no paramétrico de los valores de referencia no es importante la forma de la distribución. Un simple método no paramétrico consiste en :

1. Seleccionar y ordenar todos los valores.
2. Asignar rangos numéricos a los valores.
3. Computar los valores de rango 2.5 y 97.5.
4. Buscar el valor del percentil correspondiente en la tabla de selección de valores de referencia. El número mínimo de muestras de referencia para utilizar este método es 120, necesario para obtener el 90% de los intervalos de confianza para ser computarizados no paraméricamente alrededor de cada límite de referencia (7,8).

Una alternativa o suplemento del valor de referencia es el Límite discriminativo (también llamado nivel de decisión o nivel de corte, Cut off) que separa el valor en interés del análisis definido; por ejemplo: La concentración de calcio sérico es de 10.4 mg/L; cuando un valor está arriba de este nivel, se puede considerar el diagnóstico de hiperparatiroidismo primario. Otro ejemplo, es la determinación del antígeno prostático específico en plasma, cuya concentración es de 90 pmol/litro; si excede, se considera el riesgo de un adenocarcinoma prostático arriba del 98.5% (8,9).

3.1.11. Control de calidad:

El primer programa de control de calidad diaria fue desarrollado por médicos laboratoristas , Freier y Rausch en 1958, en el laboratorio de Patología de la Universidad de Minnesota (10).

El propósito del control de calidad de las pruebas analíticas es asegurar la confiabilidad de cada medición llevada a cabo en la muestra de un paciente y se ha definido como las técnicas y actividades necesarias para cumplir con los requisitos de calidad concerniente al monitoreo diario de los procedimientos realizados en el laboratorio (7,10).

3.1.11.1. Control de calidad externo:

Es un programa en el cual una institución ajena provee muestras desconocidas para su análisis. Los resultados son remitidos para su evaluación independiente y devueltos al laboratorio participante con una evaluación de rendimiento: Aceptable o

inaceptable (11).

3.1.11.2. Control de calidad interno:

Es un plan que verifica la validez de las observaciones y que se programa para llevarse a cabo como parte de la rutina diaria regular de un laboratorio (10).

Los programas deben conducir a decisiones respecto a la confiabilidad de los datos analíticos y las decisiones del control de calidad deben estar relacionadas con los propósitos médicos para los cuales se llevan a cabo los análisis. Las acciones deben concluir con las decisiones referentes no sólo a la significación clínica, sino también a la significación médica de los datos del control de calidad.

Debido a que las muestras de control de calidad y las de los pacientes son analizadas por el mismo sistema, los datos de ambos reflejan cambios que ocurren en el sistema en sí, de modo que con dos fuentes de datos se puede seleccionar una combinación operacional efectiva de herramientas de control de calidad que satisfacen mejor sus necesidades. No existe un control de calidad que sea perfecto; cada laboratorio debe determinar y utilizar las herramientas de control de calidad que satisfacen mejor sus necesidades (11,12).

3.1.11.3. Valor objetivo promedio para muestras de control de calidad:

El valor objetivo de las muestras de control de calidad son las concentraciones

estimadas de cada variable analítica dentro de las muestras. Cada laboratorio debe establecer un valor objetivo para cada variable analítica mediante los procedimientos regulares llevados a cabo por ese laboratorio. Cuando se establecen valores objetivo para un nuevo lote de materiales de control de calidad, se presume que los sistemas analíticos tienen un óptimo rendimiento durante la recopilación de datos. Esto se asegura normalmente mediante análisis del nuevo lote de materiales en paralelo con los datos analíticos del material actual en operación. Si los datos analíticos del material actual indican un satisfactorio rendimiento de control de calidad de los métodos, se supone que los datos del nuevo lote son válidos. Al establecer por primera vez un sistema de control de calidad, se acepta que la metodología actual es válida. Las futuras decisiones de metodología estarán basadas en la experiencia con utilidad médica, comparaciones en control de calidad externo y materiales de exactitud (10).

3.1.11.4. Calibración y materiales de calibración:

El calibrador posee un valor asignado establecido por el fabricante o el usuario de un método de referencia. El calibrador se utiliza para estandarizar el método o instrumento. Los materiales calibradores vienen en una variedad de formas con matrices acuosas o séricas. La diferencia entre una matriz acuosa y sérica puede incluir la tensión superficial, que puede afectar el pipeteo de la muestra, las interacciones entre variable analítica y proteínas y el efecto de la fracción de volumen ocupada por la proteína en la concentración real de ciertas variables analíticas.

Cuando se crean mezclas para determinación de exactitud, se debe tener precaución de obtener mezclas de sueros de pacientes que no contengan interferentes conocidos posibles, como lipemia, bilirrubinemia o hemólisis (10,11).

Los calibradores se adquieren usualmente en lotes suficientemente grandes como para que duren 12 a 18 meses. Se recomienda analizar un nuevo lote de material calibrador 6 semanas antes de su uso para detectar una desviación sistemática entre el calibrador actual y el calibrador nuevo (11).

3.1.12. Estudios realizados en Guatemala para determinar valores biológicos de referencia:

Desde 1,989 (13,14,15) se han efectuado varios estudios por departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos los cuales han determinado valores biológicos de referencia para glucosa, creatinina, nitrógeno de urea, ácido úrico, proteínas totales, lípidos totales, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y LDL en poblaciones del área urbana y rural del municipio de Guatemala y en escuelas de primaria de la capital.

Los resultados reportados por estos estudios demuestran que es necesario ampliar el grupo poblacional, y definir el estrato social para establecer valores biológicos de referencia específicos para Guatemala.

3.2. Aspectos bioquímicos:

3.2.1. Glucosa:

Químicamente la glucosa es una aldohexosa en la cual la forma en la cual la forma aldehídica está en equilibrio con la forma enodiolica, la cual es favorecida por el pH fisiológico. El equilibrio aldehído/enodiol permite que la glucosa puede ser reducida y oxidada con facilidad(16).

3.2.1.1. Metabolismo de la glucosa:

Como la glucosa es el único monosacárido que el cuerpo utiliza para energía, las enzimas hepáticas transforma la galactosa y fructosa en glucosa. En el primer paso de utilización, la glucosa del hígado reacciona con trifosfato de adenosina (ATP) en presencia de hexocinasa para formar glucosa-6-fosfato, siendo esta el punto de partida para las vías posibles del metabolismo de la glucosa (17).

Si el organismo necesita energía, la glucosa se metaboliza en su totalidad hasta dióxido de carbono y agua formando energía a través de la producción de ATP. Hay dos vías principales para esta descomposición de la glucosa: la vía glucolítica o ciclo de Embden-Meyerhof y la vía alterna del monofosfato de hexosa.

En el ciclo de Embden-Meyerhof, la glucosa-6-fosfato se rompe mediante una serie de reacciones hasta dar dos moléculas de piruvato. La transformación de glucosa en piruvato o lactato se denomina GLUCOLISIS, siendo un proceso anaeróbico que ocurre en el citoplasma celular y produce dos moléculas de ATP por molécula de glucosa. El piruvato se convierte de nuevo en glucosa-6-fosfato por una vía diferente o se transforma en lactato frente a la enzima DESHIDROGENASA LACTICA.

En condiciones aeróbicas el piruvato experimenta descarboxilación oxidativa y produce acetilcoenzima A. La oxidación de esta proporciona a las células la mayor parte de la energía potencialmente disponible a partir de la oxidación de la glucosa. La acetilcoenzima A penetra al ciclo del ácido tricarboxílico que es la fase aeróbica del metabolismo de la glucosa y se lleva a cabo en la mitocondria de la célula.

Otra vía que puede seguir la oxidación de la glucosa es la ruta de las pentosas, en la cual la glucosa-6-fosfato se transforma en ribosa-5-fosfato con producción de NADPH. El NADPH genera potencia reductora y es importante para muchas reacciones anabólicas, como síntesis de ácidos grasos y esteroides. La vía del monofosfato de hexosa también desempeña una función importante para la glucólisis en los eritrocitos, ya que éstos carecen de mitocondria y por lo tanto no pueden efectuar la fosforilación oxidativa del ciclo del ácido tricarboxílico. La ribosa-5-fosfato puede transformarse en triosa fosfato, el cual participa en la vía glucolítica (17,10).

Cuando el organismo no necesita glucosa para obtener energía de inmediato, la almacena en forma de glucógeno en el hígado, siendo llamado este proceso GLUCONEOGENESIS y se verifica cuando hay niveles altos de glucosa en sangre. Cuando la glucosa sanguínea comienza a descender, el glucógeno se transforma de nuevo en glucosa mediante el proceso enzimático denominado GLUCOGENOLISIS. El glucógeno también se almacena en los músculos, pero sólo el glucógeno hepático se encuentra disponible para la sangre, ya que el músculo carece de la enzima glucosa-6-fosfatasa necesaria para la transformación de glucógeno nuevamente en glucosa (17).

La GLUCONEOGENESIS es otra vía importante para mantener los niveles de

glucosa sanguínea, en especial cuando el ayuno se prolonga; y es la formación de glucosa a partir de aminoácidos, lactato o la porción del glicerol de los lípidos, siendo un proceso oxidativo en el que participa el ciclo del ácido tricarboxílico (17).

3.2.1.2.Regulación hormonal de los niveles de glucosa sanguínea:

Las hormonas regulan la concentración de glucosa en sangre con el propósito de mantenerla sin variaciones, siendo estas: insulina, que aumenta la permeabilidad de las membranas a la glucosa, enlazándose con receptores de la superficie celular mejorando así el grado de entrada de la glucosa a los tejidos hepático, muscular y adiposo; glucagón es el principal responsable en incrementar la glucosa sanguínea rápidamente a partir de la glucogenólisis y gluconeogénesis hepática; adrenalina eleva el nivel de glucosa en sangre estimulando la glucogenólisis y sirve como coadyuvante del glucagón; tiroxina favorece la glucogenólisis y puede provocar el agotamiento de las reservas de glucógeno en el hígado; hormona del crecimiento, hormona adrenocorticotrópica y el cortisol son antagonistas a la insulina (17,10).

3.2.1.3.Fisiopatología:

Diversas afecciones del metabolismo de carbohidratos se asocian con HIPERGLUCEMIA que es el incremento de la glucosa plasmática e HIPOGLUCEMIA que es la reducción de la glucosa circulante (17,10).

3.2.1.3.1. Hiperglucemia:

La patología más común con el metabolismo de los carbohidratos es la Diabetes mellitus, síndrome caracterizado por una secreción anormal de insulina que se refleja en una tendencia de la hiperglucemia (asociada a glucosuria) y secundariamente en una

variedad de manifestaciones metabólicas y vasculares. Algunos diabéticos se agravan rápidamente sufriendo complicaciones tales como cetoacidosis pudiendo llegar al coma diabético mientras que otros padecen una intolerancia a la glucosa no progresiva con escasos síntomas del síndrome (10).

El diagnóstico precoz y el control de los pacientes diabéticos tiene por objeto evitar la cetoacidosis y las complicaciones de los síntomas resultantes de la hiperglucemia, mediante el tratamiento adecuado (18).

Por otra parte, el exceso de insulina en sangre (por sobredosificación o por sobreproducción) produce una hipoglucemia, que en casos extremos puede llevar al shock, por lo que es de suma importancia el seguimiento de los diabéticos insulino dependientes con la determinación de la glucosa plasmática .

Dado que existen múltiples factores causales de hiper o hipoglucemia, debe considerarse en cada caso la condición fisiológica o patológica presente en el paciente en cuestión (18).

El National Diabetes Data Group (18) propone una clasificación para la Diabetes mellitus y otras afecciones hiperglucémicas dando cinco categorías para ello:

1. Diabetes mellitus:
 - 1.1. Tipo I: Dependiente de insulina.
 - 1.2. Tipo II: No dependiente de insulina.
 - 1.2.1. No dependiente de insulina sin obesidad.
 - 1.2.2. No dependiente de insulina con obesidad.
 - 1.3. Otras : Diabetes secundaria a otra afecciones.

2. Afecciones de la tolerancia a la glucosa.
3. Diabetes mellitus gestacional.
4. Anomalía previa de la tolerancia a la glucosa.
5. Anomalía potencial de la tolerancia a la glucosa.

3.2.1.3.2. Hipoglucemia:

La hipoglucemia es una síndrome que se caracteriza por nivel bajo de glucosa en plasma, en general inferiores a 50 mg/dl. Es posible que ocasionalmente se produzcan valores bajos de glucosa en plasma sin síntomas o enfermedad; es necesario conocer el medio clínico para interpretar con precisión un valor de glucosa plasmática (17).

3.2.1.4. Métodos bioquímicos de determinación de glucosa sanguínea:

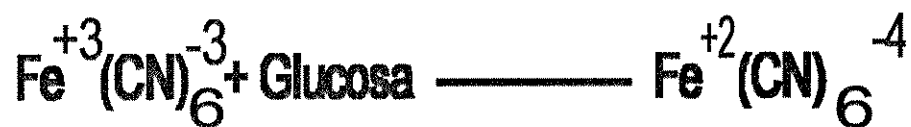
3.2.1.4.1. Métodos de óxido-reducción:

La forma enólica de la glucosa predomina en solución alcalina y el doble enlace y la carga negativa presentes en el anión enólico hacen que la glucosa sea una sustancia reductora activa (16).

3.2.1.4.1.1. Método de ferricianuro en solución alcalina:

Principio:

En solución alcalina caliente el ion ferricianuro (amarillo) es reducido por la glucosa a ferrocianuro (incoloro).



(hierro férrico)

(ión ferroso)

El desaparecimiento del color del ión ferricianuro es medido a 420 nm., es proporcional a la concentración de glucosa. El blanco de reactivo, tiene una gran absorbancia, y la medición es el rango normal bajo y es inherente a la precisión, ya que las mediciones se basan en pequeñas diferencias en las absorbancias.

Algunas sustancias reductoras como la creatinina y el ácido úrico reaccionan equivalentemente con la mitad de lo que reduciría la glucosa. En los casos de pacientes urémicos, en los que la creatinina y el ácido úrico están marcadamente elevados pueden presentar valores de glucosa falsamente elevados.

Raramente es utilizado; se ha visto en el sistema Technicon; realmente es de interés histórico (10).

