

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS
ENDOCRINOLOGIA

**Aplicabilidade da Estimativa da Hemoglobina Glicada a partir da
Albumina Glicada em Pacientes com Diabetes Mellitus Tipo 2 e Diferentes
Graus de Comprometimento Renal**

Ana Paula Costa de Aguiar

Porto Alegre, Fevereiro de 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS
ENDOCRINOLOGIA

**Aplicabilidade da Estimativa da Hemoglobina Glicada a partir da
Albumina Glicada em Pacientes com Diabetes Mellitus Tipo 2 e Diferentes
Graus de Comprometimento Renal**

Ana Paula Costa de Aguiar

Orientador: Prof(a) Dra. Joíza Lins Camargo

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de mestre à
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Médicas: Endocrinologia

Porto Alegre, Fevereiro de 2017.

Este estudo foi realizado no Serviço de Endocrinologia e no Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com o apoio financeiro da seguinte instituição: FIPE/HCPA

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	5
CAPÍTULO 1 REVISÃO DA LITERATURA.....	6
OBJETIVOS.....	27
CAPÍTULO 2 ARTIGO ORIGINAL	28

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora prof^a. Dra Joíza Lins Camargo pelo apoio, disponibilidade e aprendizado.

Aos meus pais e meu marido pelo incentivo e apoio incondicional durante toda minha formação.

À colega Priscila Aparecida Correa Freitas pela disponibilidade e auxílio durante a realização deste trabalho.

Aos demais colegas do Grupo de pesquisa em Diabetes Mellitus do Serviço de Endocrinologia pelas contribuições.

À toda equipe da Zona 14, em especial ao técnico Mauro, pelo auxílio indispensável durante as coletas de pesquisa.

À bioquímica Luciana Scotti e ao biomédico Alexandre Costa Guimarães pelo auxílio na realização dos exames laboratoriais.

Aos pacientes pela colaboração e voluntarismo sem os quais a pesquisa não poderia ser realizada.

Aos meus amigos e familiares pelo apoio e carinho.

Capítulo 1

Artigo de Revisão

APLICABILIDADE DA ALBUMINA GLICADA EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 E DOENÇA RENAL

Ana Paula Costa de Aguiar^{1,2}

Priscila Aparecida Correa Freitas^{1,3},

Joíza Lins Camargo^{1,4}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

²Secretaria Municipal da Saúde, Prefeitura de Cachoeirinha, RS.

³Laboratório de Imunologia e Transplantes, Hospital Dom Vicente Scherer, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

⁴Serviço de Endocrinologia e de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

Correspondência:

Dra Joíza Lins Camargo
Serviço de Endocrinologia
Rua Ramiro Barcellos, 2350
Prédio Anexo - CPE, 4º andar
Porto Alegre - RS – Brasil 900035-006 Fone: 33598127 Fax: 33598777

RESUMO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica com alto índice de morbidade e mortalidade, sendo considerado um dos maiores problemas de saúde pública do século 21, afetando aproximadamente 415 milhões de pessoas. As complicações em longo prazo do DM incluem a doença renal, a qual pode levar à falência renal, a retinopatia com perda potencial da visão e neuropatia, bem como o risco de amputações. A hemoglobina glicada (A1c) é considerada o parâmetro de referência na avaliação do controle glicêmico de pacientes com DM. No entanto, a mensuração da A1c pode não ser adequada para avaliar as variações em curto prazo do controle glicêmico, devido ao longo tempo de vida dos eritrócitos (120 dias). Existem ainda algumas limitações do uso deste teste, como em pacientes com hemoglobinas variantes, persistência hereditária à hemoglobina fetal, anemia hemolítica, anemia renal, entre outros. A avaliação da glicação da albumina é considerada, por alguns autores, como um melhor marcador para o controle glicêmico do que a A1c, em situações onde a A1c é de difícil interpretação devido à presença de interferentes, uma vez que a glicação da albumina não é afetada pela alteração no tempo de sobrevivência das hemácias, como ocorre com a A1c. Atualmente, não há nenhum teste de albumina glicada (AG) disponível na rotina prática no Brasil, sendo um método limitado à pesquisa. No entanto, vários estudos mostram dados promissores em relação à AG e o controle do DM em situações específicas. Assim, a AG tem sido considerada um marcador alternativo no controle glicêmico e há necessidade de maior investigação sobre a utilização deste teste na prática clínica.

Palavras-chaves: Albumina glicada, hemoglobina glicada, diabetes mellitus, doença renal crônica.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease with high morbidity and mortality, being considered one of the biggest public health problems of the 21st century, affecting approximately 415 million people. Long-term complications of DM include renal disease, which can lead to kidney failure, retinopathy with potential loss of vision and neuropathy, as well as the risk of amputations. Glycated hemoglobin (A1c) is considered the reference in the assessment of glycemic control in patients with diabetes mellitus (DM). However, A1c measurement may not be adequate to evaluate the short-term variations of glycemic control due to the long lifespan of erythrocytes (120 days). There are also some limitations of using this test, such as in patients with variant hemoglobins, hereditary persistence to fetal hemoglobin, hemolytic anemia, renal anemia, among others. The evaluation of albumin glycation is considered by some authors to be a better marker for glycemic control than A1c in situations where A1c is difficult to interpret due to the presence of interferents, since albumin glycation is not affected by alteration in the survival time of red blood cells, as occurs with A1c. Currently, there is no glycated albumin (GA) test available in routine practice in Brazil, being a method limited to the research. However, several studies show promising data about GA in DM control in specific situations. Therefore, GA has been considered an alternative marker in glycemic control and there is a need of further investigation into the use of this test in clinical practice.

Keywords: Glycated albumin, glycated hemoglobin, diabetes mellitus, chronic kidney disease .

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é definido como um conjunto de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia decorrente de problemas no mecanismo de produção e/ou ação da insulina em tecidos periféricos (American Diabetes Association 2017). É uma doença crônica com alto índice de morbidade e mortalidade, sendo considerada um dos grandes problemas de saúde pública do século 21, afetando aproximadamente 415 milhões de pessoas. Em 2040, a previsão é de que os casos de DM aumentarão para 642 milhões (International Diabetes Federation 2015). No Brasil em 2013, a Pesquisa Nacional de Saúde estimou que, no País, 6,2% da população com idade igual ou superior a 18 anos relataram diagnóstico de diabetes, ocorrendo em maior proporção nas mulheres (7%) em relação aos homens (5,4%) (IBGE 2014).

No início do século 21, estimou-se que 5,2% de todos os óbitos no mundo estavam relacionados ao DM, tornando essa doença a quinta principal causa de morte. Parcela importante desses óbitos é prematura, ocorrendo quando ainda os indivíduos contribuem economicamente para a sociedade (Roglic *et al.*, 2005). Adicionalmente sabe-se que a doença é subdiagnosticada, pois frequentemente, na declaração de óbito não se menciona DM pelo fato de serem suas complicações, particularmente as cardiovasculares e cerebrovasculares, as causas da morte (International Diabetes Federation 2015).

Muitos pacientes com diabetes ficam incapazes de continuar a trabalhar em decorrência de complicações crônicas ou adquirem com alguma limitação que prejudicam seu desempenho profissional, ficando difícil estimar os custos pela perda de produtividade. Entretanto, em algumas situações nas quais se tem feito esse cálculo, tais custos representam uma importante parcela dos gastos. Em 2012, as estimativas para os EUA dos custos diretos para o tratamento da doença foram de 176 bilhões de dólares em relação ao 69 bilhões de dólares para as despesas decorrentes da perda de produtividade (American Diabetes Association 2013).

1. COMPLICAÇÕES DO DM

As complicações em longo prazo do DM incluem a doença renal, a qual pode levar à falência renal, a retinopatia com perda potencial da visão e neuropatia, bem como o risco de

amputações (American Diabetes Association 2017). A retinopatia diabética (RD), que acontece tardiamente, ocorre em mais de 90% das pessoas com DM tipo 1 e em 60% dos casos de diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Essa complicação está presente, sobretudo em pacientes com longo tempo de doença e difícil controle glicêmico. A RD é a causa mais frequente de cegueira adquirida que compromete pessoas em idade produtiva, constituindo importante fator de morbidade com elevado impacto social econômico (Klein *et al.*, 1984).

As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis por mais de 50% das mortes em pacientes com DM tipo 2 e também por 30% das internações em centros de tratamento intensivo (World Health Organization 2006; Scheffel *et al.*, 2004). Muitos dos efeitos crônicos do DM estão relacionados com a glicação das proteínas (Camargo *et al.*, 2004; Thornalley *et al.*, 1999) que altera o metabolismo de lipídios e proteínas (Lima 2010; Okuda 2012) e correlaciona-se independentemente com o desenvolvimento de doença aterosclerótica (Okuda 2012; Lima 2010; Baumann *et al.*, 2009). Algumas pesquisas demonstram relação entre algumas destas proteínas com o desenvolvimento de complicações macrovasculares no DM (Okuda 2012; Lima 2010; Baumann *et al.*, 2009; Masumi *et al.*, 2009; Jin *et al.*, 2009, Yamada *et al.*, 2008).

2. MONITORAMENTO DO DM

2.1 Hemoglobina glicada (A1c)

A hemoglobina glicada (A1c) é considerada o parâmetro de referência na avaliação do controle glicêmico de pacientes com DM, indicando os níveis de glicemias dos últimos 2 a 4 meses. Conforme demonstrado pelos estudos *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) e *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS), a A1c é um preditor das complicações crônicas do DM, sendo que intervenções que acarretam redução ou normalização da A1c resultam em diminuição do risco de desenvolvimento de tais complicações. O tratamento deve ter como objetivo a normalização dos níveis glicêmicos. Baseado nos dados do DCCT e UKPDS recomenda-se atingir valores de A1c <7,0% (Sacks *et al.*, 2011).

No entanto, a mensuração da A1c pode não ser adequada para avaliar as variações em curto prazo do controle glicêmico, devido ao longo tempo de vida dos eritrócitos (120 dias) (Kohzuma *et al.*, 2010). Existem ainda algumas limitações do uso deste teste, como em pacientes com hemoglobinas variantes, persistência hereditária à hemoglobina fetal e anemia hemolítica, onde os valores de A1c apresentam valores inferiores em relação à glicemia porque a sobrevivência dos eritrócitos é reduzida nestes pacientes (Suzuki *et al.*, 2013; Miyazaki *et al.*, 2012; Koga *et al.*, 2011). Já indivíduos com anemia por deficiência de ferro, apresentam valores mais elevados de A1c devido ao aumento do tempo de sobrevivência dos eritrócitos, expondo-os a um maior tempo de glicação (Ford *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2010; Silva 2010; Koga *et al.*, 2009). Estudos recentes mostram que a etnia também influencia nos valores da A1c. Indivíduos afrodescendentes possuem níveis mais elevados de A1c do que pacientes brancos para valores iguais de glicemia, sendo que as razões da discrepância ainda não estão elucidadas (Ziemer *et al.*, 2010).

2.2 Glicemia Média Estimada pela A1c

Existe uma correlação entre os níveis de A1c e os níveis médios de glicose sanguínea que inicialmente foram determinados pelo DCCT, onde 7% corresponde a uma glicemia média estimada de 170 mg/dL (Rohlfing *et al.*, 2002). Em 2008, o estudo A1c-Derived Average Glucose Study Group (ADAG) revisou os valores inicialmente indicados pelo DCCT, e introduziu um novo conceito de glicemia média estimada pela A1c, onde 7% corresponde a 154 mg/dL (Nathan *et al.*, 2008). Estes estudos mostraram que a relação da A1c e glicemia é previsível e pode ser resumida por equações matemáticas. Esta relação pode ser utilizada para estabelecer os valores de glicose, e vice-versa, apropriados para cada paciente, para que os valores de A1c recomendados possam ser alcançados e mantidos. Na prática, os pacientes que mantiverem seus níveis glicêmicos médios ao redor de 150-170 mg/dL alcançarão o valor - alvo de 7% recomendado para A1c. Este cálculo está disponível no link <http://professional.diabetes.org/glucosecalculator.aspx>.

2.3 Albumina Glicada (AG)

A albumina corresponde a 80% do total de proteínas que são glicadas na circulação (Cohen 2003). A estrutura altamente flexível da albumina permite o arranjo de várias moléculas em sua estrutura. Entre as funções fisiológicas da albumina estão o transporte de

uma ampla variedade de substâncias, e a manutenção do volume plasmático circulante, devido ao seu peso molecular relativamente baixo e à sua alta concentração além de exercer papel importante no equilíbrio ácido-básico, na atividade antioxidante, e na reserva de aminoácidos. Além disso, a albumina tem sido utilizada para avaliar estado nutricional (Santos *et al.*, 2004), função renal (Almeida 2010) e mais recentemente o nível glicêmico, através da medida da albumina glicada (AG) (Koga *et al.*, 2010; Kohzuma *et al.*, 2010). Como a hemoglobina, a albumina também sofre uma reação de glicação não enzimática, formando o composto estável e irreversível denominado AG, um índice de controle glicêmico em curto prazo (Anguizola *et al.*, 2013).

A glicação da albumina é considerada, por alguns autores, como um melhor marcador do controle glicêmico do que a A1c, uma vez que a glicação da albumina não é afetada pela alteração no tempo de sobrevivência das hemácias, como ocorre com a A1c (Bry *et al.*, 2001). Em algumas condições clínicas, como anemia, gravidez, mulheres na pré-menopausa, hiperglicemia pós-prandial, pacientes com DM tipo 1 e com DM tipo 2 em uso de insulina, a AG reflete melhor o controle glicêmico do que A1c (Koga *et al.*, 2010).

Uma comparação realizada entre dosagens de AG e A1c em indivíduos com DM tipo 2 mostrou que a AG diminui mais rapidamente durante o tratamento intensivo com insulina do que a A1c (Takahashi *et al.*, 2007).

Recentemente, dados do DCCT, mostraram que A1c e AG apresentam relações similares com as complicações microvasculares nos pacientes diabéticos, podendo a AG também ser considerada como um bom marcador para estas complicações (Nathan *et al.*, 2014). Além disso, os níveis de AG aumentam antes dos níveis de A1c quando há piora do controle glicêmico em curto prazo (Koga 2014).

AG pode ser influenciada por alterações no metabolismo da albumina. Quando ocorre uma diminuição no metabolismo de albumina por hipotireoidismo, cirrose hepática ou emagrecimento, os níveis de AG podem estar altos. Ao contrário, quando ocorre aumento do metabolismo de albumina como, por exemplo, hipertireoidismo, síndrome nefrótica, obesidade, síndrome de Cushing, administração de glicocorticoides, tabagismo, os níveis de AG podem estar baixos (Koga 2014).

Vários métodos podem ser empregados na quantificação de AG, entre eles a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia de afinidade, imunoenaios, incluindo também a quantificação por radioimunoensaio, imunoenzimático (ELISA),

colorimetria e eletroquímica (Roohk & Zaidi 2008; Kouzuma *et al.*, 2004). No entanto, estes métodos apresentam algumas desvantagens como, por exemplo, necessidade de pré-tratamento das amostras e procedimentos analíticos complicados. A fim de determinar a AG com maior facilidade, rapidez e especificidade, o método enzimático ou de protease específica para determinação de AG foi introduzido (Kouzuma *et al.*, 2004; Kouzuma *et al.*, 2002).

No entanto, a dosagem de AG pela metodologia enzimática ainda está restrita a pesquisa e atualmente, não há nenhum teste de AG disponível na rotina prática no Brasil. Recentemente, nosso grupo validou e comparou dois métodos para a dosagem de AG em uma plataforma automatizada (Freitas *et al.*, 2016). Assim há necessidade de maior investigação sobre a utilização deste teste na prática clínica. (Peacock *et al.*, 2008).

3. DOENÇA RENAL CRÔNICA NO DM

A doença renal crônica (DRC) é considerada atualmente um problema de saúde pública e constitui uma das principais complicações nos pacientes com diabetes. Cerca de 20 a 40% dos pacientes com DM2 acabam evoluindo para doença renal do diabetes. Além disso, o número de pessoas com DRC que necessitam de diálise cresce de maneira preocupante. O censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia mostrou que 91 mil pacientes dependem de diálise no país (Sesso *et al.*, 2014).

Esse número tem relação direta com o aumento do DM, visto que, juntamente com a hipertensão arterial, o DM constitui a principal causa da DRC. Frente às evidências de que o controle glicêmico diminui a velocidade de progressão da insuficiência renal, é importante um bom controle da hiperglicemia desde estágios mais precoces da DRC (U.S. Renal Data System 2011).

3.1 Evolução da DRC no DM

As evidências sugerem que, logo depois do início do DM e, em especial quando os níveis sanguíneos de glicose estão elevados, o mecanismo de filtração renal é estressado, permitindo que as proteínas sanguíneas extravasem para dentro da urina. Em consequência

disso, a pressão nos vasos sanguíneos do rim aumenta. A pressão elevada serve como estímulo para o desenvolvimento da nefropatia. À medida que a função renal diminui, o paciente geralmente apresenta falência de múltiplos sistemas (Smeltzer & Bare, 2002).

A coexistência de diagnósticos de DM e hipertensão aumenta drasticamente o risco de desenvolver insuficiência renal, como também aumenta as complicações em vários órgãos. Pessoas com diabetes e hipertensão não somente têm uma alta propensão à insuficiência renal, como também aumenta a prevalência do risco cardiovascular, incluindo dislipidemia, microalbuminúria, hiperuricemia, tendência trombótica e hipertrofia ventricular esquerda (Bakris *et al.*, 2000).

Os principais distúrbios patológicos renais de indivíduos com DM ocorrem no glomérulo. No diabetes mellitus, os glomérulos continuam a crescer com a evolução da doença. O aumento inicial do glomérulo deve-se, provavelmente, à proliferação da membrana basal, levando a maior superfície de filtração, sendo que posteriormente ocorre a expansão mesangial. O aumento no volume renal total é causado pela expansão do tecido tubular (Trevisan *et al.*, 1997).

Na microalbuminúria inicial, o clearance de albumina está elevado. Isso se deve a um aumento da pressão glomerular que favorece a filtração de proteínas (Myers *et al.*, 1982). Quando a microalbuminúria aumenta, ocorre um aumento desproporcional do clearance de albumina. Este fenômeno pode ser devido a uma perda da eletronegatividade da membrana basal, associada a alterações hemodinâmicas. Posteriormente, o tamanho do poro da membrana aumenta, a microalbuminúria evolui para macroalbuminúria, o ritmo de filtração começa a cair e a barreira de filtração perde sua capacidade seletiva. Finalmente, com o avanço da insuficiência renal, a proteinúria começa a ser de origem tubular e glomerular, a partir do momento em que os túbulos perdem sua capacidade em reabsorver parte da proteína filtrada (Trevisan *et al.*, 1997).

3.2 DRC e anemia

A DRC é considerada uma situação inflamatória que cursa com elevação sérica de inúmeros marcadores de inflamação. Esta condição inflamatória interfere na síntese e ação de eritropoietina, assim como na absorção intestinal de ferro e na sua mobilização dos estoques resultando em anemia (Weiss *et al.*, 2005). A anemia na DRC é caracteristicamente normocrômica, normocítica e com contagem de células vermelhas na medula óssea normal

ou diminuída, devido ao seu caráter hipoproliferativo. Sua principal causa é a deficiência de eritropoetina, devido à perda de massa renal, sítio principal de produção de eritropoetina (Abensur 2010).

Além disso, alguns estudos demonstraram que a presença de inflamação proveniente da própria da uremia ou relacionada às outras situações clínicas associadas (comorbidades), induz a uma resistência à ação da eritropoetina e a piora do quadro de anemia (De Maria *et al.*, 1999).

A prevalência de deficiência de ferro é muito comum na DRC e é em torno de 50%, sendo, portanto, ao lado da deficiência relativa de eritropoetina, as duas principais causas de anemia na DRC (Hutchinson *et al.*, 1997).

3.3. Monitoramento do DM na DRC

O teste da A1c é o método mais comumente usado no monitoramento do controle glicêmico do DM. No entanto, pacientes com DRC, apresentam várias condições, como anemia, uremia, uso de eritropoetina e tratamento por hemodiálise, que podem afetar os níveis de A1c e dificultar sua interpretação. Estudos mostram que a A1c apresenta valores mais baixos em relação à glicemia devido à anemia renal (Sacks *et al.*, 2011; Peacock *et al.*, 2008).

Em pacientes submetidos à diálise, a concentração de hemoglobina e pH do sangue são frequentemente anormais, e devido a isso a correlação entre os valores de A1c e glicose plasmática é significativamente alterada em comparação com as pessoas com DM não sujeitos a diálise (Peacock *et al.* 2008; Inaba *et al.*, 2007). Em adição, em pacientes com nefropatia crônica a presença de altas concentrações de uréia pode carbamilar a hemoglobina, levando a um aumento ou diminuição dos níveis de A1c, dependendo da metodologia utilizada (Sacks *et al.*, 2011; Weykamp *et al.*, 1993).

Devido às limitações no uso da A1c em pacientes com DRC, recentemente, a *American Diabetes Association*, a *American Society of Nephrology* e a *National Kidney Foundation* publicaram consenso comum sobre a doença renal diabética e recomendaram que para guiar as decisões específicas sobre a terapia, o controle glicêmico destes pacientes deva ser baseado no auto-monitoramento da glicemia (Tuttle *et al.*, 2014).

Nestas situações, a AG pode ser um marcador de controle glicêmico alternativo à A1c. Nas últimas décadas, estudos têm mostrados que o uso da AG está especialmente indicado em pacientes com DM submetidos à hemodiálise (Sany *et al.*, 2013; Freedman *et al.*, 2010), principalmente porque a AG não é afetada pela anemia renal (Peacock *et al.*, 2008; Inaba *et al.*, 2007; Chujo *et al.*, 2006). Em pacientes com doença renal diabética (fase 3 ou 4), apresentando proteinúria acentuada, foi notado que a AG mostra um valor menor em relação aos níveis de glicose no plasma. No entanto, foi encontrada maior correlação entre a AG com o controle glicêmico em pacientes com doença renal crônica avançada do que a A1c, porque AG não é influenciado pela vida do eritrócito ou pelo tratamento com eritropoietina (Freedman *et al.*, 2010; Peacock *et al.*, 2008; Inaba *et al.*, 2007).

3.4. Estimativa da A1c pela AG

Embora a A1c e AG mudem proporcionalmente com as concentrações plasmáticas de glicose e entre si, as discrepâncias entre estes valores continuam a ser um problema para a aplicação clínica. Tahara, 2009 analisou a conversão entre os valores de A1c e AG e verificou que um aumento de 1% na A1c corresponde a um aumento de 4% na AG. A equação de regressão linear utilizada para determinar esta conversão foi a seguinte: $eA1cAG = 0,216 \times AG + 2,978$. Outros autores (Inoue *et al.*, 2014; Jung *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2012) também avaliaram a correlação entre estes dois marcadores e estabeleceram equações matemáticas de conversão para estas variáveis em pacientes com DM e sem DCR. Estas equações são métodos e população dependentes e podem ser aplicadas para converter AG em A1c, o marcador glicêmico mais conhecido, e em concentrações de glicose para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes com DM.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A A1c é usada como o padrão de referência no controle glicêmico sendo que metas de valores de A1c são bem estabelecidas para garantir o controle adequado da doença e prevenir e/ou controlar as complicações crônicas associadas. No entanto, este teste pode ser influenciado por várias condições clínicas e pacientes nestas situações podem ter resultados

de A1c que não refletem o seu controle glicêmico verdadeiro, dificultando o manejo da doença baseado nos valores alvos de A1c recomendados pelas diferentes sociedades. A alternativa para a estimativa do controle glicêmico neste pacientes é tradicionalmente realizada através da medida da glicemia média pelo automonitoramento glicêmico. Esta prática é realizada pelo próprio paciente, muitas vezes sem controle adequado da técnica e é desconfortável devido ao número de punções capilares necessárias. A AG pode ser útil na determinação do controle glicêmico destes pacientes, podendo fornecer variações em curto prazo e também ser utilizada como ferramenta alternativa à A1c.

REFERÊNCIAS

- 1 Abensur H. Deficiência de ferro na doença renal crônica. **Rev Bras Hematol Hemoter** 2010; 32: 84-88.
- 2 Almeida, FA. Microalbuminúria como marcador precoce de comprometimento da função renal. **Rev Bras Hipertens** 2001; 8: 347-348.
- 3 American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus - Position Statement. **Diabetes Care** 2017; 37:11-24.
- 4 American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the USA in 2012. **Diabetes Care**. 2013; 36:1033-46.
- 5 Anguizola J, Matsuda R, Barnaby OS, Hoy KS, Wa C, DeBolt E, Koke M, Hage DS. Review: Glycation of human serum albumin. **Clin Chim Acta** 2013; 425:64-76.
- 6 Bakris GL, Williams M, Dworkin L, Elliott WJ, Epstein M, Toto R, Tuttle K, Douglas J, Hsueh W, Sowers J. Preserving renal function in adults with hypertension and diabetes: a consensus approach. **Am J Kidney Dis** 2000; 36: 646-661.
- 7 Baumann M, Richard T, Sollinger D, Pelisek J, Roos M, Kouznetsova T, Eckstein HH, Heemann U, Staessen JA. Association between carotid diameter and the advanced glycation endproduct nepsilon-carboxymethyllysine (CML). **Cardiovasc Diabetol** 2009; 8:45.
- 8 Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivates on assay for glycohemoglobin. **Clin Chem** 2001; 47:153-163.
- 9 Camargo JL, Gross JL. Glico-Hemoglobina (HbA_{1c}): Aspectos Clínicos e Analíticos. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2004; 48(4):451-463.
- 10 Chujo K, Shima K, Tada H, Oohashi T, Minakuchi J, Kawashima S. Indicators for blood glucose control in diabetics with end-stage chronic renal disease: GHb vs. glycated albumin (GA). **J Med Invest** 2006; 53: 223-238.

- 11 Cohen MP. Intervention strategies to prevent pathogenetic effects of glycated albumin. **Arch Biochem Biophys** 2003; 419(1): 25-30.
- 12 DCCT - The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med** 1993; 329:977-86.
- 13 De Maria R, Zeuner A, Eramo A, Domenichelli C, Bonci D, Grignani F, Srinivasula SM, Alnemri ES, Testa U, Peschle C. Negative regulation of erythropoiesis by caspase-mediated cleavage of GATA-1. **Nature** 1999; 401(6752):489-493.
- 14 Ford ES, Cowie CC, Li C, Handelsman Y, Bloomgarden ZT. Iron-deficiency anemia, non-iron-deficiency anemia and A1c among adults in the US. **J Diabetes** 2011; 3: 67-73.
- 15 Freitas PAC, Ehlert LR, Camargo JL. Comparison between two enzymatic methods for glycated albumin. **Analytical Methods** (Print) 2016; 8: 8173-8178.
- 16 Freedman BI, Shenoy RN, Planer JA, Clay KD, Shihabi ZK, Burkart JM, Cardona CY, Andries L, Peacock TP, Sabio H, Byers JR, Russell GB, Bleyer AJ. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A1c concentrations in diabetic subjects on peritoneal and hemodialysis. **Perit Dial Int** 2010 30(1):72-79.
- 17 Hutchinson FN, Jones WJ. A cost-effectiveness analysis of anemia bscreening before erythropoietin in patients with end-stage renal disease. **Am J Kidney Dis** 1997;29 (5):651-657.
- 18 IBGE. Pesquisa Nacional de Saúde 2013: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas. Brasil, grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro, IBGE, 2014, 180p.
- 19 Inaba M, Okuno S, Kumeda, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T, Okamura M, Okada S, Yamakawa T, Ishimura E, Nishizawa Y; Osaka CKD. Expert Research Group. Glycated albuminis a better glycemic indicator than glycated hemoglobinvalues in

- hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. **J Am Soc Nephrol** 2007; 18: 896–903.
- 20 Inoue K, Tsujimoto T, Yamamoto-Honda R, Goto A, Kishimoto M, Noto H, Kajio H, Doi S, Miyazaki S, Terauchi Y, Noda M. A newer conversion equation for the correlation between HbA1c and glycated albumin. **Endocr J** 2014; 61(6):553-560.
- 21 International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas [Internet]. 7aed. Brussels: International Diabetes Federation, 2015. Disponível em: <<http://www.diabetesatlas.org>>. Acesso em: 20/02/2017.
- 22 Jin C, Lu L, Zhang RY, Zhang Q, Ding FH, Chen QJ, Shen WF. Association of serum glycated albumin, C-reactive protein and ICAM-1 level with diffuse coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Clin Chim Acta** 2009; 408 (1-2): 45-49.
- 23 Jung CH, Hwang YC, Kim KJ, Cha BS, Park CY, Jeon WS, Kim JH, Jin SM, Rhee SY, Woo JT, Lee BW. Development of an HbA1c-based conversion equation for estimating glycated albumin in a Korean population with a wide range of glucose intolerance. **PLoS One** 2014;22;9 (4):e95729. doi10.1371/journal.pone.0095729.
- 24 Kim JK, Park JT, Oh HJ, Yoo DE, Kim SJ, Han SH, Kang SW, Choi KH, Yoo TH. Estimating average glucose levels from glycated albumin in patients with end-stage renal disease. **Yonsei Med J** 2012;53(3):578-586.
- 25 Kim C, Bullard KM, Herman WH, Beckles GL. Association between iron deficiency and A1c Levels among adults without diabetes in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. **Diabetes Care** 2010; 33:780-785.
- 26 Klein R, Klein BE, Moss SE. Visual impairment in diabetes. **Ophthalmology** 1984; 91:1-9.
- 27 Koga M. Glycated albumin; clinical usefulness. **Clin Chim Acta** 2014; 433C: 96-104.

- 28 Koga M, Hashimoto K, Murai J, Saito H, Mukai M, Ikegame K, Ogawa H, Kasayama S. Usefulness of glycated albumin as an indicator of glycemic control status in patients with hemolytic anemia. **Clin Chim Acta** 2011;412:253–257.
- 29 Koga M, Kasayama S. Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker. **Endocr J** 2010; 57: 751–762.
- 30 Koga M, Murai J, Saito H, Matsumoto S, Kasayama S. Usefulness of glycated albumin as a glycemic control marker after iron treatment for diabetic patients with iron deficiency anemia. **J Jpn Diab Soc** 2009; 52: 341-345.
- 31 Kohzuma T, Koga M. Lucica GA-L glycated albumin assay kit: a new diagnostic test for diabetes mellitus. **Mol Diagn Ther** 2010; 14: 49–51.
- 32 Kouzuma T, Uemastu Y, Usami T, Imamura S. Study of glycated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycated albumin measurement method. **Clin Chim Acta** 2004; 346:135–143
- 33 Kouzuma T, Usami T, Yamakoshi M, Takahashi M, Imamura S. An enzymatic method for the measurement of glycated albumin in biological samples. **Clin Chim Acta** 2002;324(1-2):61-71.
- 34 Lima MAS. Albumina modificada por glicação avançada no diabetes melito tipo 1 e 2 prejudica o transporte reverso de colesterol a favorece o acúmulo de lípidos em macrófagos. Tese, Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo (USP), 2010.
- 35 Masumi AI, Otokozama S, Schaefer EJ, Asztalos BF, Nakajima K, Shrader P, Kathiresan S, Meigs JB, Williams G, Nathan DM. Glycated albumin and direct low density lipoprotein cholesterol levels in type 2 diabetes mellitus. **Clin Chim Acta** 2009; 406 (1-2): 71-74.
- 36 Miyazaki, T. Kohzuma, S. Kasayama, M. Koga. Classification of variant forms of haemoglobin according to the ratio of glycated haemoglobin to glycated albumin. **Ann Clin Biochem** 2012; 49: 441–444.

- 37 Myers BD, Winetz JA, Chui F, Michaels AS. Mechanisms of proteinuria in diabetic nephropathy: a study of glomerular barrier function. *Kidney Int* 1982;21:633-41.
- 38 Nathan DM, McGee P, Steffes MW, Lachin JM; DCCT/EDIC Research Group. Relationship of glycated albumin to blood glucose and A1c values and to retinopathy, nephropathy, and cardiovascular outcomes in the DCCT/EDIC study. **Diabetes** 2014; 63(1):282-290.
- 39 Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. **Diabetes Care** 2008; 31:1473-1478.
- 40 Okuda LS. Albumina modificada por glicação avançada sensibiliza macrófagos à inflamação prejudicando o transporte reverso do colesterol e a atividade anti-inflamatória do HDL. Tese, Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo (USP), 2012.
- 41 Peacock TP, Shihabi ZK, Bleyer AJ, Dolbare EL, Byers JR, Knovich MA, Calles-Escandon J, Russell GB, Freedman BI. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A(1c) levels in diabetic subjects on hemodialysis. **Kidney Int** 2008; 7: 1062-1068.
- 42 Roglic G, Unwin N, Bennett PH, Mathers C, Tuomilehto J, Nag S, Connolly V, King H. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. **Diabetes Care** 2005; 28(9):2130-2135.
- 43 Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes Care** 2002 ; 25 (2):275-278.
- 44 Roohk HV, Zaidi AR. A review of glycated albumin as an intermediate glycation index for controlling diabetes. **J Diabetes Sci Technol** 2008; 8: 1114-11121.
- 45 Sacks DB , Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, Lernmark A, Metzger BE, Nathan DM. Executive summary: guidelines and recommendations

- for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. **Clin Chem** 2011; 57(6): 793-798.
- 46 Santos NSJ, Draibe SA, Kamimura MA, Cuppari L (39). Albumina sérica como marcador renal em pacientes com hemodiálise. **Rev Nut** 2004, 17(3): 339-349.
- 47 Sany Dawlat, Elshahawy Y, Anwar W. Glycated albumin versus glycated hemoglobin as glycemic indicator in hemodialysis patients with diabetes mellitus: variables that influence. **Saudi J Kidney Dis Transpl** 2013; 24 (2):260-273.
- 48 Scheffel RS, Bortolanza D, Weber CS, Costa LA, Canani LH, Santos KG, Crispim D, Roisenberg I, Lisbôa HRK, Tres GS, Tschiedel B, Gross JL. Prevalência de complicações micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes melito do tipo 2 em atendimento ambulatorial. **Rev Assoc Med Bras** 2004; 50: 263-67.
- 49 Sesso RC, Lopes AA, Thome FS et al. Report of the Brazilian Chronic Dialysis Census 2012. **J Bras Nefrol** 2014; 36: 48-53.
- 50 Silva JF [dissertação]. Anemia e diabetes: possíveis implicações na interpretação do controle glicêmico avaliado pelos níveis de hemoglobina glicada. Dissertação, Faculdade de Medicina Universidade do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2010.
- 51 Smeltzer SC, Bare BG. Histórico e tratamento de pacientes com diabetes mellitus. In: Tratado de enfermagem médico-cirúrgica. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap. 37.
- 52 Suzuki S, Koga M, Niizeki N, Furuya A, Matsuo K, Tanahashi Y, Tsuchida E, Nohara F, Okamoto T, Nagaya K, Azuma H. Evaluation of glycated hemoglobin and fetal hemoglobin-adjusted A1c measurements in infants. **Pediatr Diabetes** 2013; 14:267–272.
- 53 Tahara Y. Analysis of the method for conversion between levels of HbA1c and glycated albumin by linear regression analysis using a measurement error model. **Diabetes Res Clin Pract** 2009; 84 (3) : 224-229.

- 54 Takahashi S, Uchino H, Shimizu T, Kanazama A, Tamura Y, Sakai K, Watada H, Hirose T, Kawamori R, Tanaka Y. Comparison of glycated albumin (GA) and glycated hemoglobin (A1c) in type 2 diabetic patients: Usefulness of GA for evaluation of short-term changes in glycemic control. **Endocr J** 2007; 54 (1)139-144.
- 55 Thornalley PJ, Langborg A, Minhas HS. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. **Biochem J** 1999; 344: 109–116.
- 56 Trevisan R, Barnes DJ, Viberti G. Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. In: John Pickup J, Williams J. Text Book of Diabetes. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science; 1997. p.52.1-52.2
- 57 Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, Chiang JL, de Boer IH, Goldstein-Fuchs J, Hirsch IB, Kalantar-Zadeh K, Narva AS, Navaneethan SD, Neumiller JJ, Patel UD, Ratner RE, Whaley-Connell AT, Molitch ME. Diabetic kidney disease: a report from na **ADA** Consensus Conference. **Diabetes Care** 2014;37(10):2864-83
- 58 U.K. Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). **Lancet** 1998; 352:837-851.
- 59 U.S. Renal Data System (2011). **USRDS 2011 Annual Data Report: Chapter: Incidence, Prevalence, Patient Characteristics and Treatment Modalities**. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Kidney Diseases: Bethesda, MD, 2011.
- 60 Weiss G, Goodnough LT. Anemia of Chronic Disease. **N Engl J Med** 2005; 352:1011-1023.
- 61 Weykamp CW, Penders TJ, Siebelder CW, Muskiet FA, van der Slik W. Interference of carbamylated and acetylated hemoglobins in assays of glycohemoglobin by HPLC, electrophoresis, affinity chromatography, and enzyme immunoassay. **Clin Chem** 1993 Jan; 39 (1):138-142.

- 62** World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/ IDF Consultation. Geneva, World Health Organization, 2006.
- 63** Yamada S, Inaba M, Shidara K, Okada S, Emoto M, Ishimura E, Nishizawa Y. Association of glycated albumin, but not glycated hemoglobin, with peripheral vascular calcification in hemodialysis patients with type 2 diabetes. **Life Sci** 2008; 83(13-14): 516-519.
- 64** Ziemer DC, Kolm P, Weintraub WS, Vaccarino V, Rhee MK, Twombly JG, Narayan KM, Koch DD, Phillips LS. Glucose-Independent, Black-White differences in hemoglobin A1c levels. **Ann Intern Med** 2010;152: 770-777.

OBJETIVOS

Geral: Estimar o valor da A1c através da medida da AG em pacientes que não podem ter a A1c determinada devido à presença de fatores interferentes.

Específicos:

1) Estabelecer a associação/relação da A1c e AG em pacientes sem DM e com DM sem interferentes, e determinar uma equação de conversão entre as variáveis.

2) Aplicar a equação de conversão obtida para estimar a A1c em um grupo de pacientes com doença renal crônica (DRC), em diferentes graus de comprometimento renal, com ou sem anemia e/ou em hemodiálise e/ou em uso de eritropoietina.

Capítulo 2

ESTIMATIVA DA HEMOGLOBINA GLICADA (A1c) A PARTIR DA ALBUMINA GLICADA EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 COM DIFERENTES GRAUS DE COMPROMETIMENTO RENAL

Ana Paula Costa de Aguiar^{1,2}

Priscila Aparecida Correa Freitas^{1,3},

Joíza Lins Camargo^{1,4}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

²Secretaria Municipal da Saúde, Prefeitura de Cachoeirinha, RS.

³Laboratório de Imunologia e Transplantes, Hospital Dom Vicente Scherer, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

⁴Serviço de Endocrinologia e de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS.

Correspondência:

Dra Joíza Lins Camargo
Serviço de Endocrinologia
Rua Ramiro Barcellos, 2350
Prédio Anexo - CPE, 4º andar
Porto Alegre - RS - Brasil
900035-006 Fone: 33598127 Fax: 33598777

Resumo: Hemoglobina glicada (A1c) é utilizada para o controle glicêmico de pacientes com diabetes mellitus (DM), porém o ensaio é influenciado por algumas situações fisiopatológicas, inviabilizando seu uso, como em pacientes com doença renal crônica (DRC). Nestes casos, a glicemia média (GM) estimada pelas glicemias capilares no automonitoramento é usada para estimar a A1c por fórmulas (eA1c GM). Esta prática é realizada pelo próprio paciente, muitas vezes sem controle adequado da técnica e é desconfortável devido ao número de punções capilares necessárias. A albumina glicada (AG) é uma alternativa à A1c, uma vez que não é influenciada pelos mesmos interferentes da A1c, sendo o teste mais indicado para o acompanhamento do DM em pacientes com DRC. O objetivo deste estudo foi determinar uma equação de conversão para estimar a A1c a partir da AG em um grupo de pacientes com DRC. Este projeto foi aprovado no comitê de ética (GPPG 15-098) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram selecionados 275 pacientes com e sem DM atendidos no HCPA e determinado os seus níveis de A1c e AG. Foram excluídos indivíduos com anemia, uremia, hemoglobinopatias ou qualquer outra condição interferente aos testes. A equação da estimativa da A1c pela AG (eA1c AG) foi obtida por regressão de Demming. Após, aplicou-se esta equação em pacientes com DM e diferentes graus de comprometimento renal, com valores medidos de A1c e AG, e comparou-se a eA1c AG com a A1c medida e A1c estimada pela GM usando fórmulas já estabelecidas na literatura (eA1c GM; padrão de referência). A1c e AG apresentaram forte correlação ($R = 0,764$, $p < 0,05$) nos 275 pacientes e a equação obtida foi: $eA1c AG = 0,26xAG + 1,98$. A1c medida, eA1c GM e eA1c AG nos pacientes com DRC foram de $8,5 \pm 1,6\%$, $8,3 \pm 1,5\%$ e $8,3 \pm 1,0\%$, respectivamente. eA1c AG foi menor que a A1c medida nestes pacientes e mostrou maior concordância com a eA1c GM. As diferenças relativas entre a eA1c GM com A1c medida e eA1c AG foram $3,5 \pm 16\%$ e $2,4 \pm 15\%$, respectivamente. Houve uma correlação negativa fraca das diferenças entre A1c medida e eA1c GM com a taxa de filtração glomerular ($R = -0,269$; $p = 0,067$) e a hemoglobina total ($R = -0,294$; $p = 0,045$). A estimativa da A1c pela AG pode ser uma alternativa para avaliar o controle glicêmico nos pacientes com DRC. Porém são necessárias mais pesquisas para avaliar as vantagens da medida da eA1c AG em relação A1c medida em pacientes com DRC avançada.

Palavras-chaves: Albumina glicada, hemoglobina glicada, diabetes mellitus, glicemia média, doença renal crônica.

Agência Fomento: FIPE – HCPA

INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é considerada atualmente um problema de saúde pública e constitui uma das principais complicações nos pacientes com diabetes mellitus (DM). Cerca de 20 a 40% dos pacientes com DM tipo 2 (DM2) evoluem para doença renal do diabetes (1). Esse número tem relação direta com o aumento do DM, visto que, juntamente com a hipertensão arterial, o DM constitui a principal causa da DRC. Frente às evidências de que o controle glicêmico diminui a velocidade de progressão da insuficiência renal, é importante um bom controle da hiperglicemia desde estágios mais precoces da DRC (2).

A hemoglobina glicada (A1c) é o teste de referência no monitoramento da glicemia em pacientes com DM, no entanto este ensaio é influenciado por diversas situações fisiopatológicas, que inviabilizam seu uso em pacientes com DRC, como anemia, uremia, uso de eritropoietina e tratamento por hemodiálise, e dificultam sua interpretação (3-8). Estudos mostraram que a relação da A1c e glicemia é previsível e pode ser resumida por equações matemáticas (9,10). Nestes casos, a glicemia média (GM) estimada pelas glicemias capilares no auto-monitoramento é recomendada para estimar o controle glicêmico e guiar o manejo clínico do paciente (3). Esta prática é realizada pelo próprio paciente, muitas vezes sem controle adequado da técnica, e é desconfortável devido ao número de punções capilares necessárias.

A dosagem de albumina glicada (AG) é um teste promissor que está ganhando interesse de diversos pesquisadores como um potencial marcador de controle glicêmico (11-17). Do ponto de vista de recursos laboratoriais de avaliação do controle da glicemia, a glicação da albumina gerando a AG pode ser considerada um marcador alternativo do controle glicêmico medido pela A1c em algumas situações, uma vez que a glicação da albumina não é afetada pela alteração no tempo de sobrevivência das hemácias, como acontece com a A1c (5,7).

Tahara 2009 (18) analisou a conversão entre os valores de A1c e AG e verificou que um aumento de 1% na A1c corresponde a um aumento de 4% na AG. A equação de regressão linear utilizada para esta conversão foi $eA1cAG = 0,216 \times GA + 2,978$. Outros autores (19-

21) também avaliaram a correlação entre estes dois marcadores e estabeleceram equações matemáticas de conversão para estas variáveis em pacientes com DM e sem DCR. Estas equações são métodos e população dependentes e podem ser aplicadas para converter AG em A1c, o marcador glicêmico mais conhecido, e em concentrações de glicose no monitoramento do controle glicêmico de pacientes com DM e DRC. Não há estudos na literatura aplicando equações de estimativa da A1c pela AG em pacientes com DM e DRC e não há avaliação do desempenho destas equações de estimativa em pacientes com estas condições clínicas.

Em vista disto, o objetivo de nosso estudo foi investigar a correlação da A1c com a AG e propor uma relação matemática para a estimativa da A1c (eA1c) e aplicá-la em um grupo de pacientes com DM2 e diferentes níveis de DRC.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento do estudo

Este é um estudo transversal experimental realizado no Serviço de Endocrinologia e Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brasil. Os detalhes da logística do estudo estão sumarizados na Figura 1.

Pacientes

Para a determinação da correlação entre A1c e AG, e obtenção de uma fórmula de conversão entre as duas variáveis, foram utilizadas amostras de pacientes sem DM recrutados pelo Projeto GPPG 13-0440, vinculado ao grupo de pesquisa a qual as pesquisadoras pertencem. As informações coletadas neste projeto foram registradas em um banco de dados e compostas apenas de dados numéricos, não constando identificação dos pacientes. Os dados clínicos foram obtidos através da consulta retrospectiva destes dados, sendo que os pacientes não foram submetidos a nenhum procedimento adicional. Também foram selecionadas amostras de conveniência de pacientes com DM, obtidas no Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SPC/HCPA) – Unidade de Bioquímica Clínica, que realizaram o exame de A1c e tiveram amostras de soro coletadas no mesmo dia, e com volume suficiente para realizar a determinação de AG. Dados sobre sexo, idade, diagnóstico de DM, anemia, presença de uremia crônica, presença de hemoglobina

variante, tratamento com ferro, uso de eritropoietina ou de outras doenças foram obtidos dos prontuários eletrônicos dos pacientes selecionados.

A fórmula de conversão obtida com os dados dos pacientes acima descritos foi aplicada em um grupo adicional de indivíduos com DM e DRC, que foram selecionados através da agenda de exames para dosagem da A1C no SPC/HCPA. Os pacientes foram elegidos a partir da avaliação da história clínica e de exames laboratoriais obtidos no prontuário online. Os pacientes que atenderam os critérios de inclusão do estudo foram convidados a participar do estudo. Os indivíduos que concordaram em participar assinaram o Termo de Consentimento Esclarecido (TCLE). A investigação laboratorial destes pacientes incluiu hemograma, creatinina, glicose média estimada através do auto-monitoramento glicêmico (AMG), A1c e AG. As dosagens foram realizadas na Unidade de Bioquímica Clínica do SPC/HCPA.

Critérios de inclusão e exclusão

Determinação da Equação de Conversão AG-A1c: Foram incluídas amostras de indivíduos adultos (>18 anos) com DM (GJ ≥ 126 mg/dl e/ou A1c $\geq 6,5\%$) e sem DM (GJ < 126 mg/dL e/ou A1c $< 6,5\%$), que não apresentavam anemia [Hb < 12 g/dL (se homem) ou < 11 g/dL (se mulher), segundo critérios do *Third National Health and Nutrition Examination Survey – NHANES*] (22), e também não apresentando função renal alterada, medida pela estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) utilizando a equação do CKD-EPI (23) e presença de hemoglobina variante no cromatograma da A1c (24).

Aplicação da Equação de Conversão AG-A1c em pacientes com DM e DRC: Foram incluídas amostras de indivíduos adultos (>18 anos) com histórico de DM e doença renal crônica em diferentes graus de comprometimento renal, com ou sem anemia e/ou em hemodiálise e/ou em uso de eritropoietina. Pacientes portadores de hemoglobinopatias foram excluídos.

Análises Laboratoriais

As medidas de A1c foram realizadas por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), usando o aparelho Variant Turbo II, BioRad Laboratories (Philadelphia, PA, USA). Os valores de referência para esta metodologia são de 4,0 a 6,0%. Esta técnica permite a

identificação da presença de hemoglobinas anômalas no traçado cromatográfico e serve como rastreamento para possíveis hemoglobinopatias ou hemoglobinas variantes nas amostras. Albumina Glicada foi determinada por técnica enzimática (Diazyme®, Poway, CA, USA) equipamento Cobas c702 (Roche Diagnostic®, Hague Road, IN, USA) em soro. Creatinina foi determinada pelo método de Jaffé, equipamento Cobas c702 (Roche Diagnostic®, Hague Road, IN, USA) e a TFG obtida em mL/min/1,73m², foi estimada utilizando a equação do CKD-EPI (23).

Os pacientes foram estratificados, conforme o estágio da doença renal pela TFG em estágios 1, 2 e 3a (TFG >45 mL/min/1,73m²), estágios 3b (TFG 30-45 mL/min/1,73m²) e estágios 4 e 5 (TFG <30 mL/min/1,73m²) (25) com TFG variando de 10 a 65 mL/min/1,73m².

No auto monitoramento glicêmico (AMG) foi realizado um perfil glicêmico de 6 pontos por semana, incluindo 3 testes pré-prandiais (antes do café da manhã, do almoço e do jantar) e 3 testes pós-prandiais (2 horas após o café da manhã, o almoço e o jantar). Essas medidas foram realizadas através de um monitor de glicemia e tiras reagentes, fornecidos pelos pesquisadores, pelo próprio paciente em casa. A glicemia média obtida através das glicemias capilares, realizada pelo AMG, foi usada para estimar a A1c através da fórmula ADAG (9,10), onde Glicose média estimada (mg/dL) = 28,7 x A1c - 46,7. Para facilitar os cálculos de conversão dos níveis de glicemia média em valores correspondentes de A1c, foi utilizada uma calculadora automática disponibilizada no seguinte link: <http://professional.diabetes.org/glucosecalculator.aspx>. A A1c estimada por este método (eA1c GM) foi considerado o método de referência para o controle glicêmico neste estudo.

A estimativa da A1c pela AG (eA1c AG) foi obtida através da equação de conversão entre as variáveis A1C e AG determinada neste estudo onde $eA1c = a + b AG$.

Análises Estatísticas

As variáveis contínuas foram descritas como média ± desvio padrão para variáveis com distribuição normal, ou mediana (variação) para variáveis com distribuição não-Gaussiana. A estimativa da A1c foi feita através de fórmula obtida por regressão linear Demming entre A1c e AG (eA1c AG) e pela glicemia média através de fórmulas pré-

estabelecidas (eA1c GM) (9). A concordância entre a eA1c GM, eA1c AG e a A1C medida foi avaliada através do método de Bland-Altman (26). Os dados foram analisados no pacote estatístico SPSS 19.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

Questões Éticas

Este estudo foi aprovado no comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) sob o número GPPG 15-098.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra as características dos pacientes recrutados para a determinação da fórmula de conversão da A1c a partir da AG. No total, 275 indivíduos participaram do estudo e 132 tinham DM. A1c e AG apresentaram forte correlação ($R = 0,764$, $p < 0,05$) e a equação de conversão obtida foi: $eA1c\ AG = 0,26xAG + 1,98$ (Figura 2).

Esta equação foi utilizada para estimar a eA1c AG em 48 pacientes com DM e DRC (TFG variando de 10 a 65 mL/min/1,73m²). As características clínicas e laboratoriais dos pacientes estão apresentadas na Tabela 2. A1c medida, eA1c GM e eA1c AG foram $8,5 \pm 1,6\%$, $8,3 \pm 1,5\%$ e $8,3 \pm 1,0\%$, respectivamente. eA1c AG foi menor que a A1c medida nestes pacientes e mostrou maior concordância com a eA1c GM (Tabela 2). As diferenças relativas entre a eA1c GM com A1c medida e eA1c AG foram $3,5 \pm 16\%$ e $2,4 \pm 15\%$, respectivamente.

A correlação entre A1c medida e eA1c GM, bem como eA1c AG e eA1c GM foram similares ($R = 0,634$ e $R = 0,648$; $p < 0,05$; Figuras 3A e 4A). Houve uma correlação negativa fraca das diferenças entre A1c medida e eA1c GM com a taxa de filtração glomerular, embora não tenha sido estatisticamente significativa ($R = -0,269$; $p = 0,067$), e a hemoglobina total ($R = -0,294$; $p = 0,045$). No entanto, não houve correlação significativa entre as diferenças entre eA1c AG e eA1c GM com a TFG ($R = -0,098$; $p = 0,511$) e a Hb total ($R = -0,039$; $p = 0,795$).

A Tabela 3 mostra os resultados de A1c medida, eA1c GM e eA1c AG conforme o estágio de DRC pela TFG. Ao estratificamos os grupos com DRC em função da TFG

(mL/min/1,73m²), foi verificado também que o grupo com estágios 3b (TFG 30-45 mL/min/1,73m²), a eA1c AG foi menor que a A1c medida e mostrou maior concordância com a eA1c GM. Porém, no grupo de pacientes com TFG <30 mL/min/1,73m², A1c medida foi menor que eA1c AG e mostrou maior concordância com a eA1c GM. Foi verificado que os valores de A1c medida foram menores para o grupo com TFG <30 mL/min/1,73m² (8,0 ± 1,5%) em relação ao grupos com TFG de 31-45 mL/min/1,73m² (8,5 ± 1,5%) e TFG >45 mL/min/1,73m² (8,9 ± 1,7%). Os valores de Hb total foram de 12,7 ± 1,6 mg/dl, 12,3 ± 1,6 mg/dl e 11,4 ± 1,5, para os grupos com estágios 1, 2 3a (TFG >45 mL/min/1,73m²), estágios 3b (TFG 30-45 mL/min/1,73m²) e estágios 4 e 5 (TFG <30 mL/min/1,73m²), respectivamente.

A análise estatística por Bland Altman de A1c medida (figura 3B) e eA1c AG (figura 4B) em relação eA1c GM (método de referência), mostrou que as diferenças obtidas pelas medidas de A1c medida e eA1c AG em relação eA1c GM tiveram distribuição normal onde grande parte dos valores ficaram entre a média e o limite de concordância, mostrando assim concordância entre os dois métodos (A1c medida e eA1c AG) em relação ao método de referência (eA1c GM).

DISCUSSÃO

Neste estudo investigamos a correlação da A1c com a AG em pacientes com e sem DM atendidos no HCPA e propomos uma relação matemática para a estimativa da A1c pela AG. A estimativa da A1c pela AG vem sendo pesquisada como alternativa para o monitoramento em pacientes com condições clínicas que interferem nos dados da A1c dosada no laboratório (18-21). Verificamos uma forte correlação entre A1c e AG e a equação matemática foi $eA1c\ AG = 0,26 \times AG + 1,98$. Nossos dados estão em concordância com outros estudos que também pesquisaram esta relação e encontraram uma correlação significativa entre as duas variáveis. Inoue e colaboradores (19) investigaram esta relação em 214 pacientes e obtiveram uma equação similar a que relatamos aqui ($eA1cAG = 0,216 \times GA + 2,978$) no entanto a correlação foi menor entre as variáveis (R = 0,588, p < 0,001). Já Tahara (18) ao investigar a relação entre A1c e AG, obteve equação e correlação similar a descrita neste estudo ($eA1cAG = 0,204 \times AG + 2,59$; R = 0,747, p < 0,001). Estas diferenças

entre o nosso estudo e os estudos na literatura é devido ao fato de terem ocorrido em diferentes regiões e populações, indicando que esta relação é método e população dependente. Além disso, recentemente estudos levantaram a questão da influência das etnias sobre os níveis de A1c. A glicação da hemoglobina difere entre grupos raciais e é relatado que indivíduos afrodescendentes possuem níveis mais elevados de A1c do que indivíduos brancos para valores iguais de glicemia, sendo que as razões desta discrepância ainda não estão totalmente elucidadas (27,28).

Quando aplicamos a equação encontrada em nosso estudo para estimar a A1c a partir dos resultados de AG em pacientes com DM e DRC, verificamos que a A1c medida foi levemente mais alta do que a eA1c GM e eA1c AG. Embora não houve diferenças significativas entre os níveis de A1c determinados pelos diferentes métodos, observamos que eA1c AG mostrou maior concordância com a eA1c GM, com diferenças relativas médias de 2,4% em comparação com as diferenças relativas médias obtidas entre a eA1c GM e A1c medida que foi de 3,5%. No entanto a dispersão das diferenças em relação aos valores de eA1c GM foram similares e em torno de $\pm 15\%$ para a eA1c AG e A1c medida.

Ao estratificar os grupos com DRC em função da TFG, foi verificado também que o grupo com TFG 31 - 45 mL/min/1,73m², eA1c AG foi menor que a A1c medida nestes pacientes e mostrou maior concordância com a eA1c GM. Porém, no grupo de pacientes com TFG <30 mL/min/1,73m², A1c medida foi menor que a eA1c AG e mostrou maior concordância com a eA1c GM. Entretanto estes achados no grupo com TFG <30 mL/min/1,73m² não estão de acordo com resultados de alguns estudos, que encontraram maior concordância entre a AG com o controle glicêmico em pacientes com doença renal crônica avançada do que a A1c medida (6-8). Estas discrepâncias podem ser devido ao grupo de pacientes participantes deste estudo apresentarem anemia leve e estarem em condições clínicas estáveis, minimizando os efeitos interferentes da medida da A1c. No entanto, pacientes no grupo com TFG <30 mL/min/1,73m² apresentaram valores mais baixos de hemoglobina total. Uma das explicações para diminuição dos níveis de hemoglobina com a evolução das complicações renais é que a meia-vida eritróide é anormal em pacientes com DM. Segundo Dikow *et al.* 2002 (29), o resultado anormal da composição lipídica interfere com o controle do volume eritróide e reduz a fluidez da membrana, aumentando, portanto, o risco de sequestro de eritrócitos na microcirculação do

sistema reticuloendotelial. Adicionalmente autores relatam que substâncias retidas no plasma urêmico de pacientes com nefropatia provocam o encurtamento da sobrevida eritróide (30).

Nosso estudo tem algumas limitações como o pequeno número de pacientes com DM e DRC, o que prejudicou a estratificação do grupo conforme os níveis do comprometimento renal, não usamos o sistema de monitoramento glicêmico contínuo para análise da glicemia média o qual seria o mais adequado mas de alto custo, também não conseguimos avaliar a questão das etnias devido ao pequeno numero de participantes. Finalmente, este é um estudo de centro único e estudos maiores envolvendo participantes de vários centros são necessários para confirmar os resultados deste estudo.

CONCLUSÃO

A A1c medida em pacientes com DRC pode ser influenciada pelo grau da função renal e anemia causando discordância da eA1c GM. A estimativa da A1c pela AG pode ser uma alternativa para avaliar o controle glicêmico nos pacientes com DRC.

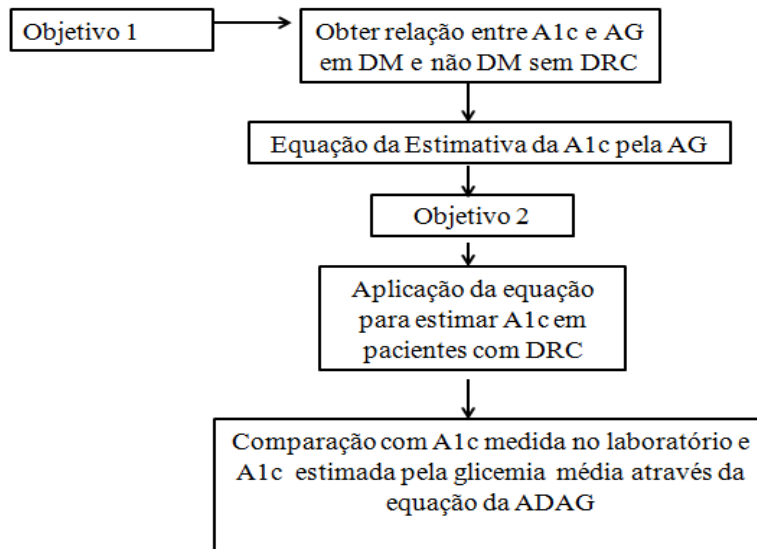


Figura 1. Delineamento do estudo.

Tabela 1. Características dos participantes com e sem diabetes e sem doença renal crônica (DRC).

Variáveis	Com e sem DM	Sem DM	Com DM
N	275	143	132
Sexo (Mulheres/ Homens)	164/111	86/57	78/54
A1c medida (%)	5,8±1,6	5,3±0,3	7,7±1,4
AG medida (%)	15,9±4,6	14,9±1,7	18,8±5,2

Dados apresentados como média ± DP. A1c= Hemoglobina glicada; AG=Albumina glicada; DM=Diabetes Mellitus.

Tabela 2. Características dos participantes com diabetes mellitus (DM) e doença renal crônica (DRC).

Variáveis	Valores
N	48
Sexo (Mulheres/ Homens)	27/21
Etnia (Branco/Negros)	44/04
Idade (anos)	64±13,6
Uso de antihipertensivo	47 (97,9%)
Uso de eritropoetina	04 (8,3%)
Glicemia de jejum (mg/dl)	156±58,9
Hemoglobina (g/dl)	12,2±1,6
A1c medida (%)	8,5±1,6
eA1c GM (%)	8,3±1,5
eA1c AG (%)	8,3±1,0

Dados apresentados como média ± DP. A1c=Hemoglobina glicada; AG=Albumina glicada; eA1c GM=Hemoglobina glicada estimada pela glicemia média; eA1c AG=Hemoglobina glicada estimada pela albumina glicada.

Tabela 3. Características dos participantes com diabetes mellitus (DM) e doença renal crônica (DRC) estratificados de acordo com taxa de filtração glomerular (TFG) obtida em mL/min./1,73 m².

Variáveis	TFG<30	TFG 30-45	TFG > 45
N	13	17	18
Sexo (Mulheres/ Homens)	5/8	9/8	13/5
Hemodiálise	4 (31%)	0 (0%)	0 (0%)
Uso de antihipertensivo	13 (100%)	16 (94%)	18 (100%)
Uso de eritropoetina	4 (31%)	0 (0%)	0 (0%)
Hemoglobina (g/dl)	11,4±1,5	12,3±1,6	12,7±1,6
Albumina (mg/dl)	3,9±0,4	3,9±0,3	4,0±0,2
Creatinina (mg/dl)	3,47±1,6	1,54±0,3	1,04±0,1
AG (%)	24,4±5,3	24,2±3,9	24,2±4,5
A1c medida (%)	8,0±1,5	8,5±1,5	8,9±1,7
eA1c GM (%)	7,9±1,4	8,3±1,4	8,8±1,6
eA1c AG (%)	8,3±0,7	8,3±1,0	8,3±1,2

Dados apresentados como média ± DP. A1c=Hemoglobina glicada; AG=Albumina glicada; eA1c GM=Hemoglobina glicada estimada pela glicemia média; eA1c AG= Hemoglobina glicada estimada pela albumina glicada.

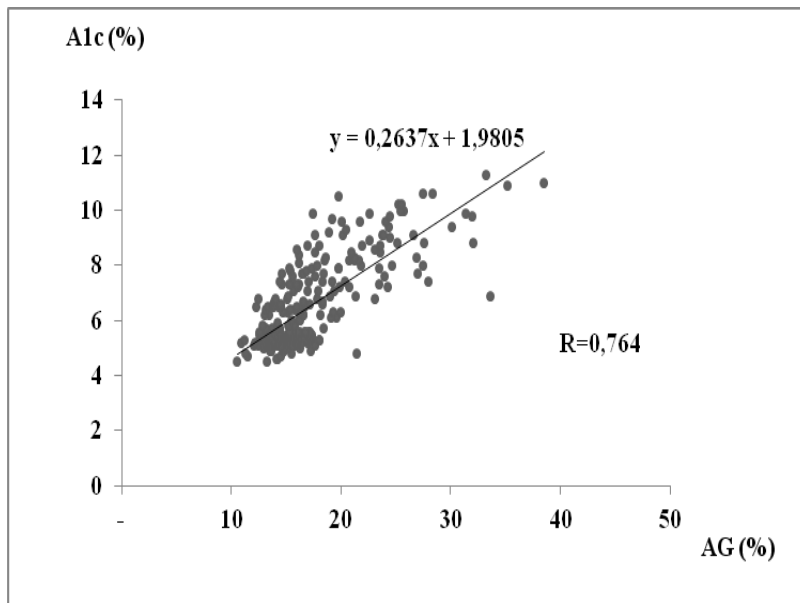


Figura 2. Correlação de Pearson entre A1c e AG e equação da estimativa da A1c pela AG. A1c = Hemoglobina glicada; AG = Albumina glicada; R = Correlação de Pearson.

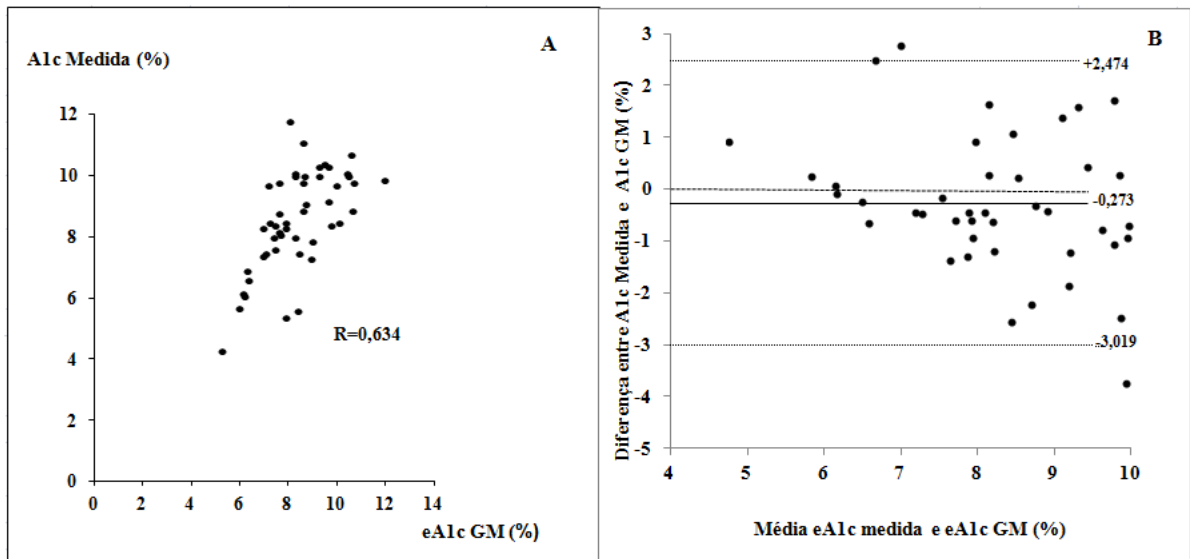


Figura 3. Análise de correlação (A) e Bland-Allman (B) entre eA1cGM e A1c medida. A1c= Hemoglobina glicada; AG=Albumina glicada; eA1cGM=Hemoglobina glicada estimada pela glicemia média.

