

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Faculdade de Medicina**

**Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia**

**Albumina Glicada como uma Ferramenta de Diagnóstico do Diabetes  
Mellitus**

**Dissertação de Mestrado**

Fernando Chimela Chume

Porto Alegre, Março de 2018.

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Faculdade de Medicina**

**Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia**

**Albumina Glicada como uma Ferramenta no Diagnóstico do Diabetes  
Mellitus**

Fernando Chimela Chume

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> 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, Março de 2018.

### CIP - Catalogação na Publicação

Chume, Fernando Chimela

Albumina glicada como uma ferramenta de diagnóstico do diabetes mellitus / Fernando Chimela Chume. -- 2018.

73 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, 2018.

1. Albumina glicada. 2. Hemoglobina glicada. 3. Desempenho diagnóstico de marcadores glicêmicos. 4. Controle glicêmico. 5. Diabetes mellitus. 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

Agradecimentos.....	4
Lista de abreviaturas.....	6
Resumo.....	9
Abstract .....	10
Capítulo 1: Artigo de revisão	
O papel da albumina glicada no diabetes <i>mellitus</i> .....	11
Objetivo.....	46
Capítulo 2: Artigo original	
Glycated Albumin as a diagnostic tool in diabetes mellitus .....	47
Considerações finais.....	72

## **AGRADECIMENTOS**

Esta fase da minha vida é muito especial e gostaria de agradecer ao Professor Dr. Luis Henrique Canani por ter me recebido de braços abertos e especialmente por ter me oferecido a oportunidade de ser orientado pela professora Dra. Joíza Lins Camargo, a qual me acolheu prontamente e compartilhou seus conhecimentos contribuindo muito para minha formação. Serei sempre grato a ela por depositar muita confiança no meu trabalho e nunca ter medido esforços para me ajudar no que fosse preciso.

Aos professores reconheço um esforço gigante com muita paciência e sabedoria. Foram eles que me deram recursos e ferramentas para evoluir um pouco mais todos os dias.

À Gabriela Cavagnoli agradeço profundamente por ter compartilhado o material biológico e informações associadas para este estudo. À acadêmica Mayana Kieling Hernandez e aos meus colegas Ana Laura Pimentel, Priscila Aparecida Correa Freitas, Paula Breitenbach Renz e João Rodolfo Teló Timm pelo apoio ao longo do curso e auxílio na pesquisa.

Aos funcionários da Unidade de Bioquímica e do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre por sempre se disporem com muita atenção durante as coletas e exames laboratoriais.

Quero agradecer ainda à minha família e ancestrais, porque eles iluminam os meus caminhos, me incentivam em todas as minhas escolhas e inspiram a superar todas as dificuldades.

Aos amigos e a todas as pessoas que de alguma forma me ajudaram a acreditar em mim eu quero deixar um agradecimento eterno, porque sem elas não teria sido possível.

Por fim, agradeço ao Ministério da Ciência e Tecnologia, Ensino Superior e Técnico Profissional (MCTESTP) de Moçambique pela bolsa de estudo bem como ao Fundo de Incentivo a Pesquisa e Eventos (FIPE) do HCPA e ao Programa de Pós-graduação de Ciências Médicas: Endocrinologia – UFRGS pelo apoio financeiro e por todas as condições que me proporcionaram ao longo do curso.

*“After climbing a great hill, one only finds that there are many more hills to climb”*

~ Nelson Mandela

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ADA – American Diabetes Association
- AG – Albumina glicada
- AGEs – Advanced glycated end products
- AP-1 - *Activator Protein -1*
- ARIC – Atherosclerosis Risk in Communities
- AUC – area under the ROC curve
- AVC - Acidente vascular cerebral
- BMI – Body mass index
- CKD - Chronic kidney disease
- CV – Coefficient of variability
- DBP - Diastolic blood pressure
- DCCT – The Diabetes Control and Complications Trial Research Group
- DECODE – The Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis of Diagnostic criteria in Europe study group
- DM – Diabetes *mellitus*
- DM1 - Diabetes mellitus tipo 1
- DM2- Diabetes mellitus tipo 2
- DRC – Doença renal crônica
- EDIC – Epidemiology of Diabetes Interventions and Complication
- ELISA - *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
- ERK - *extracellular signal-regulated kinases*
- FPG – Fasting plasma glucose
- GJ – Glicemia de jejum
- GA – Glycated albumin



GPP - Glicemia pós-prandial

GPPG - Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

GSP – Glycated serum proteins

Hb – Hemoglobina

HbA1c - Hemoglobina glicada ou Glycated hemoglobin

HCPA – Hospital de Clinicas de Porto Alegre

HDL - High density lipoprotein cholesterol

HIV/SIDA - Vírus da imunodeficiência humana / Síndrome da imunodeficiência adquirida

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência ou high performance liquid chromatography