3.2.1.4.1.2. Método de reducción de cobre:

Principio:

En solución alcalina caliente la glucosa reduce el ión cúprico en cuproso, con formación de óxido de cobre. Esta reacción no es estereoquímica, pero depende de la alcalinidad, el tiempo la temperatura de calentamiento y de la concentración de los reactivos. Bajo condiciones cuidadosamente controladas, la reacción es reproducible y provee resultados cuantitativos, cuando los estándares son analizados de la misma forma

que un filtrado libre de proteínas (19).

La reoxidación del ión cuproso por el oxígeno del aire se puede prevenir utilizando un tubo de extremo reducido para minimizar el área de la superficie que tiene contacto con el aire o también agregando sulfato de sodio (18mg/100ml) en el reactivo, disminuyendo así la solubilidad del oxígeno.

Añadiendo ácido fosfomolibdénico (Método de Folin-Wu) o ácido arsenomolibdénico (Método de Somogyi y Nelson), el ión Mo^{+6} es reducido por el ión cuproso para formar un compuesto con un bajo estado de oxidación del molibdeno, de color azul, el cual se puede medir fotométricamente . La modificación de Benedict de los métodos de reducción de cobre todavía se utiliza hoy, pero sólo como procedimiento para medir glucosa en orina (19).

3.2.1.4.2. Métodos químicos de condensación:

Estos métodos se basan en la reacción de la glucosa con varias aminas para producir compuestos derivados.

3.2.1.4.2.1. Método de ortotoluidina:

Principio:

Varias aminas aromáticas reaccionan con la glucosa en solución de ácido acético

caliente para producir los compuestos derivados. Entre estas aminas están: anilina, benzidina, 2-aminobifenil y la ortotoluidina (19).

Ortotoluidina + Glucosa ----- Glucosamina

Glucosamina ----- Base de Schiff.

Dubowski aplicó esta reacción al filtrado libre de proteínas con una buena especificidad para la glucosa (19).

La hemólisis moderada no interfiere significativamente. La bilirrubina tampoco reacciona bajo condiciones del método y su interferencia es despreciable. Los rangos normales para el método de ortotoluidina son esencialmente los mismos que los obtenidos con los métodos de glucosa oxidasa y hexoquinasa. Sin embargo en pacientes con uremia se obtienen valores de glucosa falsamente elevados con ortotoluidina, y falsamente bajos con el método de ferrocianuro. Añadiendo ácido bórico directamente a la ortotoluidina preparada en ácido acético glacial, duplica la sensibilidad que cuando se usa el reactivo simple (20).

Las desventajas principales del método de ortotoluidina están dadas por el carácter carginogénico de los reactivos y las interferencias positivas de la urea y de otros azúcares, muy especialmente manosa y galactosa (10).

3.2.1.4.3. Métodos enzimáticos:

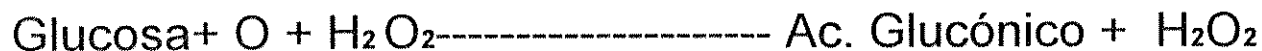
Los procedimientos más comúnmente utilizados para análisis de glucosa emplean enzimas como reactivos a fin de aumentar la especificidad de la reacción.

3.2.1.4.3.1. Determinación de glucosa con glucosa oxidasa:

Principio:

La glucosa oxidasa es una enzima que cataliza la oxidación de la glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno.

glucosa oxidasa



Una peroxidasa y un compuesto cromógeno como aceptor de oxígeno, la O-dianisidina, producen un color, el cual puede ser medido espectrofotométricamente.

Peroxidasa



(Color)

Este método es altamente específico para la B-D-glucosa, ya que en solución existe como 36% de alfa y un 64% de la forma beta.

La oxidación de la glucosa requiere la mutarrotación de alfa a beta. Algunos métodos comerciales de glucosa oxidasa contiene la enzima mutarrotasa, que acelera la reacción (20).

El segundo paso, involucra una peroxidasa; siendo menos específico. Varios compuestos como el ácido úrico, ácido ascórbico, bilirrubina y el glutatión inhiben esta reacción, ya que compiten con el cromógeno por el peróxido de hidrógeno. Por esta razón es que los resultados obtenidos directamente del suero tienden a ser más bajos que la verdadera concentración de glucosa sanguínea (20).

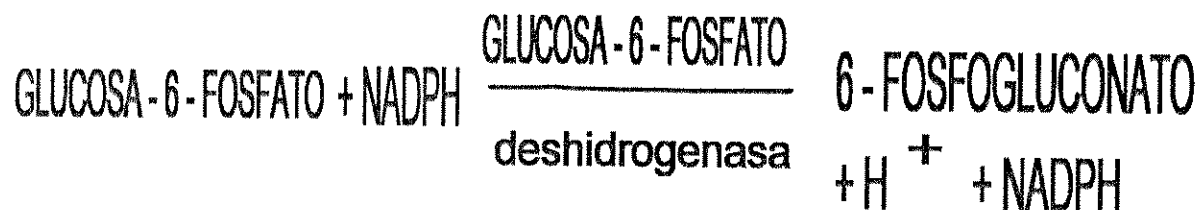
En algunos métodos la mezcla es acidificada ligeramente cuando la reacción se para y un color amarillo aparece; midiéndose a 395 nm. En condiciones fuertemente acidificadas el color se torna rosado, con un máximo de absorbancia de 540 nm. Este método tiene la ventaja que se puede determinar la glucosa en presencia de otros azúcares.

La absorbancia generalmente es lineal con concentraciones de glucosa hasta 400mg/dl. De todas formas es necesario utilizar estándares de 100, 200, 300 y 400 mg/dl (19, 20).

3.2.1.4.3.2. Determinación de glucosa con hexoquinasa:

Principio:

La hexoquinasa es una enzima que cataliza la fosforilación de la glucosa por trifosfato de adenosina (ATP), para formar glucosa-6-fosfato en presencia de NADP a NADH en proporción directa a la cantidad de glucosa presente originalmente. El NADPH se mide a 340 nm.



3.2. Creatinina:

La creatinina es un compuesto cíclico nitrogenado, cuya fórmula molecular es $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$, producto de desperdicio que se deriva de creatina y fosfato de creatina, se forma cuando la creatina pierde una molécula de agua y el fosfato de creatina pierde una molécula de ácido fosfórico, siendo una reacción espontánea (20).

En 1,847, Liebig descubrió la creatinina. Bloch y Shoenheimer, Borsook y Dubnoff y Du Vigneaud y colaboradores establecieron que la metionina podría servir como donador de metil al guanidoacetato para formar creatinina.

La creatinina está presente en el suero, los eritrocitos y en secreciones del cuerpo como bilis, flúidos gastrointestinales y líquido cefalo raquídeo (21).

3.2.1. Metabolismo:

Cerca del 2% de la creatina se transforma en creatinina cada 25 hrs., el contenido de creatina es proporcional a la masa muscular; por tanto el nivel de creatinina en el cuerpo también es proporcional a la masa muscular (21).

3.2.2.2. Fisiopatología:

En enfermedades renales, los valores de creatinina sérica no se incrementan hasta que la función renal está dañada. Los radios de aclaramiento de la creatinina son indicadores más sensitivos del daño renal y esto es más útil para el seguimiento del tratamiento en los casos de glomerulonefritis aguda, para identificar una disfunción glomerular primaria de un daño renal total (21).

De cualquier forma, el problema radica en que no se puede determinar si el daño es sólo la disfunción glomerular por una baja filtración o se debe a una baja en el flujo sanguíneo produciéndose una baja filtración (21).

Debido al radio de eliminación de drogas y aclaramiento de la creatinina tiene una relación directa, se puede utilizar el aclaramiento para ajustar la dosificación de las drogas en pacientes con enfermedad renal. Los radios de aclaramiento de creatinina y de metabolitos tiene utilidad diagnóstica (22).

Un descenso patológico en la concentración de creatinina sérica puede resultar de un descenso de la producción o un incremento en la excreción como sucede en la perfusión glomerular en diabetes insulino dependiente. En pacientes con desgaste

muscular (caquexia, distrofia muscular) o un decremento de la actividad muscular, con un decremento concomitante de la formación y concentración de creatinina sérica (22).

3.2.2.3. Determinación de creatinina sérica:

3.2.2.3.1. Método de Jaffé:

El método de Jaffé para análisis de creatinina, descrito por primera vez en 1,886, se distingue por ser el método de química clínica más antiguo todavía en uso. Se basa en la reacción de la creatinina con una solución alcalina de picrato de sodio para formar un complejo rojo de Janowski. La absorbancia del complejo se mide entre 510 y 520 nm, si bien su máximo se ha descrito a 485 nm (17). El ión picrato (presente en exceso en la solución de reacción), absorbe significativamente a longitudes de onda por debajo de 500 nm. Cuando se analiza suero o plasma en una reacción de punto final se utiliza un filtrado libre de proteínas, dado que los grupos alfa-cetometilo o alfa-cetometileno de las proteínas son reactivos con picrato alcalino y los complejos resultantes son altamente coloreados (20).

La reacción se realiza a temperatura constante menor de 30 grados centígrados; a mayores temperaturas, la glucosa, el ácido úrico y el ácido ascórbico pueden tener una reacción reductiva inaceptablemente elevada con el picrato, formándose picramato, con absorbancia máxima a 482 nm, produciéndose una sobre estimación de creatinina. Es importante también mantener constante la temperatura porque la absorbancia del ión picrato y el producto de la reacción creatinina-picrato aumentan al aumentar la temperatura. No es necesario estabilizar el pH de la reacción, porque se utiliza una solución al 0.1 M de NaOH (23).

Se ha utilizado tierra de Fuller a fin de aumentar la especificidad de la reacción Jaffé, adsorbiendo la creatinina presente en el filtrado libre de proteínas, aislándola así de interferentes potenciales (24).

Otros materiales con propiedades comparables son el reactivo de Lloyd y la bentonina. Que son arcillas porosas de silicato de aluminio, que forman suspensiones coloidales con elevado poder de adsorción natural (23).

Una pequeña cantidad del adsorbente se añade al filtrado libre de proteínas a temperatura ambiente; la adsorción se completa esencialmente luego de un minuto. La creatinina es adsorbida con una eficiencia de aproximadamente 92%, y luego de centrifugar y decantar el sobrenadante que contiene el interferente, se pueda añadir el picrato alcalino directamente al sedimento creatinina - adsorbente (10).

3.2.2.3.1.1. Variables que se involucran en la reacción de Jaffé:

El color rojo desarrollado en la reacción de Jaffé se ha atribuido a la formación de una forma tautómera de la creatinina a temperaturas abajo de 30 grados celsius, sin excederse de 15 minutos del tiempo de la reacción. Las absorbancias del picrato alcalino y de creatinina-picrato incrementan cuando la temperatura se incrementa, pero la magnitud de este incremento no es la misma para ambos, de cualquier forma el radio de absorbancia conteniendo estándar de creatinina, medida a diferentes temperaturas es constante en la reacción Jaffé (24).

El efecto de la temperatura en la absorbancia de una solución de picrato alcalino depende de la longitud de onda a la cual se hace la medición. Entre 475 y 520 nm, con un incremento de 25 a 40 grados se incrementa la absorbancia. El uso de una longitud

de onda intermedia entre 490 a 520 nm se recomienda, para minimizar el efecto de la temperatura (25).

La intensidad de color producida en la reacción de Jaffé es aparentemente independiente de la concentración del ácido pícrico utilizado, sin embargo a concentraciones altas el rango de desarrollo de color baja. La concentración de álcali también influye en la producción del color; la intensidad del color se mantiene alta, si la concentración del álcali se mantiene baja, de hecho el color producido en la reacción de Jaffé es inversamente proporcional a las concentraciones del ácido pícrico y del álcali (25).

3.2.2.3.1.2. Sustancias interferentes a la reacción de Jaffé para la determinación de creatinina:

Se investigó el mecanismo de la reacción de Jaffé para la determinación de creatinina por estudios espectrofotométricos, cinéticos y las propiedades de equilibrio de la reacción de picrato con creatinina y con cetonas cíclicas y alifáticas. Los espectros de absorbancia para los productos de reacción de picrato con todas las cetonas cíclicas sin nitrógeno tienen la absorptividad molecular menos que la mitad de la creatinina y las constantes de equilibrio son aproximadamente 0.01 que la de creatinina. Las cetonas alifáticas, excepto la bencilacetona, tienen absorptividad molar similar a la de la creatinina, pero todas estas sustancias tienen constantes de equilibrio diez veces menor que la de la creatinina, el grupo carbonilo, es la estructura molecular común para todos los compuestos que reaccionan con el picrato (21).

La reactividad de la cetona con el picrato es dependiente del carbanilo y de sus átomos vecinos. Ellos se pueden predecir tomando en cuenta: la absorptividad molar y las constantes de equilibrio. Estos investigadores proponen que la transferencia de carga de la estructura coplanar del complejo es formada entre el picrato y la creatinina (25).

La interferencia negativa de la bilirrubina sobre la determinación de creatinina ha sido demostrada por varios investigadores, incluso cuando se trabaja con analizadores automatizados (26).

Se ha propuesto la utilización de blancos para eliminar dicha interferencia, desafortunadamente este procedimiento no es efectivo. Sin embargo, se propone la utilización de la prueba gemela, procedimiento en el cual se hacen dos determinaciones consecutivas realizadas en la misma muestra. La primera consiste en mezclar el suero del paciente con NaOH, con lo que se realiza un rango de reacción negativa, la cual se mide. El segundo análisis se inicia midiendo la creatinina después de la adición de ácido pícrico, seguidamente se determina la concentración de creatinina corregida; restando de la absorbancia total la absorbancia de la bilirrubina determinada al degradarse con el NaOH.

En conclusión, la interferencia de la bilirrubina puede eliminarse realizando las pruebas gemelas; procedimiento que se realiza en los analizadores HITACHI, el cual no utiliza un Kit de blancos (27).

La interferencia de la bilirrubina en la determinación de creatinina es un problema para la química clínica. Por esta razón, varios científicos han dedicado muchas horas de trabajo para el estudio de este mecanismo interferente y de cómo lo pueden eliminar (27).

Un grupo de científicos italianos trabajaron un derivado sintético de la bilirrubina y la denominaron ditaurobilirubin (DTB), este derivado es soluble y tiene similitud con la bilirrubina conjugada natural (28).

Ellos compararon el efecto de la interferencia de la bilirrubina conjugada con la interferencia de la DTB, utilizando seis métodos mecanizados de determinación de creatinina. En los métodos con picrato alcalino y en los enzimáticos directos basados en peróxido de hidrógeno la interferencia fue más pronunciada con los derivados solubles (DTB).

