

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

A utilização do teste da hemoglobina glicada como ferramenta diagnóstica na detecção de diabetes mellitus pós-transplante renal

Dissertação de Mestrado

Ana Laura Pimentel

Porto Alegre, Fevereiro de 2014.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

A utilização do teste da hemoglobina glicada como ferramenta diagnóstica na detecção de diabetes mellitus pós-transplante renal

Ana Laura Pimentel

Orientadora: Prof^a Dr^a Joíza Lins Camargo

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Porto Alegre, Fevereiro de 2014.

CIP - Catalogação na Publicação

Pimentel, Ana Laura

A utilização do teste da hemoglobina glicada como ferramenta diagnóstica na detecção de diabetes mellitus pós-transplante renal / Ana Laura Pimentel.

-- 2014.
55 f.

Orientadora: Joíza Lins Camargo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. diabetes pós-transplante. 2. imunossupressão. 3. diagnóstico. 4. hemoglobina glicada. I. Camargo, Joíza Lins, orient. II. Título.

O formato da dissertação segue o modelo recomendado pelo PPG em Ciências Médicas: Endocrinologia – UFRGS, sendo apresentada na forma de um artigo de revisão sobre o tema, seguido de um artigo original contendo os resultados finais.

SUMÁRIO

	Página
Agradecimentos.....	05
Lista de abreviaturas.....	06
Resumo.....	08
Abstract.....	09
Capítulo 1: Artigo de revisão	
Diabetes mellitus pós-transplante renal: prevalência, fatores de risco e diagnóstico.....	10
Objetivo.....	33
Capítulo 2: Artigo original	
Potential role of glycated hemoglobin in the diagnosis of new onset diabetes after renal transplantation.....	34
Considerações finais.....	55

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito à minha orientadora, Dra. Joíza Lins Camargo, pela confiança em mim depositada durante a realização deste trabalho. Sou muito grata por todas as palavras de apoio e incentivo.

Agradeço aos meus pais por terem me proporcionado, durante toda a vida, educação de boa qualidade e estímulo para que eu pudesse concretizar todos os meus objetivos.

À minha irmã Ana Paula, exemplo de pesquisadora, que mesmo de muito longe me auxiliou na obtenção de material para este trabalho.

Ao meu irmão Diogo, por ser meu melhor amigo e conselheiro em todos os momentos de dúvida.

Ao meu marido, Kleiton, pela compreensão da minha ausência e pelo apoio incondicional.

Agradeço aos meus colegas de grupo de pesquisa pela parceria de trabalho e pela amizade, principalmente às acadêmicas de iniciação científica Larissa Sant'Anna Kellermann Carvalho e Samara Silva Marques que foram fundamentais na coleta dos dados.

Ao nefrologista, Dr. Roberto Ceratti Manfro, pela colaboração no delineamento desta pesquisa e aos médicos do Serviço de Nefrologia, Adriana Reginato Ribeiro e Rodrigo Fontanive Franco, pela disponibilidade.

Agradeço ao Serviço de Nefrologia e Serviço de Patologia Clínica do HCPA pela receptividade, e aos coletadores do Centro de Pesquisa Clínica, Rodrigo e Suzete, assim como a todo o pessoal da Zona 14 pelo auxílio na coleta das amostras para esta pesquisa.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA – American Diabetes Association

AUC – Area under the curve

A1c – Hemoglobina glicada

DM – Diabetes mellitus

DMPT – Diabetes mellitus pós-transplante

FPG – Fasting plasma glucose

GJ – Glicemia de jejum

GJA – Glicemia de jejum alterada

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HLA – Human leukocyte antigen

HPLC – High-performance liquid chromatography

IC – Inibidores da calcineurina

IFCC – International Federation of Clinical Chemistry

IG – Intolerância à glicose

IMC – Índice de massa corporal

KDIGO – Kidney Disease: Improving Global Outcomes

LR+ – Positive likelihood ratio

LR– – Negative likelihood ratio

MMF – Micofenolato mofetil

NGSP – National Glycohemoglobin Standardization Program

NODAT – New onset diabetes after transplantation

OGTT – Oral glucose tolerance test

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPTN/UNOS – Organ Procurement Transplant Network/United Network of Organ Sharing database

RBG – Random blood glucose

ROC – Receiver operating characteristic

STARD – Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy

TOTG – Teste oral de tolerância à glicose

WHO – World Health Organization

2h-PG – 2-hour plasma glucose after 75-g glucose

RESUMO:

O diabetes mellitus pós-transplante (DMPT) é uma patologia que acomete parte dos indivíduos que realizam transplante renal e seu desenvolvimento está relacionado, em alguns casos, à utilização de medicamentos imunossupressores, principalmente corticoides e inibidores da calcineurina. A incidência de DMPT relatada na literatura varia entre 2 e 50% no primeiro ano após o transplante e, a longo prazo, está associada com prognóstico desfavorável tanto para o paciente quanto para o enxerto. As diretrizes internacionais do DMPT recomendam que para o seu diagnóstico sejam utilizados os mesmos critérios recomendados pela *American Diabetes Association* (ADA) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o diagnóstico de diabetes na população em geral. Em 2010, a ADA incluiu o teste A1c como teste de primeira escolha para o diagnóstico de DM, considerando como ponto de corte o valor de $A1c \geq 6,5\%$. Até o momento, nenhuma atualização das diretrizes de DMPT foi publicada sobre a possibilidade de utilização diagnóstica do teste A1c em indivíduos transplantados renais. Este estudo objetivou analisar o desempenho do teste A1c em relação aos testes tradicionais de glicemia para detectar DMPT. $A1c \geq 6,5\%$ apresenta alta especificidade para o diagnóstico de DMPT, sendo útil na confirmação do diagnóstico. Entretanto, devido a sua baixa sensibilidade, seu uso isolado subestima a incidência desta patologia em pacientes transplantados. Utilizando o valor de $A1c \geq 6,5\%$ para confirmar e o valor de $A1c \leq 5,9\%$ para excluir a presença de DMPT, o número de TOTG seria reduzido em 83%. Portanto, recomendamos que diferentes pontos de corte de A1c deveriam ser utilizados em combinação com o TOTG para excluir ou confirmar a presença da doença no período pós-transplante.

Palavras-chaves: diabetes pós-transplante, imunossupressão, diagnóstico, hemoglobina glicada.

ABSTRACT:

New onset diabetes after transplantation (NODAT) affects part of individuals that perform kidney transplantation and its development is associated, in some cases, with the use of immunosuppressive medications, mainly corticosteroids and calcineurin inhibitors. The incidence reported in the literature ranges between 2 and 50 % in the first year after transplantation and in long term is associated with poor prognosis for both the patient and the graft. International guidelines recommend that diagnosis of NODAT should be made using the same criteria recommended by the American Diabetes Association (ADA) and the World Health Organization (WHO) for the diagnosis of diabetes in general population. In 2010, ADA included glycated hemoglobin test (A1c) as the first choice for the diagnosis of diabetes, considering the cutoff value of $A1c \geq 6.5\%$. To date, no update in guidelines of NODAT has been published concerning the diagnostic use of A1c test in renal transplant recipients. This study aimed to analyze the performance of A1c test compared to traditional blood glucose tests to detect NODAT. $A1c \geq 6.5\%$ has high specificity for the diagnosis of NODAT and is useful in confirming the diagnosis. However, due to its low sensitivity, its isolated use underestimates the incidence of this disease in renal transplant recipients. Using A1c cutoff point $\geq 6.5\%$ to rule in and A1c cutoff point $\leq 5.9\%$ to rule out NODAT, the number of the cumbersome OGTT would be reduced in 83%. Therefore, we recommend that different A1c cutoff points should be used in combination with OGTT to exclude or confirm the disease in early posttransplantation.

Key words: new onset diabetes after transplantation, immunosuppressant, diagnostic, glycated hemoglobin.

Capítulo 1

Diabetes mellitus pós-transplante: prevalência, fatores de risco e diagnóstico

Ana Laura Pimentel ¹

Joíza Lins Camargo ²

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

² Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Farmacêutica – Bioquímica do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

* Autor para Correspondência:

Joíza Lins Camargo

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Rua Ramiro Barcellos, 2350; Prédio 12 - CPE, 4º andar

Porto Alegre, RS 90035-903, Brasil.

Fone: 33598127 Fax: 51-33598777.

E-mail address: jcamargo@hcpa.ufrgs.br

Artigo de Revisão a ser submetido aos Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia

RESUMO:

O desenvolvimento de diabetes mellitus pós-transplante acomete parte dos indivíduos transplantados renais e está associado ao uso dos medicamentos imunossupressores utilizados para evitar a rejeição do órgão, principalmente corticoides e inibidores da calcineurina. A incidência de diabetes pós-transplante relatada na literatura varia entre 2 e 50% no primeiro ano após o transplante renal e, a longo prazo, está associada com prognóstico desfavorável tanto para o paciente quanto para o enxerto. As diretrizes internacionais do diabetes pós-transplante recomendam que para o seu diagnóstico sejam utilizados os mesmos critérios recomendados pela *American Diabetes Association* e pela Organização Mundial de Saúde para o diagnóstico de diabetes na população em geral. Em 2010, a *American Diabetes Association* incluiu o teste da hemoglobina glicada como teste de primeira escolha para o diagnóstico de diabetes, considerando como ponto de corte o valor de hemoglobina glicada maior ou igual a 6,5%. Nesta revisão abordamos aspectos clínico-laboratoriais e epidemiológicos, bem como discutimos os mecanismos pelos quais os imunossupressores induzem alterações do metabolismo glicêmico e os testes laboratoriais utilizados para o diagnóstico de diabetes pós-transplante.

Palavras-chave: diabetes pós-transplante, imunossupressão, diagnóstico, hemoglobina glicada.