IAP-1 - Inibidor da apoptose-1

Iba-1 - *Ionized calcium-binding adapter molecule 1*

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular-1

IDF – International Diabetes Federation

IL-6 – Interleucina 6

IL-8 – Interleucina 8

JNK - *Jun N-terminal kinase*

LDL - Low density lipoprotein cholesterol

LR - Likelihood ratios

MAPK - *Mitogen-Activated Protein Kinase*

MCP-1 - *Monocyte Chemoattractant Peptide 1*

mRNA – Mensageiro ácido ribonucleico

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NF- $\kappa$ B - Fator nuclear de transcrição kappa de célula B

NGSP – National Glycohemoglobin Standardization Program

NOS - Óxido nítrico sintases

OGTT - Oral glucose tolerance test

PAI-1 - Inibidor do ativador do plasminogênio endotelial -1

PEDF - *Pigment epithelium-derived fator*

PPG - post-prandial glucose

PKB-IKK - *Protein kinase B - IκB kinase*

PKC-β1 - Proteína quinase C-β1

r – coeficiente de correlação ou correlation coefficient

RAGEs –*Receptors of Advanced Glycation Endproducts*

ROC - *Receiver Operating Characteristic*

SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes

SBP - Systolic blood pressure

SD – Standard deviation

STARD - Standard for Reporting Diagnostic Accuracy

TGF-β1 - Fator de transformação do crescimento beta

TNF-α – fator de necrose tumoral -α

TOTG – Teste oral de tolerância à glicose

UKPDS - The United Kingdom Prospective Diabetes Study

VCAM-1 – Molécula de adesão celular vascular -1

VEGF - *Vascular endothelial growth fator*

WC - Waist circumference

2hPG - Glicemia de duas horas pós sobrecarga de 75g de glicose ou 2-h plasma glucose after a 75-g OGTT

## RESUMO

A prevalência de diabetes *mellitus* (DM) está aumentando constantemente em todo o mundo a uma taxa alarmante. Devido às suas complicações que causam uma maior morbidade, invalidez e mortalidade, o DM representa um enorme problema para a saúde pública. Com isso, ações, tanto em diagnóstico como em tratamento, são necessárias para desacelerar a tendência atual e prevenir o desenvolvimento das complicações do DM.

Recentemente, a hemoglobina glicada (HbA1c) foi introduzida nos critérios diagnósticos de DM. Os resultados de HbA1c são igualmente apropriados para o diagnóstico, apesar de não necessariamente detectarem DM nos mesmos indivíduos detectados pelos critérios de glicemia. No entanto, os níveis de HbA1c podem ser influenciados por qualquer condição que altere a vida útil dos eritrócitos e metabolismo da hemoglobina, independentemente da glicemia, resultando em erro diagnóstico neste grupo da população com estas condições. Além disso, estudos epidemiológicos revelaram que a glicemia pós-prandial tem um maior risco de causar complicações cardiovasculares em relação à hiperglicemia persistente e pode ser acessada com precisão usando a albumina glicada (AG) e não a HbA1c. Nesse contexto, estudos recentes têm evidenciado que a AG pode ser um marcador para diagnóstico do DM e também ser utilizado como um marcador alternativo à HbA1c para o controle glicêmico. No entanto, esses estudos, foram realizados apenas na população asiática e podem não ser aplicáveis a outros grupos étnicos. Por isso, mais investigações para a validação do desempenho diagnóstico da AG na predição do DM em diferentes grupos étnicos são necessárias.

Neste estudo avaliamos o desempenho da AG no diagnóstico do DM em 242 indivíduos brasileiros com idade média de 54,4 anos (+ 13,0). Baseando-se nos valores de glicose plasmática durante o teste oral de tolerância à glicose (TOTG), o DM foi detectado em 31,8%. AG  $\geq 16,8\%$  apresentou acurácia similar para a detecção de DM conforme definido por HbA1c  $\geq 6,5\%$ . O uso da razão glicemia de 2h pós-sobrecarga de 75g de glicose (2hPG) e AG (2hPG/AG) melhora a sensibilidade, reduz o número de diagnósticos incorretos por AG ou HbA1c  $\geq 6,5\%$  e possui um acurácia comparável ao TOTG, indicando que o uso de uma estratégia aplicando a razão da glicemia pós-prandial (GPP) real e AG (GPP/AG) pode ser mais conveniente para pacientes e aumentar o desempenho diagnóstico do teste. Estudos para validar esta estratégia são necessários.

**Descritores: Diabetes *mellitus*, Albumina glicada, HbA1c, Desempenho diagnóstico, Controle glicêmico.**

## **ABSTRACT:**

The prevalence of diabetes mellitus (DM) is constantly increasing worldwide at an alarming rate. Due to its complications that cause greater morbidity, disability and mortality, DM represents a heavy burden on public health. Therefore, actions in both, diagnosis and treatment, are necessary to slow down the current tendency and avoid the development of DM complications.