Con sus observaciones ellos demuestran que la DTB causa el mismo efecto negativo que la bilirrubina natural (28).

3.2.2.3.2. Reacción con ácido 3,5-dinitrobenzónico:

La creatinina reacciona con el ácido 3,5-dinitrobenzónico a un pH alcalino, para dar un color rosa púrpura, pero la estabilidad de este color es dudosa. Derivados del ácido 3,5-dinitrobenzónico se han usado recientemente para el análisis de la creatinina. En uno de ellos, la creatinina reacciona con el cloruro de calcio del 3,5-dinitrobenzónico y el otro es el 3,5-dinitrobenzoato de metilo. Ambos procedimientos reportan buena correlación con la reacción de picrato alcalino (10).

3.2.2.3.3. Reacción con 1,4-naftoquinona-2-sulfonato:

La medición del producto de reacción entre la creatinina y el 1,4-naftoquinona-2-sulfonato como sal de potasio ha demostrado valores muy altos (30).

3.2.2.3.4. Análisis enzimáticos:

Los métodos de copulación enzimática utilizan varias enzimas como amidohidrolasa (EC 3.5.2.10), la creatinquinasa (EC 2.7.3.2), la piruvatoquinasa (EC 2.7.1.40), la lactato deshidrogenasa (EC 1.1.1.27), NADH y el cambio de absorbancia es a 340 nm. La curva estándar demuestra una linealidad a 100 mg/dl en suero no desproteinizado y los métodos demuestran una buena especificidad (30).

3.2.2.3.5. Determinación de creatinina por cromatografía líquida de alta presión:

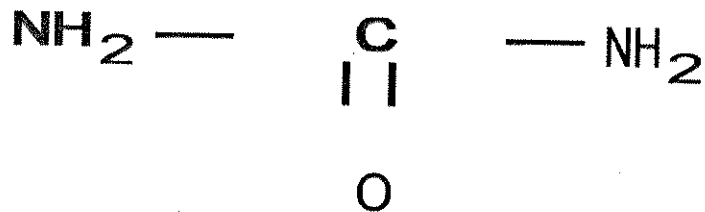
Se ha logrado separar y cuantificar la creatinina mediante cromatografía líquida de alta presión mediante el uso de una fase estacionaria de intercambio catiónico con buffer citratado (pH 4.25) como fase móvil, o con una columna de fase invertida y una fase móvil de fosfato-laurilsulfato de metanol (pH 5.1). La cuantificación se realiza con una reacción de Jaffé en corriente o bien con el uso de la absorbancia de creatinina nativa a 200 nm. Ambos métodos han sido descritos como rápidos, específicos y precisos (10).

La selección de una metodología para análisis de creatinina en un laboratorio clínico incluye diversas consideraciones. Lo más importante es la exactitud, especialmente para muestras de pacientes con disfunción renal, en las que es probable la presencia de una mezcla de interferentes potenciales. Además, dado que el análisis se utiliza como el indicador más confiable de función renal, debe estar disponible con un mínimo de 24 horas por día. En particular cuando se solicita en pacientes pediátricos y en pacientes sometidos a diálisis, el tamaño de la muestra se mantendrá en un mínimo absoluto (10).

El método que actualmente satisface mejor estos criterios es la reacción de Jaffé, con pretratamiento mediante tierra de Fuller. Este método es adaptable a un instrumental común, su resistencia a la interferencia ha sido totalmente comprobada durante muchos años y exhibe un elevado nivel de exactitud y precisión. Sólo el piruvato y el oxoglutarato siguen siendo fuentes potenciales de error cuando están presentes a elevadas concentraciones. Las desventajas de este procedimiento se refieren a que la introducción de tierra de Fuller implica necesariamente un procedimiento manual; es así como el requerimiento de muestra es mayor que en métodos totalmente automatizados (10).

3.2.3. Nitrógeno de urea:

La urea en su estructura contiene dos átomos de nitrógeno y es expresada de la manera siguiente:



Es el producto final del metabolismo del nitrógeno de los aminoácidos en el hombre y los otros organismos urotélicos. Es reemplazado por el ácido úrico en los organismos uricotélicos (por ejemplo: aves y reptiles) o por amoníaco en los organismos aminotélicos (28).

Se produce cuando las proteínas son hidrolizadas a sus aminoácidos constituyentes y el amonio liberado es convertido en urea (32).

3.2.3.1. Metabolismo:

El principal origen de la urea es la descomposición metabólica de las proteínas y aminoácidos de la dieta. Una fracción importante de las proteínas se transforma en urea y se excreta en los riñones. La síntesis se lleva a cabo en el hígado mediante el ciclo de la urea. La cuarta parte de la urea se metaboliza en los intestinos mediante la actividad de la microbiota normal. Posteriormente este amoníaco se resorbe a través del sistema portal y se convierte de nuevo en urea en el hígado (33).

La eliminación de la urea se verifica principalmente en el riñón a través de un proceso complejo que incluye filtración, secreción y resorción. Una cantidad muy pequeña de urea se excreta en el sudor humano. La urea se filtra con libertad a través de los glomérulos, más allá del túbulo contorneado proximal, el destino de la urea depende del estado de hidratación del paciente. Cuando este se encuentra deshidratado, se reduce la depuración y excreción de urea; durante la diuresis, la depuración y excreción de urea se incrementan (31).

La alteración de la carga de nitrógeno también afecta la concentración de nitrógeno

de urea sanguíneo. Para una tasa de filtración glomerular dada, el incremento de la carga de nitrógeno eleva los niveles de nitrógeno de urea. La reducción de la carga de nitrógeno también hace descender los niveles de nitrógeno uréico (31,32).

3.2.3.2. Fisiopatología:

El deterioro de la función glomerular conduce a una elevación de los niveles de nitrógeno de urea, aunque éstos no se incrementan de manera significativa hasta que la tasa de filtración glomerular desciende por debajo de 50% de los niveles normales. También existen causas pre-renales de incremento de los niveles de nitrógeno de urea sanguíneo, incluyendo problemas circulatorios en los que se reduce el flujo de sangre al riñón. En este tipo de afecciones la urea se filtra con menor frecuencia, por lo cual su nivel en sangre aumenta. Esto se observa en caso de insuficiencia cardíaca congestiva, choque, hemorragia, deshidratación y reducción notable del volumen sanguíneo. También se observan incrementos cuando el metabolismo de proteínas se altera debido a que la dieta es alta en proteínas, a la presencia de fiebre, enfermedades graves y por la tensión (10).

Algunas causas post-renales de elevación de los niveles de nitrógeno uréico incluyen obstrucción del flujo de orina en cualquier región del sistema urinario, a consecuencia de cálculos renales, tumores de la vejiga o de la próstata e infecciones graves (17,34,35).

El examen de la relación entre el nitrógeno de urea y la creatinina permite comprender el estado renal del paciente es útil para diferenciar entre la diversas causas de reducción de la tasa de filtración glomerular. La relación de nitrógeno de urea

de reducción de la tasa de filtración glomerular. La relación de nitrógeno de urea sanguíneo: creatinina va de 10:1 a 15:1 en enfermedades renales intrínsecas con equilibrio estable de hidrógeno y nitrógeno. Cuando la reducción de la tasa de filtración glomerular es resultado de causas pre-renales como deshidratación o hemorragia intestinal grave, la depuración de urea generalmente se reduce en mayor grado que la de creatinina. Por lo tanto la relación nitrógeno de urea:creatinina se incrementa hasta 20:1 ó 30:1. Esto se debe en parte a que la resorción tubular de urea ante una reducción de la tasa de filtración glomerular (36).

La reducción de la relación es menos frecuente, pero se observa durante la diálisis renal porque la urea se dializa con más facilidad que la creatinina. También se observa reducción de la ración en pacientes que ingieren dietas con bajo contenido protéico, en caso de diarrea o vómito grave y como resultado de insuficiencia hepática (35).

3.2.3.3. Métodos de determinación de nitrógeno de urea:

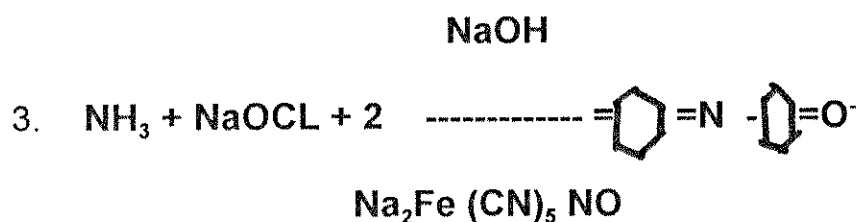
El nitrógeno de urea puede determinarse directamente en el plasma o suero y en la mayoría de fluidos corporales. Sin embargo, en sangre completa es necesario un filtrado libre de proteínas con el fin de eliminar la interferencia que produce la hemoglobina con el método colorimétrico (20).

3.2.3.3.1. Método de ureasa:

La urea es hidrolizada a carbonato de amonio por acción de la ureasa, y el amonio que se libera del carbonato por acción del medio alcalino, reacciona con el fenol y el hipoclorito forman azul de indofenol.

El color azul es proporcional a la cantidad de urea que hay presente en la muestra.

Reacciones que se presentan:



Indofenol
(Compuesto azul en su forma disociada).

El amoníaco presente en cualquier reactivo o en la atmósfera de trabajo puede dar resultados falsos positivos. Toda la cristalería que se utiliza durante la preparación de reactivos o durante los procedimientos de análisis debe lavarse con agua destilada libre de amonio.

Sueros lipémicos causan turbidez en la solución final coloreada. Esto puede corregirse agregando éter a la solución final de trabajo (31).

En la determinación del nitrógeno de urea por el método de ureasa, la

estreptomycin y el cloranfenicol puede interferir con la acción de la enzima, provocando así resultados bajos. Los compuestos mercurícos como diuréticos mercuriales, interfieren con la acción de la enzima provocando también resultados bajos. Todas las drogas que poseen una acción diurética marcada, producen niveles bajos de nitrógeno de urea y algunas drogas que poseen efecto nefrotóxico provocan un incremento en los niveles de urea (32).

3.2.3.2. Método de diacetil monoxima:

La diacetil monoxima en solución ácida produce un color rojo que es medible fotométricamente a 520 nm, el cual sigue la ley de Beer. Este método puede ser automatizado y puede correrse directamente del suero.

La reacción con la monoxima también puede producir un compuesto fluorescente, pudiéndose usar como un método fluorométrico (31).

Con este método es preferible correr con dos estándares; ya que tiene la inconveniencia que no cumple con la ley de Beer a concentraciones muy altas. Si las lecturas de cada análisis pasa de 75mg/dl, la prueba debe repetirse utilizando suero diluido (17).

Dependiendo del espectrofotómetro utilizado, las pruebas que no dan suficiente color para una buena lectura, o si el color es muy alto, se deberán tener varios estándares (8).

4. Justificaciones:

En Guatemala no existen valores biológicos de referencia establecidos para la concentración de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea en sangre de una población sana.

Debido a la cantidad de estas determinaciones que se hacen diariamente, pues son pruebas de tamizaje para el diagnóstico inicial y su implicación en la determinación de las diferentes patologías como trastornos hiperglucémicos y los complejos problemas renales, es necesario establecer valores de referencia nuestros para comprender mejor la importancia de la variación en los resultados y así, determinar el estado de salud o enfermedad de la persona.

5. Objetivos:

5.1. Establecer los valores biológicos de referencia de las concentraciones de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea en suero, en una población sana obrera entre 20 y 30 años de edad del área metropolitana de la ciudad de Guatemala.

5.2. Comparar los valores biológicos de referencia reportados por la literatura con los obtenidos en el presente estudio.

5.3. Enfatizar la creación de valores biológicos de referencia nacionales para todas las pruebas de laboratorio que se realizan.

6. Hipótesis:

Los valores biológicos de referencia de las concentraciones séricas de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea en la población obrera del área metropolitana de la ciudad de Guatemala, comprendida entre 20 y 30 años de edad, son diferentes a los valores de referencia dados por la literatura.

7. Materiales y métodos:

7.1. Universo:

El universo de trabajo está comprendido por obreros sanos entre 20 y 30 años de edad, de ambos sexos que habiten en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala, tengan una masa corporal ideal, ayuno de 10 horas, que no tomen medicamentos, que consuman menos de 45 grs. de alcohol por día, fumen menos de 12 cigarrillos por día, no tengan enfermedad aparente, y no padezcan de tensión mental, y que eviten el ejercicio vigoroso durante tres días antes de la toma de muestra.

7.2. Muestra:

La muestra se constituyó por grupos de individuos obreros sanos entre 20 y 30 años de edad que habitan en el área metropolitana de la ciudad capital; los cuales trabajan en dos fábricas maquiladoras, tres tiendas de conveniencia y cuatro centros de servicios para automóviles y cumplen con los criterios de selección según la definición del estado de referencia (4).

7.3. Diseño de investigación:

7.3.1. Tamaño de la muestra:

El tamaño de la muestra tiene que ser mayor de 100 individuos según la Federación Internacional de Química Clínica para intervalos interpercentiles (6,8).

7.3.2. Forma de muestreo:

El muestreo se realizó por conveniencia ya que los valores biológicos de referencia están definidos sólo para obreros sanos entre 20 y 30 años de edad, los cuales voluntariamente decidieron participar en el estudio, viven dentro del área metropolitana de la ciudad capital y cumplieron con los criterios de selección para el presente estudio

Se utilizaron fichas individuales para cada persona que formó parte de la unidad muestral, en las que se anotaron datos personales, hábitos, estado físico, perfil socio-económico, fecha y hora de la toma de muestra (anexo 1); en base a esto se seleccionó los individuos que se les extrajo la sangre para participar en la producción de los valores biológicos de referencia.

7.3.3. Análisis de resultados:

Se tabularon cada uno de los aspectos que determinan a un individuo de referencia incluyéndose la información del examen físico, historia clínica, examen clínico y los resultados bioquímicos.

Para representar los datos obtenidos se utilizó medidas de tendencia central y dispersión de las concentraciones de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea. El análisis estadístico fue realizado utilizando el programa de computación Epi Info 6 de la Organización Mundial de la Salud.

Para la determinación de los valores de referencia se utilizó el intervalo de confianza entre el percentil 2.5 y el 97.5 , siendo el 95% de los valores obtenidos.

7.4. Recursos:

7.4.1. Recursos humanos:

Estudiante investigador: María Eugenia Sieckavizza Girón estudiante de Química Biológica , asesoría del Trabajo: Licenciada Alba Marina de García.