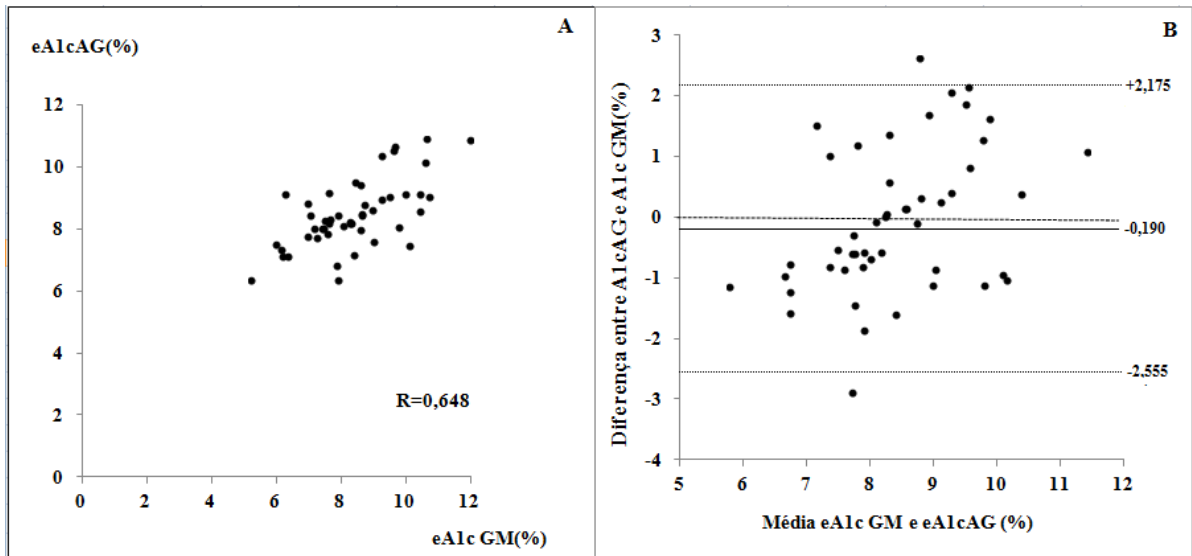


Figura 4. Análise de correlação (A) e Bland-Alltman (B) entre eA1c GM e eA1c AG. A1c=Hemoglobina glicada; AG=Albumina glicada; eA1c GM=Hemoglobina glicada estimada pela glicemia média; eA1c AG= Hemoglobina glicada estimada pela albumina glicada.

REFERÊNCIAS

1. Sesso RC, Lopes AA, Thome FS et al. Report of the Brazilian Chronic Dialysis Census 2012. **J Bras Nefrol** 2014; 36: 48-53.
2. U.S. Renal Data System (2011). *USRDS 2011 Annual Data Report: Chapter: Incidence, Prevalence, Patient Characteristics and Treatment Modalities*. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Kidney Diseases: Bethesda, MD, 2011.
3. Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, Chiang JL, de Boer IH, Goldstein-Fuchs J, Hirsch IB, Kalantar-Zadeh K, Narva AS, Navaneethan SD, Neumiller JJ, Patel UD, Ratner RE, Whaley-Connell AT, Molitch ME. Diabetic kidney disease: a report from the **ADA Consensus Conference**. **Diabetes Care** 2014;37(10):2864-2883
4. Sany Dawlat, Elshahawy Y, Anwar W. Glycated albumin versus glycated hemoglobin as glycemic indicator in hemodialysis patients with diabetes mellitus: variables that influence. **Saudi J Kidney Dis Transpl** 2013; 24(2):260-273.
5. Sacks DB , Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, Lernmark A, Metzger BE, Nathan DM. Executive summary: guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. **Clin Chem** 2011; 57(6):793-798.
6. Freedman BI, Shenoy RN, Planer JA, Clay KD, Shihabi ZK, Burkart JM, Cardona CY, Andries L, Peacock TP, Sabio H, Byers JR, Russell GB, Bleyer AJ. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A1c concentrations in diabetic subjects on peritoneal and hemodialysis. **Perit Dial Int** 2010 30(1):72-79.
7. Peacock TP, Shihabi ZK, Bleyer AJ, Dolbare EL, Byers JR, Knovich MA, Calles-Escandon J, Russell GB, Freedman BI. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A(1c) levels in diabetic subjects on hemodialysis. **Kidney Int** 2008; 7: 1062-1068.

8. Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T, Okamura M, Okada S, Yamakawa T, Ishimura E, Nishizawa Y; Osaka CKD. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. **J Am Soc Nephrol** 2007; 18: 896–903.
9. Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H. Translating the A1c Assay Into Estimated Average Glucose Values. **Diabetes Care** 2008; 31:1473-1478.
10. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes Care** 2002 ; 25 (2):275-278.
11. Koga M. Glycated albumin; clinical usefulness. **Clin Chim Acta** 2014; 433C: 96-104.
12. Koga M, Hashimoto K, Murai J, Saito H, Mukai M, Ikegame K, Ogawa H, Kasayama S. Usefulness of glycated albumin as an indicator of glycemic control status in patients with hemolytic anemia. **Clin Chim Acta** 2011;412: 253–257.
13. Koga M, Kasayama S. Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker. **Endocr J** 2010; 57: 751–762.
14. Koga M, Murai J, Saito H, Matsumoto S, Kasayama S. Usefulness of glycated albumin as a glycemic control marker after iron treatment for diabetic patients with iron deficiency anemia. **J Jpn Diab Soc** 2009; 52: 341-345.
15. Kohzuma T, Koga M. Lucica GA-L glycated albumin assay kit: a new diagnostic test for diabetes mellitus. **Mol Diagn Ther** 2010: 14: 49–51.
16. Kohzuma T, Uemastu Y, Usami T, Imamura S. Study of glycated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycated albumin measurement method. **Clin Chim Acta** 2004;346:135–143

17. Kouzuma T, Usami T, Yamakoshi M, Takahashi M, Imamura S. An enzymatic method for the measurement of glycated albumin in biological samples. **Clin Chim Acta** 2002; 324(1-2):61-71. 2002.
18. Tahara Y. Analysis of the method for conversion between levels of HbA1c and glycated albumin by linear regression analysis using a measurement error model. **Diabetes Res Clin Pract** 2009; 84 (3) : 224-229.
19. Inoue K, Tsujimoto T, Yamamoto-Honda R, Goto A, Kishimoto M, Noto H, Kajio H, Doi S, Miyazaki S, Terauchi Y, Noda M. A newer conversion equation for the correlation between HbA1c and glycated albumin. **Endocr J** 2014; 61(6):553-560.
20. Jung CH, Hwang YC, Kim KJ, Cha BS, Park CY, Jeon WS, Kim JH, Jin SM, Rhee SY, Woo JT, Lee BW. Development of an HbA1c-based conversion equation for estimating glycated albumin in a Korean population with a wide range of glucose intolerance. **PLoSOne** 2014;22;9 (4):e95729. doi10.1371/journal.pone.0095729.
21. Kim JK, Park JT, Oh HJ, Yoo DE, Kim SJ, Han SH, Kang SW, Choi KH, Yoo TH. Estimating average glucose levels from glycated albumin in patients with end-stage renal disease. **Yonsei Med J.** 2012; 53(3):578-86. doi: 10.3349/ymj.2012.53.3.578
22. Astor BC, Muntner P, Levin A. Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). **Arch Intern Med** 2002; 162 (12) 1401-1408.
23. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Ann Intern Med** 2009 5;150(9) : 604-12.
24. Camargo JL, Gross JL. Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method. **J Clin Path** 57(4):344-345, 2004.
25. KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in CKD: summary of recommendation statements and clinical approach to the patient. KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease. 2013 Society of Nephrology. Disponível em:

http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/Lipids/KDIGO%20Lipid%20Management%20Guideline%202013.pdf. Acesso em: 18 jan. 2017.

26. Westgard JO. Basic Method Validation. Disponível em: www.westgard.com. Acesso em: 20/05/2014.
27. Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, Gregg EW, Ford ES, Geiss LS, Bainbridge KE, Fradkin JE. Prevalence of diabetes and high risk for diabetes using A1C criteria in the U.S. population in 1988-2006. **Diabetes Care** 2010; 33(3):562-568.
28. Ziemer DC, Kolm P, Weintraub WS, Vaccarino V, Rhee MK, Twombly JG, Narayan KM, Koch DD, Phillips LS. Glucose-Independent, Black-White differences in hemoglobin A1c levels. **Ann Intern Med** 2010; 152:770-777.
29. Dikow R, Schwenger V, Schomig M, Ritz E. How should we manage anemia in patients with diabetes? **Nephrol Dial Transplant** 2002; 17(1):67-72.
30. Hutchinson FN, Jones WJ. A cost-effectiveness analysis of anemia screening before erythropoietin in patients with end-stage renal disease. **Am J Kidney Dis** 1997; 29(5):651-657.