Recently, the glycated hemoglobin test (HbA1c) was introduced in the diagnostic criteria for DM. The HbA1c results are equally appropriate for diagnostic testing, though not necessarily detect DM in the same subjects detected by plasma glucose criteria. However, blood HbA1c levels may be influenced by any condition that changes the lifespan of erythrocytes and hemoglobin metabolism regardless of glycemia, resulting in the misdiagnosis of this population group. In addition, epidemiological studies have shown that postprandial glycemia has a higher risk of causing cardiovascular complications than chronic hyperglycemia and can be accurately assessed using the glycated albumin (GA) test rather than HbA1c. In this context, recent studies have shown that GA may be a marker for the diagnosis of DM and also be used as an alternative marker to HbA1c on many occasions. However, these studies have been conducted only in the Asian population and may not be applicable to other ethnic groups. Therefore, further investigations to validate the diagnostic performance of GA in the prediction of DM in different ethnic groups are necessary.

In this study, we evaluated the GA performance in the diagnosis of DM in 242 Brazilian individuals with a mean age of 54.4 years (+ 13.0). Based on plasma glucose values during oral glucose tolerance test (OGTT), DM was detected in 31.8%. AG  $\geq$ 16.8% presented similar accuracy for detecting DM as defined by a HbA1c  $\geq$ 6.5%. The use of the 2-h plasma glucose after a 75-g OGTT and GA (2hPG/GA) ratio improves sensitivity, reduces the number of incorrect diagnoses by GA or HbA1c  $\geq$ 6.5% and has an accuracy comparable to OGTT, indicating that the use of approach applying the postprandial glucose (PPG) and GA (PPG/GA) may be more convenient for patients and increase the diagnostic performance of the test. Studies to validate this approach are needed.

**Key words: Diabetes mellitus, Glycated Albumin, HbA1c, Diagnostic accuracy, Glycemic control.**

## Capítulo 1

O papel da albumina glicada no diabetes *mellitus*

Fernando Chimela Chume <sup>1,2</sup>

Joíza Lins Camargo<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup> Universidade Zambeze, Beira, Mozambique

<sup>3</sup> Endocrinology Division and Experimental Research Centre, 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 aumento alarmante da incidência da diabetes *mellitus* (DM) e suas complicações estão a impor um encargo econômico severo sobre os indivíduos, as famílias e os sistemas nacionais de saúde. Com isso, uma ação rápida, tanto em diagnóstico e como em tratamento, é necessário para desacelerar a tendência atual, e fornecer melhorias no manejo do DM.

Recentemente, a hemoglobina glicada (HbA1c) foi introduzida nos critérios diagnósticos de DM. Os resultados de HbA1c são igualmente apropriados para o diagnóstico, apesar de não necessariamente detectarem DM nos mesmos indivíduos detectados pelos critérios de glicemia. No entanto, os níveis de HbA1c podem ser influenciados por qualquer condição que altere a vida útil dos eritrócitos e metabolismo da hemoglobina, independentemente da glicemia, resultando em erro diagnóstico neste grupo da população com estas condições. Nesse contexto, estudos recentes têm evidenciado que a albumina glicada (AG) pode ser um marcador para diagnóstico do DM e também ser utilizado como um marcador alternativo à HbA1c para o controle glicêmico. Esta revisão discute a glicação da albumina, concentrando-se no impacto deste processo na modificação estrutural, biológica e fisiológica da proteína. Discute também a relevância clínica e biológica da glicação da albumina e a importância da AG como marcador biológico de hiperglicemia e DM.

**Descritores:** Diabetes *mellitus*, Albumina glicada, HbA1c, Controle glicêmico.

## **ABSTRACT:**

The alarming increase in the incidence of diabetes mellitus (DM) and its complications are imposing a substantial economic burden on individuals, families and national health systems. Thus, rapid action in both diagnosis and treatment is needed to slow down the current trend and provide improvements in DM management.

Recently, the glycated hemoglobin test (HbA1c) was introduced in the diagnostic criteria for DM. The HbA1c results are equally appropriate for diagnostic testing, though not necessarily detect DM in the same subjects detected by plasma glucose criteria. However, blood HbA1c levels may be influenced by any condition that changes the lifespan of erythrocytes and hemoglobin metabolism regardless of glycemia, resulting in the misdiagnosis of this population group. In this context, recent studies have shown that glycated albumin (GA) may be a marker for the diagnosis of DM and also be used as an alternative marker to HbA1c on many occasions. This review discusses the glycation of albumin, focusing on the impact of this process on the structural, biological and physiological modification of the protein. It also discusses the clinical and biological relevance of albumin glycation and the importance of GA as a biological marker of hyperglycemia and DM.