7.4.2. Recursos institucionales:

Esta tesis fue financiada por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.4.3. Recursos Físicos:

7.4.3.1 Reactivos: Glucosa oxidasa (GOD-POD), 4-aminofenasona 24mmol/L en Buffer TRIS 0.92mol/L, solución de fenol 55 mmol/L, solución estándar de glucosa a 1 g/L , solución de Acido pícrico saturada, NaOH al 10% p/v en agua destilada, solución estándar concentrada de creatinina 1.0 gr de creatinina pura en ácido clorhídrico 0.1 N, Ureasa amortiguada, Fenol 25 grs./400 mL de agua destilada, hipoclorito alcalino, solución estándar de urea 40 mg/L., Tungstato de sodio al 10%, Acido sulfúrico 2/3N.

7.4.3.2. Material y equipo:

7.4.3.2.1. Material:

Jeringas, algodón, alcohol, gradilla, tubos, marcadores, papeletas para datos de cada persona analizada, termómetro, pipetas automáticas y sus puntas .

7.4.3.2.2. Equipo:

Esfignomanómetro, balanza, centrifuga, espectrofotómetro, baño de María.

7.5. Procedimiento de análisis:

7.5.1. Muestreo:

Se trabajaron grupos de personas que laboran en fábricas maquiladoras, en centros de servicios para automóviles, en una cadena de tiendas de conveniencia, siendo ocho grupos de 25 personas cada uno en cada jornada de muestreo.

7.5.2. Toma de muestra:

Todas la personas que conformaron la muestra deberán estar en ayunas, haber esperado sentados tranquila y cómodamente por lo menos 10 minutos antes de la extracción de la sangre.

Para la toma de muestra de sangre se hizo la asepsia adecuada, se localizó la vena y sin hacer ningún torniquete se extrajo 10 mL. de sangre. Se dejó coagular las muestras y luego se separaron los sueros y se guardaron a 2 grados Celsius hasta el momento del análisis bioquímico, durante todo el procedimiento incluso el análisis bioquímico las muestras se identificaron perfectamente.

7.5.3. Determinación de glucosa por método de glucosa oxidasa:

Antes de iniciadas la determinación: conectar el baño de María para que mantenga una temperatura constante de 37° C. temperatura de trabajo.

Para cada serie de determinaciones basta un valor estándar y un blanco.

Pipetear en tubos de ensayo rotulados:

	BLANCO	ESTAN- DAR	SUERO PRUEBA
Solución reactiva	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
Agua destilada	0.01 ml	-----	-----
Estandar	-----	0.01 ml	-----
Suero prueba	-----	-----	0. 1 ml

Mezclar e incubar a 37° C, durante 10 minutos, al cabo de ese tiempo, leer contra el blanco a 510 nm de longitud en el espectofotómetro, las extinciones de la prueba (E . prueba) y del estándar (E st).

Cálculos:

La concentración de la glucosa (C) en el suero prueba se calcula según:

$$C = \frac{E. \text{ prueba}}{E. \text{ St.}} \times 100\text{mg/dl} = \text{Cmg/dl}$$

En donde 100 mg/dl es la concentración del estándar utilizado.

7.5.4. Determinación de nitrógeno de urea por el método de ureasa:

Pipetea en tubos de ensayos rotulados:

	BLANCO	ESTANDAR	MUESTRA
UREASA	0.5 mL.	0.5 mL.	0.5 mL.
AGUA DESTILADA	0.02 mL.	-----	-----
ESTANDAR	-----	0.02 mL.	-----
SUERO	-----	-----	0.02 mL.

INCUBAR A 37 GRADOS CELSIUS POR 15 MINUTOS

FENOL	1 mL	1 mL	1 mL
-------	------	------	------

MEZCLAR BIEN CADA TUBO.

HIPOCLORITO	1 mL.	1 mL.	1 mL.
-------------	-------	-------	-------

MEZCLAR BIEN E INCUBAR A 37 GRADOS POR 15 MINUTOS

AGUA DESTILADA	10 mL.	10 mL.	10 mL.
-------------------	--------	--------	--------

MEZCLAR Y LEER A 620 nm.

Cálculos:

La concentración de nitrógeno de urea en suero (C) se puede calcular según:

$$C = \frac{\frac{E \text{ prueba}}{E \text{ st.}} \times 40 \text{ mg/dl}}{2.14} = C \text{ mg/dl}$$

En donde 40 mg/dl es la concentración del estándar de la urea y 2.14 es el factor de conversión a nitrógeno de urea.

7.5.5. Determinación de creatinina por la reacción de Jaffé:

Filtrado libre de proteínas:

Pipetear en tubos de centrifuga, perfectamente identificados:

- 2 ml. del suero de prueba.

-1 ml. de tungstato de sodio al 10%, mezclar bien.

- 1 ml. de ácido sulfúrico 2/3 N, mezclar bien.

Dejar en reposo por 10 minutos. Centrifugar para separar el sobrenadante.

Preparación de la mezcla reactiva de picrato:

Treinta minutos antes de usarse: Se mezclan 10 ml de ácido pícrico saturado y 2 ml. de hidróxido de sodio al 10%. Esta mezcla tiene una duración efectiva de 5 horas.

Técnica: Pipetear en tubos de ensayo rotulados:

	BLANCO	ESTAN- DAR	SUERO PRUEBA
Mezcla reactiva (picrato alcalino)	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Sobrenadante desproteinizado	-----	-----	3.0 ml
Estandar de 1.0 mg/dl	-----	3.0 ml	-----
Agua destilada	3.0 ml	-----	-----

Mezclar e incubar a temperatura ambiente por 10 minutos contra el blanco a 520

nm. de longitud en espectrofotómetro, las extinciones de la muestra (E prueba) y del estandar (E st.) frente al blanco.

Cálculos:

La concentración (C) de creatinina en el suero prueba se calcula según

$$C = \frac{E. \text{ prueba}}{E. \text{ st.}} \times 1 \text{ mg/dl} = C \text{ mg/dl}$$

En donde 1 mg/dl es la concentración del estándar utilizado.

7.5.6. Estandarización de metodologías:

Para la determinación de creatinina y nitrógeno de urea se prepararan reactivos en el laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Química Biológica. Estos reactivos se estandarizaron utilizando soluciones patrones de concentraciones conocidas para determinar su precisión y exactitud durante el muestreo.

Para la determinación de glucosa se utilizó un método comercial, y se estandarizó en el laboratorio donde se realizaron las pruebas.

7.5.1. Tabla de calibración del reactivo de nitrógeno de urea:

No. tubo	Concentración stock mg/dl (X)	Volumen del stock / ml	Volumen de agua destilada	Absorbancia (X)
1	3	0.01	0.99	0.0506
2	6	0.02	0.98	0.1051
3	9	0.03	0.97	0.1772
4	12	0.04	0.96	0.2076
5	15	0.05	0.95	0.284
6	18	0.06	0.94	0.2924
7	21	0.07	0.93	0.3565
8	24	0.08	0.92	0.4498
9	27	0.09	0.91	0.4749
10	30	0.10	0.9	0.4949

$$C = \frac{\sum Y - a \sum X}{n} \quad C = 0.2389$$

$$a = \frac{\sum X \sum Y - n \sum XY}{(\sum X)^2 - n \sum X^2} = 3.053 \times 10^{-3}$$

Coeficiente de correlación:

$$(R) = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2] [n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}} = 0.98$$

La concentración del stock es de 300 mg/dl

6.5.6.2. Tabla de calibración del reactivo de creatinina:

No. tubo	Concentración stock mg/dl (X)	Volumen del stock / ml	Volumen de agua destilada	Absorbancia (Y)
1	0.2	0.01	0.99	0.00843
2	0.4	0.02	0.98	0.00287
3	0.6	0.03	0.97	0.0119
4	0.8	0.04	0.96	0.0146
5	1.0	0.05	0.95	0.0114
6	1.2	0.06	0.94	0.0209
7	1.4	0.07	0.93	0.0232
*8	1.6	0.08	0.92	0.0360
9	1.8	0.09	0.91	0.0272
10	2.0	0.10	0.90	0.0311

*ANULADO PARA EFECTUAR LOS CALCULOS.

$$a = \frac{\sum X \sum Y - n \sum XY}{(\sum X)^2 - n \sum X^2} = 0.014$$

$$c = \frac{\sum Y - a \sum X}{n} = 2.22 \times 10^{-3}$$

$$R = \frac{n\sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n\sum X^2 - (\sum X)^2][n\sum Y^2 - (\sum Y)^2]}} = 0.94$$

6.6. Control de calidad:

Se utilizaron calibradores comerciales para estandarizar los métodos que se trabajarán para creatinina nitrógeno de urea.

Durante la determinación de los valores de referencia se utilizaron controles no patológicos comerciales cada 20 determinaciones.

8. Resultados:

Se trabajaron 195 individuos de referencia de los cuales 102 son hombres y 93 mujeres (Gráfica No.1) los cuales trabajan en dos maquiladoras, cuatro centros de servicios para automóviles y tres tiendas de conveniencia; teniendo una edad media de 22 años con un rango de 20 a 24 años para hombres y 26 años con un rango de 23 a 29 años para mujeres, con una talla media de 1.65 mts. con un rango 1.77 a 1.53 mts. (Gráfica No.2) para hombres y 1.60 mts. para un rango de 1.52 a 1.69 mts.(Gráfica No. 3) para mujeres. Los hombres que participaron en el estudio tenían un peso medio de 142 libras con un rango de 108 a 176 lbs. (Gráfica No.4), con una presión media de 120/75, para dar un rango de 110/55 a 134/95. En las mujeres el peso medio era de 132 libras con un rango de 101 a 160 lbs. (Gráfica No. 5) y tenían un presión media de 120/65 con un rango de 111/52 a 131/80.

Según la información obtenida de la ficha (Anexo No.1) el 55.6% de los hombres fuman, el 56.7% de este grupo ingiere bebidas alcohólicas. En la práctica de ejercicio el 90.1% si lo hace regularmente. En el grupo de mujeres el 1.7% fuma, el 5.6% bebe, y el 4.0% practica ejercicio frecuentemente, todos los individuos que beben, fuman y practican ejercicio cumplen con los niveles permitidos (criterios de inclusión). Las mujeres que participaron en el estudio no tomaban anticonceptivos orales y tampoco medicamentos.

Al examen clínico, los individuos no presentaban edema, obesidad, ictericia o anemia. La temperatura media era de 36.7 centígrados.

Los sueros analizados no presentaba lipemia, ictericia o hemólisis.

La concentración media **glucosa** encontrada es de 83.50 mg/dl con una desviación estándar de 12.75 para dar un **intervalo de referencia de 58-109 mg/dl**

Para el **nitrógeno de urea** se observó una concentración media de 14.45 mg/dl, una desviación estándar de 3.28 para dar un **intervalo de referencia de 7.9 a 21.0 mg/dl**.

La concentración media de **creatinina encontrada en hombres** es de 0.93 mg/dl, con una desviación estándar de 0.24 para dar un **intervalo de referencia de 0.5 a 1.4 mg/dl**.

Los valores de **creatinina** encontrados en mujeres determinaron una concentración media de 0.90 mg/dl con una desviación estándar de 0.25 para un **intervalo de referencia de 0.40 a 1.3 mg/dl** (Tabla 1).

También se analizaron 116 individuos provenientes de los mismos lugares de la muestra anterior, con un rango de edad entre 31 a 50 años, se encontró que el intervalo de valores de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea está dentro del mismo rango de valores de referencia de las personas de 20 a 30 años. Al hacer el análisis estadístico del grupo completo, 311 personas, se demostró que los intervalos y las medias de los valores de las concentraciones de los metabolitos son los mismos (Tabla No.2)

9. Discusión de resultados:

Cuando se compara el intervalo de referencia para la glucosa, referido por la literatura, de 70-110 mg/dl (90mg/dl valor medio aceptado en la población) con los intervalos muestrales obtenidos de 58-109 mg/dl (83.5 mg/dl valor medio); a través de una prueba de hipótesis, se demuestra que la media del valor para la población guatemalteca es significativamente menor que lo reportado en la literatura.

Esta prueba de hipótesis permite obtener una fracción relativa conocida como nivel de significancia (p) es menor de 0.01. Este valor se interpreta de la siguiente forma:

1. Es la probabilidad de error de afirmar que la media de la población guatemalteca es mas baja y en verdad no lo es. 2. Se refiere al error aleatorio, es decir error en el muestreo. En ambos casos, como quisiera interpretarse, el valor es confiable.

Con el nitrógeno de urea el intervalo de referencia medio de la población es de 3.14-23.4 mg/dl (13.4 mg/dl valor medio) y el intervalo de referencia del presente estudio de 7.9-21.0 mg/dl (14.75 mg/dl valor medio); el nivel de significancia (p) es menor de 0.01, en este caso la concentración media de nitrógeno de urea en la muestra es mayor que el reportado en la literatura.

Para la concentración de creatinina en hombres se obtuvo un intervalo de referencia de 0.5-1.4 mg/dl (0.93 mg/dl valor medio) y el de la literatura es de 0.5-1.1 mg/dl, dando un nivel de significancia menor de 0.01 al hacer la prueba de hipótesis. En mujeres el rango es de 0.04-1.4 mg/dl (0.90 g/dl concentración media) y el reportado por la literatura es de 0.5-0.9 mg/ dl, teniendo un valor p menor de 0.01.

Lo anteriormente expuesto demuestra que los valores de referencia obtenidos en el presente estudio presentan una diferencia significativa con respecto a los valores de referencia de la literatura.

Los resultados obtenidos de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea tanto de hombres como de mujeres no se ven afectados por la variable edad según se comprobó en el análisis de tendencias, r^2 como medida estadística. El r^2 se interpreta como el porcentaje de relación existente entre (Gráficas No. 6, 7, 8 y 9): glucosa/edad, nitrógeno de urea/edad y creatinina/edad en hombres y mujeres. Una relación biológica aceptable el r^2 debe ser mayor del 60%.

Los valores r^2 en cada uno de los casos fueron: glucosa/edad 12%, nitrógeno de urea/edad 5% y creatinina/edad 7%.

También se determinó que las concentraciones de glucosa y de nitrógeno de urea no difieren entre el grupo de los hombres y de las mujeres, no hay diferencias significativas entre las concentraciones medias de cada metabolito entre ambos sexos (Gráficas No. 10, 11, 12 y 13).

