



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACION DE VALORES DE FRUCTOSAMINA SERICA EN PERROS SANOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

MÓNICA BERENICE GHENNO MARCHAND

ASESORES: MVZ MES S GENARO JARDON HERRERA

MVZ MC ROSA LUZ MONDRAGON VARGAS



MÉXICO, D. F.

2005

m. 347115





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Paty, cuando leas esto será por que hemos puesto el último cimiento en el principio de mi vida profesional. Te Amo y te agradezco todas tus enseñanzas, cada uno de los segundos invertidos en mi persona, en mi alma y en mi felicidad.

Eres la mejor mujer, la mejor persona, la mejor Mamá.

La, lo único que te puedo decir es que Te Amo, que eres un motor tan importante y un gran ejemplo a seguir, quien diga que los hermanos pequeños no dan ejemplos de vida, no te ha conocido a ti.

José Antonio a ti te doy las gracias por cuidarme en todo momento, todavía recuerdo cuando me enseñaste a andar en bici y me dijiste que no tuviera miedo por que no me soltarías nunca, y así ha sido siempre.

Mamá Angela gracias por ser el ángel que me cuida; Te Amo y todavía Te extraño mucho.

Tíos, Jorge, Fernando, Elo, Carmen y Joaquín mil gracias por darme a la familia más extraña "La familia muégano"; por regalarme momentos inolvidables y por estar conmigo en este momento tan importante, los quiero mucho.

A mis primos Yara, Luis, Giovanna, Ericka, Mirelle, Ericka, Fernando, Ángela y Frida; ha sido toda una aventura y una fortuna vivir a su lado siempre compartiendo todo, los quiero.

Maura, eres inolvidable por que siempre estuviste cuando mi mamá no podía, por haber querido tanto a mi familia y por estar siempre en los momentos difíciles.

A todos mis papás adoptivos que siempre tuvieron el deseo y el tiempo de ayudar a mi mamá ya que no siempre fue fácil ser madre y padre a la vez, nunca los podré olvidar.

"A ti con cariño" gracias por que has sido el mejor cómplice de mis locuras y desde que nos conocimos el mejor amigo y mi compañero inseparable, contigo he aprendido el verdadero significado de la libertad, gracias Oscar.

Este triunfo es compartido, pues siempre me enseñaron a seguir adelante a pesar de todo.

¡Lo logramos!

AGRADECMIENTOS

Al MVZ Pablo Pérez Espino, ya que con el comprendí el verdadero valor de un Medico Veterinario Zootecnista. Se encontrará siempre en mi memoria, el día que me dijo que Usted se encargaría de que yo amara la carrera, y así fue.

Al MVZ Alberto Guadarrama gracias por que siempre me tendió la mano cuando lo necesite y también me enseñó a darle valor a las cosas importantes y dejar pasar las que no lo son, siempre he creído que Usted es una especie de ángel guardián ya que se aparece en el momento justo cuando necesito un amigo.

A la MVZ Rosa Luz Mondragón por su apoyo paciencia y constancia me enseñó a tomar los retos y a no abandonar los sueños por un pequeño tropiezo, es una gran amiga.

MVZ Genaro Jardón muchas gracias por darme la oportunidad de obtener mayores conocimientos y por confiar en mi para realizar este proyecto. Nunca hay sueños imposibles si realmente se quiere alcanzar una meta.

Al Departamento de Patología Clínica por financiar y permitir la realización de este trabajo.

Agradezco infinitamente a aquéllas personas que siempre me brindaron su apoyo incondicional; Química Rosalba, gracias por ser mi maestra.

Al MVZ Edgar Alfonseca gracias por ser uno de los mejores profesores que he tenido, por escucharme y darme consejos ;para mi es muy importante seguir contando con alguien como tu, una persona tan comprometida con la docencia; pero lo que más agradezco es tu amistad.

A mis Sinodales por todo su tiempo y dedicación, enriquecieron este trabajo con todos sus conocimientos, fue un placer trabajar con Ustedes.

A todos mis profesores, a cada uno lo llevo en el corazón, fueron los pilares de mi formación, sin ellos no sabría lo que realmente es llevar en el alma y respirar por los poros "La Medicina Veterinaria".

Y sobre todo, agradezco a mi Alma Mater por todos estos años de felicidad y de triunfos, por permitirme pertenecer a esta Institución y poder decir que soy "Orgullosamente Universitaria".

CONTENIDO

	Página
SUMMARY.....	1
RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN.....	27
LITERATURA CITADA.....	33
TABLAS.....	41
GRÁFICAS.....	44

SUMMARY

GHENNO MARCHAND MÓNICA BERENICE. Determination of values of reference of fructosamine seric in healthy dogs (under the direction of Samuel Genaro Jardón Herrera and Rosa Luz Mondragón Vargas).

With the idea to find long term markers of the control of the glucose numerous techniques have been made to evaluate glycated proteins (fructosamine), because these are not modified with acute changes like in the metabolism of the glucose associated with the ingestion of food and stress, and its cuantifiación reflects the plasmatic glucose concentration average during one to three weeks.

From a total of 30 sanguineous samples of healthy dogs between 2 and 4 years of age without concerning race nor sex was taken, with the purpose of obtaining the values of fructosamine seric, by means of the colorimetric method based on the reduction test with nitroblue tetrazolium (NBT).

The obtained results of fructosamine seric in this group were of 148 $\mu\text{g/L}$ like minimum value and of 365 $\mu\text{g/L}$ like maximum value, the deviation to estandar was of 44.2 $\mu\text{g/L}$, the average was of 197.1 $\mu\text{g/L}$, finally the regression coefficient was of 0.72 ($p < 0.003$).

RESUMEN

GHENNO MARCHAND MÓNICA BERENICE. Determinación de valores de referencia de fructosamina sérica en perros sanos (bajo la dirección de Samuel Genaro Jardón Herrera y Rosa Luz Mondragón Vargas).

Con la idea de encontrar marcadores a largo plazo del control de la glucosa, se han realizado numerosas técnicas para evaluar las proteínas glucosiladas (fructosaminas), debido a que estas no se modifican con cambios agudos en el metabolismo de la glucosa asociado con la ingesta de alimento y estrés, y su cuantificación refleja la concentración de glucosa plasmática promedio durante una a tres semanas.

Se tomaron un total de 30 muestras sanguíneas de perros sanos de 2 a 4 años de edad sin importar raza ni sexo, con el fin de obtener los valores de fructosamina sérica, mediante el método colorimétrico basado en la reducción del Nitro azul de tetrazolium (NBT).

Los resultados de fructosamina sérica obtenidos en este grupo fueron de 148 $\mu\text{g/L}$ como valor mínimo y de 365 $\mu\text{g/L}$ como valor máximo, la desviación estándar fue de 44.2 $\mu\text{g/L}$ y la media 197.1 $\mu\text{g/L}$, el coeficiente de regresión fue de 0.72 ($P < 0.003$).

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES

Existen diferentes procesos de glucosilación en el organismo, algunos de los cuales requieren la acción de enzimas mientras que otros no, por lo que estos últimos procesos son considerados reacciones de glucosilación no enzimática; conocidos también como reacciones de Maillard o reacción de "browning" (1912) (1, 2, 3, 4, 5, 6).

Por más de 50 años, el avance en la comprensión química de esta reacción estuvo directamente vinculado con la ciencia y la tecnología alimentaria; sin embargo la glucosilación de proteínas es un proceso normal en la fisiología animal. Todos los seres, poseen este tipo de proteínas en circulación (Kawamoto y col., 1992; Nelson, 1997;) (1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11).

La glucosilación no enzimática se produce por la presencia de aldosas que entran en contacto con diversos lípidos y proteínas, uniéndose a ellos de manera no específica. (3, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20).

La glucosa es el azúcar reductor más abundante en el organismo. Su concentración sanguínea está sometida a un cuidadoso mecanismo de regulación en individuos sanos, mientras que en pacientes diabéticos aumenta sustancialmente. Esto lleva, a que éste azúcar reductor sea generalmente considerado en las reacciones de glucosilación no

enzimática de interés biológico. Sin embargo, cualquier azúcar que posea un grupo carbonilo libre puede reaccionar con los grupos amino primarios de las proteínas. La reactividad de los distintos azúcares está dada por la disponibilidad del grupo carbonilo. (3, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20).

Se sabe que la forma abierta o extendida de los azúcares no es muy estable, a tal punto que por ejemplo en la glucosa representa sólo el 0.002% (3, 4, 11, 21).

Las moléculas de azúcar consiguen estabilizarse a través de un equilibrio entre dicha forma abierta y por lo menos dos formas cerradas (anómeros cíclicos) en las que el grupo carbonilo ha desaparecido (1,8).

Se sabe que existen diversas proteínas sanguíneas que son capaces de unirse a la glucosa dando lugar a diferentes compuestos glucosilados los cuales pueden ser evaluados y ofrecer recursos importantes para el diagnóstico, la evaluación y el control de la *Diabetes mellitus*, así como también ha abierto nuevas vías de investigación en lo referente a la génesis de las complicaciones crónicas de la misma. Entre estos se destaca la evaluación de la fructosamina sérica (Thoresen y Bredal, 1996; Romay, 1997); que se forma a partir de esta reacción no enzimática y es un marcador de la concentración media de la glucosa sanguínea, durante la vida de las proteínas que forman parte de esta (1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 21).

La concentración de la fructosamina sérica está directamente relacionada con la composición de las proteínas sanguíneas y con la concentración de la glucosa sanguínea (5, 12, 13, 14, 22, 23, 24, 25).

Teniendo en cuenta que la vida media de la albúmina circulante es de 8 días, la concentración de fructosamina sérica nos indicará los niveles de glucemia que ha tenido el animal de 1 a 2 semanas anteriores al análisis (5, 6, 15, 18, 19, 21, 22, 26, 27, 28, 29, 30, 31).

Además la fructosamina refleja diferentes períodos de la situación metabólica en el diabético (3, 5, 21).

Formación de fructosaminas mediante el proceso de glucosilación

Como ya se ha mencionado la combinación de glucosa y las proteínas ocurre sin la intervención de enzimas, depende directamente de la concentración de glucosa y existen tres etapas.