**Key words: Diabetes mellitus, Glycated Albumin, HbA1c, Glycemic control.**

## INTRODUÇÃO

Atualmente, o diabetes *mellitus* (DM) constitui uma das principais ameaças à saúde pública, tanto nos países desenvolvidos como em desenvolvimento. Apesar de ser em grande parte evitável, o DM2 é a forma mais prevalente e ocupa 91% dos casos (IDF, 2017). A sua incidência e prevalência tem aumentado em virtude do crescimento e do envelhecimento populacional, da maior urbanização, da maior ingestão de açúcar, da crescente prevalência de obesidade e sedentarismo bem como da maior sobrevivência de pacientes (Diretrizes SBD 2015-2016). Em 2017, estimou-se existir aproximadamente 425 milhões de adultos com DM em todo mundo e estima-se que alcance 629 milhões de indivíduos em 2045. Um grande obstáculo para minimizar as consequências do DM é o elevado número de indivíduos (cerca de 212,4 milhões pessoas entre 20 e 79 anos) que vivem com a doença e não têm consciência de sua existência (IDF,2017). Esse grupo de indivíduos tem maior risco de desenvolver complicações crônicas do DM. Tais complicações são associadas à hiperglicemia prolongada e afetam diversos sistemas e órgãos, essencialmente, os olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos, tornando o DM uma das principais causas de retinopatia com potencial de perda de visão; doença renal crônica (DRC) levando à insuficiência renal; neuropatia periférica com risco de úlceras nos pés e amputações dos membros; e doenças ateroscleróticas dos vasos grandes, incluindo cardíaca, cerebral e doença vascular periférica (Nathan, 1993; DCCT, 1993; UKPDS 1998). As doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte entre as pessoas com DM (IDF, 2017). Em 2017, o DM foi responsável pelo maior número de óbitos de indivíduos em comparação ao número combinado de mortes causadas por malária, tuberculose e HIV/SIDA no mundo (IDF, 2017).

O diagnóstico precoce do DM visando à prevenção do desenvolvimento das complicações é importante para garantir uma boa qualidade de vida e evitar morte prematura dos indivíduos com DM. Atualmente é recomendado que o diagnóstico do DM baseie-se nos valores de glicose plasmática, seja glicemia de jejum (GJ) ou glicemia de 2h pós-sobrecarga de 75g de glicose (2hPG), ou da hemoglobina glicada (HbA1c) (Tabela 1) (ADA,2018; WHO, 2016). Os resultados são igualmente apropriados para testes de diagnóstico, apesar de não necessariamente detectarem o DM nos mesmos indivíduos. O teste oral de tolerância à glicose (TOTG), o qual inclui a determinação da GJ e de 2h-PG com os cuidados preconizados pela Organização Mundial da Saúde, é considerado o teste



**Tabela 1.** Critérios para diagnóstico de diabetes *mellitus* e seus estágios pré-clínicos pela *American Diabetes Association (ADA)*

			TESTES			
			Jejum* [mg/dl (mmol/l)]	2h após 75g de glucose [mg/dl (mmol/l)]	HbA1c** [% (mmol/mol)]	Casual*** [mg/dl (mmol/l)]
<b>CATEGORIAS</b>		Glicemia normal	< 100 (7,0)	< 140 (< 7,8)	< 5,7 (< 39)	
	Pré-diabetes	Glicemia de jejum alterada	≥ 100 a < 125 (≥ 5,6 a < 6,9)			
		Tolerância à glicose diminuída			≥ 5,7 a < 6,4 (≥ 39 a < 47)	
		<b>Diabetes Mellitus</b>	<b>≥ 126 (7,0)</b>	<b>≥ 200 (11,1)</b>	<b>≥ 6,5 (≥ 48)</b>	<b>≥ 200 (11,1) #</b>

\*O jejum é definido como a falta de ingestão calórica por no mínimo 8 h.

\*\*O teste deve ser realizado em um laboratório usando um método certificado NGSP e padronizado para o ensaio DCCT.

\*\*\*Glicemia plasmática casual é aquela realizada a qualquer hora do dia, sem se observar o intervalo desde a última refeição.

#Com sintomas clássicos do DM, que incluem poliúria, polidipsia e perda não explicada de peso.

Nota: os testes são igualmente apropriados para o diagnóstico do DM e podem não necessariamente detectar DM no mesmo indivíduo.

de referência no diagnóstico do DM. Já a HbA1c, há pouco tempo incluída como um critério de diagnóstico do DM (ADA,2010; Mbanya *et al.*,2011), é habitualmente referenciada para o diagnóstico como teste de escolha. Esta recomendação é motivada por melhorias na medição da HbA1c e pela existência de várias vantagens em comparação com a GJ e TOTG, dentre elas, a excelente reprodutibilidade e a maior conveniência (não requer jejum) (ADA,2018). No entanto, essas vantagens são atenuadas pela baixa sensibilidade no diagnóstico do DM (Li *et al.*,2012; Cowie *et al.*,2010; Cavagnoli *et al.*,2010), alto custo, disponibilidade limitada de testes de HbA1c padronizados e presença de interferentes em certas condições clínicas (SBD, 2015-2016; ADA,2018; NGSP, 2017; Cavagnoli *et al.*,2015). Também, é sugerido que os níveis de HbA1c sofrem influência das etnias independentemente da glicemia (Ziemer *et al.*,2010, Cavagnoli *et al.*,2017). Os desafios acima indicados justificam a necessidade da busca de um procedimento alternativo para o diagnóstico do DM.

A HbA1c é um marcador glicêmico e é formada através de uma reação não enzimática entre a molécula de glicose e a hemoglobina para formar um produto estável que é proporcional à concentração de glicose plasmática (Welsh *et al.*,2016). Além da hemoglobina, a glicose também se liga de forma não enzimática a grupos amino de proteínas do soro para formar frutosaminas, contribuindo para a produção dos produtos finais da glicação avançada (AGE), os quais estão envolvidos nos mecanismos que contribuem para a relação entre hiperglicemia e as complicações crônicas do DM. Logo, a avaliação dos níveis de proteínas séricas glicadas, especialmente da albumina glicada (AG), vem ganhando interesse como potencial marcador glicêmico que pode complementar ou substituir a HbA1c em algumas situações. A AG é a principal frutossamina existente no soro e representa aproximadamente 80% do total das proteínas séricas glicadas (Cohen,2013). Devido à meia-vida circulante da albumina (cerca de 14 – 20 dias) a AG reflete a média dos níveis glicêmicos das últimas 2-3 semanas (Koga & Kasayama,2010; Furusyo & Hayashi,2013). Em comparação à HbA1c, a AG não é afetada pelo tempo de vida dos eritrócitos, e em pacientes com anemia ou hemoglobinopatias os seus valores refletem o estado glicêmico do indivíduo (Furusyo & Hayashi,2013). Deste modo, a AG tem sido sugerida como um marcador alternativo para HbA1c em sujeitos com DRC (Peacock *et al.*,2008; Inaba *et al.*,2007; Freedman *et al.*,2010), retinopatia (Okumura *et al.*,2007), diabetes gestacional e anemia ferropriva (Hashimoto *et al.*,2010). Além disso, AG é referida como o melhor indicador de controle glicêmico em relação a HbA1c em pacientes diabéticos

em diálise. Nos resultados do *Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (DCCT/EDIC) (Nathan *et al.*,2014) e de outros estudos (Murea *et al.*,2012; Song *et al.*,2012) observou-se a existência de uma associação entre o aumento dos valores da AG com as complicações diabéticas. Estudos epidemiológicos revelaram que a glicemia pós-prandial está relacionada a um maior risco de causar complicações cardiovasculares e morte em relação á glicemia de jejum (DECODE,1999; Tominaga *et al.*,1999). Segundo o estudo realizado por Yoshiuchi e colaboradores (Yoshiuchi *et al.*,2008), a AG reflete com melhor precisão a glicemia pós-prandial do que a HbA1c.

Nos últimos anos, os pontos de corte de AG para o diagnóstico do DM estão sendo examinados, usando TOTG como o padrão de referência, e a HbA1c e/ou GJ como testes de comparação. Estudos conduzidos em populações asiáticas, os quais avaliaram a utilidade de AG para rastreio e diagnóstico do DM mostraram que um resultado de 15,0 – 16,0% ou mais de AG confirma o diagnóstico de DM (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011; Ma *et al.*,2010). Estas descobertas junto com outros estudos longitudinais (Selvin *et al.*,2014; Selvin *et al.*,2015; Nathan *et al.*,2014) sustentam o uso de AG no diagnóstico e monitoramento do DM. Entretanto, deve-se ressaltar que o ponto de corte ótimo de AG para o diagnóstico de DM ainda não foi estabelecido e ainda existem poucos estudos nas populações ocidentais (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011; Ma *et al.*,2010). O objetivo desta revisão é discutir a glicação da albumina, concentrando-se no impacto deste processo na modificação estrutural, biológica e fisiológica da proteína. Discute-se também a relevância clínica e biológica da glicação da albumina e a importância da AG como marcador biológico de hiperglicemia e DM.