Es importante mencionar que los límites de referencia obtenidos en el presente estudio sólo pueden ser empleados para la comparación particular de sujetos ubicados dentro de los factores de inclusión del grupo de estudio, tomando en cuenta los fundamentos de cuantificación empleados para cada metabolito y la ejecución analítica.

10. Conclusiones:

10.1. Existe diferencia significativa entre los intervalos de referencia obtenidos en este estudio con respecto a los intervalos de referencia reportados por la literatura.

10.2. No existe relación biológica entre la edad y las concentraciones sanguíneas de glucosa, creatinina y nitrógeno de urea .

10.3. No existe relación biológica entre el sexo y las concentraciones sanguíneas de glucosa y nitrógeno de urea.

10.4. Es importante hacer notar que los valores de referencia determinados en el presente estudio únicamente se aplica para comparar valores encontrados en adultos.

11. Recomendaciones:

11.1. Se recomienda la realización de estudios para establecer los niveles de referencia de glucosa, nitrógeno de urea y creatinina en recién nacidos, niños, y población de la tercera edad.

11.2. Es necesario la realización de más estudios encaminados a establecer los límites de referencia de los metabolitos propios de la población guatemalteca.

11.3. La producción de valores de referencia significa un gasto económico considerable y con lleva una fuerte carga de trabajo, debido a ello se podrían proponerse diferentes formas de muestreo por estudios retrospectivos que puedan aligerar los dos aspectos antes mencionados y al mismo tiempo producir valores de referencia tan confiables como los producidos por muestreos directos.

12. Referencias:

1. Grasbeck, R., et al. "Provisional recommendation on the theory of Reference Values. Committe of Standards of the International Federation of Clinical Chemistry. Expert panel on The Theory of Reference Values ". Clin. Chem. Act. 1,978; 87:461-465.
2. Solberg, H.E., eds. Part I: El concepto de los Valores de Referencia. Federación Internacional de Química Clínica. Comité Científico. Sección Clínica. Acta Bioq. Clin. Lat. 1,988; XXII. (2):297-303.
3. Petit-Clerc C., Solberg ,H.E., eds. Part II: Selección de individuos para la producción de valores de referencia. Federación Internacional de Química Clínica. Comité Científico. Sección Clínica. Acta Bioq. Clin. Lat. 1,988; XXII. (3):443-451
4. Solberg, H.E., Petit-Clerc, C., eds. Parte III: Preparación de individuos y obtención de valores de especímenes para la producción de valores de referencia. Federación Internacional de Química Clínica. Comité Científico. Sección Clínica. Acta Bioq. Clin. Lat. 1988; XXII.(4):603-611.
5. IFCC. Expert Panel on Theory of Reference values and International Committee for Standaridization in Haematology Standing Committee on Reference Values. Approved recommendation (1987) on teh Theory of reference values. Part 5: Statistical treatement of collected reference values. Determination of reference limits. Cli. Chem. Acta. I987; 170:513-532.

- of reference value Part 6: Presentation of observed related to reference value. Clin. Chem. Acta. 1987; 170: 533-542.
7. Dybkaer, R. et. al. Continuous Quality Improvement in clinical laboratories Guide for Latinamerica. COLABIOCLI. 1,994. 296p.
 8. Tietz NW. Fundamental of Clinical Chemistry. 2a. ed. United States of America: Press of WB Saunders Co. 1995. 1263p.
 9. Reed, H.A., Henry, R.J. and Mason, W.B. Influence of statistical method used in the resulting estimate of normal range. Clin Chem. 1971; 17: 275- 284.
 10. Kaplan, L., Pesce, A.J., Química Clínica. Técnicas de laboratorio. Fisiopatología. Métodos de laboratorio. 5a. ed. Argentina. Médica Panamericana. 1,992. XIV-1739.
 11. Baer, D., Belsey, R.E. Limitations of Quality Control in Physicians Office and other decentralized testing situations: The Challenge to develop New Methods of test validations. Clin. Chem. 1993; 38/1: 9-12
 12. Tietz, N.W., Rodgerson, D.O, Laessing, R.H., Are Clinical laboratory proficiency test as good as they can Be?. Clin. Chem. 1,992; 38/4: 473-475.
 13. Barahona, M. E., Morales, N., Urizar, M., Valdés de García, A. M. Determinación de valores de referencia para glucosa, ácido úrico y nitrógeno de urea en población urbana y rural en el Municipio de Guatemala. 1,989. Informe de Investigación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
 14. Valdés de García, A.M. Establecimiento de valores de referencia para proteínas

14. Valdés de García, A.M. Establecimiento de valores de referencia para proteínas totales, albúmina, glucosa, creatinina, ácido úrico y nitrógeno de urea en la población urbana y rural del Municipio de Guatemala. 1,990. Dirección General de Investigación. Universidad de San Carlos.
15. Valdés de García, A.M., et al Estudio piloto para la determinación de valores de referencia para niveles séricos de lípidos totales, triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL y LDL en niños sanos de ambos sexo de 6 a 12 años de edad en escuelas de la Ciudad Capital de Guatemala. 1,991. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
16. Thornton Morrison R. Neilson Boyd R. Química Orgánica. México: Fondo Educativo Interamericano. 1985; V+ 1290p (1097-1126 p.).
17. Anderson, S., Cockayne, S., Química Clínica. México. Interamericana-McGraw-Hill. 1,995; 141-165, 339-377 p.
18. Llanos, G., Ligman, I. La diabetes en las Américas. Boletín Oficina Sanitaria Panamericana. Washington D.C., USA. 1,995; 118(1): 1-17.
19. Lynch, M.J., et al. Métodos de laboratorio. 2a. ed. México. Interamericana. 1,977. 1522 p.
20. Toro, G., Ackermann, P.G., Practical Clinical Chemistry. Boston: Little Brown and Co. 1,975. 745p.
21. Sheshandri, N., Appleton, H.D., Creatinine: A review. Clin. Chem. 1,980; 26/8: 1119-1126.

22. Hagemann, P., Kann, S.N. Significance of low concentrations of creatinine in serum from Hospital patients. *Clin. Chem.* 1988; 34(11): 2311-2312.
23. Pardue, H.I., et al. Kinetic Study of Jaffe reaction for Creatinine in serum: Alkalinity controlled with NaOH. *Clin. Chem.* 1,987; 33:2,278-285.
24. Webwe, J., Van Zanten, A., Interference in Current Methods for measurements of creatinine. *Clin. Chem.* 1,991; 37/5: 695-700.
25. Kroll, M. et al. Mechanism of Interference with the Jaffe reaction for creatinine. *Clin. Chem.* 1,987; 33/7: 1129-1132.
26. Guy, J.M., Legg, E.F. Bilirubin interference in determinations of creatinine with the Hitachi 737 analyzer (tech Brief). *Clin. Chem.* 1,990; 36: 1851-2.
27. Osselaer, J.C., Lievens, M.M. More on interference of bilirubin in creatinine determinations by Hitachi analyzer. *Clin. Chem.* 1,991; 37/8: 146-161.
28. Franzini, C., Morelli, A.M., Cattozzo, G., Use of synthetics soluble bilirubin derivative to assess interference in creatinine measurements. *Clin. Chem.* 1,991; 37/2: 236-238.
29. Bowers, M., Wong, E.F. Kinetics serum creatinine Assays II. A critical evaluations and review. *Clin. Chem.* 1,980; 26: 550-561.
30. Tanganelli, E., Prencipe, L., Bassi, D., et al. Enzymatic assay of creatinine in serum and urine with creatinine iminotoluasa and glutamate dehydrogenasa. *Clin. Chem.* 1,982; 28: 1461-1464.

31. Fraser, D. R., Rodicek, E. Short-term regulation of urea synthesis. *Nut. Rev.* 1981; 39: 219-221.
32. Shinke RT. Adaptative characteristics of urea enzymes in rat. *J. Biol. Chem.* 1962;. 237: 459-469.
33. MacLean, P., Gurmey, MW. Effect of adrenalectomy and growth hormone on enzymes concerned with urea synthesis in rat liver. *Biochem J.* 1983; 87: 96-104.
34. Visek W. Ammonio metabolism, urea cycle capacity and their biochemical assasment. *Nut. Rev.* 1979; 37:2-8.
35. Standbury JB., Wynogarden L., Fredickson DS. *The metabolic basis of inherited disease.* New York. McGraw Hill. 1980. 825p.
36. Boehringer-Mannheim. *Diagnóstico de Nefropatías.* Departamento Científico. Mannheim Alemania. 1991. 25p.
37. Winner Lab. Group. *Vademecum.* Winner Rosario Argentina. 1996. 171-174.
38. Boehringer-Mannheim. *Metódicas de trabajo para análisis manuales.* Alemania. 1990.
39. UNICEF. *Realidad Socio Económica de Guatemala: Con énfasis en la situación del niño y la mujer.* Guatemala. Piedra Santa. 1994. 205p.
40. Rivera-Mellado,J., Mendieta - Pérez ,J., Bramblia-Colombres, E. Obtención de los límites de referencia para glucosa sérica empleando dos estrategias de selección de los individuos de referencia. *BIOQUIMIA .* 1996. 21.4-85.

13. ANEXOS:

Anexo No. 1

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.
 FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.
 ESCUELA DE QUIMICA BIOLOGICA.
 DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA.

**DETERMINACION DE VALORES BIOLOGICOS DE REFERENCIA DE GLUCOSA,
 CREATININA Y NITROGENO DE UREA EN UNA POBLACION DE OBREROS ENTRE
 20 Y 30 AÑOS DE EDAD DEL AREA METROPOLITANA DE LA CIUDAD DE
 GUATEMALA.**

FICHA DE INFORMACION DE SUJETOS DE REFERENCIA:
 IDENTIFICACION:

1. Nombre: _____
 2. Edad: _____ 3. Sexo: _____
 4. Dirección domiciliar: _____
 5. Dirección laboral: _____

EXAMEN FISICO:

- | | | | |
|----------|-------------------------|-----------|--------------------------|
| 6. Peso: | 6.1. 80-89 Lb. _____ | 7. Talla: | 7.1. 150 - 154 cm. _____ |
| | 6.2. 90-99 Lb. _____ | | 7.2. 155 - 159 cm. _____ |
| | 6.3. 100-109 Lb. _____ | | 7.3. 160 - 164 cm. _____ |
| | 6.4. 110-119 Lb. _____ | | 7.4. 165 - 169 cm. _____ |
| | 6.5. 120-129 Lb. _____ | | 7.5. 170 - 174 cm. _____ |
| | 6.6. 130-139 Lb. _____ | | 7.6. 175 - 179 cm. _____ |
| | 6.7. 140-149 Lb. _____ | | 7.7. 180 ó más. _____ |
| | 6.8. 150-159 Lb. _____ | | |
| | 6.9. 160-169 Lb. _____ | | |
| | 6.10. 170-179 Lb. _____ | | |
| | 6.11. 180 ó más _____ | | |

8. Presión arterial: Sistólica _____ Diastólica _____

9. Temperatura oral: _____

10. Historia clínica:(PREGUNTAS DIRIGIDAS A LAS PERSONAS PARTICIPANTES).

- | | | |
|-------------------------------|----|----|
| 10.1. Diabético: | Si | No |
| 10.2. Embarazo: | Si | No |
| 10.3. Diarrea: | Si | No |
| 10.4. Contraceptivos: | Si | No |
| 10.5. Gota (Ac. úrico): | Si | No |
| 10.6. Quemaduras importantes: | Si | No |
| 10.7. Problemas renales: | Si | No |

10.8. Medicamentos que toma frecuentemente:

10.9. Fuma : Si No Con frecuencia?

10.10. Bebe: Si No Con frecuencia?

10.11. Realiza ejercicio frecuentemente: Si No

11. Examen clínico : (Observaciones realizadas por la estudiante).

11.1. Edema: Si No.

11.2. Obesidad: Si No.

11.3. Ictérica: Si No.

11.4. Anemia: Si No

12. Suero (Observaciones pertinentes con respecto a la muestra obtenida)

12.1. Lipémico: Si No

12.2. Ictérico: Si No

12.3. Hemolizado: Si No

13. Perfil socio-económico: _____

14. Resultados:

14.1. Glucosa: _____ mg/dl

14.2. Creatinina: _____ mg/dl

14.3. N. de urea: _____ mg/dl

Tabla No.1
Valores biológicos de referencia

Metabolito	Método químico	Valores de referencia de la literatura	Valores de referencia encontrados en el estudio
Glucosa	Colorimétrico glucosa-oxidasa, Trinder	70-110 mg/dl	58-109 mg/dl
Nitrógeno de urea	Colorimétrico, Ureasa, Pto. final	3.4-23.4 mg/dl	7.9- 21 mg/dl
Creatinina en hombres	Colorimétrico, Jaffé con desproteinización, pto.final	0.5-1.1 mg/dl	0.5-1.4 mg/dl
Creatinina en mujeres	Colorimétrico, Jaffé con desproteinización, pto. final	0.5-0.9 mg/dl	0.4-1.3 mg/dl

Los límites de referencia obtenidos en el presente estudio fueron seleccionados de la población económicamente activa del área metropolitana de Guatemala. En el período comprendido entre agosto de 1,996 a enero de 1,997.

Tabla No. 2

Intervalos de referencia

Comparación entre los dos grupos muestrales

Metabolito	Método químico	Valores de referencia Individuos de 20 a 30 años	Valores de referencia individuos de 31 a 50 años
Glucosa	Colorimétrico, glucosa oxidasa, Trinder	58-109 mg/dl	55-106mg/dl
Nitrógeno de urea	Colorimétrico,Ureasa, pto. final.	7.9-21.0 mg/dl	4.2-24.4 mg/dl
Creatinina en hombres	Colorimétrico,Jaffé con desproteinización pto. final	0.5-1.4 mg/dl	0.5-1.1 mg/dl
Creatinina en mujeres	Colorimétrico, Jaffé con desproteinización pto.final	0.4-1.3 mg/dl	0.3-0.9 mg/dl

Los límites obtenidos en el presente estudio fueron seleccionados de la población económicamente activa del área metropolitana de Guatemala; en el período comprendido entre agosto de 1,996 a enero de 1,997.

Tabla No. 3

Intervalos de referencia

Comparación entre hombres y mujeres

Metabolito	Método químico	Hombres	Mujeres
Glucosa	Colorimétrico, glucosa oxidasa, Trinder	55 - 106 mg/dl	50-102 mg/dl
Nitrógeno de urea	Colorimétrico,Ureasa, pto. final.	5.20 - 23.3 mg/dl	4.44 - 24.4 mg/dl

Los límites obtenidos en el presente estudio fueron seleccionados de la población económicamente activa del área metropolitana de Guatemala; en el período comprendido entre agosto de 1,996 a enero de 1,997.

