

Bioquímica Médica I

Jorge Contreras Pineda

Práctica: Determinación de glicemia y Prueba de tolerancia a la glucosa

GENERALIDADES

La razón fundamental para la determinación de la glicemia es el diagnóstico de una serie de alteraciones metabólicas que comparten el fenotipo de hiperglicemia y se denomina Diabetes mellitus. La otra razón importante para determinar glicemia es el diagnóstico de hipoglicemia, la cual se produce por diversas causas, pero en general si no es bien manejada aumenta las posibilidades de desarrollar Diabetes mellitus.

Los criterios para el diagnóstico de diabetes mellitus son:

- Síntomas clásicos de diabetes (poliuria, polidipsia, pérdida de peso) y prueba al azar de glicemia (sin tener en cuenta el momento de la última comida) mayor o igual a 11.1 mmol/L (200 mg/dL).
- O Glucosa plasmática en ayunas (sin comer por 8 horas) mayor o igual a 7 mmoles/L (126 mg/dL).
- O durante una prueba de tolerancia, glucosa a las dos horas mayor o igual a 11.1 mmol/L (200 mg/dL).

La positividad de alguno de estos tres criterios debe ser reevaluada mediante exámenes en una segunda oportunidad.

PREPARACIÓN DE LA PERSONA PARA UNA PRUEBA DE TOLERANCIA

El paciente no debe fumar debido a la estimulación de la glucosa por la nicotina. Debe tener un ayuno de 8 a 9 horas antes de la prueba. Hay muchas drogas que pueden causar interferencia, entre ellas están esteroides, anticonceptivos orales, diuréticos, antihipertensivos, anticonvulsivantes, drogas psicoactivas y algunos antiinflamatorios. En pacientes en embarazo, la indicación para la prueba de tolerancia es una prueba de chequeo positiva con la administración de 50 g de carga de glucosa y una muestra de suero una hora después. Usualmente una prueba positiva está dada por una glucosa mayor de 140 mg/dL.

Teóricamente, durante 3 días anteriores a la realización de la prueba se administra al paciente una dieta que contiene cerca de 300 g de carbohidratos y alrededor de 3000 calorías. En la práctica generalmente esto no se hace, simplemente se pide el ayuno. Las dosis de glucosa utilizadas son de 75 g en la mayoría de adultos, 100 g en Diabetes gestacional y los niños reciben 1,75 g/kg de peso. Por lo general se emplean soluciones preparadas y saborizadas estándar. La solución debe estar fría.

RECOMENDACIONES

Las evaluaciones de glucosa se realizan en suero, con tubo seco o de tapa roja. Se toma por lo menos un volumen de 1 mL (niños 0.5 mL).

La recolección para una prueba de tolerancia se hace: Después de tomar muestra de suero en ayunas, administrar una solución de glucosa oral. Posteriormente se extraen muestras de suero a los 30, 60, 90 y 120 minutos. Durante el examen el paciente debe permanecer sentado y no consumir nada después de la administración de la solución de glucosa. La actividad física debe ser minimizada. Pueden presentarse vómito o diarrea después del examen.

Opcionalmente, se toman muestras para determinar los niveles de insulina.

Una simplificación de la curva de tolerancia es realizar una glicemia preprandial (en ayuno) y otra postprandial a las 2 horas.

CONTRAINDICACIONES

Paciente que no esté en ayunas, paciente bajo condiciones de estrés (después de una cirugía, o infección o con corticosteroides). Una glucosa en ayunas > de 140 mg/dL en dos ocasiones o una glicemia post-prandial mayor de 200 mg/dL en dos ocasiones en individuos que no están bajo stress, indican una diabetes mellitus, por esta razón está contraindicada la realización de la curva de tolerancia. La hemoesferocitosis es probablemente una indicación para cancelar la realización de la prueba ese mismo día. La excesiva hormona de crecimiento, las hormonas adrenocorticales y tiroideas, y las catecolaminas pueden disminuir la tolerancia a la glucosa.

INTERPRETACIÓN

En condiciones normales la sangre en ayunas debe tener un nivel de glucosa de 60 a 110 mg/100 ml. Los valores normales para una curva de tolerancia con una carga de glucosa de 75 g: glicemia 30 a 60 minutos: 140-195 mg/dL (menos de 200 mg/dL); glicemia 90 minutos: 140-170 mg/dL y glicemia 120 minutos: 105-140 mg/dL (menos de 140 mg/dL).

Criterios para la interpretación de diabetes mellitus gestacional: Deben realizarse mínimo 2 determinaciones. Glicemia en ayunas > 105 mg/dL; 1 hora:>190 mg/dL; 2 horas: >165mg/dL; 3 horas:>145 mg/dL. Mujeres en embarazo con curva de tolerancia anormal tienen mayor riesgo de pre-eclampsia y desarrollo de infantes macrosómicos.

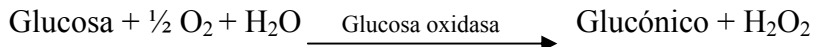
Un valor hipoglucémico (bajo de glicemia) de 3 a 5 horas después de la ingestión de la glucosa se observó en ciertos pacientes cuya curva de tolerancia era de tipo diabético, interpretándose un hiperinsulinismo, típico del estado diabético.

Temperatura Ambiente: 72 horas; refrigerado a 4 °C: 7 días; congelado a -20 °C: 2 meses.

Método Glucosa oxidasa o hexoquinasa

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La glucosa presente en la muestra origina, según las reacciones acopladas descritas a continuación, un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría 1.



MATERIALES Y REACTIVOS

- Reactivo A: Fosfatos 100 mmol/L, fenol 5 mmol/L, glucosa oxidasa > 10 U/mL, peroxidasa > 1 U/mL, 4-aminoantipirina 0,4 mmol/L, pH 7,5
- Patrón (S): Glucosa/Urea/Creatinina. Glucosa 100 mg/dL (5,55 mmol/L), urea 50 mg/dL, creatinina 2 mg/dL. Patrón primario acuoso.

- Baño de agua a 37 °C
- Espectrofotómetro luz visible.
- Micropipetas P1000, P200 y P20

- Puntas azules y amarillas
- Tubos de tapa roja
- Torniquete
- Algodón
- Alcohol antiséptico

PROCEDIMIENTO (Basado en el sistema de BioSystems)

1. Tomar una muestra de suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar. El suero o plasma deben separarse de los elementos celulares lo antes posible para evitar la glucólisis. La adición de fluoruro sódico a la muestra de sangre previene la glucólisis.

La glucosa en suero o plasma es estable 5 a 7 días a 2-8 °C; congelado a -20 °C: 2 meses. Los anticoagulantes como la heparina, EDTA, oxalato o fluoruro no interfieren.

2. Atemperar el Reactivo A temperatura ambiente.

3. Pipetear en tubos de ensayo como se indica en la tabla:

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón (S)		10 µ L	
Muestra			10 µL
Reactivo (A)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

4. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25 °C) durante 5 minutos a 37 °C.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y de la Muestra a 500 nm frente al Blanco. El color es estable durante al menos 2 horas.

CÁLCULOS

La concentración de glucosa en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{\text{Absorbancia Muestra}}{\text{Absorbancia Patrón}} \times \text{Concentración Patrón} = \text{Concentración Muestra}$$

El Patrón de Glucosa suministrado tiene una concentración de: 100 mg/dL o 5,55 mmol/L de glucosa.

Notas:

- Límite de detección: 0,23 mg/dL = 0,0126 mmol/L
- Límite de linealidad: 500 mg/dL = 27,5 mmol/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/4 con agua destilada y repetir la medición.
- Interferencias: la hemoglobina (> 3 g/L), la lipemia (triglicéridos >1,25 g/L) y la bilirrubina (10 mg/dL) interfieren.