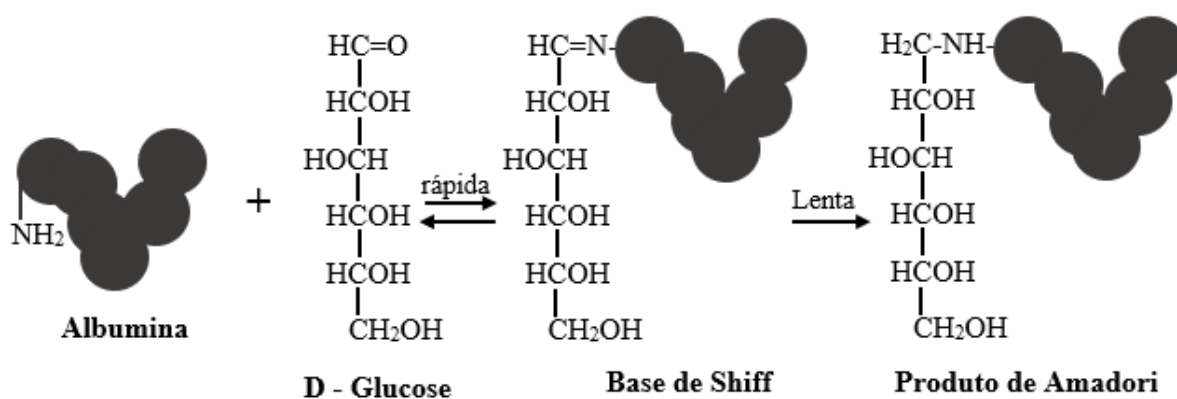
## **ALBUMINA GLICADA**

### **Glicação de albumina e considerações fisiopatológicas**

A albumina sérica humana é a proteína circulante mais abundante, que representa cerca de 50% das proteínas totais do plasma com a concentração normal entre 3,5 e 5,0 g/dl. Sua síntese é feita pelos hepatócitos e imediatamente excretada na corrente sanguínea, onde exerce uma grande variedade de funções fisiológicas. A albumina possui cadeia simples com 585 aminoácidos (Moman *et al.*,2017). Os resíduos ácidos superam os básicos, resultando em carga negativa ao pH 7, o que torna a albumina importante substância reguladora do pH fisiológico (Fanali *et al.*,2012; Rondeau & Bourdon,2011). Na estrutura da albumina, entre os resíduos de cisteína, formam-se ligações dissulfeto intramoleculares, que contribuem significativamente para a estabilidade da albumina e definem o seu período de vida biológica (4 – 5 semanas) (Fanali *et al.*,2012). Também existe uma cisteína livre na posição 34, que atua como um importante antioxidante fisiológico, participando na eliminação de radicais e, junto com resíduos de lisina, serina e arginina, atuam como locais de ligação para uma grande variedade de substâncias endógenas, íons metálicos e fármacos (Roche *et al.*,2008; Fasano *et al.*,2005). A organização em três domínios similares (I, II e III), cada um subdividido em dois subdomínios (A e B), proporciona uma flexibilidade da estrutura da albumina. Esta conformação espacial da albumina é fundamental para a ligação e transporte de várias substâncias, como íons metálicos, ácidos graxos, hormônios e fármacos (Fanali *et al.*,2012). E mais, devido ao baixo peso molecular (67 kDa), em comparação com outras proteínas plasmáticas, a albumina é fundamental para a manutenção de pressão oncótica (Rondeau & Bourdon,2011). A modificação química da albumina induzida por processos enzimáticos e não enzimáticos, incluindo glicação, oxidação reversível e irreversível altera as funções biológicas da proteína (Oettl & Stauber,2007). Além da albumina, propriedades estruturais e funcionais de várias proteínas, como hemoglobina, lipoproteína são afetadas pela glicação (Vistoli *et al.*,2013).

A albumina sérica humana é altamente sensível à glicação, devido ao seu período de vida em comparação com as outras proteínas e sua alta concentração no plasma. O termo glicação é utilizado para designar a reação espontânea não enzimática de um monossacarídeo com proteína (Figura 1). A glicação da albumina sérica humana decorre de série de etapas que passa primeiramente pela formação de um produto instável conhecido como base de Schiff. Esta é resultado de uma reação reversível do grupo carbonilo do

monossacarídeo redutor acíclico e grupo amino da albumina (Freitas *et al.*,2017). Os principais locais de glicação da albumina são arginina 410 e lisina 525. Outros locais com baixas modificações são arginina 114, 218 e 428, e lisina 186, 199, 281 e 439 (Ahmed *et al.*,2005; Otagiri & Chuang,2009). A base de Schiff passa por um rearranjo de Amadori para formar uma ligação de cetoamina estável, do qual o resíduo do açúcar pode ser ciclizado para uma estrutura anelar. O produto de Amadori sofre degradação oxidativa para gerar compostos de dicarbonilo intermediários altamente reativos, conhecidos como  $\alpha$ -oxoaldeídos (glioal, metiglioal, desoxigluconas), que interagem novamente com grupos amino livres de proteínas. Em seguida, passa por rearranjos complexos de condensação, desidratação, hidrólise ou reações de reticulação, levando à formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) (Da Moura Semedo *et al.*, 2017). A formação de AGEs é um processo fisiológico que faz parte do metabolismo normal durante a vida e acumula lentamente nos tecidos humanos durante o envelhecimento. O nível de formação de AGEs em indivíduos normais é cerca de 10%; no entanto, essa proporção normalmente aumenta para 20 a 30% em indivíduos com hiperglicemia consistente (Rondeau & Bourdon,2011).



**Figura 1.** Formação da albumina glicada. Reação espontânea reversível do grupo amino (representado como  $\text{NH}_2$ ) da albumina e o grupo carbonilo da D-glucose, resultando em um produto intermediário instável, chamado base de Schiff. A base de Schiff passa por um rearranjo de Amadori, numa reação lenta, para formar uma ligação de cetoamina estável (produto de Amadori).

Além de alterar as propriedades funcionais e estruturais da albumina, os AGEs derivados de albumina exercem suas funções biológicas ativando os receptores da membrana (RAGEs – “*Receptor Advanced Glycation Endproducts*”). RAGEs pertencem à

superfamília de imunoglobulina e são expressos na superfície de muitos tipos de células, incluindo células endoteliais, monócitos, macrófagos, podócitos, astrócitos e células epiteliais (Singh *et al.*,2001; Sparvero *et al.*,2009). A interação AGE-RAGE modula a transdução de sinal através da formação de espécies reativas de oxigênio (Wautier *et al.*, 1996). O estresse oxidativo, desencadeado pelos AGEs derivados de albumina, ativa uma cascata de sinais intracelulares envolvendo vias p21 e *Mitogen-Activated Protein Kinase (MAP-kinase)*, aumentando a fosforilação da cinase regulada por sinal extracelular (ERK) e culminando na ativação do fator nuclear de transcrição kappa de célula B (NF- $\kappa$ B) (Rondeau & Bourdon,2011). O NF- $\kappa$ B induz: primeiro, a expressão de vários genes envolvidos em processo de inflamação, como as citocinas de *Monocyte Chemoattractant Peptide 1 (MCP-1)* e IL-6 nas células musculares lisas dos vasos (Fan *et al.*,2003; Naitoh *et al.*,2001); segundo, a expressão de mRNA do fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) em vários modelos de células de monócitos (Abordo & Thornalley,1997); terceiro, a secreção extracelular de TNF- $\alpha$  (Schalkwijk *et al.*, 2002). Além disso, a interação do AGE derivada da albumina com RAGE também regula a expressão de moléculas de adesão, incluindo a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e a molécula de adesão celular vascular (VCAM-1), envolvidas na formação da lesão aterosclerótica (Mamputu & Renier,2004; Vlassara *et al.*, 1995).

Embora a maioria dos estudos enfoquem o papel dos AGEs nas complicações vasculares associadas ao DM, ultimamente o papel dos produtos precoces de glicação (produto de Amadori) está a ser considerado. Assim como os AGEs, a AG também aumenta a expressão de diferentes sinais celulares através da modulação das vias de sinalização celular responsáveis pelo desenvolvimento de complicações crônicas do DM (Tabela 2). Por exemplo, em modelo experimental com células de ratos, nos monócitos/macrófagos (células precursoras da placa aterosclerótica) a AG induz o estresse oxidativo, promove a fosforilação do ERK, aumenta a produção de TGF- $\beta$ 1 e a translocação nuclear dos fatores de transcrição NF- $\kappa$ B e *Activator Protein (AP) -1* (Cohen *et al.*, 2003; Hattori *et al.*,2002). Resultado similar foi observado nas células mesoteliais peritoneais humanas isoladas, que podem modelar a ativação celular e a formação da placa aterosclerótica. Nessas células, a AG aumentou a expressão de inibidor do ativador do plasminogênio endotelial (*PAI-1, Plasminogen Activator Inhibitor-1*), induziu a ativação de NF- $\kappa$ B e AP-1 através de seus receptores específicos (Beisswenger *et al.*, 2013; Mandl-Weber *et al.*,2002). Outra via de sinalização de AG revelada não é afetada por RAGEs, embora ativada pela translocação

nuclear de NF-kB e AP-1(Higai *et al.*, 2006). As células endoteliais da veia umbilical respondem à AG com uma ativação da NADPH oxidase, *Protein kinase B - IκB kinase (PKB-IKK)* e *Jun N-terminal kinase (JNK)* levando à elevação da E-selectina (Higai *et al.*, 2006).

**Tabela 2.** Vias de sinalização da AG

<b>Tipo de célula</b>	<b>Vias de sinalização celular</b>
Retiniana	VEGF, PKC-β1, PEDF, MAPK, NF-Kb, JAK, Iba-1, TNF-α, MCP-1, IL-6, IL-8
Renal	TGF-β, VEGF, PAI-1, Produção do Colágeno tipo IV, Produção de fibronectina, Nefrina, MAPK, Receptor β de células T
Cardiovascular	TGF-β, VEGF, PAI-1, MAPK, ICAM-1, NF-Kb, AP-1, E-selectina, NOS, MCP-1, IL-6, IAP-1

VEGF, *Vascular endothelial growth fator* - fator de crescimento vascular endotelial; PKC-β1, Proteína quinase C-β1; PEDF, *Pigment epithelium-derived fator* - fator derivado do epitélio pigmentado; MAPK, *Mitogen Activated Protein Kinases* - Proteíno-quinases ativadas por mitógenos; NF-Kb, factor nuclear kappa B; Iba-1, ionized calcium-binding adapter molecule 1 - molécula adaptadora de ligação ao cálcio ionizado 1; TNF-α, tumor necrosis factor *alpha*, MCP-1, *Monocyte Chemoattractant Protein-1*; IL-6, Interleucina 6; IL-8, Interleucina 8; TGF-β, Fator de transformação do crescimento beta; PAI-1, Inibidor de ativador de plasminogênio-1; ICAM-1, Molécula de Adesão Intercelular 1; AP-1, Ativador de proteína 1; NOS, óxido nítrico sintases; IAP-1, Inibidor da apoptose-1.

Adaptado de Cohen MP. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830:5480–5485.

doi:10.1016/j.bbagen.2013.04.024

Efeito similar ao da AG no endotélio para desenvolver as complicações ateroscleróticas ocorre nas células micróglias na retinopatia e nas células mesangiais e endoteliais na doença renal do diabetes (Cohen,2013). Nos rins, a AG é preferencialmente transportada através dos capilares glomerulares renais e é absorvida por células mesangiais e endoteliais, com o consequente aumento dos produtos oxidativos fortemente envolvidos na patogênese da doença renal do diabetes (Rondeau & Bourdon,2011). Quanto ao papel da AG na retinopatia diabética, esse foi bem estabelecido em estudos experimentais. Nas células endoteliais da retina, evidenciou-se que AG aumenta a produção de substâncias pró-inflamatórias, induzindo à destruição dos pericitos (Ziyadeh,1993).