INDIVIDUOS DE REFERENCIA DE LA MUESTRA,
POR SEXO. GRAFICA No.1

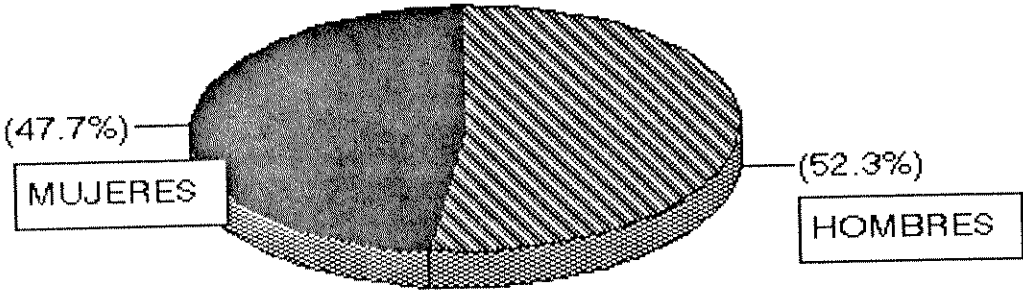
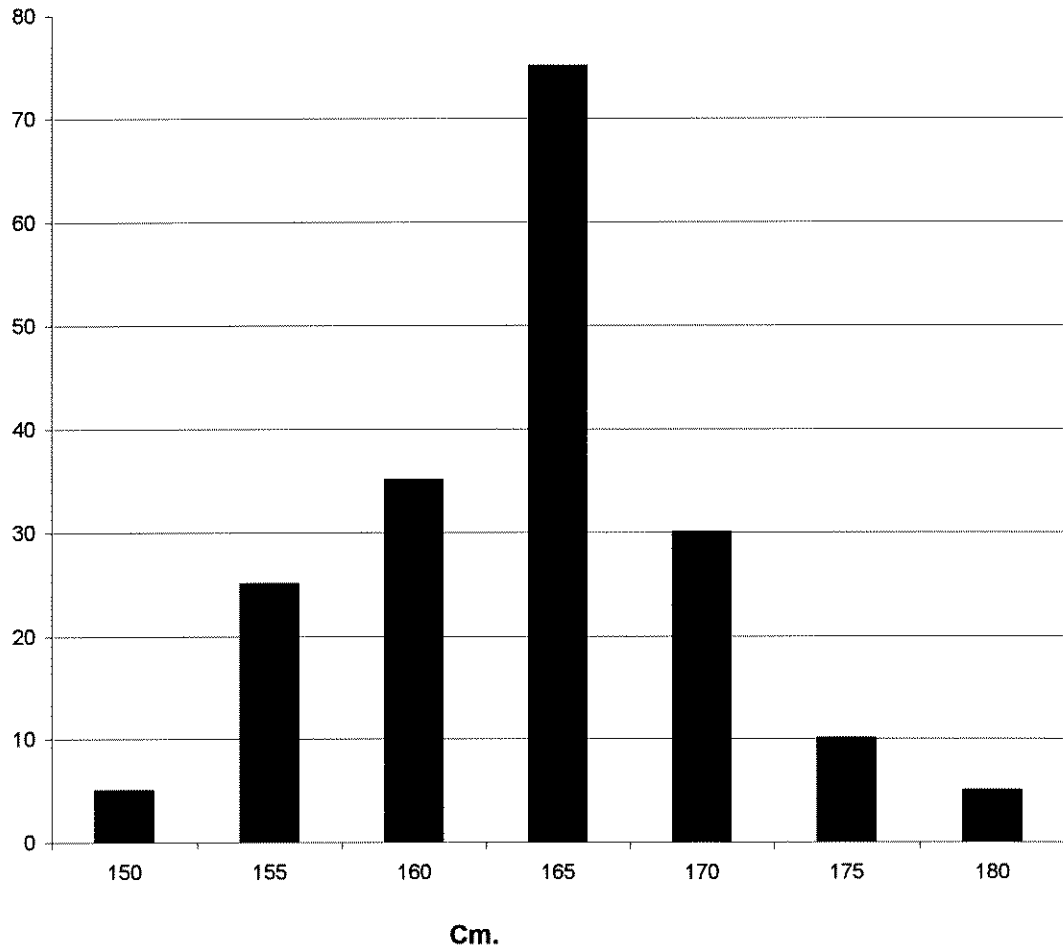


GRAFICO No. 2

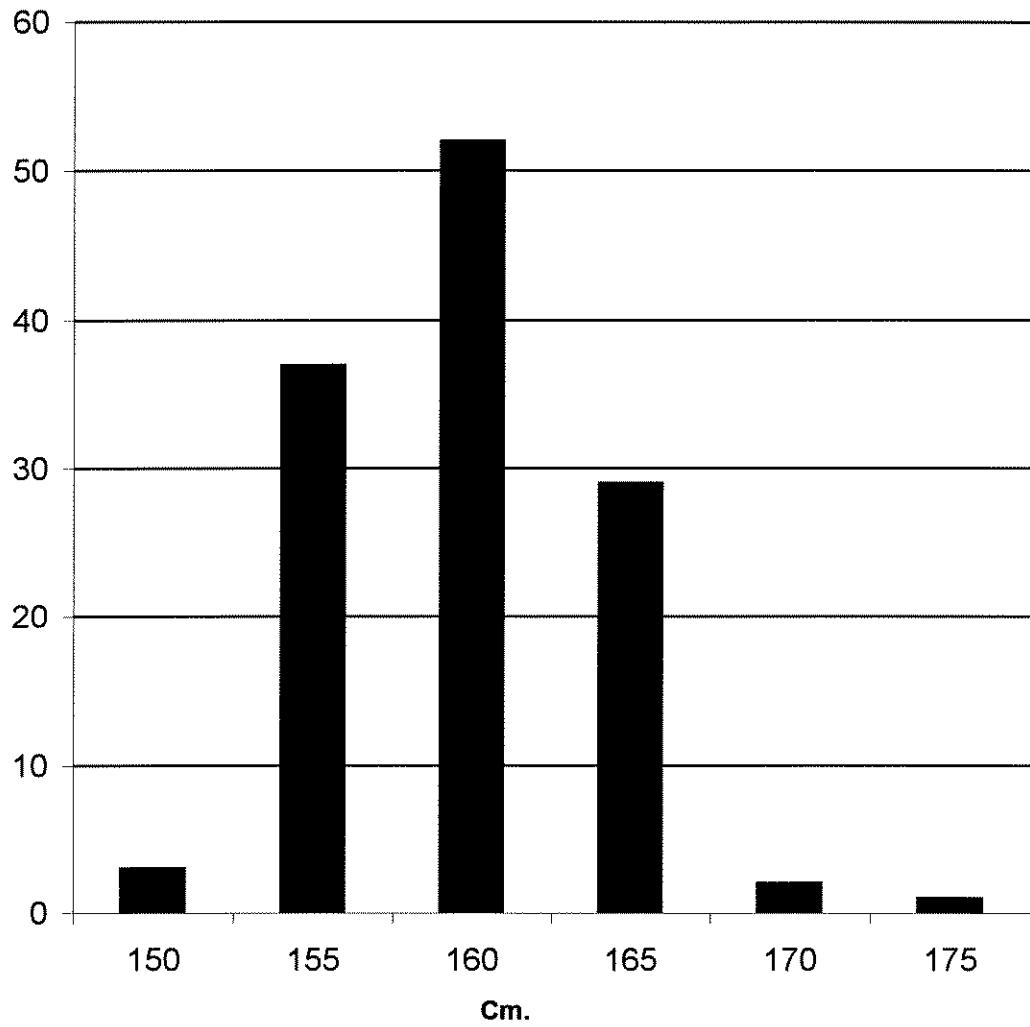
TALLA EN HOMBRES OBREROS



DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE TALLA.

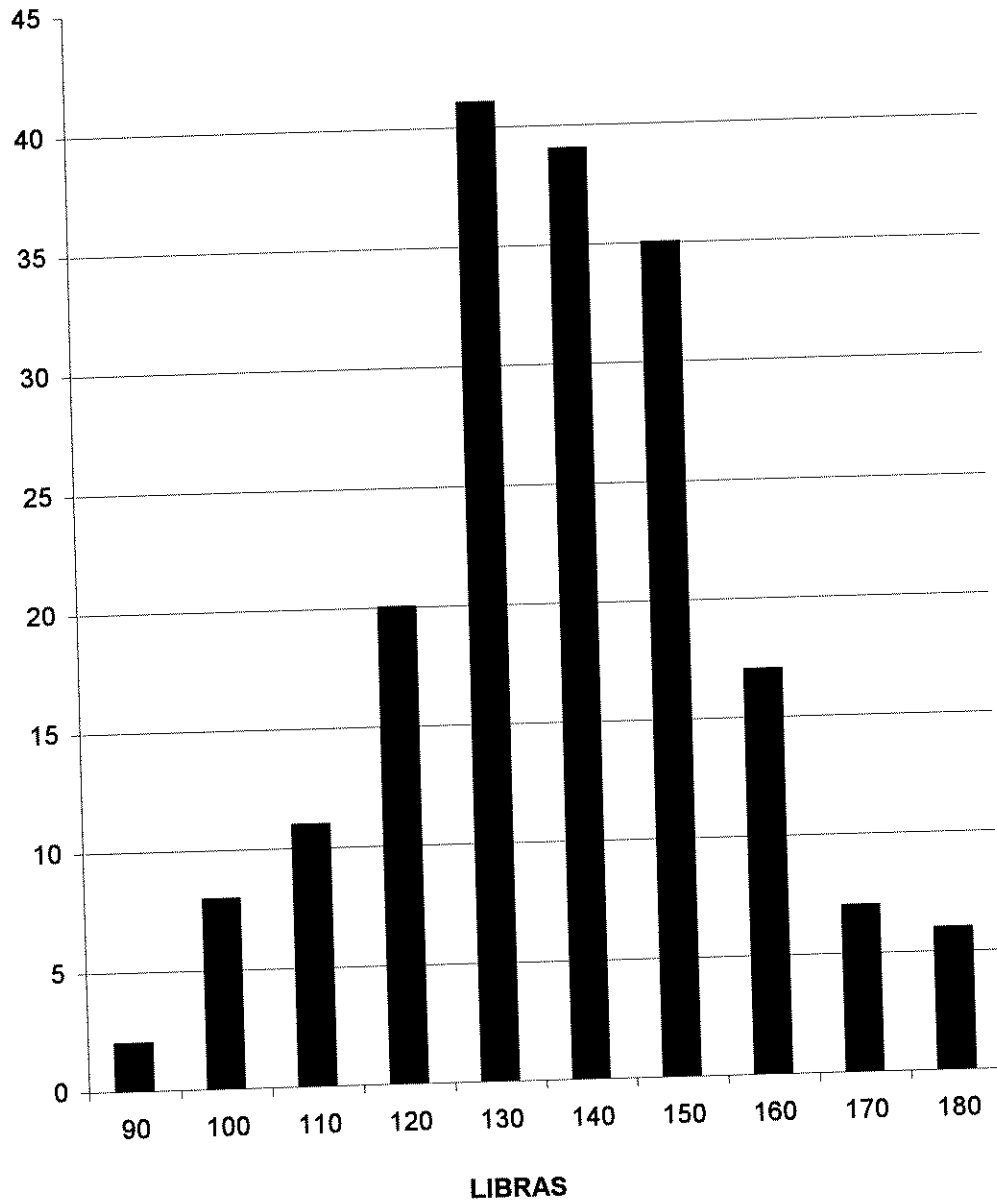
GRAFICA No. 3

TALLA DE MUJERES OBREREAS



DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE TALLA.

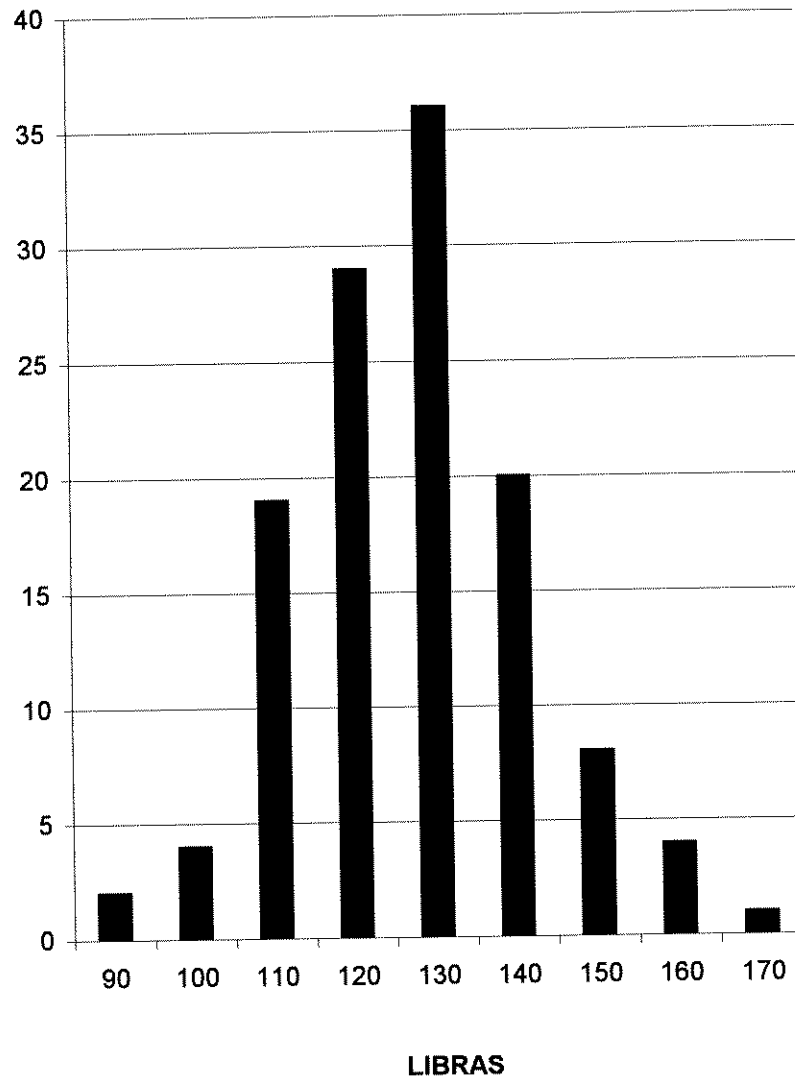
GRAFICA No. 4
PESO EN HOMBRES



DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DEL PESO DE LOS INDIVIDUOS DE REFERENCIA.