ABSTRACT:

Development of new onset diabetes after transplantation affects part of renal transplant recipients and is associated with the use of immunosuppressive drugs employed to prevent graft rejection, mainly corticosteroids and calcineurin inhibitors. The incidence reported in the literature ranges between 2 and 50 % in the first year after renal transplantation and in long term is associated with poor prognosis for both the patient and the graft. International guidelines recommend that diagnosis of new onset diabetes after transplantation should be made using the same criteria recommended by the American Diabetes Association and World Health Organization for the diagnosis of diabetes in general population. In 2010, American Diabetes Association included glycated hemoglobin test as the first choice for the diagnosis of diabetes, considering the cutoff value higher than or equal to 6.5%. In this review we discuss clinical, laboratorial and epidemiological aspects of new onset diabetes after transplantation. We also revise the mechanisms by which immunosuppressive therapies induce hyperglycemia and laboratory tests for the diagnosis of new onset diabetes after transplantation.

Key words: new onset diabetes after transplantation, immunosuppressive therapy, diagnostic, glycated hemoglobin.

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é caracterizado como um grupo de desordens metabólicas que apresenta como desfecho comum a hiperglicemia. A classificação dos diferentes tipos de DM está relacionada com as características clínicas e de progressão da doença, entre os quais os mais conhecidos são: tipo 1, tipo 2 e gestacional. Além destes três, outros tipos específicos de DM podem ser identificados, como é o caso da hiperglicemia induzida por medicamentos utilizados após o transplante de órgãos (1).

O transplante renal é a terapia substitutiva de escolha para os indivíduos que desenvolvem doença renal crônica em estágio 5 e faz parte da rotina clínica em mais de oitenta países, com o maior número absoluto de transplantes realizados nos Estados Unidos, China, Brasil e Índia (2). Embora sua realização possibilite melhor qualidade de vida e maior sobrevida ao indivíduo quando comparado à diálise (2), os principais medicamentos imunossupressores utilizados atualmente para evitar a rejeição do órgão estão associados, em indivíduos suscetíveis, ao desenvolvimento de uma desordem metabólica denominada diabetes mellitus pós-transplante (DMPT) (3).

O DMPT é uma patologia reconhecida desde os anos 60 (4) que pode ocorrer após os transplantes de órgão sólido ou celular. Segundo metanálise publicada em 2002, a incidência relatada na literatura varia entre 2 e 50% no primeiro ano após o transplante e a maioria dos casos ocorre durante os três primeiros meses (3). No entanto, a hiperglicemia pós-transplante pode iniciar até mesmo anos após a cirurgia e nem sempre é permanente, podendo normalizar sem a necessidade de tratamento ou após a troca da terapia imunossupressora, dentro de semanas ou meses (5).

FATORES DE RISCO

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de DMPT podem ser divididos nas três categorias abaixo e estão detalhados no Quadro 1:

- Não modificáveis
- Potencialmente modificáveis
- Modificáveis

Quadro 1: Fatores de risco para o desenvolvimento de DMPT. Adaptado de (6).

Não modificáveis	Potencialmente modificáveis	Modificáveis
Idade > 45 anos Raça negra Doador falecido Gênero masculino História Familiar de DM Incompatibilidade HLA	Glicemia de jejum alterada e intolerância à glicose pré-transplante Hepatite C Citomegalovírus	Imunossupressores: -Ciclosporina -Tacrolimus -Corticoides Obesidade e outros componentes da síndrome metabólica

O DMPT em indivíduos transplantados e o DM tipo 2 na população em geral apresentam fatores de risco em comum associados com maior predisposição à ocorrência de alterações no metabolismo da glicose, tais como raça, idade, índice de massa corporal (IMC), presença de síndrome metabólica, infecção pelo vírus da hepatite C e história familiar de DM (1;6;7).

Outros fatores que também estão associados ao desenvolvimento de DMPT são: terapia imunossupressora, altos níveis de glicemia pré-transplante e no período imediato após o transplante, valores aumentados de triglicédeos, presença de determinados antígenos do sistema HLA e infecções sintomáticas e assintomáticas pelo citomegalovírus (3;6;8;9;10).

O rastreamento de alguns destes fatores de risco pode ser realizado antes mesmo do transplante, por meio da utilização de escores de risco pré-transplante disponíveis na literatura (11). Apesar do grande número de variáveis associadas ao risco aumentado de desenvolvimento de DMPT, há ainda muita controvérsia e debate sobre este assunto.

Uma análise realizada utilizando um amplo banco de dados de indivíduos transplantados renais sem DM que foram incluídos no *United States Renal Data System* entre 1996 e 2000 encontrou uma incidência cumulativa de DMPT de 9,1%, 16% e 24% em 3, 12 e 36 meses após o transplante, respectivamente. Segundo esta análise, vários fatores foram associados ao desenvolvimento de DMPT, como a idade aumentada, a raça negra, a obesidade, a infecção pelo vírus da hepatite C, assim como o tipo de imunossupressor utilizado (5).

As associações entre possíveis fatores de risco e o desenvolvimento de DMPT foram avaliadas em indivíduos adultos transplantados renais, sem DM, incluídos no banco de dados *Organ Procurement Transplant Network/United Network of Organ Sharing database* (OPTN/UNOS) entre 2004 e 2005. Do total de 15.309 indivíduos incluídos na análise, 1.581 desenvolveram DMPT. Idade aumentada, hipertensão arterial prévia ao transplante, raça negra, obesidade, infecção pelo vírus da hepatite C e uso de tacrolimus foram os fatores associados com risco aumentado de desenvolvimento da doença (12).

O tipo de imunossupressor utilizado pelo paciente no período pós-transplante, segundo uma metanálise publicada em 2002, está associado com 74% da variabilidade na incidência cumulativa de DMPT nos primeiros doze meses após a realização do transplante (3). Desta forma, a escolha do imunossupressor deve levar em consideração os outros potenciais fatores de risco que, associados ao imunossupressor, podem aumentar a chance de desenvolvimento

de DMPT. Entretanto, uma avaliação clínica detalhada deve ser realizada antes da escolha ou troca de um imunossupressor por outro para evitar a ocorrência de rejeição aguda.

MECANISMO DIABETOGÊNICO DOS IMUNOSSUPRESSORES

A maioria dos receptores de órgãos é tratada com um regime medicamentoso triplo, o qual envolve a utilização de corticoide, tacrolimus ou ciclosporina (inibidores da calcineurina - IC) e micofenolato mofetil (MMF) ou azatioprina (13).

Assim como no DM tipo 2, o desenvolvimento de alterações no metabolismo da glicose no período pós-transplante pode ser ocasionado pelo decréscimo na secreção de insulina, pelo aumento na resistência à insulina, ou por ambos (Figura 1) (14).

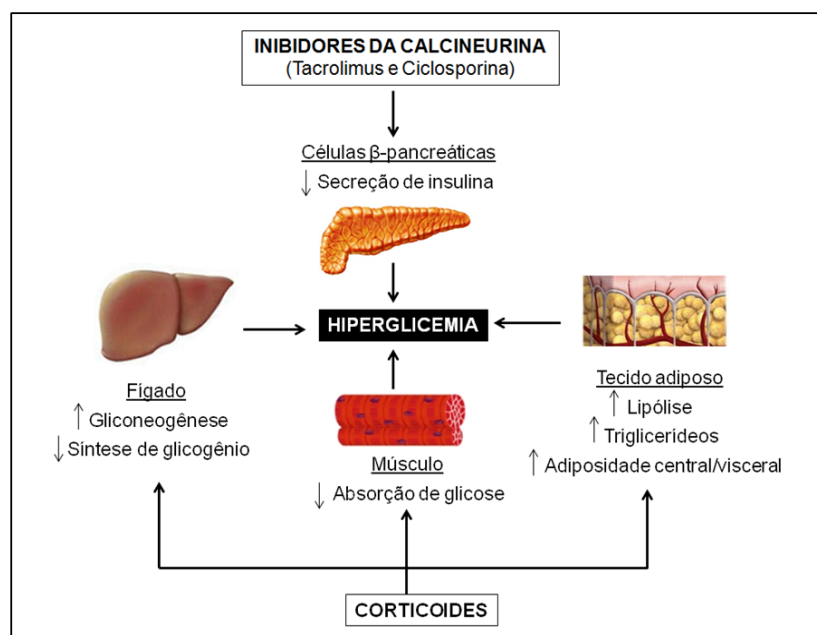


Figura 1: Mecanismos diabéticos dos imunossupressores. Adaptado de (6; 16).

Como geralmente são utilizados em conjunto, é difícil identificar se o desenvolvimento de DMPT ocorre devido ao corticoide, ao inibidor da calcineurina, ou por

meio de uma associação entre ambos. A azatioprina e o MMF não têm sido associados com aumento de risco para DMPT (5).

Os corticoides são conhecidos por aumentarem a resistência periférica à insulina. O seu uso está associado a alterações nas funções metabólicas do tecido muscular esquelético, o qual possui um papel importante no metabolismo glicídico através da absorção de grande parte da glicose pós-prandial. Além disso, os corticoides são associados a uma maior produção hepática de glicose e aumento da adiposidade central e visceral (15;16;17).

O efeito diabetogênico dos corticoides é dose-dependente. Por meio de um *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico modificado, foi observado que uma redução gradual na dosagem média de prednisolona, de 16 mg (intervalo de 10-30 mg) para 9 mg (intervalo de 5-12.5 mg), resultou em um aumento médio de 24% no índice de sensibilidade à insulina durante o primeiro ano após a realização do transplante renal (18).

O mecanismo exato da ação dos IC sobre o metabolismo glicídico ainda não está completamente elucidado, mas é associado, principalmente, à redução na secreção de insulina. Estudos *in vitro* indicam que os IC possuem um efeito direto sob as células β -pancreáticas, acarretando em uma diminuição na liberação de insulina e peptídeo C e alterações morfológicas (15;19). Estes achados provenientes de estudos *in vitro* divergem entre os diferentes estudos publicados *in vivo*. Estes últimos também demonstram que este efeito diabetogênico pode ser revertido pela redução dos níveis plasmáticos destes imunossupressores (14;20).