En la primera etapa la formación de la base de Schiff o aldimina se inicia cuando reacciona la glucosa con la albúmina y se une el grupo amino de la proteína (NH_2 terminal de la valina o Σ amino del grupo de la lisina) al grupo carbonilo del azúcar reductor acíclico (glucosa). La albúmina se glucosila en múltiples sitios pero fundamentalmente en los Σ amino grupos de los residuos de lisina 199 y 525 con bajo pka (Bunn, 1981; Garlick, 1983; Iberg, 1986) (3, 31, 32, 33).

La base Schiff es sólo estable por un corto tiempo y es fácilmente dissociable. Una vez que la glucosa se pone en contacto con los grupos amino primarios de la albúmina, su formación transcurre rápidamente y alcanza el equilibrio termodinámico en unas pocas horas (3, 22, 31, 32, 33). Esta reacción es reversible. La interrupción del contacto de la glucosa con la proteína produce la reversión completa del efecto (3, 17). Posteriormente en la segunda etapa se inicia un proceso de reordenamiento de los enlaces químicos, que da lugar a un producto más estable denominado genéricamente producto de Amadori. El producto de Amadori posee un grupo carbonilo que puede seguir reaccionando con otros grupos amino y origina el compuesto 1 amino desoxy-fructosa (3, 22, 31, 32, 33). Para dar lugar a una cetoamina que se conoce genéricamente como fructosamina la cual pueden ciclar a estructura en anillo que le añade estabilidad (33). Se llama fructosamina debido a que el resto del glucosil se transforma en fructosil, por el desplazamiento del grupo carbonilo del carbono 1 al carbono 2 durante el reordenamiento. Esta es una reacción irreversible, y así los términos de albúmina glucosilada, hemoglobina glucosilada, transferrina glucosilada, fibrinógeno glucosilado o proteínas glucosiladas usadas comúnmente en la literatura son ejemplos de fructosaminas; aunque para fines prácticos se dice que la fructosamina sérica es la albúmina glucosilada ya que es la proteína sérica más abundante en el organismo

(3, 17, 32, 33). En 1979 se describió la fructosamina sérica como constituyente normal de la sangre y su elevación en pacientes diabéticos (Day, 1979; Dolpher, 1980; Austin, 1987).

Para los productos de Amadori, el equilibrio termodinámico se alcanza entre las 2 y las 3 semanas (Lee & Cerami, 1992) (3, 22). Las reacciones antes mencionadas de ninguna manera constituyen el fin de la cascada reaccional. En la tercera y última etapa se forman también compuestos altamente reactivos que poseen dos grupos carbonilo y que actúan como propagadores de la reacción. Luego de varios meses o inclusive años de contacto con glucosa, las proteínas de bajo recambio (vida media larga), como por ejemplo el colágeno y la albúmina, originan una serie de productos denominados genéricamente productos de glucosilación avanzada ("AGE", por *Advanced Glycosylation End-products*) (Vlassara et al., 1984) (33).

A través de ensayos *in vitro*, se han podido aislar e identificar unos pocos "AGEs".

Factores que modifican la glucosilación no enzimática

La glucosilación no enzimática tiene lugar bajo condiciones fisiológicas en individuos normales, no obstante existen factores que influyen en la cantidad absoluta y en el porcentaje en el que una proteína se glucosila (Tabla 1). Ya que la concentración de proteínas permanece estable, el principal factor que influye en el grado de glucosilación es la

concentración de la glucosa y el tiempo de exposición de la proteína a la elevada concentración de la misma, lo que se traduce in vivo por grado y duración de la glucemia (33). En 1953, el grupo de Aarón Katchalsky, demostró que existe una correlación entre la velocidad de la reacción de glucosilación y la proporción de la forma abierta de cada azúcar (Katchalsky & Sharon, 1953). De hecho, los azúcares fosfato, que son azúcares reductores de gran importancia en el interior celular, poseen mayor capacidad glucosilante que la glucosa dada su mayor proporción de forma carbonílica abierta (1, 3, 17).

Algunos aminoácidos poseen en su cadena lateral grupos capaces de reaccionar con los azúcares reductores (el amino de la lisina y el guanidinio de la arginina). En la glucosilación no enzimática de las proteínas, el grupo amino terminal es el más reactivo, seguido por los grupos amino primarios de la cadena lateral de los residuos de lisina y, con mucha menor reactividad, los del grupo guanino de los residuos de arginina (Okitani et al; 1984) (3, 17).

Es importante subrayar, que no todos los grupos capaces de reaccionar con el grupo carbonilo de los azúcares lo hacen, ya que pueden estar ocultos en la estructura tridimensional de la proteína de modo que las moléculas de los azúcares no tienen acceso a ellos. Por otra parte, el sitio de la proteína donde se encuentra cada grupo determina localmente su basicidad, esto es, su capacidad para reaccionar a través

de su par de electrones libres. Cuanto más básico es un grupo amino más fácilmente reaccionará con el grupo carbonilo de los azúcares. Por esta razón tanto la accesibilidad y la basicidad, determinan que cuando una proteína reacciona con un azúcar, sólo algunas de las cadenas laterales de sus residuos de lisina y arginina participarán directamente en la reacción (3, 17).

Por otra parte la reducción de la vida media de una proteína o de su estancia en la circulación puede descender el grado de glucosilación sin el correspondiente cambio en los niveles de glucosa; un buen ejemplo de esto son los pacientes con anemia hemolítica y sujetos normales con pérdida aguda de sangre. Similar hecho ocurre en las proteínas plasmáticas donde la vida media más larga como la albúmina e IgG se glucosilan en mayor proporción que aquellas de vida media más corta como el fibrinógeno, transferrina etc. En situaciones clínicas asociadas con la nefropatía, fallo hepático e hipertiroidismo; existe una alteración en la glucosilación proteica (33).

La permeabilidad de diferentes tejidos a la glucosa influye en el grado de glucosilación no enzimática (31, 32, 33).

En cuanto al porcentaje de carbohidratos que contiene la proteína, se sabe que cuanto mayor sea este, la proteína se glucosilará en menor proporción. Así la IgG que tiene bajo contenido en carbohidratos, se

glucosilará un 20% a diferencia de la antitripsina que solo lo hará ligeramente (Austin, 1987) (33).

La glucosilación *in vivo* no depende del número de grupos de amino libres (lisina) sino también de su reactividad. La reactividad de los grupos amino libre de una proteína no es uniforme depende de factores microambientales, tales como la disponibilidad de grupos carbonilos que aceleran la reordenación de Amadori y el pK . Esto puede explicar la preferencia de varios residuos de lisina en una proteína determinada así como la diferencia entre la glucosilación que ocurre *in vivo* e *in vitro* (Shapiro, 1980) (33). Algunos factores como el pH y la temperatura son importantes *in vitro*, otros son de gran significancia *in vivo*, principalmente en cuanto a las potenciales uniones en la hiperglucemia crónica (33).

Efectos de la glucosilación sobre la actividad biológica de las proteínas

Los estudios realizados *in vitro*, donde se ponen en contacto proteínas con azúcares muestran que la glucosilación y por lo tanto la formación de fructosaminas, puede afectar la actividad biológica de las proteínas (González Flecha et al; 1993) ya que el fenómeno observado podría ser consecuencia de la glucosilación de otro componente que a su vez interacciona con la proteína o de reacciones entre la proteína y algún

producto secundario generado durante la glucosilación (1, 2, 3, 4, 12, 19, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 33, 34, 35, 36).

Se ha encontrado que la formación de fructosaminas está asociada al desarrollo de patologías vasculares y renales (Cohen et al., 1995; 1996) así como al anormal funcionamiento del mecanismo de transporte del calcio (González Flecha et al., 1990; 1993) (1, 2, 3, 4, 7, 11, 21, 23).

Los efectos biológicos de los "AGEs" no se restringen exclusivamente a personas diabéticas también se encuentra íntimamente relacionado con la de edad avanzada (Miyata et al., 1999). Tampoco se trata de un proceso que afecta sólo a las proteínas. El ADN es una molécula de bajo recambio, al menos en células que no se encuentran en pleno proceso de división, posee grupos amino primario y se encuentra dentro del núcleo celular en contacto con el azúcar reductor ADP-ribosa (Cervantes-Laurean et al., 1996 (Cerami et al., 1987). (4, 18, 19, 26, 27, 28, 29, 34).

Muchas de las complicaciones que afectan a las personas diabéticas por ejemplo: cataratas, hipertensión, aumento de la susceptibilidad a infecciones y aterosclerosis- son idénticas a las alteraciones que se presentan en la vejez, pero aparecen precozmente (1, 2, 3, 4, 9, 10, 18, 19, 26, 27, 28, 29, 34, 35, 36). El envejecimiento y la *Diabetes mellitus* se relacionan de manera tal que el efecto de la diabetes sobre muchos órganos y tejidos a menudo se describe como un envejecimiento

acelerado. Estos cambios, así como muchas enfermedades relacionadas con la vejez, se retardan por restricción alimentaria (1, 3, 4, 15, 16, 24, 25, 26, 37, 38). Tanto la *Diabetes mellitus* como la restricción alimentaria modifican la concentración de glucosa en la sangre y de otros azúcares reductores intracelulares y por lo tanto el aumento o la disminución de la producción de fructosamina sérica (1, 3, 4, 15, 16, 24, 25, 26, 37, 38). Ya que los productos de glucosilación son acumulativos, el nivel de glucosilación de una proteína con bajo recambio, tal como el colágeno puede aumentar con la edad a pesar de concentraciones normales de glucosa (Shider, 1980) (Tabla 1).

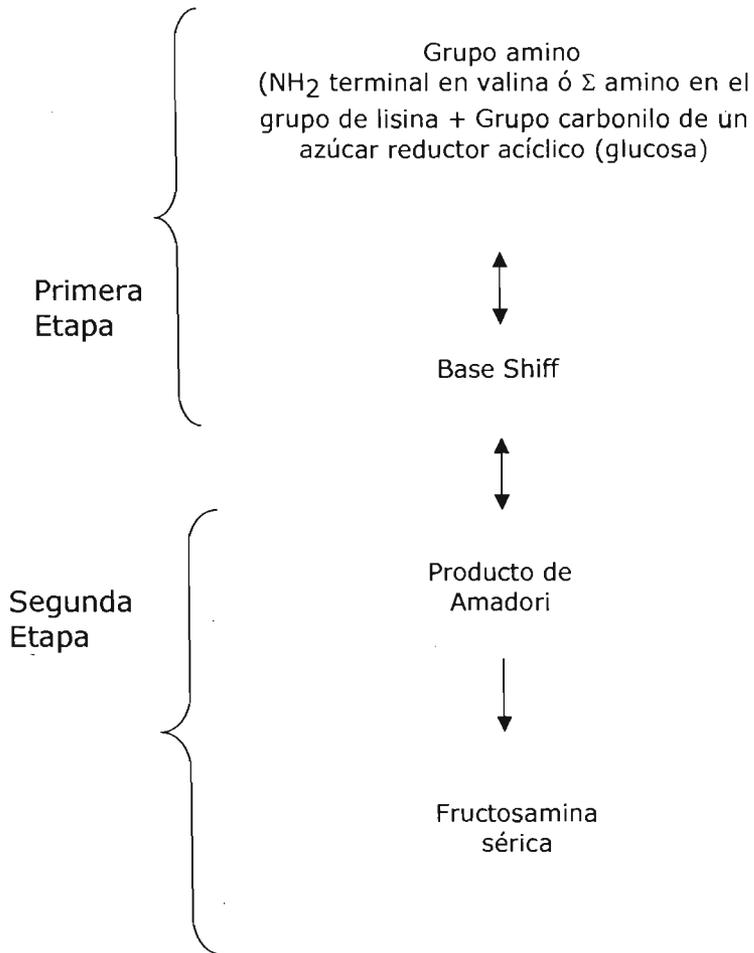


Figura 1. Formación de fructosamina sérica mediante el proceso de glucosilación no enzimática.

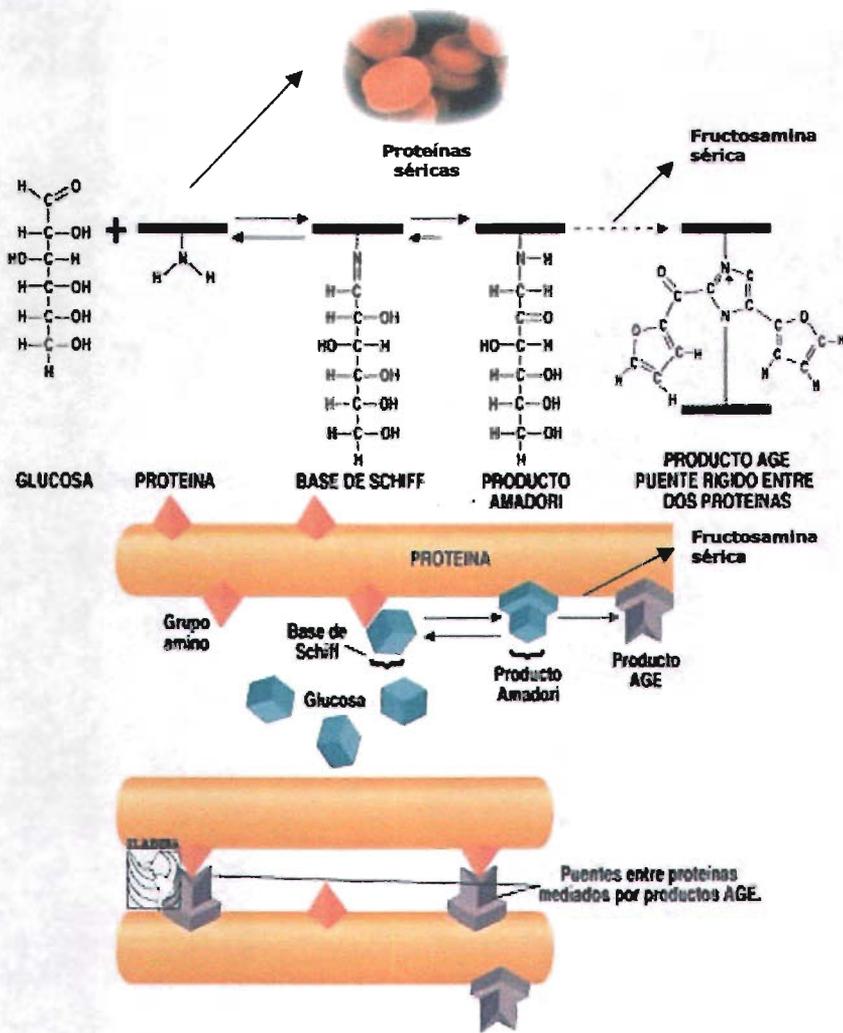
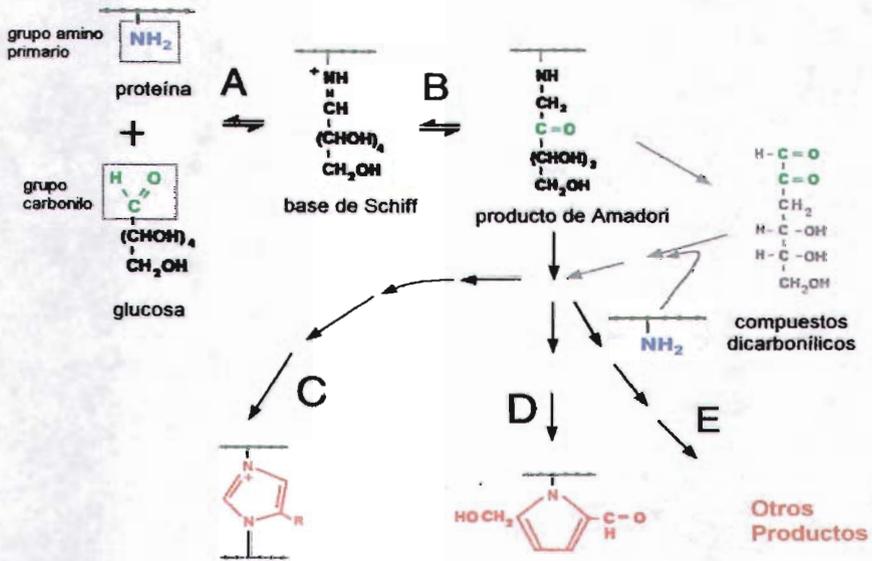


Figura 1. Glucosilación no-enzimática.



PRODUCTOS DE GLUCOSILACION AVANZADA

Figura 2. Esquema de reacción del proceso de glucosilación no enzimática de proteínas. (A) Formación de la base de Schiff. (B) Reordenamiento de Amadori. A través de una serie de reacciones complejas los productos de Amadori pueden originar derivados con estructura imidazólica (C) pirrólica (D) y otras diversas (iminas, furanos, piridinas, etc.) (23).

En resumen, la formación de fructosamina sérica se define como la reacción de grupos amino primario de aminoácidos, péptido y proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares reductores. A lo largo de esta reacción se pueden distinguir tres etapas:

Inicialmente se produce la asociación del azúcar con la proteína, formando un compuesto denominado base Schiff (1, 3, 21).

En la segunda etapa se da lugar a una estructura más estable para formar el producto de Amadori. Este posteriormente sufre una serie de complejas transformaciones que conducen a la formación de ciertos compuestos generalmente coloreados y/o fluorescentes (fructosamina sérica) 2 a 3 semanas (1, 3, 21, 33).

En condiciones fisiológicas la aparición de estos compuestos está determinada por la concentración de azúcares reductores y por el tiempo de exposición de la proteína a los mismos (vida media de la proteína). En proteínas de recambio rápido, el proceso de glucosilación no enzimática no supera, en general, las etapas iniciales (formación de base Schiff y eventualmente la formación de productos de Amadori) mientras que las de vida media larga llegan a formar productos de la glucosilación avanzada ("AGEs") (1, 3, 21, 33).

Debido a esto se le ha dado gran importancia a la evaluación del metabolismo de los carbohidratos, que ha ido evolucionado mediante el desarrollo de métodos para monitorear las condiciones glucémicas por

un largo período de tiempo; con la idea de encontrar marcadores a largo plazo del control glucémico se han realizado numerosas técnicas para evaluar las proteínas glucosiladas (19, 32), las cuales incluyen la cromatografía de afinidad, métodos espectrofotométricos basados en la relación ácido tiobarbitúrico, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), métodos inmunoradiométricos etc. Cada uno de estos es capaz de brindar buenos resultados en manos experimentadas, sin embargo, son generalmente caros o muy complicados para su uso en los laboratorios de química clínica (3, 5, 7, 11, 14, 19, 20, 23, 26, 32).

Johnson en 1982 propuso un método para detectar proteínas séricas glucosiladas, comúnmente llamada fructosaminas; basado en la habilidad de las cetoaminas de reducir un colorante azul de Nitro Tetrazolium (NBT) en medio alcalino (9, 14, 21, 23, 26). Debido a que el método refleja el nivel medio de glucemia pasadas 2 ó 3 semanas, la facilidad con que esta determinación pudo ser automatizada en los más modernos instrumentos y los excelentes coeficientes de variación mostrados (menos del 5%), se convirtió rápidamente en una prueba atractiva para monitorear la *Diabetes mellitus*; no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre sexos y edades. Se destaca los incrementos de fructosamina sérica hallados en personas y animales diabéticos. Además tiene la ventaja de ser simple, rápido y barato (7, 8, 9, 12, 13, 14, 19, 21, 22, 23, 27).

JUSTIFICACIÓN

La *Diabetes mellitus* constituye un problema importante en la salud de los perros debido al aumento en la presentación de esta enfermedad en el país (2, 4, 7, 9, 11, 16, 21, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 34). Uno de los aspectos a los que se le presta mayor atención en estos tiempos, referente al tratamiento de la *Diabetes mellitus*, es el control y la prevención de complicaciones que a largo plazo se desarrollan con la enfermedad; ya que es un síndrome crónico no curable, que causa limitaciones en el modo de vida de los pacientes y en muchos de ellos complicaciones como microangiopatías y retinopatías diabéticas que pueden llevarlos a la invalidez y a la muerte (3, 5, 6, 7, 16, 19, 25, 27); para ello es fundamental tener en cuenta el mantenimiento del nivel de glucosa en sangre lo más cercano posible a la normalidad (3, 4, 7, 9, 11, 15, 25, 26, 27, 29).