GRAFICA No. 5

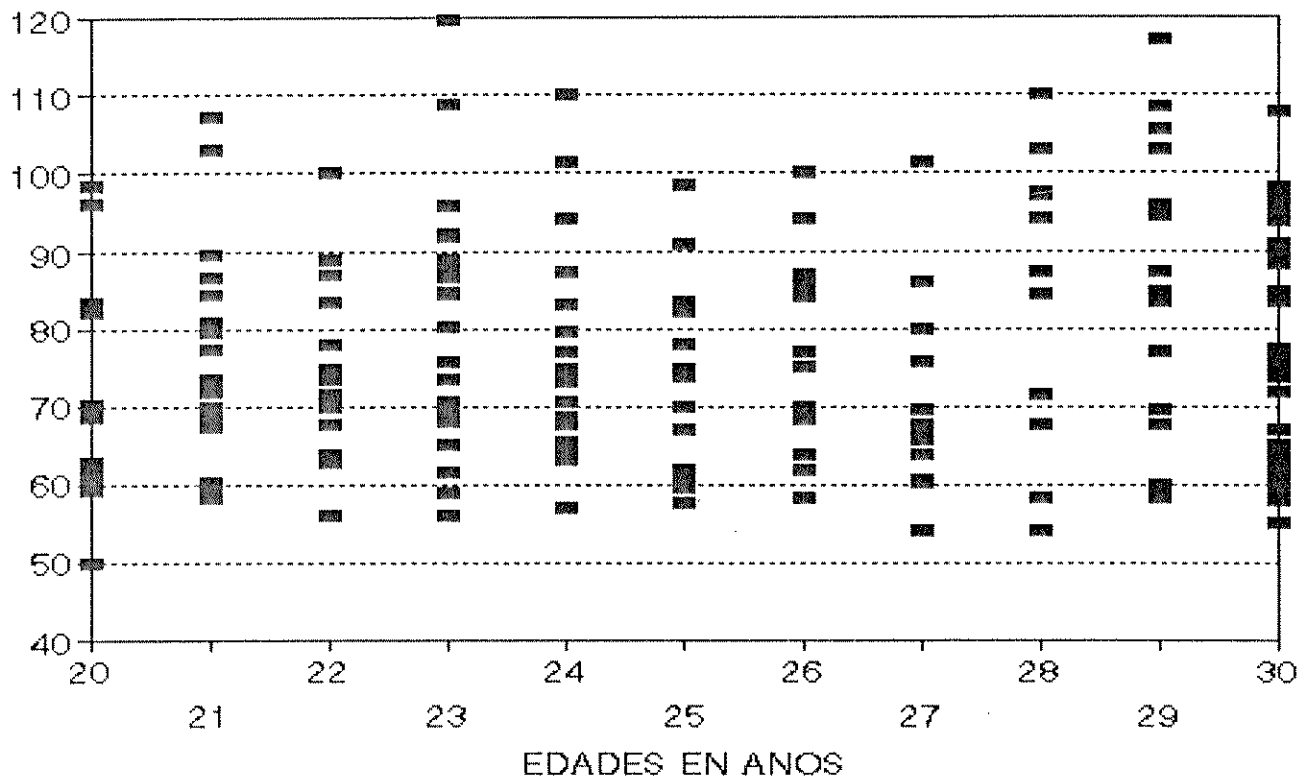
PESO EN MUJERES OBRERAS



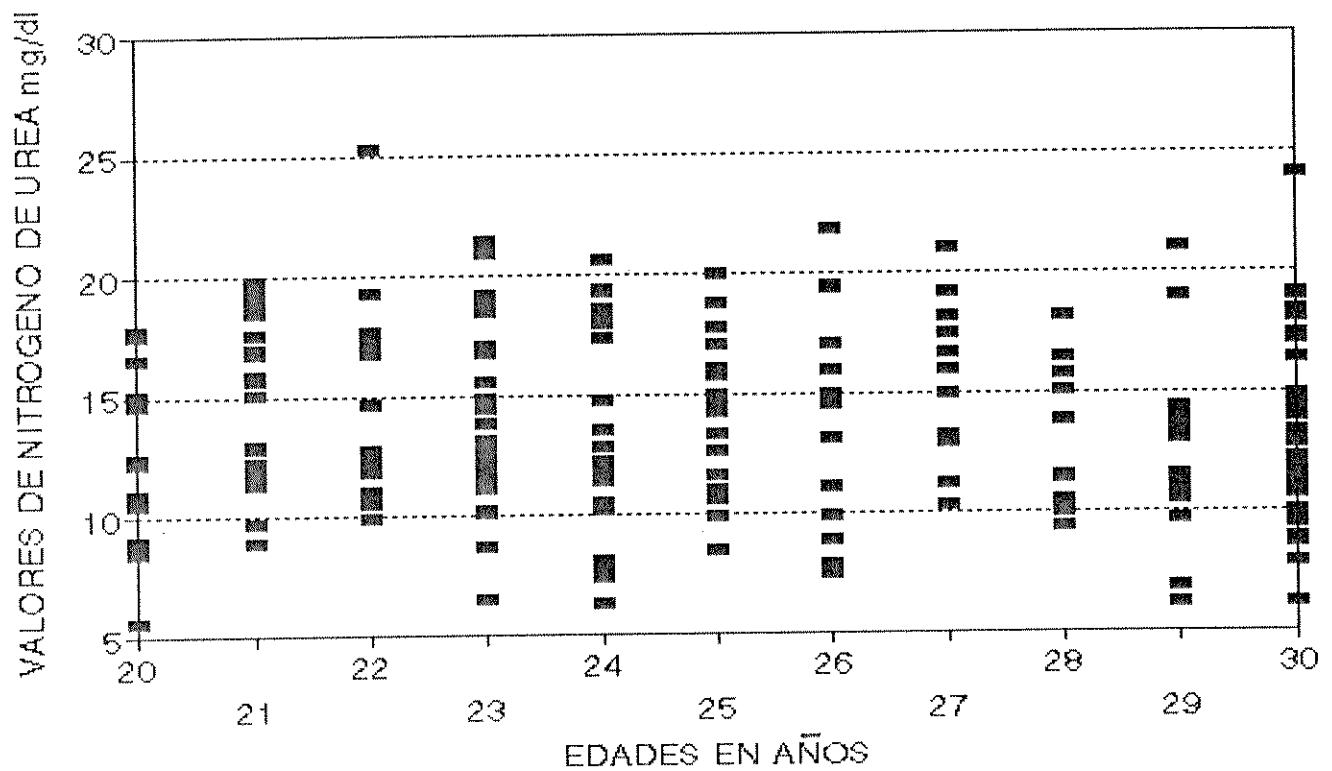
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS DEL PESO EN MUJERES DE REFERENCIA.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