As alterações no metabolismo da glicose resultantes da utilização dos IC são dependentes do fármaco utilizado. Três semanas após o transplante renal, por meio do teste intravenoso de tolerância à glicose, observou-se que indivíduos tratados com tacrolimus

apresentaram uma redução de 57% no incremento da secreção de peptídeo C e de 48% no incremento da secreção de insulina em relação à quantidade secretada pelos indivíduos tratados com ciclosporina. Neste estudo, não foram encontrados indícios de que os IC sejam responsáveis pela toxicidade pancreática crônica de seis meses até três anos após o transplante (20).

TERAPIA IMUNOSSUPRESSORA E O DESENVOLVIMENTO DE DMPT

O uso de corticoides no período pós-transplante é um fator de risco bem estabelecido para o desenvolvimento de DMPT (21). Dados recentes mostraram que indivíduos transplantados renais que mantiveram a utilização de corticoides, como parte da terapia imunossupressora no período pós - alta hospitalar, apresentaram uma chance 42% maior de desenvolvimento de DMPT dentro de três anos quando comparados àqueles que descontinuaram seu uso (razão de chances: 1.42 [1.27-1.58], $p < 0.001$) (22). Além disso, uma redução de mais de 50% no risco de desenvolvimento de DMPT, em um período de dez anos, foi observada entre duas coortes de indivíduos transplantados renais avaliados em um mesmo hospital. Esta queda foi associada, entre outras causas, à alteração do protocolo local de imunossupressão, com a utilização de doses mais baixas de corticoides no período pós-transplante (23).

O tacrolimus está associado com menor nefrotoxicidade e um perfil cardiovascular mais seguro, com taxas mais baixas de dislipidemia e hipertensão arterial quando comparado à ciclosporina (24). Por outro lado, seu uso está associado a uma maior incidência de DMPT (25).

Diversos estudos comparam a incidência de DMPT entre indivíduos tratados com tacrolimus e ciclosporina, assim como o efeito da conversão da terapia com tacrolimus para ciclosporina sobre o metabolismo da glicose. A incidência de DMPT relatada na literatura é, na maior parte dos estudos, mais alta em indivíduos transplantados renais que utilizam o tacrolimus como parte da terapia imunossupressora. Entretanto, este efeito não é definitivo. A redução de seus níveis plasmáticos parece reverter a alteração no metabolismo da glicose (26;27).

Uma metanálise que incluiu publicações de 1992 a 2002 relatou uma incidência de DMPT dependente de insulina significativamente maior entre pacientes tratados com tacrolimus do que entre os tratados com ciclosporina (9,8% *versus* 2,7%) (3).

Por meio de um ensaio clínico randomizado multicêntrico, a incidência de DMPT nos primeiros 6 meses após o transplante renal foi comparada entre indivíduos adultos tratados com ciclosporina ou tacrolimus. Ao final do estudo, a ciclosporina foi associada com menor incidência de DMPT (26% *versus* 33,6%, $p=0.046$) e menor necessidade de utilização de antidiabéticos e/ou insulina, sem diferenças significativas na ocorrência de rejeição aguda, disfunção do enxerto ou morte (25).

Quatrocentos e doze indivíduos transplantados renais sem DM foram randomizados para receberem tratamento com tacrolimus ou ciclosporina após o transplante. Durante um ano de acompanhamento, a incidência de DMPT no grupo tratado com tacrolimus foi 19,9% *versus* 4% no tratado com ciclosporina ($p<0.001$). Neste estudo, o risco de desenvolvimento de DMPT foi 3,3 vezes maior nos indivíduos negros e hispânicos quando comparados aos brancos em ambos os grupos. Além disso, altas doses de corticoides e de níveis plasmáticos de tacrolimus foram preditores do desenvolvimento de DMPT (28).

Durante o período de acompanhamento de um ano, 42% dos indivíduos inicialmente diagnosticados com DMPT, que realizaram a conversão de tratamento de tacrolimus para ciclosporina, tiveram o reestabelecimento de seus níveis glicêmicos. Enquanto isso, nenhum indivíduo com DMPT que manteve a terapia com tacrolimus apresentou melhora no quadro de hiperglicemia ($p=0,001$) (29). Portanto, a conversão do uso de tacrolimus para ciclosporina em indivíduos que desenvolvem DMPT é associada com uma melhora no metabolismo da glicose (30), embora a manutenção desta associação não tenha sido observada ao final de 5 anos de acompanhamento (31).

DIAGNÓSTICO DE DMPT

A grande variação na incidência de DMPT relatada na literatura está relacionada à ausência de utilização de um critério diagnóstico padrão. Os estudos publicados utilizam critérios diferentes para definir esta patologia, acarretando em uma incidência subestimada em muitos casos (3).

A maioria dos trabalhos publicados descreve a presença de DMPT pela necessidade do uso de anti-diabéticos, pela necessidade de insulina por um período mínimo (normalmente 30 dias), pela determinação da glicemia de jejum ou ocasional e/ou através de documentação do início de DMPT como uma nova complicação após o transplante (3;32). Um número reduzido de estudos inclui na sua metodologia a realização de um teste oral de tolerância à glicose (TOTG) (32).

Até o início da década passada, não havia diretrizes que abordassem o diagnóstico, o manejo e o tratamento de receptores de transplante em risco de desenvolverem DMPT. Em

janeiro de 2003, entretanto, o *International Consensus Guidelines on New-onset Diabetes after Transplantation* foi publicado (32). Segundo estas diretrizes, o diagnóstico de DMPT deve seguir os mesmos critérios recomendados pela *American Diabetes Association (ADA)* e pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o diagnóstico de DM na população em geral.

Na data de sua publicação, os critérios diagnósticos utilizados para classificar DM, glicemia de jejum alterada (GJA) ou intolerância à glicose (IG) eram baseados nas determinações de glicemia aleatória e/ou glicemia de jejum e/ou glicemia 2 horas após o TOTG (Tabela 1) (33;34;35). Embora as diretrizes de DMPT recomendem que o teste de primeira escolha a ser utilizado seja a glicemia de jejum, estudos demonstram que o TOTG é o teste mais sensível para o diagnóstico desta patologia (36;37).

Tabela 1: Critérios diagnósticos de DM recomendados pela ADA em 2003, ano de publicação das diretrizes de DMPT (33).

TESTES DIAGNÓSTICOS	TERMINOLOGIA
Glicemia de Jejum (mg/dL)	
< 100	Normal
100-125	GJA
≥ 126	DM
Teste Oral de Tolerância à Glicose Glicemia 2 horas após ingestão de 75g de glicose (mg/dL)	
< 140	Normal
140-199	IG
≥ 200	DM
Sintomas Característicos de DM E Glicemia Aleatória ≥ 200 mg/dL	DM

GJA, glicemia de jejum alterada; IG, intolerância à glicose; DM, diabetes mellitus

Em 2009, foram publicadas as diretrizes de práticas clínicas *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO), que contêm as recomendações sobre o monitoramento, o manejo e o tratamento dos receptores de transplante renal, e são ferramentas de auxílio para tomada de decisões clínicas. Este documento recomenda que todos os indivíduos transplantados sem DM sejam rastreados para DMPT por meio de GJ, TOTG e/ou da hemoglobina glicada (A1c), embora nenhum ponto de corte específico de A1c tenha sido sugerido para este fim (38).

Desde os anos 80, o teste A1c é utilizado como marcador de controle glicêmico em indivíduos com DM (39), possuindo papel importante no prognóstico de complicações microvasculares e macrovasculares decorrentes da hiperglicemia (1). Nas recomendações da ADA para o diagnóstico de DM publicadas em 2010, o teste A1c foi incluído como teste de primeira escolha para o diagnóstico de DM na população em geral, considerando como ponto de corte o valor de A1c $\geq 6,5\%$ (40).

Apesar da recomendação de uso deste teste na detecção de DM, sua utilização não é aconselhável em indivíduos transplantados renais antes dos três primeiros meses após o transplante, já que muitos podem receber transfusão sanguínea, tornando este teste inválido durante este período. Além disso, o uso de eritropoetina antes ou após o transplante aumenta o *turnover* dos eritrócitos, diminuindo os níveis de A1c (39;41).

Os pacientes transplantados renais realizam monitoramento periódico dos níveis de imunossuppressores sanguíneos. A amostra necessária para esta dosagem é o sangue total coletado em EDTA, o mesmo material utilizado para a determinação da A1c. Desta forma, sua utilização para a detecção de DMPT ocasionaria maior comodidade para o paciente no momento da coleta, além de eliminar o desconforto do TOTG e/ou jejum prévio.

Poucos estudos que avaliaram a utilização da A1c como ferramenta diagnóstica na detecção de DMPT renal foram publicados e os resultados apresentados são controversos. Discrepância entre os valores de sensibilidade e especificidade para o mesmo valor de A1c $\geq 6.5\%$ foi encontrada dependendo do período pós-transplante em que o teste foi realizado (36;42). No entanto, o ponto de corte recomendado pela ADA já é utilizado por diversos centros para este fim (43).

Embora não haja consenso sobre a utilização da A1c no diagnóstico de DMPT, o seu uso isolado ou em associação com a GJ, considerando o valor de sensibilidade de 80%, foi investigado para estratificação dos indivíduos que deveriam realizar um TOTG para o rastreamento de DMPT na décima semana após o transplante renal. Utilizando estes dois critérios associados, GJ entre 95-125 mg/dL e A1c acima de 5,8%, 80% dos indivíduos com DMPT poderiam ser corretamente identificados e não necessitariam realizar o TOTG (37).

CONSEQUÊNCIAS DO DMPT

O desenvolvimento de DMPT está relacionado com desfechos negativos e piora na função renal. Em um estudo que incluiu 1.146 pacientes, a incidência de hiperglicemia no período pós-transplante aumentou o risco de complicações cardiovasculares e mortalidade. Os autores observaram sobrevida reduzida nos indivíduos que desenvolveram eventos cardiovasculares maiores após o transplante, principalmente se também desenvolveram hiperglicemia (44).

A análise de uma coorte que incluiu 11.659 pacientes transplantados renais encontrou associação significativa entre maior incidência de DMPT e ocorrência de falência renal,

doenças cardiovasculares e mortalidade (5), embora estes desfechos desfavoráveis não tenham sido observados em outros estudos (45;46).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O DMPT é uma patologia que acomete parte dos indivíduos que realizam transplante de órgãos e seu desenvolvimento está relacionado principalmente à utilização de medicamentos imunossupressores. Sua ocorrência está associada com prognóstico desfavorável tanto para o paciente quanto para o enxerto. Por esta razão, a detecção de pacientes em risco de desenvolvimento de DMPT é fundamental para que o manejo e tratamento possam ser realizados adequadamente.

Segundo diretrizes específicas, o diagnóstico de DMPT deve seguir os mesmos critérios recomendados pela ADA e pela OMS para o diagnóstico de DM na população em geral. O teste de primeira escolha recomendado para o diagnóstico de DMPT é a glicemia de jejum. Dados disponíveis na literatura demonstram que o TOTG é o teste que apresenta maior sensibilidade diagnóstica na população transplantada renal, porém o seu uso rotineiro na prática clínica consome tempo e a sua realização pode gerar desconforto para o paciente.

Em 2010, o teste A1c foi incluído como critério de primeira escolha para o diagnóstico de DM na população em geral, embora ainda não haja consenso sobre seu uso no diagnóstico de DMPT. É provável que o estabelecimento de pontos de corte diagnósticos específicos seja necessário para a utilização deste teste na população de pacientes transplantados. Entretanto, poucos estudos avaliaram a acurácia diagnóstica deste teste para ser utilizado como

ferramenta diagnóstica nestes pacientes e os resultados publicados até o momento são inconsistentes.

REFERÊNCIAS

1. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2014. *Diabetes Care* 2014; 37(1):S14-S80.
2. Garcia GG, Harden P, Chapman J. The global role of kidney transplantation. *Lancet* 2012; 379(9820):e36-e8.
3. Montori VM, Basu A, Erwin PJ, Velosa JA, Gabriel SE, Kudva YC. Posttransplantation diabetes: a systematic review of the literature. *Diabetes Care* 2002; 25(3):583-592.
4. Starzl TE, Marchioro TL, Rifkind D, Holmes JH, Rowlands DT, Waddell WR. Factors in successful renal transplantation. *Surgery* 1964; 56: 296-318.
5. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D, Matas AJ. Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2003; 3(2):178–185.
6. Pham P-TT, Pham P-CT, Lipshutz GS, Wilkinson AH. New Onset Diabetes Mellitus After Solid Organ Transplantation. *Endocrin Metab Clin* 2007; 36: 873-890.
7. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Pampana A, Ferrari SM, Goglia F, Ferrannini E. Hepatitis C Virus Infection Evidence for an association with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(10): 2548-2550.
8. Räkel A, Karelis AD. Hepatitis C Virus Infection Evidence for an association with type 2 diabetes. *Diabetes metab* 2011; 37: 1-14.
9. Chakkerla HA, Knowler WC, Devarapalli Y, Weil EJ, Heilman RL, Dueck A, Mulligan DC, Reddy KS, Moss AA, Mekeel KL, Mazur MJ, Hamawi K, Castro JC, Cook CB. Relationship between Inpatient Hyperglycemia and Insulin Treatment after Kidney

Transplantation and Future New Onset Diabetes Mellitus. *Clin J Am Soc Nephro* 2010; 5: 1669-1675.

10. Hjelmæsæth J, Sagedal S, Hartmann A, Rollag H, Egeland T, Hagen M, Nordal KP, Jenssen T. Asymptomatic cytomegalovirus infection is associated with increased risk of new-onset diabetes mellitus and impaired insulin release after renal transplantation. *Diabetologia* 2004; 47:1550–1556.

11. Chakkera HA, Weil EJ, Swanson CM, Dueck AC, Heilman RL, Reddy KS, Hamawi K, Khamash H, Moss AA, Mulligan DC, Katariya N, Knowler WC. Pretransplant Risk Score for New-Onset Diabetes After Kidney Transplantation. *Diabetes Care* 2011; 34: 2141-2145.

12. Shah T, Kasravi A, Huang E, Hayashi R, Young B, Cho YW, Bunnapradist S. Risk Factors for Development of New-Onset Diabetes Mellitus After Kidney Transplantation. *Transplantation* 2006; 82(12): 1673-1676.

13. Akoh JA. Renal Transplantation in Developing Countries. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2011; 22(4): 637-650.

14. van Hooff JP, Christiaans MHL, van Duijnhoven EM. Evaluating mechanisms of post-transplant diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transpl* 2004; 19 [Suppl 6]: vi8–vi12.

15. Dong M, Parsaik AK, Eberhardt NL, Basu A, Cosio FG, Kudva YC. Cellular and physiological mechanisms of new-onset diabetes mellitus after solid organ transplantation. *Diabetic Med* 2012; 29: e1-e12.

16. Yates CJ, Furlanos S, Hjelmæsæth J, Colman PG, Cohney SJ. New-Onset Diabetes After Kidney Transplantation—Changes and Challenges. *Amer J Transplant* 2012; 12: 820-828.

17. van Raalte DH, Ouwens DM, Diamant M. Novel insights into glucocorticoid-mediated diabetogenic effects: towards expansion of therapeutic options? *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 81-93.
18. Midtvedt K, Hjelmæsæth J, Hartmann A, Lund K, Paulsen D, Egeland T, Jenssen T. Insulin Resistance after Renal Transplantation: The Effect of Steroid Dose Reduction and Withdrawal. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(12): 3233–3239.
19. Ajabnoor MA, El-Naggar MM, Elayat AA, Abdulrafee A. Functional and morphological study of cultured pancreatic islets treated with cyclosporine. *Life Sci* 2007; 80: 345–355.
20. van Duijnhoven EM, Christiaans MHL, Boots JMM, Nieman FHM, Wolffenbuttel BHR, van Hooff JP. Glucose Metabolism in the First 3 Years after Renal Transplantation in Patients Receiving Tacrolimus versus Cyclosporine-Based Immunosuppression. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 213–220.
21. Arner P, Gunnarsson R, Blomdahl S, Groth CG. Some Characteristics of Steroid diabetes: A Study in Renal Transplant Recipients Receiving High Dose Corticosteroids therapy. *Diabetes Care* 1983; 6(1): 23-25.
22. Luan FL, Steffick DE, Ojo AO. New-Onset Diabetes Mellitus in Kidney Transplant Recipients Discharged on Steroid-Free Immunosuppression. *Transplantation* 2011; 91(3): 334-341.
23. Valderhaug TG, Hjelmæsæth J, Rollag H, Leivestad T, Røislien J, Jenssen T, Hartmann A. Reduced Incidence of New-Onset Posttransplantation Diabetes Mellitus During the Last Decade. *Transplantation* 2007; 84(9): 1125-1130.
24. Boots JMM, Christiaans MHL, van Hooff JP. Effect of Immunosuppressive Agents

on Long-Term Survival of Renal Transplant Recipients Focus on the Cardiovascular Risk. *Drugs* 2004; 64(18): 2047-2073.

25. Vincenti F, Friman S, Scheuermann E, Rostaing L, Jenssen T, Campistol JM, Uchida K, Pescovitz MD, Marchetti P, Tuncer M, Citterio F, Wiecek A, Chadban S, El-Shahawy M, Budde K, Goto N. Results of an International, Randomized Trial Comparing Glucose Metabolism Disorders and Outcome with Cyclosporine Versus Tacrolimus. *Amer J Transplant* 2007; 7: 1506–1514.

26. Hoitsma AJ, Hilbrands LB. Relative risk of new-onset diabetes during the first year after renal transplantation in patients receiving tacrolimus or cyclosporine immunosuppression. *Clin Transplant* 2006; 20: 659–664.

27. Boots JMM, van Duijnhoven EM, Christiaans MHL, Wolffenbuttel BHR, van Hooff JP. Glucose Metabolism in Renal Transplant Recipients on Tacrolimus: The Effect of Steroid Withdrawal and Tacrolimus Trough Level Reduction. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 221–227.

28. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1997; 63(7): 977-983.

29. Ghisdal L, Bouchta NB, Broeders N, Crenier L, Hoang A-D, Abramowicz D, Wissing KM. Conversion from tacrolimus to cyclosporine A for new-onset diabetes after transplantation: a single-centre experience in renal transplanted patients and review of the literature. *Transpl Int.* 2008; 21(2):146-51.

30. Ramos-Cebrián M, Torregrosa J-V, Gutiérrez-Dalmau A, Oppenheimer F, Campistol J-M. Conversion From Tacrolimus to Cyclosporine Could Improve Control of Post Transplant Diabetes Mellitus After Renal Transplantation. *Transpl Proc* 2007; 39(7): 2251-2253.
31. Batista F, Auyanet I, Torregrosa J-V, Oppenheimer F. Long-Term Follow-up After Conversion From Tacrolimus to Cyclosporin in Renal Transplant Patients With New-Onset Diabetes Mellitus After Transplantation. *Transpl Proc* 2012; 44(9), 2582–2584.
32. Davidson J, Wilkinson A, Dantal J, Dotta F, Haller H, Hernández D, Kasiske BL, Kiberd B, Krentz A, Legendre C, Marchetti P, Markell M, van der Woude FJ, Wheeler DC. New-onset diabetes after transplantation: 2003 International Consensus Guidelines. *Transplantation* 2003; 75(10): S3-S24.
33. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26 (11): 3160-3167.
34. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26(1): s5-s20.
35. World Health Organization. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus: Abbreviated Report of a WHO Consultation. WHO 2011: 1-25.
36. Yates CJ, Furlanos S, Colman PG, Cohn SJ. Screening for New-Onset Diabetes After Kidney Transplantation: Limitations of Fasting Glucose and Advantages of Afternoon Glucose and Glycated Hemoglobin. *Transplantation* 2013; 96(8):726-731.

37. Valderhaug TG, Jenssen T, Hartmann A, Midtvedt K, Holdaas H, Reisæter AV, Hjeltnes J. Fasting Plasma Glucose and Glycosylated Hemoglobin in the Screening for Diabetes Mellitus After Renal Transplantation. *Transplantation* 2009; 88(3): 429-434.
38. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Amer J Transpl* 2009; 9(Suppl 3): S1–S157.
39. Hare MJL, Shaw JE, Zimmet PZ. Current controversies in the use of haemoglobin A1c. *J Intern Med* 2012; 271(3):227-236.
40. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2010. *Diabetes Care* 2010; 33(Suppl 1): S11-61.
41. Wilkinson A, Davidson J, Dotta F, Home PD, Keown P, Kiberd B, Jardine A, Levitt N, Marchetti P, Markell M, Naicker S, O’Connell P, Schnitzler M, Standl E, Torregosa J-V, Uchida K, Valantine H, Villamil F, Vincenti F, Wissing M. Guidelines for the treatment and management of new-onset diabetes after transplantation. *Clin Transplant* 2005; 19: 291–298.
42. Shabir S, Jham S, Harper L, Ball S, Borrows R, Sharif A. Validity of glycosylated haemoglobin to diagnose new onset diabetes after transplantation. *Transpl Int* 2013; 26: 315-321.
43. First MR, Dhadda S, Croy R, Holman J, Fitzsimmons WE. New-onset diabetes after transplantation (NODAT): an evaluation of definitions in clinical trials. *Transplantation*. 2013; 96(1): 58-64.

44. Wauters RP, Cosio FG, Fernandez MLS, Kudva Y, Shah P, Torres VE. Cardiovascular Consequences of New-Onset Hyperglycemia After Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2012; 94(4): 377-382.
45. Kuo H, Sampaio MS, Vincenti F, Bunnapradist S. Associations of Pretransplant Diabetes Mellitus, New-Onset Diabetes After Transplant, and Acute Rejection With Transplant Outcomes: An Analysis of the Organ Procurement and Transplant Network/United Network for Organ Sharing (OPTN/UNOS) Database. *Amer J Kidney Dis* 2010; 56(6): 1127-1139.
46. Hjelmesæth J, Hartmann A, Leivestad T, Holdaas H, Sagedal S, Olstad M, Jenssen T. The impact of early-diagnosed new-onset post-transplantation diabetes mellitus on survival and major cardiac events. *Kidney Int* 2006; 69: 588–595.

OBJETIVO

Avaliar o desempenho diagnóstico do teste A1c na detecção de DMPT renal, quatro meses após o transplante, utilizando o TOTG como método de referência.

Capítulo 2

Potential role of glycated hemoglobin in the diagnosis of new onset diabetes after renal transplantation

Running title: A1c and NODAT

Pimentel AL ¹

Carvalho LSAK ²

Silveiro SP ^{1,3}

Manfro RC ⁴

Camargo JL ^{1,3*}

¹ Post-Graduate Program in Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

² Nursing Student, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

³ Endocrinology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

⁴ Nephrology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

*Corresponding author:

Joíza Lins Camargo

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcellos, 2350; Prédio 12, 4º andar, Porto Alegre, RS, 90035-903, Brazil.

Fax: +55-51-33598127

E-mail address: jcamargo@hcpa.ufrgs.br

Artigo Original a ser submetido ao *American Journal of Transplantation*

List of Non-Standard Abbreviations:

ADA – American Diabetes Association

AUC – Area under the curve

A1c – Glycated hemoglobin

DM – Diabetes mellitus

FPG – Fasting plasma glucose

HCPA – Hospital de Clinicas de Porto Alegre

HPLC – High-performance liquid chromatography

IFCC – International Federation of Clinical Chemistry

LR+ – Positive likelihood ratio

LR– – Negative likelihood ratio

NGSP – National Glycohemoglobin Standardization Program

NODAT – New onset diabetes after transplantation

OGTT – Oral glucose tolerance test

RBG – Random blood glucose

ROC – Receiver operating characteristic

STARD – Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy

WHO – World Health Organization

2h-PG – 2-hour plasma glucose after 75-g glucose

ABSTRACT:

Glycated hemoglobin (A1c) is used to diagnose diabetes in the general population. There is no consensus concerning its validity for the diagnosis of new onset diabetes after transplantation (NODAT). This is a diagnostic accuracy study to evaluate the role of A1c test in the diagnosis of NODAT. Eighty-nine out of 210 patients that performed kidney transplantation between March 2012 and October 2013 were included in the study. NODAT was identified in 23 (25.8%) patients by the oral glucose tolerance test (OGTT). A1 \geq 6.5% identified only 14 patients with NODAT. From these 14, 2 presented normal OGTT. ROC curve analysis showed a good accuracy for A1c to detect NODAT. A1c \geq 6.5% showed low sensitivity and high specificity (52.2% and 97.0%, respectively) and A1c of 5.9% was the equilibrium point between sensitivity and specificity (78.3% and 78.8%, respectively). Based on a pre-test probability of 20%, the post-test probabilities for NODAT were approximately 9% for A1c \leq 5.9% and 81% for A1c \geq 6.5%. Considering different A1c cutoff points, A1c \geq 6.5% to rule in and A1c \leq 5.9% to rule out NODAT, the number of the cumbersome OGTT would be reduced in 83%. A1c test should be used together with OGTT to exclude and confirm NODAT.

Key words: new onset diabetes after transplantation, diagnosis, renal transplantation, glycated hemoglobin

INTRODUCTION:

New onset diabetes after transplantation (NODAT) has been recognized as a serious complication of renal transplantation and its incidence during the first year ranges between 2 and 50% (1). Immunosuppressive therapy, generally comprised by a corticosteroid and a calcineurin inhibitor, is the most important risk factor for the development of changes in glucose metabolism after transplantation. In susceptible individuals, the use of these immunosuppressants is associated with the increase of insulin resistance and/or the decrease of insulin secretion (2). An adequate screening of these metabolic changes is important to avoid poor outcomes related to hyperglycemia (3).

In 2003, the International Consensus Guidelines on New Onset Diabetes After Transplantation established a standard definition for diagnosis of NODAT (4). According to these guidelines, the same criteria recommended by American Diabetes Association (ADA) and by World Health Organization (WHO) for the diagnosis of diabetes mellitus (DM) in general population should be used to diagnose NODAT. On their publication date, the diagnostic criteria for DM were based on random blood glucose (RBG) and/or fasting plasma glucose (FPG) and/or 2-h plasma glucose after 75-g glucose (2h-PG) by an oral glucose tolerance test (OGTT) (5). In 2010, guidelines for DM also included glycated hemoglobin (A1c) as a diagnostic criterion, considering $A1c \geq 6.5\%$ as cutoff value for DM (6, 7).

The use of A1c test in clinical practice has some advantages when compared to glycemia based tests. It does not require fasting, it can be measured at any time of day and the day-to-day variability is less than glucose values (8). Although A1c test is useful to detect DM in general population, there are controversies about the validity of its results before three months after transplantation. Factors such as anemia, use of erythropoietin and dialysis can

affect A1c results, and cause misinterpretations (9, 10). Previous studies that investigated the use of A1c as a tool for diagnosis of NODAT presented controversial results (11-14).

Recipients who develop NODAT have higher risk of poorer outcomes related with graft loss and cardiovascular morbidity and mortality (3). As most cases of NODAT develop in the first months after transplantation, its early diagnosis plays an important role to delay or avoid these negative effects (1). For that reason, in this study we aimed to evaluate the A1c cutoff value of 6.5% to diagnose NODAT and assess the overall accuracy of A1c test in renal transplant recipients, at fourth month after transplantation, considering the OGTT as standard reference.

MATERIAL AND METHODS

Study Design

This is a cross-sectional study of diagnostic accuracy to evaluate A1c test to diagnose NODAT. NODAT was defined according to New Onset Diabetes After Transplantation Consensus Guidelines, as FPG ≥ 126 mg/dL and/or 2h-PG ≥ 200 mg/dL (4). The study followed the Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy (STARD) Initiative (15).

Study population

The study included adult patients without DM that performed kidney transplantation at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) between March 2012 and October 2013. All patients were invited to participate and to perform an OGTT according to WHO recommendations (16). The exclusion criteria were: presence of anemia (hemoglobin < 11 g/dL for men and < 10 g/dL for women) (17), estimated glomerular filtration rate (GFR) < 15 mL/min (18), presence of variant hemoglobin in the A1c chromatogram (19), recent dialysis

(20), in use of erythropoietin (21), blood transfusion within the previous 3 months (22) and NODAT already diagnosed and treated with oral hypoglycemic agents and/or insulin (**Figure 1**). Patients with DM prior to transplant were excluded based on medical history and on FPG by ADA criteria (23).

The following data were recorded: age, race, gender, blood pressure, waist circumference, donor type and immunosuppressive medication. Participants were also assessed for weight and height, and their body mass index (BMI [kg/m^2]) was calculated.

All participants answered a standardized questionnaire and signed an informed consent form. The research protocol was approved by the Institutional Review Board of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and registered by the number 12-0226.

Imunossuppression

We arbitrarily included in the study patients at fourth month post transplantation to reduce factors affecting A1c results and to include patients with stabilized levels of immunosuppressants. The standard maintenance immunosuppression comprised prednisone, a calcineurin inhibitor (tacrolimus or cyclosporine) and mycophenolate mofetil/sodium. Cyclosporine was given mainly if tacrolimus was withdrawn due to the occurrence of transplant-associated thrombotic microangiopathy and worsening of renal function as a consequence of the use of tacrolimus. During the first weeks after transplantation, patients took 20 mg of prednisone until achieve a maintenance dose of 5 mg daily at 3 months. Target tacrolimus trough levels were 10 - 12 ng/mL for the first three months, and the dose was reduced until achieve levels of 8 - 10 ng/mL at 4 months after transplantation. Target cyclosporine trough levels were 200 - 300 ng/mL for the first three months, and the dose was reduced until achieve levels of 200-250 ng/mL at 4 months after transplantation.

Laboratory analysis

All laboratorial measurements were carried out at Clinical Patology Department of HCPA. After an overnight fast, a standard OGTT was performed and blood samples were drawn to determine A1c, hemogram, creatinine and glucose. Plasma glucose was determined by enzymatic method (Advia[®] 1800, Siemens Healthcare), hemogram was performed by flow cytometry (Advia 2120i, Siemens Diagnóstica) and creatinine by Jaffé reaction (Advia[®] 1800, Siemens Healthcare). The glomerular filtration rate was estimated by the CKD-EPI equation (18). A1c was measured by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method (Bio-Rad Variant[™] II Turbo analyzer), standardized by National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP; <http://www.ngsp.org/certified.asp>) and aligned to International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) (24). The Clinical Pathology department is an A1c External Quality Assurance Program participant with adequate performance.

Statistical analysis

Data were expressed as mean [standard deviation (SD)] or frequencies (%). Student's *t*-test and chi-squared test were used to analyze differences between groups with and without NODAT. The Receiver Operating Characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the performance of A1c test to diagnose NODAT considering the OGTT as reference diagnostic criteria. Sensitivity, specificity and likelihood ratios (LR) for different A1c cutoff points were calculated. LR greater than 1 for a positive test is associated with the presence of the disease (LR+) and LR less than 1 for a negative test is associated with the absence of the disease (LR-) (25). For clinical practice applicability, we also estimated the post-test probability of NODAT using the Fagan nomogram (26), considering the pre-test probability of 20% (27). A significance level of 5% was adopted.

RESULTS

A total of 210 patients performed kidney transplantation at HCPA between March 2012 and October 2013. Of these, 121 were excluded and 89 patients were enrolled in this study (**Figure 1**). Twenty-three (25.8%) patients were diagnosed with NODAT: 14 by 2h-PG alone and 9 by both FPG and 2h-PG. None of the patients were diagnosed with NODAT based only on FPG values. All patients were included in the study after 4 months post-transplantation. The clinical and laboratory characteristics of patients with and without NODAT are shown in **Table 1**.

There was no statistically significant difference regarding to gender, race, BMI, blood pressure, waist circumference and calcineurin inhibitor agent used between patients with and without NODAT ($P > 0.05$). There were significant differences in age and A1c levels between patients with and without NODAT. Patients with NODAT were older and had higher A1c levels. A1c values were $6.6 \pm 0.9\%$ and $5.4 \pm 0.6\%$ for patients with and without the disease, respectively ($P < 0.001$).

Considering the A1c cutoff point $\geq 6.5\%$, only 14 patients were identified with NODAT. Of those, 12 were also diagnosed by OGTT: 6 by 2h-PG and 6 by both FPG and 2h-PG. Two patients had A1c ≥ 6.5 and presented normal OGTT. The sensitivity, specificity and negative predictive value (NPV) of this cutoff point were 52.2%, 97.0% and 85.3%, respectively.

Based on ROC analysis, the area under the curve (AUC) for A1c, considering OGTT as the reference test, was 0.869 (95% CI 0.771 – 0.967, $p < 0.001$) and the A1c cutoff point obtained by the point with the best equilibrium between sensitivity and specificity (100%-to-

100% diagonal) was 5.9%. The sensitivity and specificity for this point were 78.3 and 78.8%, respectively (**Figure 2**).

Based on this data, and considering $A1c \leq 5.9\%$ as the cutoff point to rule out NODAT, 60 out of 89 patients were classified without NODAT. Of those, 5 patients presented a positive diagnosis by OGTT. FPG and 2h-PG for these misclassified patients were borderline (111 ± 25 mg/dL and 209 ± 10 mg/dL, respectively).

The LR+ and LR– were also calculated for A1c values (**Table 2**). A1c cutoff point of 5.9% had a LR+ of 3.69 (95% CI 2.21 to 6.16) and a LR– of 0.28 (95% CI 0.13 to 0.61) and A1c cutoff point of 6.5% had a LR+ of 17.0 (95% CI 4.16 – 71.0) and a LR– of 0.49 (95% CI 0.32 to 0.76). Based on a pre-test probability of 20% for NODAT, the post-test probabilities for NODAT development were approximately 9% and 81% for $A1c \leq 5.9\%$ and $A1c \geq 6.5\%$, respectively (**Figure 3**).

DISCUSSION

In this study, we evaluated the performance of A1c to detect NODAT in comparison to a traditional OGTT at fourth month after kidney transplantation. Our results showed that $A1c \geq 6.5\%$ presented high specificity and low sensitivity to diagnose NODAT. These findings are in agreement with other studies, which also analyzed A1c to diagnose DM in the general population (28) and NODAT in renal transplant patients (13, 14).

Recently, two studies analyzed the performance of $A1c \geq 6.5\%$ for the diagnosis of NODAT and both showed specificity higher than 90% in this cutoff point from 3 to 12 months after renal transplantation. However, they showed discrepant sensitivities that varied

from 43% to 83% (13, 14). In our study, A1c $\geq 6.5\%$ showed 97% and 52.2% for specificity and sensitivity, respectively. Considering A1c $\geq 6.5\%$ as the sole diagnostic criterion for NODAT, we would miss almost half of our positive patients (12 out 23). Two patients with normal OGTT presented A1c $\geq 6.5\%$. According to the current ADA guidelines, these 2 patients would be diagnosed with NODAT. None case of NODAT was detected only by FPG levels in agreement with a previous study (13).

When we used ROC curve to evaluate the overall performance of A1c to diagnose NODAT, the AUC was 0.869, similar to those reported by others (12, 13), and considered as a good diagnostic accuracy. A1c cutoff point of 5.9 % presented the best equilibrium between sensitivity and specificity. The sensitivity in this point was high enough to rule out NODAT (78.3%). On the other hand, the A1c cutoff point of 6.5% presented excellent specificity to confirm the disease (97%).

Applying these two A1c cutoff points to our patients, 60 patients would be classified without NODAT, 14 would be diagnosed with NODAT and 15 patients that presented A1c between 6.0% and 6.4% would be referred to an OGTT. This approach would decrease the number of the cumbersome OGTT in 83%. There would be only 5 false-negative results with borderline diagnostic values for OGTT at 4 months after transplantation.

Two studies evaluated different A1c cutoff levels to screening NODAT. A1c $\geq 6.1\%$ showed higher sensitivity than FPG to detect NODAT in African American patients at different time points after transplantation and A1c $\geq 5.8\%$, in combination with FPG levels, was useful to select renal transplant patients to undergo to an OGTT at tenth weeks after surgery (11, 12). Similar to our findings, these studies showed that the association of A1c

with blood glucose levels may be a helpful tool to diagnose NODAT by enhancing the detection of positive cases.

Considering the positive likelihood ratio, we can assume that patients with NODAT are about 17 times more likely to have an A1c $\geq 6.5\%$ than patients without the disease. On the other hand, given the negative likelihood ratio, patients without NODAT are about three times more likely to have an A1c $\leq 5.9\%$ than patients with the disease. The LR+ and LR- are very meaningful for both A1c cutoff points analysed (24). In addition, by using Bayes theorem rationale, we evaluated the patient chance of having NODAT after knowing an A1c result. The post-test probability for NODAT was 9% for A1c $\leq 5.9\%$, much lower than the pre-test probability of 20%, and 81% for A1c $\geq 6.5\%$, showing a four times increase from the pre-test probability (25, 28).

Age is a well known risk factor associated with NODAT and older patients are at increased risk of developing this disorder (3). In our study, patients with NODAT were 10 years older than patients without the disease (54.3 ± 11.6 and 43.6 ± 12.2 , respectively). Although the incidence of NODAT reported in the literature is higher in patients treated with tacrolimus (1), we did not observe any significant difference in our sample. A possible explanation may be the small number of patients included who were treated with cyclosporine.

This study has some limitations. First, it was a cross-sectional study and the relationship of A1c values with post-transplantation outcomes could not be analysed. Second, the analysis was carried out in a single centre with a small number of patients and the A1c diagnostic accuracy may be overestimated. Third, we have the limitations of A1c test itself and its applicability in early post-transplantation will depend on the observance of all factors

affecting A1c results. Finally, the use of an OGTT before transplantation is not a common practice and our patients were recruited based only on FPG values and clinical history, thus some patients might have developed DM before transplantation.

In conclusion, A1c test may be a very useful tool to diagnose NODAT in renal transplantation. Using A1c cutoff point $\geq 6.5\%$ to rule in and A1c cutoff point $\leq 5.9\%$ to rule out NODAT, the number of the cumbersome OGTT would be reduced in 83%. Therefore, we recommend that different A1c cutoff points should be used in combination with OGTT to exclude or confirm the disease in early post-transplantation.

ACKNOWLEDGMENTS

This project was accomplished at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Financial sponsorship was received from Fundo de Incentivo a Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). ALP and LSAKC were recipients of scholarships from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), respectively.

DISCLOSURE

The authors declare that there is no duality of interest associated with this manuscript.

REFERENCES

1. Montori VM, Basu A, Erwin PJ, Velosa JA, Gabriel SE, Kudva YC. Posttransplantation diabetes - A systematic review of the literature. *Diabetes Care* 2002; 25(3):583-92.
2. Yates CJ, Furlanos S, Hjelmessaeth J, Colman PG, Cohney SJ. New-Onset Diabetes After Kidney Transplantation - Changes and Challenges. *Am J Transplant* 2012;12(4):820-8.
3. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D, Matas AJ. Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2003;3(2):178-85.
4. Davidson J, Wilkinson A, Dantal J, Dotta F, Haller H, Hernandez D, et al. New-onset diabetes after transplantation: 2003 International Consensus Guidelines. *Transplantation* 2003;75(10):SS3-SS24.
5. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003;26(1):S5-S20.
6. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2010. *Diabetes Care* 2010;33(Suppl 1):S11-S61.
7. World Health Organization. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus. Abbreviated Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization: 2011.
8. Bonora E, Tuomilehto J. The pros and cons of diagnosing diabetes with A1c. *Diabetes Care* 2011; 34(2): S184-S190.
9. Sharif A, Baboolal K. Diagnostic Application of the A(1c) Assay in Renal Disease. *J Am Soc Nephrol* 2010;21(3):383-5.

10. Camargo J, Gross J. Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method. *J Clin Pathol* 2004;57(4):346-9.
11. Hoban R, Giella B, Temkit M, Saha C, Book BK, Baker E, et al. Utility of HbA1c in the detection of subclinical post renal transplant diabetes. *Transplantation* 2006;81(3):379-83.
12. Valderhaug TG, Jenssen T, Hartmann A, Midtvedt K, Holdaas H, Reisaeter AV, et al. Fasting Plasma Glucose and Glycosylated Hemoglobin in the Screening for Diabetes Mellitus After Renal Transplantation. *Transplantation* 2009;88(3):429-34.
13. Shabir S, Jham S, Harper L, Ball S, Borrows R, Sharif A. Validity of glycated haemoglobin to diagnose new onset diabetes after transplantation. *Transplant Int* 2013;26(3):315-21.
14. Yates CJ, Furlanos S, Colman PG, Cohny SJ. Screening for New-Onset Diabetes After Kidney Transplantation: Limitations of Fasting Glucose and Advantages of Afternoon Glucose and Glycated Hemoglobin. *Transplantation* 2013;96(8):726-31.
15. Bossuyt P, Reitsma J, Bruns D, Gatsonis C, Glasziou P, Irwig L, et al. Towards Complete and Accurate Reporting of Studies of Diagnostic Accuracy: The STARD Initiative. *Clin Chem* 2003;49:1-6.
16. World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/IDF Consultation. Geneva: World Health Organization: 2006.
17. Ford ES, Cowie CC, Li C, Handelsman Y, Bloomgarden ZT. Iron-deficiency anemia, non-iron-deficiency anemia and HbA1c among adults in the US. *J Diabetes* 2011;3(1):67-73.

18. Masson I, Flamant M, Maillard N, Rule AD, Vrtovsnik F, Peraldi M-N, et al. MDRD versus CKD-EPI equation to estimate glomerular filtration rate in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2013;95(10):1211-7.
19. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. *Clin Chem* 2001;47(2):153-63.
20. Freedman D, Dandona P, Fernando O, Moorhead JF. Glycosylated haemoglobin in chronic renal failure and after renal transplantation. *J Clin Pathol* 1982;35(7):737-9.
21. Nakao T, Matsumoto H, Okada T, Han M, Hidaka H, Yoshino M, et al. Influence of erythropoietin treatment on hemoglobin A1c levels in patients with chronic renal failure on hemodialysis. *Internal Medicine* 1998;37(10):826-30.
22. Spencer DH, Grossman BJ, Scott MG. Red cell transfusion decreases hemoglobin A(1c) in patients with diabetes. *Clin Chem* 2011;57(2):344-6.
23. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2014. *Diabetes Care* 2014;37(1):S14-S80.
24. Hanas R, John G. 2010 Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A(1c) measurement. *Diabetes Res Clin Practice* 2010;90(2):228-30.
25. Deeks JJ, Altman DG. Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *BMJ* 2004;329:168-9.
26. Fagan TJ. Letter: normogram for Bayes theorem. *N Engl J Med* 1975;293:257.
27. Gnatta D, Keitel E, Heineck I, Cardoso BD, Rodrigues AP, Michel K, et al. Use of Tacrolimus and the Development of Posttransplant Diabetes Mellitus: A Brazilian Single-Center, Observational Study. *Transplant Proc* 2010;42(2):475-8.

28. Cavagnoli G, Comerlato J, Comerlato C, Renz PB, Gross JL, Camargo JL. HbA(1c) measurement for the diagnosis of diabetes: is it enough? *Diabet Med* 2011;28(1):31-5.

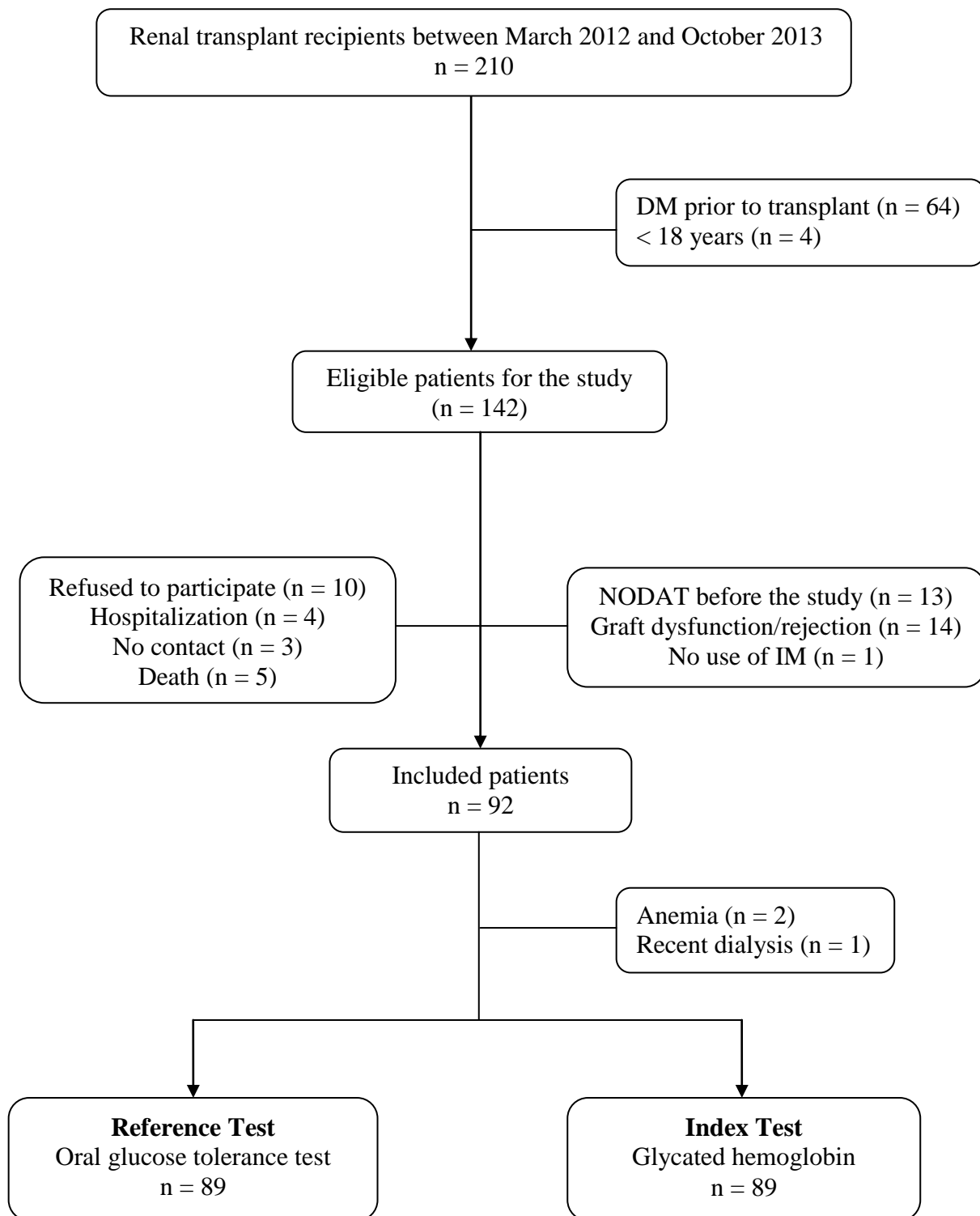


Figure 1 – Flow chart of the inclusion and exclusion of patients into the study. DM, diabetes mellitus; IM, immunosuppressant; NODAT, new onset diabetes after transplantation.

Table 1: Clinical and laboratory characteristics of patients with and without NODAT.

	Patients without NODAT (n = 66)	Patients with NODAT (n = 23)	P-value
Age (years)	43.6 ± 12.2	54.3 ± 11.6	<0.001
Gender (% men)	42.4	56.5	0.243
Race (% white)	74.2	65.2	0.397
A1c (%)	5.4 ± 0.6	6.6 ± 0.9	<0.001
Body mass index (kg/m ²)	25.4 ± 4.4	27.2 ± 5.2	0.106
Waist Circumference (cm)	93.1 ± 9.6	97 ± 11.4	0.110
Diastolic Blood Pressure (mmHg)	125.7 ± 18.5	124.7 ± 18.1	0.208
Systolic Blood Pressure (mmHg)	77.9 ± 10.8	74.4 ± 11.9	0.819
Fasting Plasma glucose (mg/dL)	91.0 ± 8.6	123.6 ± 27.5	NA
2h - PG after 75g glucose (mg/dL)	124.8 ± 33.3	262.1 ± 58.8	NA
Calcineurin inhibitor (%)			0.969
Tacrolimus	95.5	95.7	
Ciclosporine	4.5	4.3	
Deceased donor (%)	78.8	82.6	0.927

A1c, glycated hemoglobin; NODAT; new onset diabetes after transplantation; PG, plasma glucose.