Habitualmente el paciente diabético es evaluado por determinaciones de glucosa en sangre y orina, pero estas determinaciones al azar están afectadas debido principalmente al estrés, el ayuno, y la venopunción entre otros; y sólo reflejan el estado de la glucosa en el momento en que se realizan, por lo que los resultados pudieran estar sujetos a falsas interpretaciones (3, 5, 7, 11, 24, 25). La fructosamina no se ve afectada por cambios agudos del metabolismo asociados a la ingesta de alimento

o al estrés, es estable durante varios días a 4°C y durante un mes a -20°C (13).

Debido a esto, determinar seguidamente glucosa, no es con frecuencia una vía práctica para establecer el control glucémico en pacientes diabéticos (*Diabetes mellitus*), por lo cual en la última década se ha prestado especial interés al desarrollo de técnicas que permitan conocer el estado del control glucémico a mediano y largo plazo poniendo hincapié en el desarrollo de técnicas que permitan conocerlo (5, 11, 19, 24, 26).

La glucosilación ocupa hoy un papel protagónico en las teorías actuales propuestas para explicar la patogenia de la *Diabetes mellitus* (10); en la cual se produce un incremento en la unión de los azúcares a través de un mecanismo no enzimático formando así la fructosamina sérica. La presencia de estos productos desempeña un papel fundamental en las complicaciones secundarias que ocurren en el organismo del perro diabético, de esta manera al determinar el valor de fructosamina sérica en estos animales se podría evitar la formación de dichos productos, disminuyendo así las complicaciones propias de la enfermedad (5).

La determinación de fructosamina sérica, típico producto de glucosilación no enzimática, ha sido uno de los analitos más utilizados para el control del tratamiento de los pacientes diabéticos humanos y animales, sin embargo, la determinación de este analito no ha sido

estudiada en nuestro país en perros clínicamente sanos, por lo que sería conveniente evaluarlo para tener los valores que sirvan como referencia, con la finalidad de poder diagnosticar en un futuro a los perros diabéticos (3, 5, 6, 11, 17, 18).

La fructosamina sérica es un marcador más sensible que la glucosa, la glucosa en ayunas, y la orina, en la detección del control glucémico después de haber retirado los medicamentos hipoglucemiantes orales usados en perros diabéticos (28).

Es importante medir los niveles de fructosamina sérica para evaluar el control de la glucosa en perras gestantes con diabetes, esto debe ser especialmente útil para lograr una evaluación objetiva del control a mediano plazo, ya que no todos los dueños pueden realizar el monitoreo de la glucosa en casa o asistir a una clínica veterinaria diariamente (28).

La prueba de fructosamina sérica es utilizada en otros países para detectar perros con diabetes no diagnosticada, ya que la sensibilidad y la especificidad es alta (5, 13, 14, 29).

Dentro de las principales ventajas de la fructosamina se pueden mencionar la rapidez con la que indica cambios en el equilibrio del diabético, y su accesibilidad para incluirla en cualquier laboratorio de Patología Clínica.

Su utilidad ha sido demostrada por diferentes investigadores aun cuando existe un criterio generalizado de que debe utilizarse paralelamente con la glucosa (5, 13, 14, 29).

HIPÓTESIS

Los valores de fructosamina sérica obtenidos en perros de la Ciudad de México, serán diferentes a los informados por otros autores.

OBJETIVOS

- Establecer los valores de fructosamina en perros sanos en la Ciudad de México.
- Validar el método de determinación de fructosamina sérica para perros en la sección de Patología Clínica del Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM.
- Implementar la técnica de laboratorio en la sección de Patología Clínica del Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM para ofrecerla como un analito más, que pueda ayudar en el diagnóstico y control de la *Diabetes mellitus* en perros.
- Determinar la correlación entre la concentración de fructosamina y glucosa sanguínea en perros sanos, para servir como base frente a pacientes caninos con alteración de la glucemia.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se incluyeron un total de 30 perros, que no manifestaron signos de enfermedad, con un rango de edad comprendido entre 2 y 4 años de edad, de talla mediana a grande, no importando raza ni sexo. Los animales seleccionados pertenecieron a un solo grupo.

Los criterios de inclusión fueron:

Animales clínicamente sanos; sin alteraciones en sus constantes fisiológicas al examen físico.

Evaluación de laboratorio (realizado en el Departamento de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM):

- Hemograma
- Bioquímica sanguínea

Evaluación de laboratorio realizado en la clínica particular (Ott Vitosha):

- Examen general de Orina
- Examen Coproparasitoscópico

Los criterios de exclusión fueron:

Animales que presentaran alteraciones en cualquiera de las evaluaciones de laboratorio (hiperglucemia, anemia etc.).

A los animales clínicamente sanos se les realizó la determinación de fructosamina sérica y la de glucosa sanguínea.

Obtención de la muestra

Los perros se encontraron en ayuno por doce horas previas a la toma de las muestras de sangre.

Las muestras fueron obtenidas de la vena cefálica (5ml) y se depositaron 3 ml en tubos al vacío sin anticoagulante para estudios de bioquímica clínica y 2 ml en tubos al vacío con anticoagulante (EDTA) para la realización del hemograma.

Las muestras tratadas con EDTA, fueron mantenidas a temperatura ambiente por 30 minutos para posteriormente refrigerarlas hasta su procesamiento. En el caso de las muestras sin anticoagulante, estas se mantuvieron en temperatura ambiente hasta la formación del coágulo (30-45 min.); el suero se obtuvo por centrifugación (500 xg/5 min). Posteriormente se repartieron en alícuotas y fueron mantenidas hasta su análisis en congelación a 4° C para estudios de bioquímica clínica.

La toma de muestras de orina se realizó por presión de la vejiga urinaria y otras mediante micción, se obtuvo al menos 5 ml, los cuales fueron depositados en un frasco de vidrio estéril de color ámbar, mismo que se mantuvo en condiciones de refrigeración hasta su evaluación, en todos los casos el tiempo máximo para realizar el estudio fue de una hora; estas fueron realizadas en una clínica particular.

Las muestras fecales se tomaron mediante la estimulación del ano y fueron depositadas en frascos estériles y mantenidas en refrigeración hasta su análisis.

Determinación de Glucosa y Fructosamina sérica

La determinación de glucosa se realizó mediante una modificación del método de glucosa oxidasa/peroxidasa, para la glucosa descrito por, Trinder.

La determinación de fructosamina sérica se determinó mediante el método colorimétrico basado en la reducción del Nitro azul de tetrazolium (NBT), para lo cual se empleó un reactivo comercial del laboratorio Roche, adaptado a un analizador semiautomático (COBAS MIRAS). Para la cuantificación de fructosamina sérica se utilizó un espectrofotómetro de marca comercial ROCHE, refrigerado fabricado por laboratorios ROCHE. Se utilizaron los sueros control (Precipath fructosamina, de ROCHE) suministrados por el fabricante. Este método analítico ha sido previamente validado en perros en otros países.

Principio del método para fructosamina sérica

La albúmina del suero reduce las sales del nitro azul de tetrazolium (NBT) del entorno alcalino. El índice de formación en una temperatura dada esta en proporción a la concentración del suero de las proteínas glucosiladas.

El análisis estadístico fue realizado por el paquete Microstat. Así mismo se realizó estadística descriptiva, medida de tendencia central (\bar{X}), medida de dispersión (σ), correlación y rangos mínimos y máximos (33).

RESULTADOS

Al obtener los resultados de los hemogramas no se encontró ningún tipo de alteración. Los resultados del urianálisis fueron negativos, así como también los resultados del examen coproparasitológico.

Variables

Con respecto a la edad se encontró que el 30% de las muestras tomadas correspondía a perros de 4 años de edad, el 27% a 2 años, el 23% a 3 años, el 13% a 2.5 años y el 7% a 3.5 años (Tabla 2 y Gráfica 1).

La frecuencia en la variable género se observó de la siguiente manera: el 43% fueron machos y el 57% hembras (Tabla 2 y Gráfica 2).

El estudio se realizó en 9 Razas de perros y la frecuencia con la que se presentaron fue: 40% Pastor Alemán; 23% Collie; 17% Mestizo; 3% Basset Griffon; 3% Bernés de la Montaña; 3% Cocker Spaniel; 3% Doberman; 3% Poodle y 3% Schnauzer (Tabla 2 y Gráfica 3).

Determinación de Fructosamina sérica

Los resultados de fructosamina sérica obtenidos en este grupo fueron de 148 $\mu\text{mol/L}$ como valor mínimo y de 365 $\mu\text{mol/L}$ como valor máximo,

teniendo un comportamiento similar al informado por otros autores (Tabla 3).

La desviación estándar fue de 44.0 de $\mu\text{mol/L}$ y la media de 197.0 $\mu\text{mol/L}$. (Gráfica 4).

No se observaron diferencias significativas de acuerdo a la raza, teniendo un comportamiento similar al informado por otros autores (3, 4, 11, 13, 14,16).

Se encontró también que al incrementar la glucosa en sangre en perros sanos el valor de fructosamina sérica aumenta; por lo tanto ocurrió un grado de asociación entre la glucosa y la fructosamina como se ha informado en diferentes artículos (3, 4, 11, 13, 14,16) (Gráfica 5).

El promedio de fructosamina sérica en hembras fue de 200.0 $\mu\text{mol/L}$ mientras que el promedio de los machos fue de 191.0 $\mu\text{mol/L}$ (Gráfica 6).

Se obtuvieron los valores promedio de fructosamina sérica de acuerdo a la edad, obteniendo como resultados los siguientes; el Grupo 1 el cual perteneció a los perros cuya edad era de 4 años se observó 189.75 $\mu\text{mol/L}$, Grupo 2 de 3.5 años de edad 205.50 $\mu\text{mol/L}$, Grupo 3 de 3 años de edad 214.86 $\mu\text{mol/L}$, Grupo 4 de 2.5 años de edad 200.67 $\mu\text{mol/L}$ y por último el Grupo de 2 años de edad 193.29 $\mu\text{mol/L}$ (Gráfica 7).