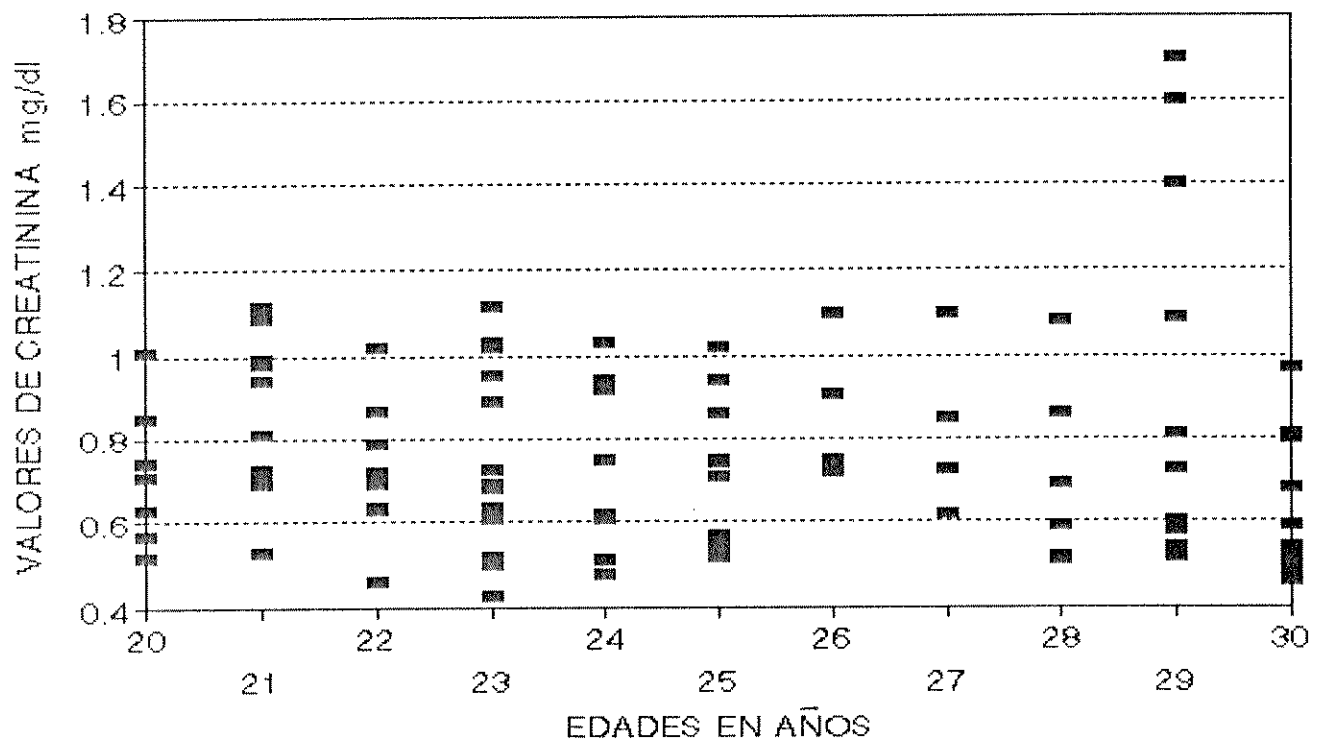
RELACION VALORES DE GLUCOSA Y EDAD EN LA MUESTRA GRAFICA No.6



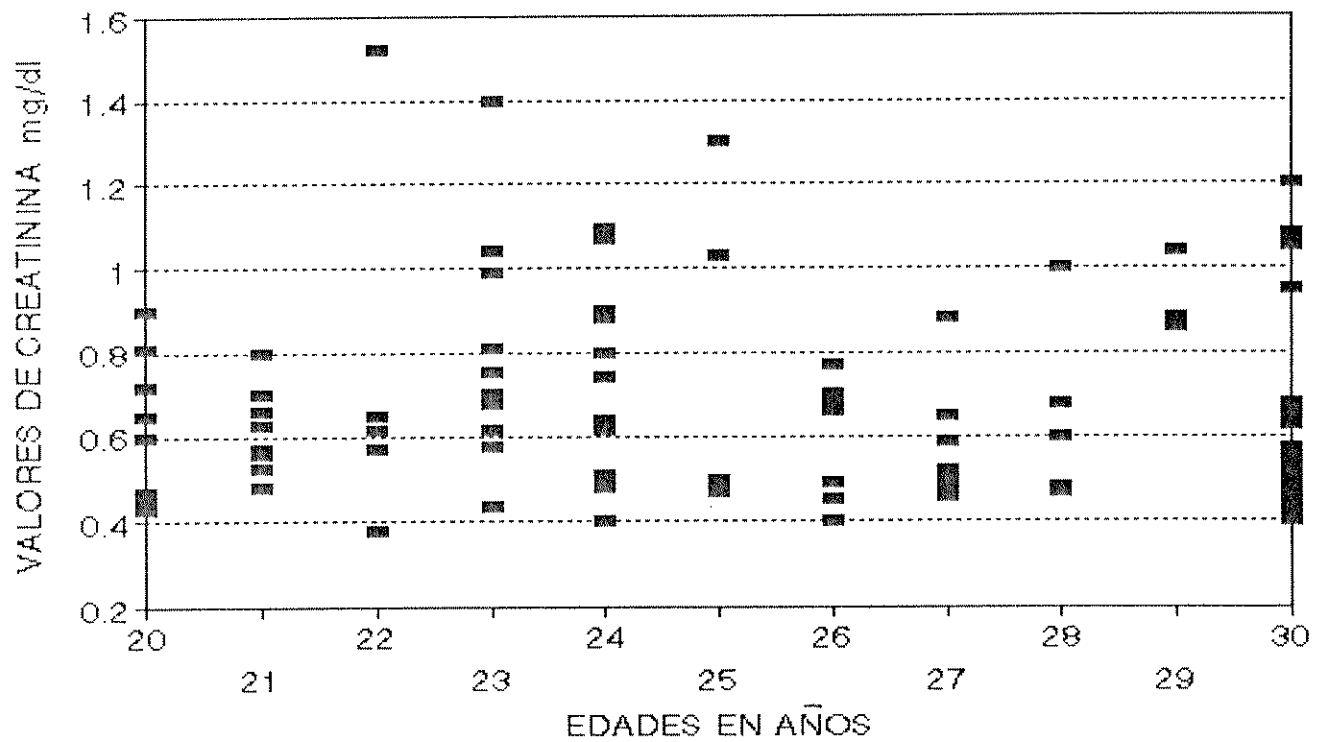
RELACION VALORES DE NITROGENO DE UREA Y EDAD EN LA MUESTRA GRAFICA No.7



RELACION VALORES DE CREATININA Y EDAD EN HOMBRES GRAFICA No.8

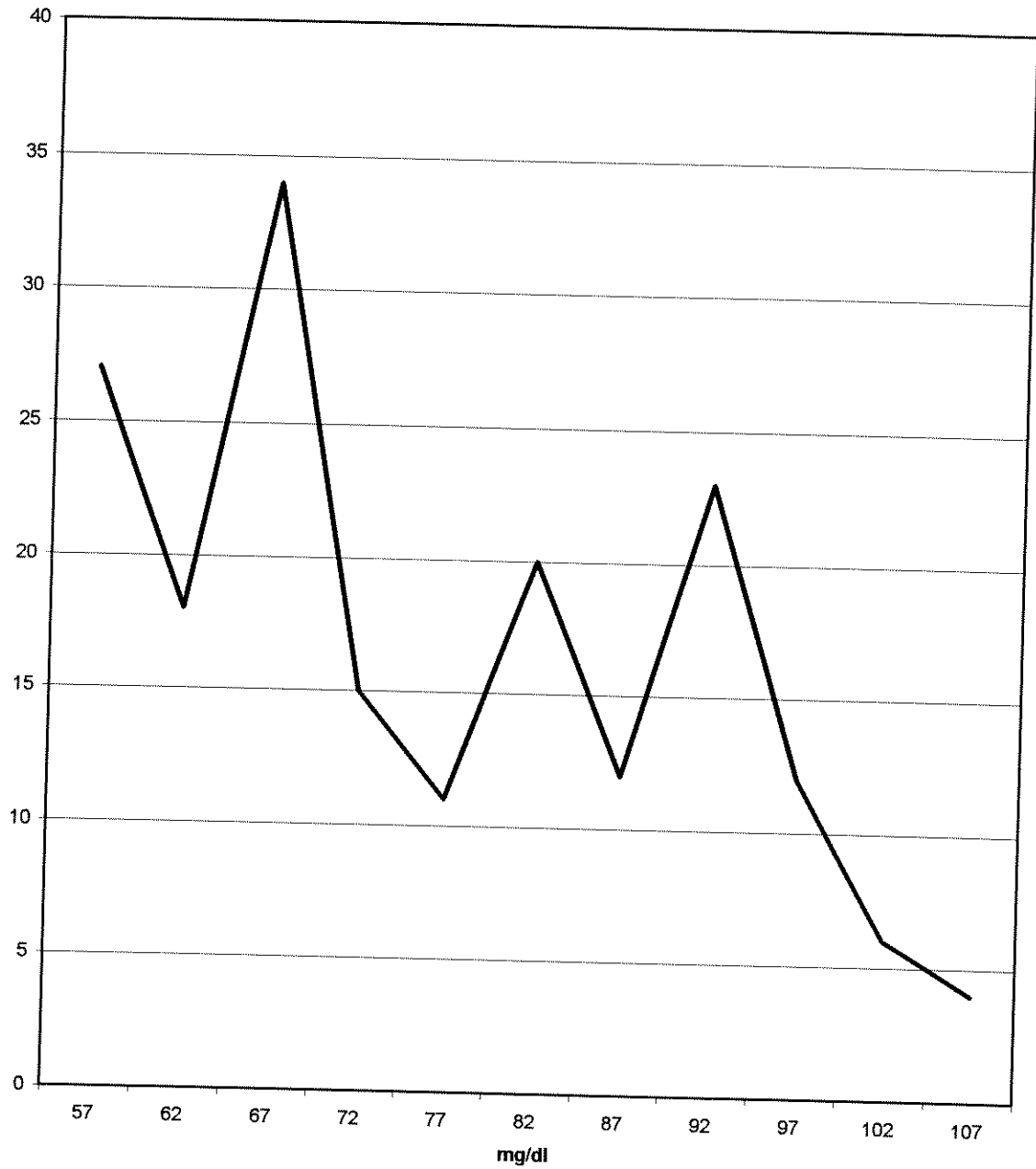


RELACION VALORES DE CREATININA Y EDAD EN MUJERES GRAFICA No.9



GRAFICA No. 10

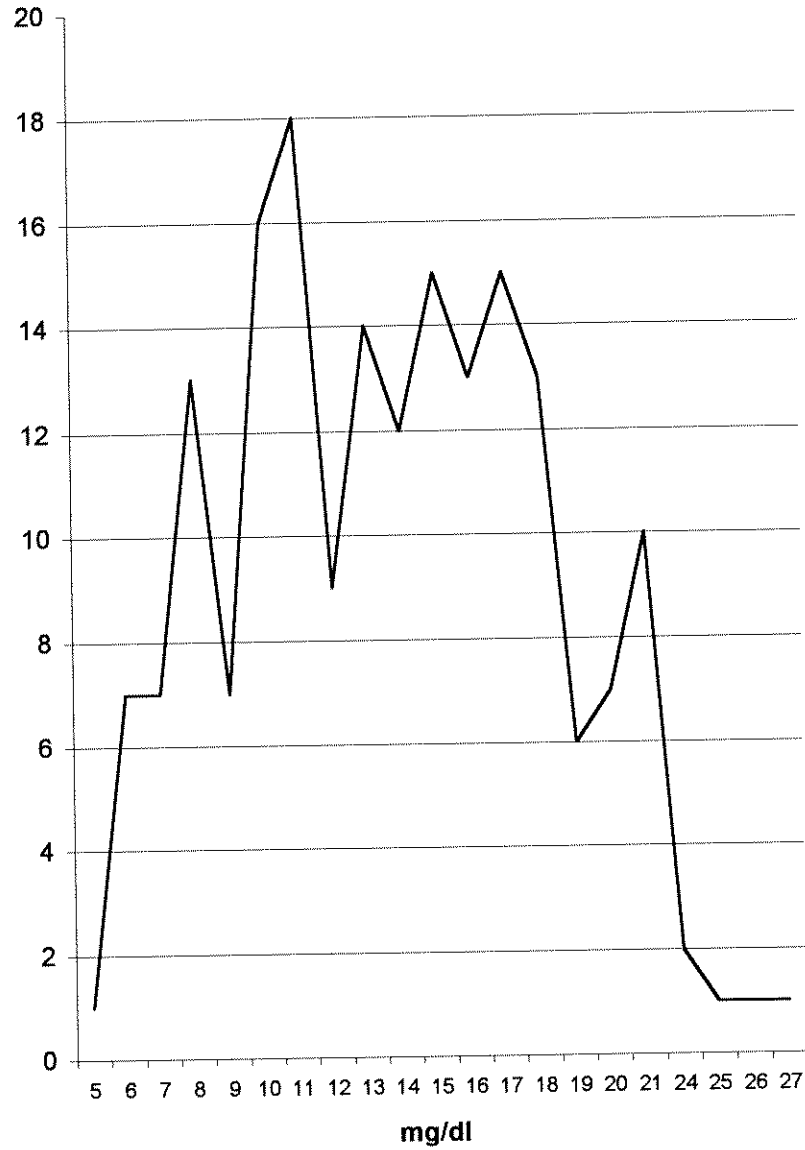
CONCENTRACION DE GLUCOSA
SANGUINEA EN HOMBRES



DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS PARA OBREROS
ENTRE 20 Y 30 AÑOS
DE EDAD DEL AREA METROPOLITANA

GRAFICA No. 11

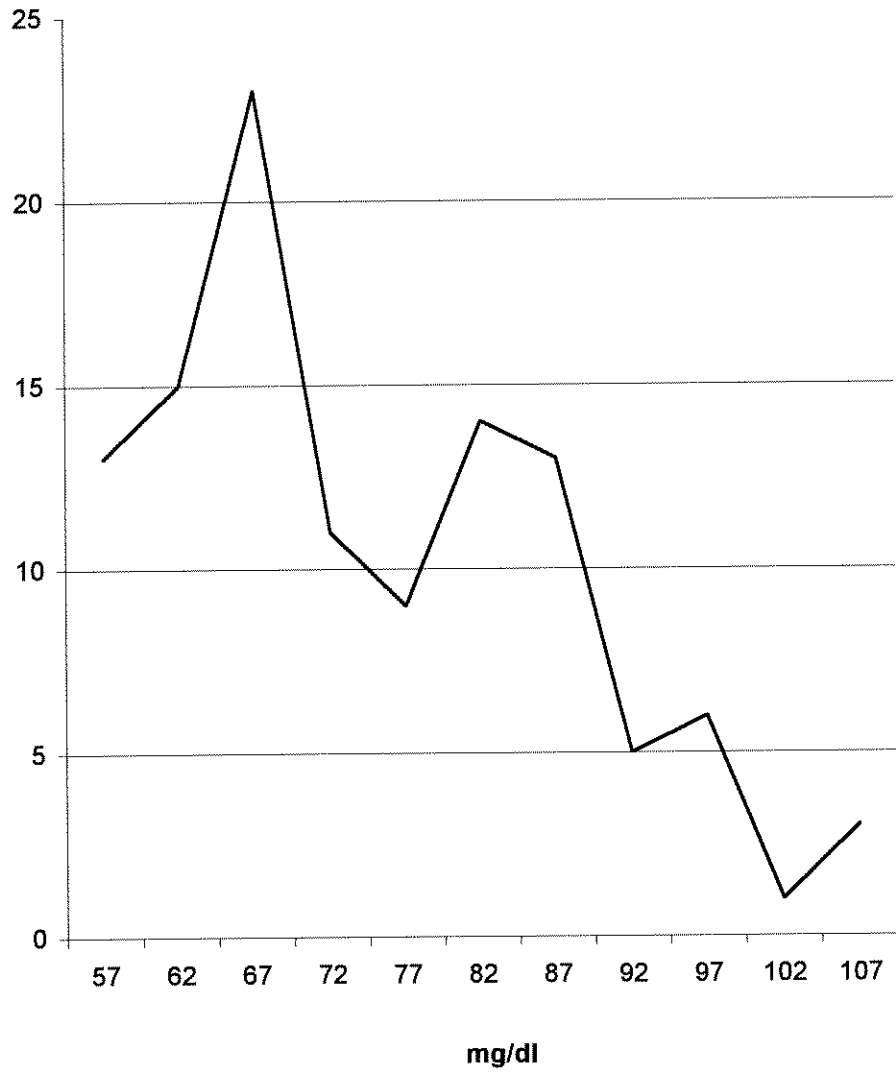
CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO DE UREA DE
HOMBRES



DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS PARA OBREROS
ENTRE 20 Y 30 AÑOS
DE EDAD DEL ÁREA METROPOLITANA.

GRAFICA No. 12

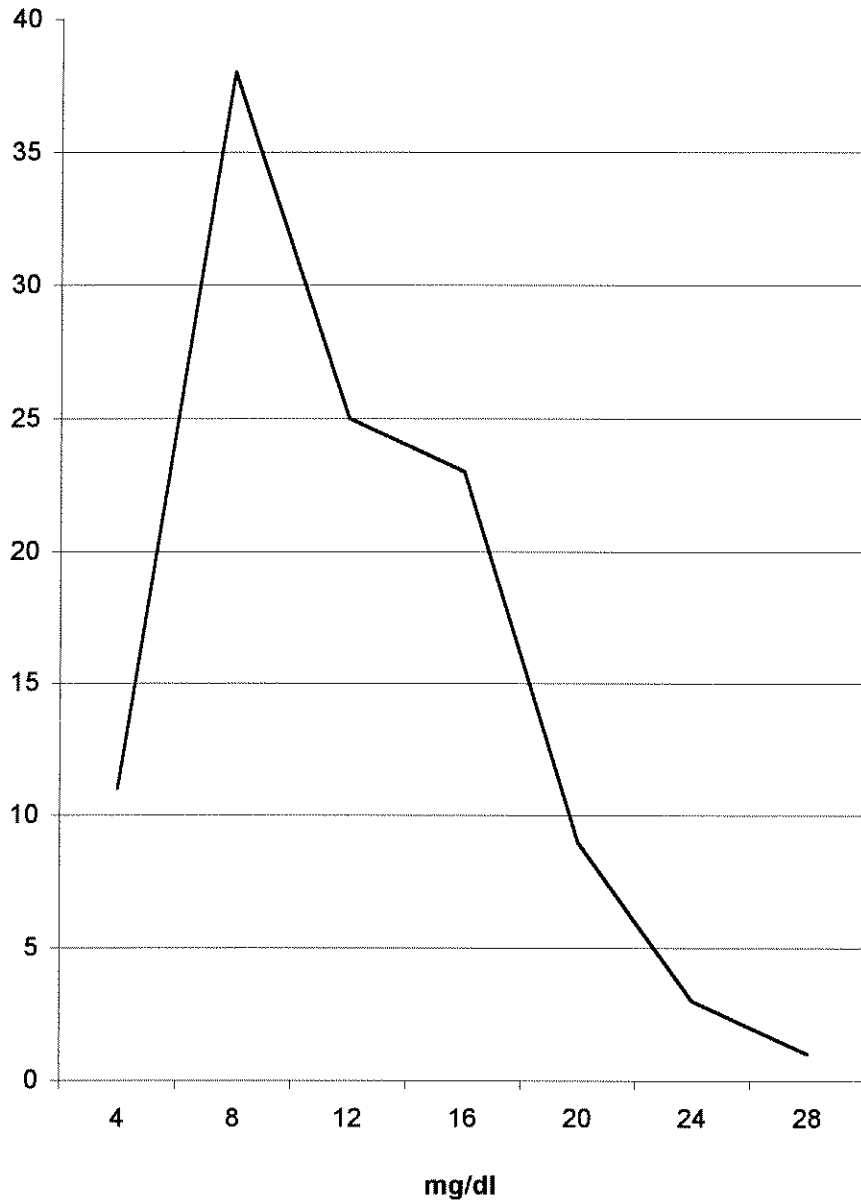
CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA SANGUÍNEA
EN MUJERES



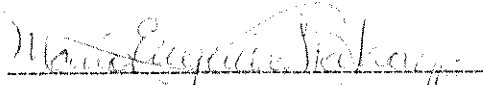
DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE MUJERES OBRERAS ENTRE 20 Y 30 AÑOS
DE EDAD DEL ÁREA METROPOLITANA

GRAFICA No. 13

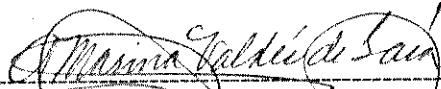
CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO DE UREA EN MUJERES.



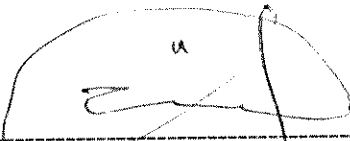
DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE NITRÓGENO DE UREA EN MUJERES OBRERAS ENTRE 20 Y 30 AÑOS DE EDAD DEL ÁREA METROPOLITANA.



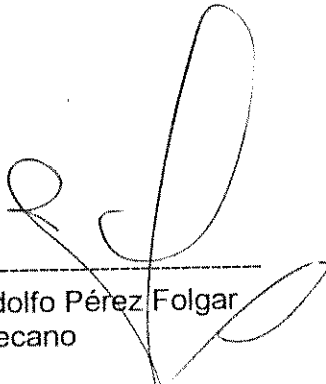
María Eugenia Sieckavizza Girón



Licda. Alba Marina de García
Asesora



Lic. Gerardo Arroyo Catalán
Director



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano