

# Hemoglobina Glicada (A1c): Métodos de Doseamento Calibração IFCC/DCCT. Considerações

J. Guimarães, M. Bastos, M. Carvalho

Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Hospitais da Universidade de Coimbra

## Resumo

A determinação da hemoglobina glicada (A1c) deve ser realizada de rotina em todos os doentes com diabetes *mellitus*, de forma a avaliar o controlo glicémico e quantificar o risco de complicações. Existem diversos métodos disponíveis e os resultados da A1c variam na mesma amostra de sangue, conforme o método utilizado. Em 1995, a "International Federation of Clinical Chemistry" (IFCC) formou um grupo de estudo para a uniformização da A1c e desenvolveu um novo método de referência. No entanto, os valores de A1c resultantes do método IFCC são significativamente mais baixos que os valores de referência do DCCT, o que gerou controvérsia quanto à forma como esses resultados devem ser expressos. Um grupo de estudo com membros de diferentes organizações internacionais (ADA, EASD e IDF) reuniu em 2004 para padronização e uniformização da A1c.

## INTRODUÇÃO

A avaliação do controlo glicémico da diabetes *mellitus* tem uma importância extrema no seguimento de doentes com diabetes tipo 1 e tipo 2. Essa importância advém do resultado de diversos estudos (nomeadamente o UKPDS e o DCCT) que relacionaram de forma directa o valor da hemoglobina glicada (A1c) com o risco de desenvolvimento das complicações crónicas associadas à diabetes (1,2).

Na década de 90, a auto-vigilância das glicemias capilares e a determinação da A1c revolucionaram a abordagem da diabetes e hoje, diversas associações internacionais têm publicado os objectivos a atingir na diabetes, (com base em pontos de corte das glicemias capilares e da A1c) de forma a minimizar o desenvolvimento e/ou progressão das complicações (3).

A reacção entre a hemoglobina A e a glicose corresponde a uma glicação não enzimática, que ocorre de forma contínua e irreversível, envolvendo duas fases: numa 1ª fase, reversível, forma-se um composto intermediário denominado pré-A1c ou base de Schiff e numa 2ª fase, forma-se a A1c. A hemácia é livremente permeável à glicose, pelo que a velocidade de síntese da A1c depende da concentração de glicose a que os eritrócitos são expostos. Como a semi-vida dos eritrócitos é cerca de 120 dias, a A1c reflecte a média das glicemias durante esse intervalo.

## Abstract

Glycated hemoglobin (A1c) should be measured routinely in all diabetic patients to evaluate their degree of glycemic control and quantifying the risk of complications. There are many different assay methods in current use and the reported A1c results from the same blood sample could differ considerably. In 1995, the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) formed a working group on A1c standardization and developed a reference method for A1c. But, the A1c results obtained by the IFCC method are significantly lower than DCCT results and these findings have generated debate as to how A1c should be reported. A working group of members of different organizations (ADA, EASD and IDF) was established in 2004 to harmonize HbA1c reporting.

## METODOLOGIAS E UNIFORMIZAÇÃO

A determinação da A1c possui algumas limitações, nomeadamente o facto de vários factores interferirem com a sua concentração, independentemente do método utilizado. Por

**Quadro 1** – Exemplos de valores de A1c obtidos pelos métodos NGSP e IFCC.

NGSP- A1c	IFCC- A1c	Diferença %
4	2,1	1,9
5	3,2	1,8
6	4,3	1,7
7	5,4	1,6
8	6,4	1,6
9	7,5	1,5
10	8,6	1,4
11	9,7	1,3
12	10,7	1,3

exemplo, as doenças hemorrágicas e anemias hemolíticas podem resultar em valores inapropriadamente diminuídos (*por reduzirem a semi-vida das hemácias*), bem como a presença de grandes quantidades de vitamina C e E. Os valores podem ser falsamente elevados, em situações de carência de ferro, vitamina B12 e ácido fólico, em situações de hipertrigliceridémia, urémia, alcoolismo crónico ou pela ingestão crónica de salicilatos e opiáceos. As hemoglobinopatias podem resultar em valores de HbA1c falsamente aumentados ou diminuídos, conforme a metodologia utilizada para a sua determinação (4).

Por outro lado existem diversos métodos disponíveis para a determinação da A1c (*mais do que 30*), o que implica uma grande variabilidade de resultados (*de 4 a 8,1% na mesma amostra de sangue*) (5). Os métodos disponíveis podem clas-

Correspondência:

Joana Guimarães

Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo

Hospitais da Universidade de Coimbra

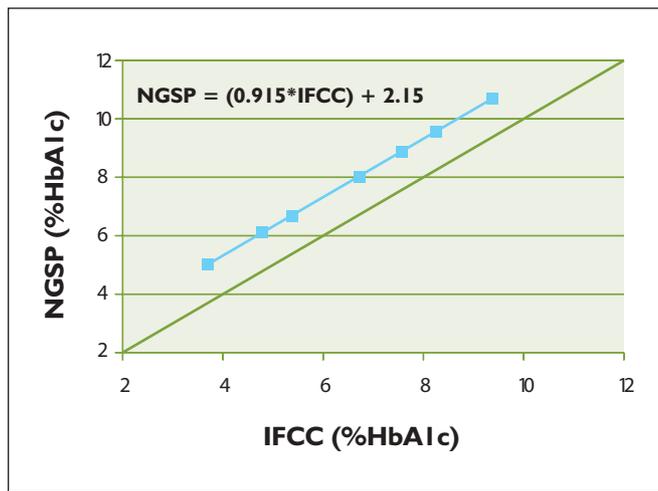
3000-175 Coimbra

joanagui@sapo.pt

**Quadro II – Vantagens e desvantagens dos métodos IFCC e DCCT.**

	IFCC	DCCT
<b>Vantagens</b>	Valores mais específicos Oportunidade para reeducar os profissionais e doentes Oportunidade para redefinir a A1c	Familiar Relacionado com valores do DCCT/UKPDS
<b>Desvantagens</b>	Custos elevados e educação demorada Implementação parcial agrava variabilidade entre laboratórios Risco de deterioração do controlo metabólico Pequenas variações da A1c com grande impacto na saúde (aceitação difícil pelo doente)	Não é o “verdadeiro” valor da A1c Confusão com glicémia (quando expressa em mmol/L) Perde-se oportunidade para reeducar

ADA, EASD, IDF



**Figura 1 -** Relação entre a HbA1c – DCCT (NGSP) e HbA1c - IFCC

sificar-se de um modo geral em 2 grupos: os que se baseiam em diferenças de carga iónica dos componentes glicosados e não glicosados (HPLC-cromatografia de troca iónica e electroforese em gel de agarose) e os que se baseiam em diferenças estruturais (imunoensaios e cromatografia de afinidade).

Esta diversidade de métodos disponíveis implica que os valores de A1c não são comparáveis entre si (quando se utilizam métodos diferentes), nem com os valores propostos pelos estudos DCCT/UKPDS, a não ser que haja uma uniformização desses valores.

Em 1996, o NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) iniciou um programa mundial de padronização dos laboratórios, de forma a conseguir uma uniformização dos valores da A1c entre si e relativamente aos do DCCT. Considerou que o método laboratorial que deveria ser adoptado por todos os laboratórios seria o HPLC, até ser desenvolvido um novo método de referência. Para as metodologias certificadas pelo NGSP, o intervalo de referência deverá situar-se entre 4 a 6%, com variação inferior a 0,5% (6).

**CALIBRAÇÃO IFCC (International Federation of Clinical Chemistry)**

Em 1995, a IFCC formou um grupo de estudo para analisar a

melhor forma de padronizar a nível mundial o método de determinação e os valores de referência da A1c. O novo método proposto utiliza a espectroscopia de massa e a electroforese capilar. Numa 1ª etapa a hemoglobina é clivada em peptídeos por meio de uma enzima endopeptidase e numa segunda etapa os hexapeptídeos N terminais glicosados e não glicosados são separados por HPLC e posteriormente quantificados, por espectroscopia de massa ou por electroforese capilar. Os calibradores consistem em misturas de HbA0 e HbA1c altamente purificadas (7).

Comparando com o método anteriormente utilizado (HPLC-DCCT), existe uma relação linear entre os 2 métodos (Quadro 1), mas os valores obtidos pelo novo método IFCC são inferiores em 1,5 a 2% (Quadro 1), devido à sua elevada especificidade. Esta relação linear permitiu o cálculo de uma fórmula que converte um valor IFCC, num valor DCCT (0.915xIFCC)+2.15).

Estes desenvolvimentos, importantes para a padronização e uniformização da A1c, geraram controvérsia quanto à forma como a A1c deverá ser expressa.

Em 2004, diversas associações internacionais (American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes e International Diabetes Federation) reuniram-se no sentido de adoptarem uma posição universal. Foram debatidas as vantagens e desvantagens dos dois métodos (Quadro II) e elaboradas algumas recomendações.

Desta reunião concluiu-se que o método IFCC, por ser mais específico, deverá ser o método adoptado por todos os laboratórios, mas os resultados deverão continuar a ser expressos segundo os valores de referência do DCCT (4-6%) (8). A alteração para os novos valores de referência (2,8-3,8%) iria gerar confusão entre os profissionais de saúde e doentes e obrigaria a um período longo de educação.

Alternativamente, o método DCCT, apesar de ser conhecido e utilizado em todo o mundo, não é o mais específico e está sujeito a mais interferências. Por outro lado, ao adoptar o novo método IFCC, teríamos uma oportunidade para reeducar os profissionais de saúde e doentes, para a importância do controlo metabólico, e com a utilização de uma fórmula específica (glicémia média mmol/L = 1.84xA1c-IFCC) poderia converter-se o valor de A1c num valor médio de glicémia, que facilitaria a sua interpretação. No entanto

esta questão, que surgiu após um estudo realizado por Rohlfig e seus colaboradores, necessita de mais estudos que confirmem a relação entre as duas variáveis (9).

## CONCLUSÃO

Conforme o exposto, a determinação da hemoglobina A1c possui algumas limitações, o que levou à criação de grupos de estudo, no sentido de avaliar a melhor forma de conseguir uma uniformização dos métodos utilizados e dos valores de referência.

O novo método, denominado *IFCC*, possui uma maior especificidade, pelo que os valores de A1c são inferiores aos obtidos pela técnica anterior (*HPLC-DCCT*).

Este novo método é agora o de referência, mas a questão que se coloca é se os resultados deverão ser fornecidos segundo as referências actuais ou de acordo com as do *DCCT*.

Dado que existe uma fórmula de cálculo matemático, e para evitar discrepâncias entre os diferentes laboratórios, foi recomendado a nível mundial e nacional (10), que os valores obtidos com o novo método de referência, deverão ser convertidos na escala *DCCT*.

## BIBLIOGRAFIA

1. DCCT Study group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications of insulin-dependent diabetes mellitus: the Diabetes Control and Complications Trial. *N Eng J Med* 1993; 329: 977-986.
2. UK Prospective Diabetes Study Group. UKPDS 35: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes: prospective observational study. *BMJ* 2000; 321: 405-412.
3. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: S4-42.
4. Bry L, et al. Effects of haemoglobin variants and chemically modified derivatives on assay for glycohemoglobin. *Clin Chem* 2001; 47: 153-163
5. Little RR, et al. Interlaboratory standardization of measurements of glycohemoglobins. *Clin Chem* 1992; 38:2472-2478.
6. DCCT research Group. Feasibility of centralized measurements of glycated hemoglobin in the diabetes control and complications trial: a multicenter study. *Clin Chem* 1987; 33: 2267-2271.
7. Jepsson JO, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 78-89.
8. Report of the ADA/EASD/IDF working Group of the HbA1c Assay, London, UK 2004. *Diabetologia* 2204; 47: r53-54.
9. Rohlfig C, et al. Biological variation of glycohemoglobin. *Clin Chem* 2002; 48: 1116-1118.
10. Rui Duarte. Posições, Recomendações, Pareceres e Actividades. *Revista Portuguesa de Diabetes* 2006; 1(1): 47.