Determinación de Glucosa

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: media 480 $\mu\text{mol/L}$, desviación estándar 88.7 $\mu\text{mol/L}$, valor mínimo 300 $\mu\text{mol/L}$ y como valor máximo 700 $\mu\text{mol/L}$ (Gráfica 8).

Correlación

El coeficiente de regresión fue de 0.72 ($P < 0.00315$).

DISCUSIÓN

Loste y Marca quienes, trabajaron con 20 perros de diferentes razas, sexo y edad, informaron que los valores de referencia de fructosamina sérica en perros sanos es de 282.60 $\mu\text{mol/L} \pm 34.72 \mu\text{mol/L}$. Por otro lado estos mismos autores, revelan en otro estudio realizado a 125 perros clínicamente sanos que el valor de referencia de fructosamina sérica es de 276.0 $\pm 52.2 \mu\text{mol/L}$, con la técnica de reducción de nitroazul de tetrazolium; con el reactivo de laboratorio 1054686 de Boehringer y un analizador automático Technicon de Bayer. Hunter E. Bates por su parte, obtuvo un valor de fructosamina sérica de 258 a 343 $\mu\text{mol/L}$ en perros sanos. Mansilla, M^a Matamoros R. MV informaron un valor de referencia de fructosamina sérica de 210 a 380 $\mu\text{mol/L}$, con un error estándar de 4.5 ($\mu\text{mol/L}$)/L utilizando un reactivo comercial de Boehringer Mannheim GMBH. La Facultad de Medicina Veterinaria de China así como J.A Coppo, informan valores de fructosamina sérica de 250 a 350 $\mu\text{mol/L}$ y 270.0 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. Al señalar los

resultados de este estudio y compararlos con los de otros autores, estos son similares; y esto puede avalar la utilidad de diferentes reactivos para conocer el control metabólico y las posibles variantes que puedan ocurrir.

Al obtener el coeficiente de regresión en perros sanos; se observó un grado de asociación de glucosa con fructosamina sérica, debido a que la concentración de fructosamina sérica esta determinada por la glucemia, esto nos indica la importancia de la evaluación de este analito en perros diabéticos, ya que en algunos casos, en donde la glucosa de falsos positivos o falsos negativos (ya sea por el manejo de la muestra o el estrés del paciente), la fructosamina sérica nos ayudará a descartarlos o confirmarlos.

La determinación de fructosamina sérica no se vio alterada con respecto al sexo del paciente, esto es debido a que la formación de los productos de la glucosilación (fructosamina sérica) no se ve influenciada por factores hormonales . Esto concuerda con lo que otros autores han informado (11, 12, 13, 14, 16). No se observaron diferencias significativas de acuerdo a la raza, ya que la cantidad de albúmina en la sangre no se ve influenciada por esta. La determinación de fructosamina sérica no tuvo una diferencia significativa entre las diferentes edades de los perros de el estudio, esto demuestra la importancia de este analito en el diagnóstico, al no verse modificado por diferentes variables.

Por otro lado diversos, autores se han preocupado por estudiar los valores de referencia de diferentes especies tal es el caso de Fleitas y colaboradores que realizaron un estudio en conejos, encontrando como resultado una media de 274 $\mu\text{mol/L}$. En seres humanos los valores de referencia de fructosamina sérica han sido estudiados debido a la gran importancia que tiene hoy en día la *Diabètes mellitus* ya que conlleva a múltiples complicaciones y es una de las primeras causas de muerte en el mundo. Estos valores han sido informados por diferentes autores siendo Jonson (1982) uno de los más importantes, el encontró en su estudio 169 $\mu\text{mol/L} \pm 0.23$; Baker por su parte en 1985, informo 237 ± 0.25 $\mu\text{mol/L}$, en 1987 Mosca 240 $\mu\text{mol/L} \pm 0.24$, Kaiser 211 $\mu\text{mol/L} \pm 0.16$, Krantz 1987 185 $\mu\text{mol/L} \pm 0.26$, Gottshling 1990 217 $\mu\text{mol/L} \pm 0.22$, Elena Muñoz R. y colaboradores recientemente encontraron en su investigación el valor de fructosamina sérica de 200 $\mu\text{mol/L} \pm 0.16$. La Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2139, Corrientes Argentina informa en un estudio realizado a becerros destetados un valor de referencia de 297 ± 0.35 $\mu\text{mol/L}$. En gatos la Facultad de Medicina Veterinaria de China informa un valor de referencia de 150-270 $\mu\text{mol/L}$. Todos estos estudios son similares a los realizados en perros por diferentes investigadores. Lo cual sugiere la importancia que ha tomado

la medición de proteínas glucosiladas en este siglo como diagnóstico de la *Diabetes mellitus* y otras enfermedades.

CONCLUSIONES

La glucosa sanguínea en altas concentraciones actúa como una llave en el mecanismo de la formación de productos de la Glucosilación Avanzada por ser capaz de unirse a los grupos aminos de las proteínas de vida media larga.

Se puede decir que el análisis de fructosamina sérica en perros es de gran utilidad, así como la implementación de este analito en el laboratorio de Patología Clínica para el diagnóstico y seguimiento del tratamiento de perros con *Diabetes mellitus*.

La determinación de fructosamina sérica por medio del método de reducción de nitroazul de tetrazolium es rápida y no requiere de equipos de difícil manejo.

La glucemia, en condiciones normales, sufre grandes variaciones a lo largo del día, debido al estrés, ejercicio, alimentación o tratamiento con algunos fármacos. Por lo tanto, un único análisis de glucosa refleja la concentración de glucemia que tiene el animal en el momento en el que se ha recogido la muestra, pudiendo no ser suficiente para el diagnóstico y sobre todo para el control del tratamiento.

La concentración de fructosamina sérica nos indicará los niveles de glucemia que ha tenido el animal durante una a dos semanas anteriores al análisis.

La hiperglucemia aguda no produce cambios significativos en la concentración de la fructosamina.

La prueba de fructosamina sérica puede ser utilizada para evaluar el control glucémico del diabético, y su utilización sería una herramienta de trabajo que puede contribuir a la disminución de las complicaciones secundarias de este tipo de pacientes debido a la formación de productos de la glucosilación avanzada, repercutiendo favorablemente en la tasa de mortalidad por esta enfermedad.

El coeficiente de regresión en perros sanos indica un grado de asociación entre la glucosa y la fructosamina, por lo tanto la determinación de fructosamina sérica puede ayudar a descartar falsos positivos o falsos negativos que se hayan obtenido mediante la medición de glucosa sanguínea.

Si bien existen ventajas en la utilización de la fructosamina, no se debe descartar la determinación de glucosa sanguínea en el diagnóstico de *Diabetes mellitus*.

Este estudio indica que un único análisis de fructosamina no es suficiente para dar un valor de referencia, sin embargo estos valores se

pueden utilizar para estudios posteriores como preliminares para el monitoreo de pacientes diabéticos.

Las heterogéneas investigaciones realizadas a diferentes especies nos indica el grado de importancia que tiene este analito en el mundo actual.

Literatura Citada

1. Actis Dato Sara M., Rebolledo Oscar. La glucosilación y glicosidación de las lipoproteínas y su importancia en la *diabetes mellitus*. Volúmen 60 N° 5/1 2000. Available from: URL:<http://www.medicinabuenaosaires.com/vol60-00/5-1/glicacion.htm>
2. Ayra Rivas Manuel y Díaz Horta Oscar, Instituto Nacional de Endocrinología. Productos de la glucosilación avanzada y diabetes mellitus. Rev Cubana End 1999;10(1):57-64 Available from: URL:http://www.bvs.sld.cu/revistas/end/vol10_1_99/end08199.htm
3. González Flecha, F L; Castello, P R.; Gagliardino, J J; Rossi, J P F C. La Glicación De Las Proteínas Y Su Participación En Enfermedades Humanas Instituto De Química Y Fisicoquímica Biológicas, Uba - Conicet Centro De Endocrinología Experimental Y Aplicada, Unlp - Conicet. Volumen 10 - N° 58 Agosto/Septiembre 2000
4. Gugliucci A. *glucosilación de proteínas: rol protagónico de la hiperglicémia en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus*. Rev Med Uruguay 2000; 16: 58-75. Available from: URL: <http://www.smu.org.uy/publicaciones/rmu/2000v1/art9.htm>
5. Mansilla M.A., Caro M., Matamoros R. Ve uthey C., M. Andaur. Determination of Fructosamine in Dogs from Temuco and Valdivia. Available from: URL:

<http://www.veterinaria.uchile.cl/publicacion/congreso/ciencia/V21cie%7E1.doc>

6. Fructosamine and Glycosylated Hemoglobin. Available from: URL: <http://www.Antechdiagnostics.Com/Clients/Antechnews/2000/1-00.Htm>
7. Hunter E. Bates, DVM; Perry J. Bain, DVM, PhD; Paula M. Krimer, DVM, DVSc; and Kenneth S. Latimer, DVM, PhD. Fructosamine Measurement in Diabetic Dogs and Cats. Class of 2003 (Bates) and Department of Pathology (Bain, Krimer, Latimer), College of Veterinary Medicine, The University of Georgia. Available from: URL: <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Bates/>
8. Reusch CE, Gerber B, Boretti FS. Serum fructosamine concentrations in dogs with hypothyroidism. Vet. Res. Commun. 2002 Oct;26(7):531-536. Available from: URL: <http://www.springerlink.com/media/3G26VVOHRL6854QMHQVL/Contributions/J/0/6/8/J068566484461700.pdf>
9. Coppo, J.A. 1; Mussart, N.B. Apoyatura Bioquímica Al Diagnóstico Veterinario. Casuística Registrada Tras 25 Años De Funcionamiento De Un Servicio De Análisis Clínicos. Rev. Vet. 10/11, 1 y 2, 1999-2000. Available from: URL: <http://www.vet.unne.edu.ar/revista/10y11/apoyatura.pdf>

10. Coppo, J. A., Coppo, N. B. Memoria Molecular De Cetoaminas Plasmáticas Y Hemoglobinas Glicosiladas Para Indagar El Estado Del Metabolismo Hidrocarbonato. Trabajo presentado en la 2ª Reunión Latinoamericana de Fisiología, Facultad de Ciencias Exactas, UNRC, Río Cuarto (Córdoba), diciembre de 1996. Available from: URL:<http://www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt/index.php?option=content&task=view&id=16>
11. Muñoz Rodríguez Elena, Bonne Jiménez Ofelia. Abreu Díaz Moraima, Valdés del Sol Carmen. Utilidad de la fructosamina sérica en pacientes diabéticos. *Rev Cubana Med Milit* 1997; 26(1):75-79 Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto".
12. Jensen A. L., Aaes H. Reference interval and critical difference for canine serum fructosamine concentration. *Vet. Res.* 1992 16: 317-325.
13. Loste Araceli, Marca M. Carmen. Fructosamine and Glycated Hemoglobin in the Assessment of Glycaemic Control in Dogs. *Vet. Rest* 2001.32 55-62.
14. Loste, A., Marca, M.C., Unzueta A., Pérez M. Utilidad Clínica De La Fructosamina Y Hemoglobina Glicosilada En El Diagnóstico De Diabetes *Mellitus* E Insulinoma En El Perro. *Med Vet* 2001 vol 18 (9) 522-526

15. Pérez Alenza M^a Dolores. Tratamiento Dietético En *diabetes mellitus* Canina. Hospital Clínico Veterinario Facultad de Veterinaria Universidad Complutense. Available from: URL: <http://www.veterinaria.org/asociaciones/apuntesvet/Dietetica/diabetes.doc>
16. Rodríguez Enríquez Yanik. Interpretaciones recientes sobre el metabolismo lipídico en la resistencia de Insulina. Revista Cubana Aliment Nutr 2002; 16 (1): 54-62. Available from: URL: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_1_02/ali09102.htm
17. Fleitas Estévez Andrés, Simón Carballo Rafael, Almeida Gisela, Quintela Pena Ana M., Alfonso María Antonia. Modelo Experimental De Diabetes En Conejos. Rev Cubana Angiol y Cir Vasc 2000; 1(1):10-4. Available from: URL: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ang/vol1_1_00/ang03100.pdf
18. García Villalón A.L. Productos Avanzados de la Glicosilación. Available from: URL: http://www.uam.es/personal_pdi/medicina/alquilla/db/age.html
19. Medicina para el siglo XXI. Adherencia al Endotelio Vascular, Precursor de la Arterogénesis. Journal of Clinical Investigation, sept, 1995. Available from: URL: <http://iladiba.com.co/revista/1995/10/avcar.asp>.

20. Coppo J.A., Coppo N.B. Serum Fructosamine: A Reference Interval for a heterogeneous canine population. *Veterinary Research Communications*, 21 (1997) 471-476. Available from: URL: <http://www.springerlink.com/media/320E3XKULLDXXKU2QRRQ/Contributions/H/5/8/N/H58N430R0157WX85.pdf>
21. González Flecha, F L; Castello, P R; Gagliardino, J J; Rossi, J P F C. La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. *Revista Ciencia al Día Internacional* 2002, Vol3. No 2. Available from: URL: <http://www.ciencia.cl/CienciaAlDia/volumen3/numero2/articulos/v3n2a2v1.PDF>
22. Jensen A. L. Serum fructosamine in canine diabetes mellitus an initial study. *Vet. Res.* 1992 16:1-9.
23. Mamposo Solano M. *et al.* Especies Reactivas de Oxígeno en el Paciente Diabético Insulinodependiente con Retinopatía Diabética. *Rev Cubana Endocrinol* 2000 11 (3): 181-188. Available from: URL: http://www.bvs.sld.cu/revistas/end/vol11_3_00/end07300.pdf
24. R. Matamoros, C. Gómez, M. Andaur, Hormones Of Diagnostic Value In Veterinary Medicine. *Arch. med. vet.* vol.34 no.2 Valdivia July 2002. Available from: URL: http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301732X2002000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=es

25. Ruiz Maximino. Boletín PROAPS-REMEDIAR. Año 2 -Nº9 Abril 2004.
Available from: URL: <http://www.remediar.gov.ar/pdf/boletin9.pdf>
26. Muñoz Rodríguez Elena, Bonne Jiménez Ofelia, Abreu Díaz Moraima, Valdés Del Sol Carmen. Utilidad de la fructosamina sérica en pacientes diabéticos. Rev Cubana Med Milit 1997; 26(1):75-79.
Available from: URL: <http://www.unne.edu.ar/cyt/2001/3Medicas/MIndice.htm>
27. Mussart, Norma B. - Coppo, Diego J. Valores plasmáticos de fructosamina y glucosa según hábitos de vida en ancianos del NEA afectados por trastornos crónicos. Cátedra de Fisiología General - Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales - UNAM. Available from: URL: <http://www.unne.edu.ar/cyt/2001/3-Medicas/M-005.pdf>
28. Olmos Coelho Pablo, Gatica Gattamelati María Pía, Arriagada Oyarzo Pablo. Proteínas glicosiladas en fisiopatología de la nefropatía diabética. Boletín Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. 1998 Vol 27, Num 1. Available from: URL: <http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/Boletin/html/Etica/Etica10.html>
29. Cheyla Romay Panabad. Fructosamina: Su evaluación y su Utilidad Clínica Rev Cubana Endocrinol. 1997; 8 (2): 165-170. Available from: URL: http://www.bvs.sld.cu/revistas/end/vol8_2_97/end08297.htm

30. Vaccaro, Mariana; Gasparini, Victoria; Feijoo, Silvia. Diabetes mellitus en felinos. Asociación Argentina de Medicina Felina. Available from: URL: http://www.aamefe.org/diabetes_melli_fel.htm
31. R. J. Mellanby and M. E. Herrtage. Insulinoma in a normoglycaemic dog with low serum fructosamine. *Journal of Small Animal Practice* (2002) 43, 506–508. Available from: URL:http://saturn.bids.ac.uk/cgi-bin/ds_deliver/1/u/d/ISIS/18311664.1/bva/jsap/2002/00000043/00000011/art01299/B761C17363F505581116028754855606595B490FA4.pdf?link=http://www.ingentaconnect.com/error/delivery&format=pdf
32. Ayra Rivas Manuel, Díaz Horta Oscar y Rendón Herrera Alexis. Aislamiento de productos finales de la glucosilación avanzada por cromatografía de afinidad. *Rev Cubana Endocrinol* 2000; 11(1):18-22. Available from: URL: http://www.bvs.sld.cu/revistas/end/vol11_1_00/end04100.pdf
33. Cristina Grande Aragón. Glicación no enzimática de proteínas: Importancia en el diagnóstico y control de la gestante diabética. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, Madrid febrero 1992.
34. R. Rodríguez Orozco Alain, Leyva Jiménez Rafael, Álvarez Aguilar Cleto, Cortés Arredondo Martha, Farías Rodríguez Víctor M. Enfermedad renal en el diabético. Bases inmunológicas de la fibrosis

- tubulointerstial y la glomeruloesclerosis. Enfoque terapéutico actual. Revista Alergia México 2004; 51(4):155-61. Available from: URL: <http://www.nietoeditores.com.mx/enviar.php?type=2&id=1115>
35. Medicina para el siglo XXI. Productos de la Glicosilación Avanzada (AGE Products) y Complicaciones Crónicas. Available from: URL: <http://iladiba.com.co/revista/1995/01/arfon.asp>.
36. Metz B.C., Bravo Z.M. Bases moleculares y celulares del envejecimiento. Revista de estudios médicos humanísticos. Vol. 8, No. 8 Available from: URL: <http://escuela.med.puc.cl/publ/ArsMedica/ArsMedica8/Art03.html>
37. Zhaoxin Tang. Veterinary Clinical Pathology College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, China. Available from: URL: <http://www1.scau.edu.cn/dwyxx/vet2005/share/uploadfiles/85..ppt>
38. COPPO, J.A. El destete precoz del ternero causaría alarma simpática meduloadrenal en lugar de estrés corticoadrenal. InVet 2004 Volumen 6, número 1: xxx-xxx. Available from: URL: <http://www.fvet.uba.ar/invet/coppo.pdf>
39. Daniel W. Bioestadística, 4a edición. México: editorial Limusa, 2002.

Tabla 1. Factores que influyen en la glucosilación protéica.

Grado y duración de la hiperglicemia
Vida media de la proteína circulante o tisular
Permeabilidad del tejido a la glucosa
Porcentaje de carbohidrato de la proteína
Número de aminoácidos libres
Basicidad de la proteína
Accesibilidad y pK de los grupos aminos en la estructura protéica.

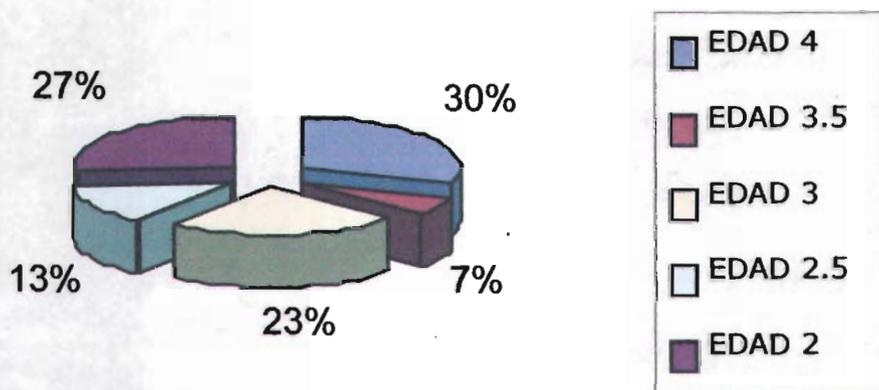
Tabla 2. Valores medios de glucosa y fructosamina en los perros a los que se les realizó el estudio.

Nº	RAZA	SEXO	EDAD (años)	GLUCOSA (mmol)	FRUCTOSAMINA (µmol)
1	1	Hembra	4	4.00	168
2	1	Hembra	3.5	7.00	255
3	1	Hembra	4	5.00	265
4	2	Macho	2	5.00	173
5	2	Hembra	2	4.00	184
6	2	Hembra	3	5.00	207
7	8	Hembra	2	5.00	202
8	8	Hembra	4	4.00	176
9	1	Macho	2.5	5.00	183
10	8	Hembra	2.5	5.00	148
11	1	Macho	2	5.00	176
12	3	Hembra	3	6.00	188
13	2	Macho	2	5.00	184
14	2	Macho	3	5.00	202
15	2	Macho	4	5.00	200
16	1	Hembra	4	3.00	160
17	1	Hembra	3	4.00	183
18	4	Hembra	4	4.00	234
19	1	Hembra	4	3.00	148
20	1	Hembra	4	4.00	149
21	1	Macho	2	5.00	181
22	1	Macho	2	4.00	186
23	9	Hembra	2.5	5.00	208
24	2	Macho	2	6.00	240
25	5	Hembra	4	4.00	186
26	6	Hembra	3	6.00	365
27	1	Macho	3.5	5.00	156
28	7	Macho	2.5	5.00	246
29	8	Hembra	3	6.00	189
30	8	Macho	3	5.00	170

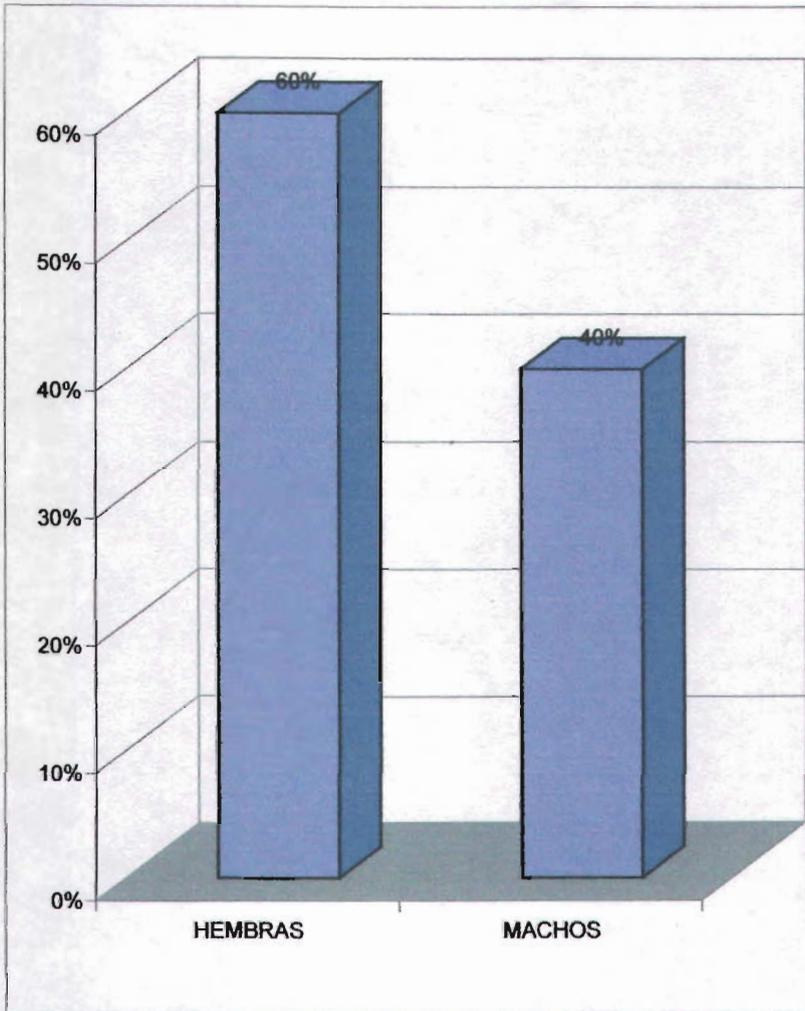
1. Pastor Alemán
2. Collie
3. Basset Grifón
4. Bernes de la Montaña
5. Poodle
6. Doberman
7. Cocker Spaniel
8. Mestizo
9. Schnauzer

Tabla 3. Valores de Referencia de Fructosamina sérica en diferentes especies.

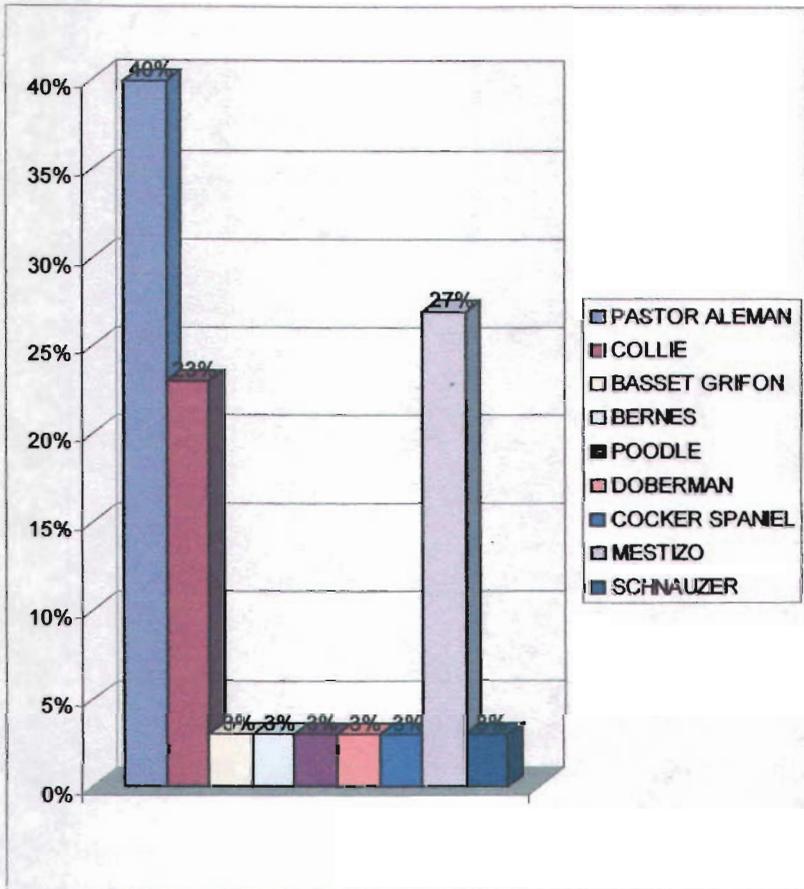
Autor (es)	n=	Especie	Fructosamina
Loste, A , Marca M: C Depto de Patología Universidad de Zaragoza, 2001	20	Perro	282.60± 34.72 µmol/L
Hunter E. Bates Perry J Bain, 2003	-----	Perro	258-343 µmol/L
Loste A. Marca M.C, 2001	125	Perro	276.0± 52.2 µmol/L
Mansilla, M.A, Matamoros R., 2000		Perro	210-380 µmol/L
J.A. COPPO AND N.B. COPPO Department of Physiology, School of Veterinary Sciences, National University of North-East, Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, 1997	11	Perro	270.0 µmol/L
Prof. Zhaoxin Tang College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, China, 2005	-----	Perro	250-350 µmol/L
Prof. Zhaoxin Tang College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, China, 2005	-----	Gato	150-270 µmol/L
Dr. Andrés S. Fleitas Estévez,1 Lic. Rafael Simón Carballo, Dra. Gisela Almeida,Lic. Ana M. Quintela Pena y Dra. María Antonia Alfonso, 2000	10	Conejo	2.74 mmol/L
Johnson 1982	83	Humano	169 ± 0,23 µmol/L
Baker 1985	38	Humano	237 ± 0,25 µmol/L
Mosca 1987	38	Humano	240 ± 0,24 µmol/L
Kaiser 1987	100	Humano	211 ± 0,16 µmol/L
Krantz 1987	184	Humano	185 ± 0,26 µmol/L
Gottschling 1990	52	Humano	217 ± 0,22 µmol/L
Dra. Elena Muñoz Rodríguez, Lic. Moraima Abreu Díaz y Tec. Carmen Valdés del Sol	200	Humano	200 ± 0,16 µmol/L
Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina.	60	Becerro	297±35 µmol/L



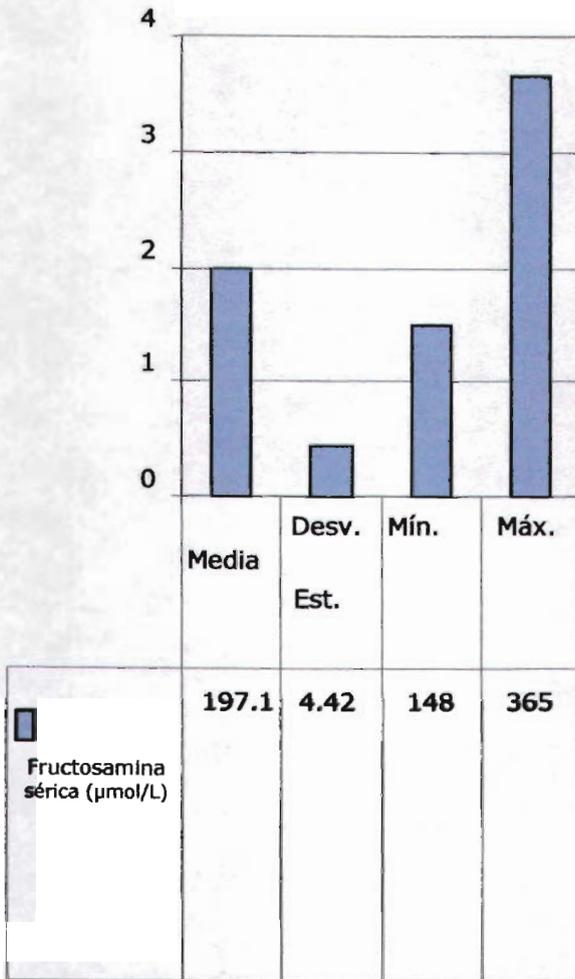
Gráfica 1. Porcentajes de las edades de los perros incluidos en el estudio.



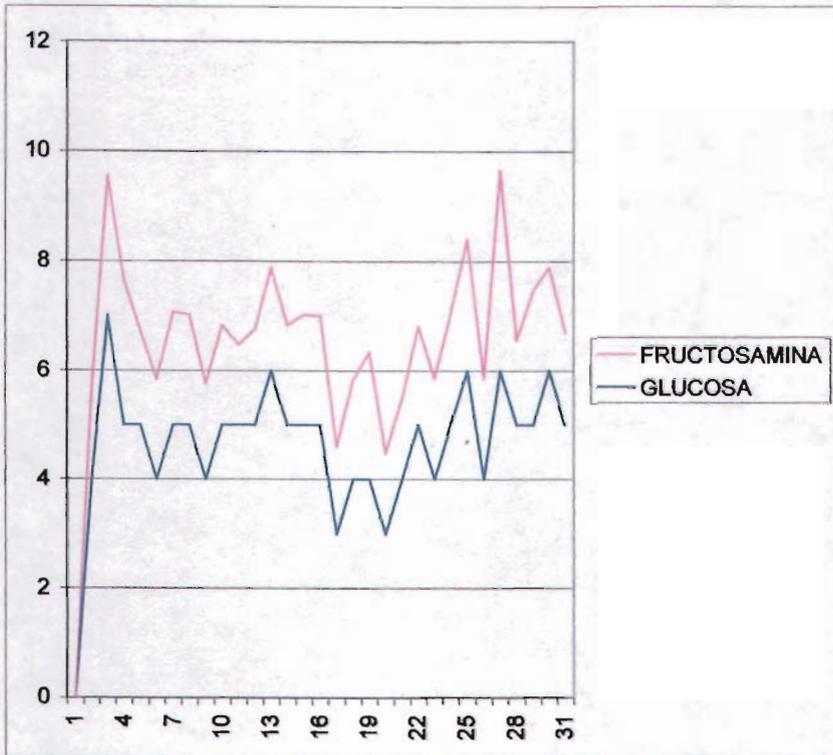
Gráfica 2. Frecuencia del género



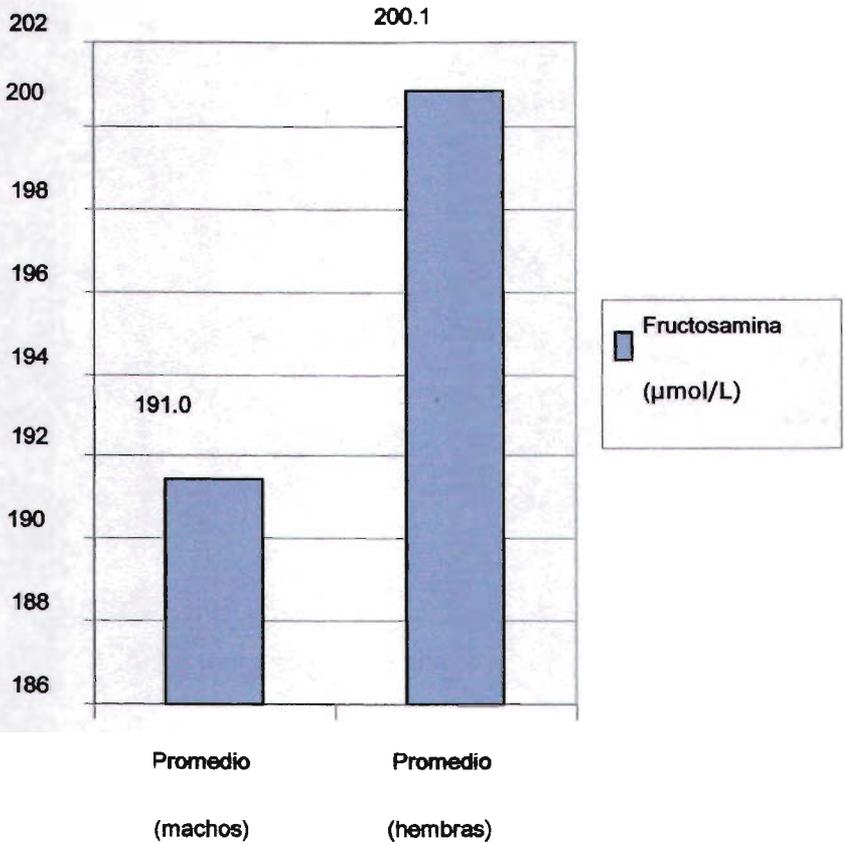
Gráfica 3. Frecuencia de las diferentes razas incluidas en el estudio.



Gráfica 4. Valores mínimos, máximos, media y desviación estándar expresada en $\mu\text{mol/L}$ de fructosamina sérica obtenidos en el estudio.

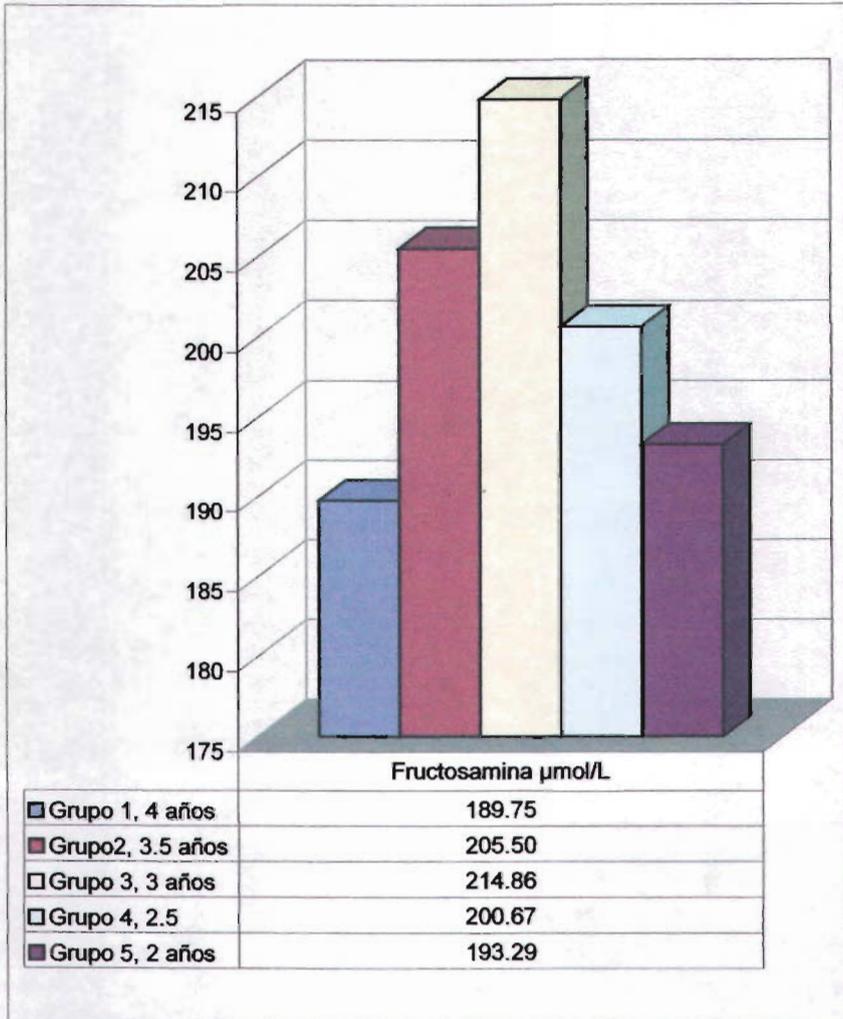


Gráfica 5. Concentraciones de fructosamina sérica y glucosa en perros sanos.

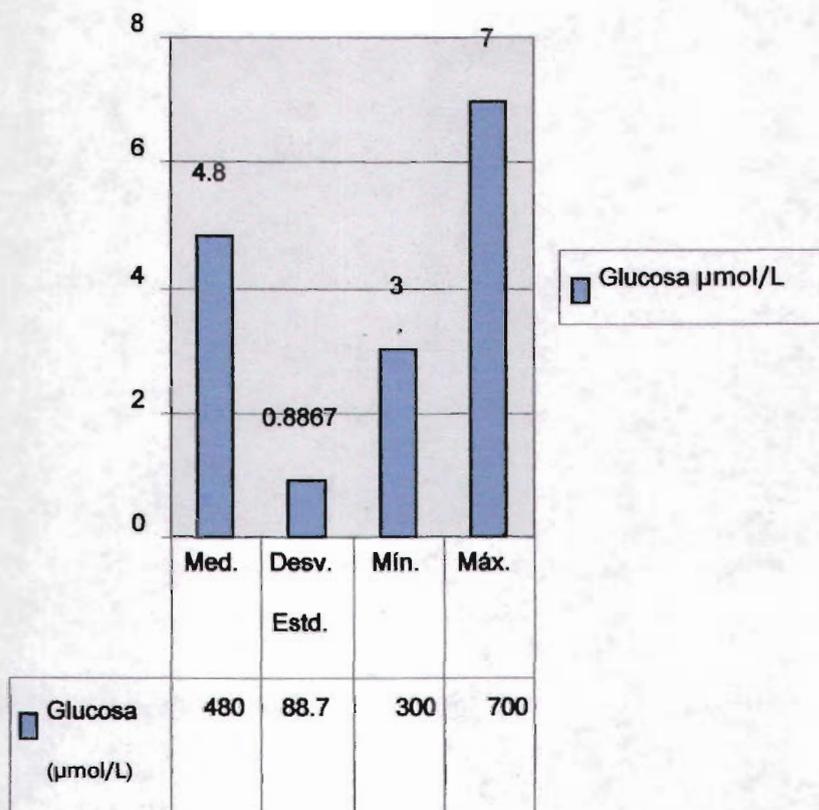


Gráfica 6. Promedio de fructosamina sérica en relación al sexo.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA



Gráfica 7. Promedio de fructosamina sérica con respecto a la edad.



Gráfica 8. Valores mínimos, máximos, media y desviación estándar expresada en $\mu\text{mol/L}$ de glucosa sérica obtenidos en el estudio