Data are expressed as mean ± SD or frequencies. NA, not applicable.

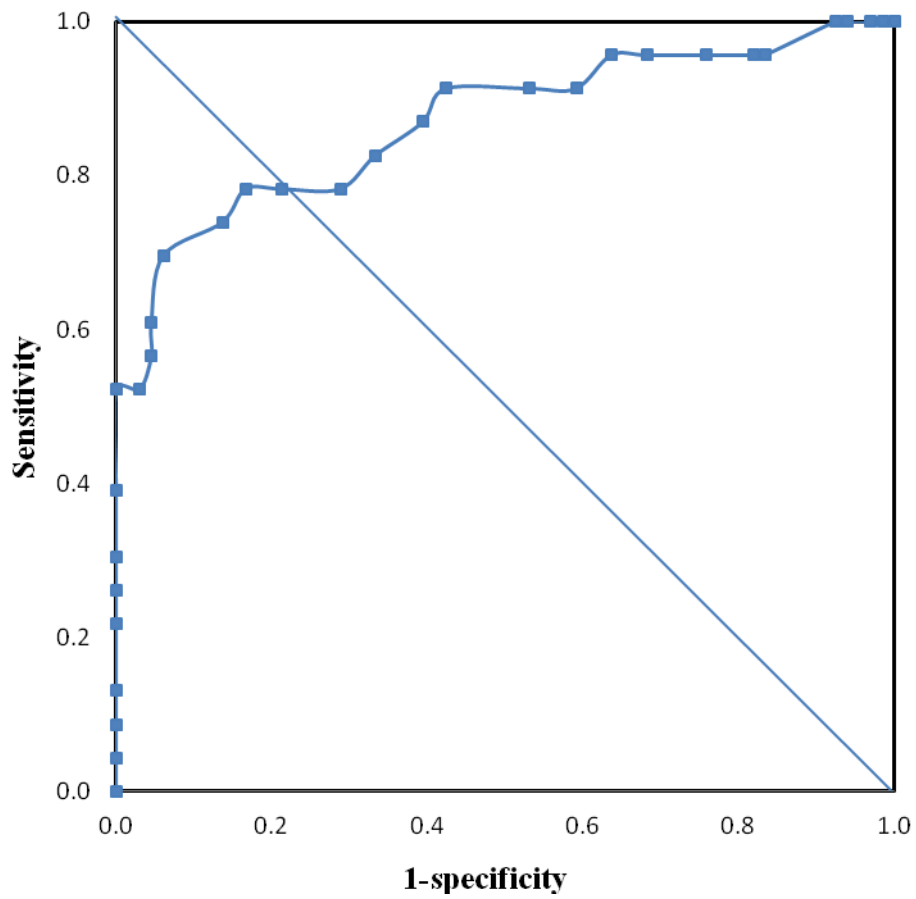


Figure 2: Receiver operating curve for glycated hemoglobin for the diagnosis of new onset diabetes after transplantation.

Table 2: Sensitivities, specificities and likelihood ratios of different A1c cutoff levels for the diagnosis of NODAT.

A1c (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)
5.5	91.3	57.6	2.15 (1.58 – 2.93)	0.15 (0.04 – 0.58)
5.6	87.0	60.6	2.21 (1.57 – 3.10)	0.22 (0.07 – 0.63)
5.7	86.2	66.7	2.48 (1.68 – 3.66)	0.26 (0.11 – 0.65)
5.8	78.3	71.2	2.72 (1.76 – 4.21)	0.31 (0.14 – 0.67)
5.9	78.3	78.8	3.69 (2.21 – 6.16)	0.28 (0.13 – 0.61)
6.0	78.3	83.3	4.70 (2.63 – 8.39)	0.26 (0.12 – 0.57)
6.1	73.9	86.4	5.42 (2.82 – 10.0)	0.30 (0.15 – 0.60)
6.2	69.6	93.9	11.0 (4.28 – 31.0)	0.32 (0.17 – 0.60)
6.3	60.9	95.5	13.0 (4.23 – 42.0)	0.41 (0.25 – 0.68)
6.4	56.5	95.5	12.0 (3.89 – 40.0)	0.46 (0.28 – 0.73)
6.5	52.2	97.0	17.0 (4.16 – 71.0)	0.49 (0.32 – 0.76)
AUC			0.869	

AUC, area under the curve; A1c, glycated hemoglobin; LR+, positive likelihood ratio; LR-, negative likelihood ratio; NODAT, new onset diabetes after transplantation.

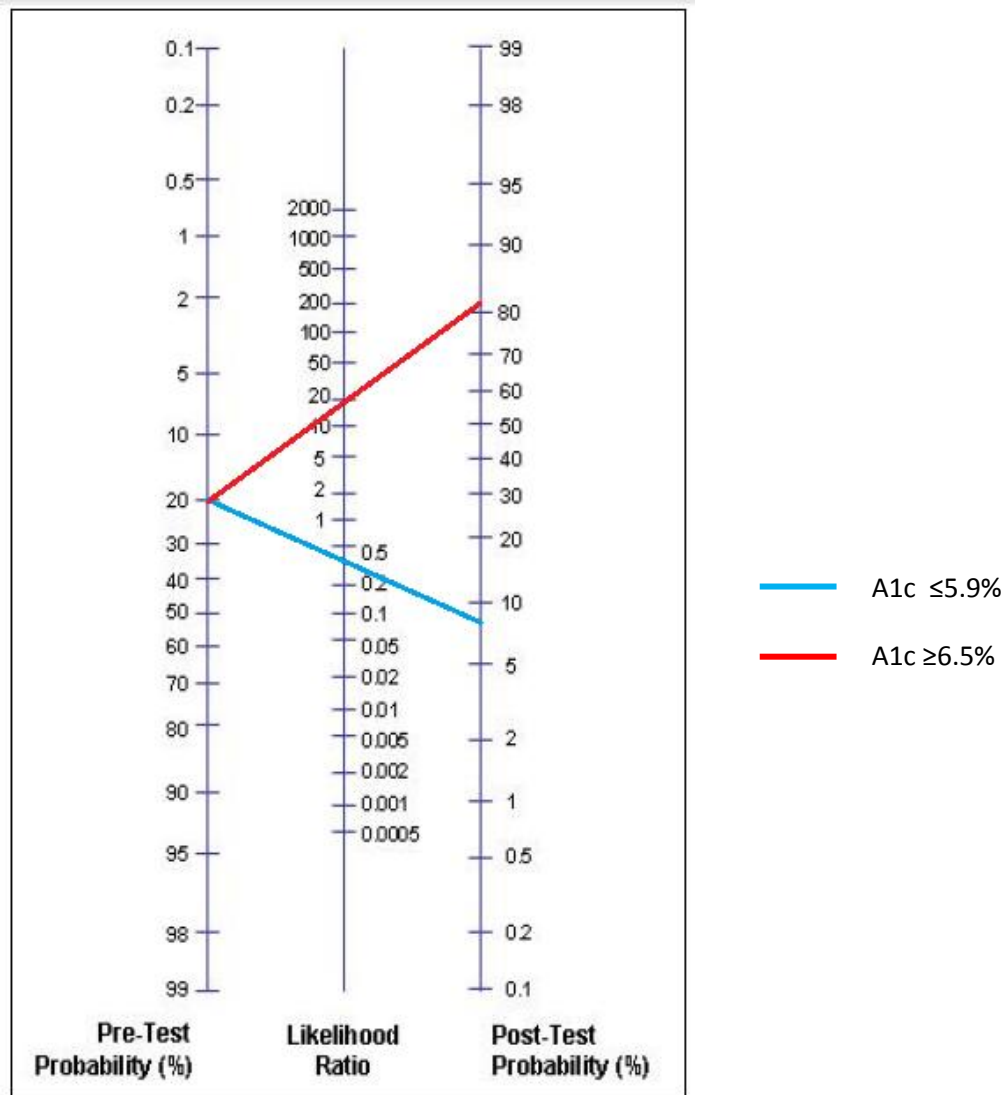


Figure 3: Fagan's Nomogram for glycated hemoglobin (A1c) test showing post-test probabilities for new onset diabetes after transplantation with A1c $\leq 5.9\%$ and A1c $\geq 6.5\%$.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O teste A1c, atualmente recomendado para o diagnóstico de diabetes na população em geral, parece ser também uma ferramenta útil para o diagnóstico de DMPT em pacientes transplantados renais. Entretanto, segundo nossos resultados, pontos de corte específicos devem ser utilizados em combinação com o TOTG para excluir ou confirmar o diagnóstico de DMPT.

Estudos de custo-efetividade são necessários para a avaliação do impacto econômico da utilização do teste A1c na detecção de DMPT na prática clínica. O teste A1c é mais caro do que os testes baseados na glicemia. No entanto, as vantagens clínicas deste teste podem superar as suas desvantagens econômicas.

Apesar do DMPT e do DM tipo 2 apresentarem fisiopatologias semelhantes, estes dois tipos de diabetes apresentam evoluções clínicas diferentes. Enquanto o controle glicêmico piora durante a evolução do DM tipo 2, ele pode tanto piorar quanto melhorar no DMPT, de acordo as alterações realizadas na terapia imunossupressora. Por esta razão, os critérios diagnósticos para o DMPT deveriam ser baseados em função de suas implicações prognósticas. Até o momento, entretanto, não há estudos que avaliem as complicações futuras decorrentes da hiperglicemia pós-transplante e a associem com pontos de corte diagnósticos específicos.