Em concordância com as patogêneses acima indicadas, vários estudos indicam existir uma associação independente entre AG e as complicações crônicas do DM. Níveis elevados de AG associam-se independentemente com retinopatia e doença renal do diabetes em pacientes com DM1 e associam-se positivamente à doença cardiovascular no DM2 (Pu *et al.*,2007; Schalkwijk *et al.*,1991; Schalkwijk *et al.*,2002; Chaturvedi *et al.*,2002; Lu *et al.*,2007). Isso sugere a AG como um biomarcador para diagnóstico do DM e prevenção do desenvolvimento das suas complicações crônicas, e a potencial utilidade de sua avaliação pode não se restringir ao controle glicêmico.

## ASPECTOS LABORATORIAIS

**Métodos laboratoriais:** Existem vários métodos de quantificação de AG, entre eles a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC); cromatografia de afinidade; técnicas de imunoenensaio, incluindo também a quantificação por radioimunensaio, imunoenzimático (ELISA); colorimétrica com ácido tiobarbitúrico e eletroquímica (Rondeau & Bourdon,2008; Freitas *et al.*,2017). No entanto, estes métodos têm algumas desvantagens, por exemplo, as amostras devem ser pré-tratadas, os procedimentos são complicados, na maioria dos métodos os resultados são pouco específicos e atualmente não estão disponíveis nos laboratórios clínicos de rotina. A fim de superar essas dificuldades, foi desenvolvido método enzimático (protease específica para AG).

Atualmente existem vários testes enzimáticos fáceis de usar e que podem ser automatizados para a dosagem de AG para uso clínico, porém o mais utilizado em todo mundo e mais amplamente avaliado em pesquisas clínicas é conhecido como *Lucica GA-L* (*Asahi Kasei Pharma, Tokyo, Japan*) (Kouzuma *et al.*, 2002). *Lucica GA-L* possui cetoamina oxidase, que evita a influência dos aminoácidos livres endógenos glicados através da utilização da reação de eliminação e é uma proteinase específica de AG para obter aminoácidos glicados, que são incubados com cetoamina oxidase para produzir peróxido de hidrogênio, que é quantificado cromogenicamente usando peroxidase (Kouzuma *et al.*,2004); e púrpura de bromocresol para a medida da albumina, conforme indica o esquema abaixo (Figura 2).





Os valores de AG medidos pelo método enzimático (*Lucica GA-L*; *Asahi Kasei Pharma, Tokyo Japan*) foram significativamente correlacionados com os valores de AG medidos pelo método HPLC ( $r(p) \approx 0.995$ ) (Kouzuma *et al.*, 2002; Kouzuma *et al.*, 2004). Ainda assim, o coeficiente de variação para o ensaio automatizado não tem um padrão de referência internacional ou método de referência. O *Committee on Diabetes Mellitus Indices of the Japan Society of Clinical Chemistry* enfatizou a importância de desenvolver métodos padrões de referência, criação de um sistema de rastreabilidade para a redução da variação das medidas de AG (Takei *et al.*, 2015).

Outro teste com princípio similar ao *Lucica GA-L* e aprovado pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos para a dosagem de AG é o *Diazyme GSP* (*Diazyme Laboratories, Poway, CA*). Este teste tem excelente reprodutibilidade e na sua comparação com *Lucica GA-L* apresentou uma excelente correlação (Abidin *et al.*, 2013; Rodriguez-Capote *et al.*, 2015). Para esta comparação, os valores de proteínas séricas glicadas (GSP, de *glycated serum protein*) foram determinados com o teste da *Diazyme GSP* e os valores totais de albumina com o método de bromocresol verde (BCG, de *Bromocresol Green*). Os valores de GSP obtidos foram convertidos para % AG usando uma equação de conversão:

$$\% AG = \frac{\text{GSP } (\mu\text{mol/L}) \times 0,182 + 1,97}{\text{Albumina total (g/dL)}} + 2,9$$

Acredita-se que os valores de AG expressos em percentual são mais compreensíveis na prática clínica do que expressos GSP em unidades do sistema internacional  $\mu\text{mol/L}$  (Rodriguez-Capote *et al.*, 2015).

**Preparo para o exame:** a dosagem de AG pelo método enzimático pode ser feita em amostras de plasma ou soro com precisão similar (Wu *et al.*, 2016). Desse modo, a AG pode ser analisada juntamente com marcadores biológicos comuns, como colesterol, triglicerídeos e creatinina, sem requerer uma coleta de sangue em um tubo separado. Além disso, não é necessário jejum para a coleta do material. Os valores de AG plasmática e sérica não sofrem alterações quando avaliados em amostras coletadas em jejum, pós-prandial ou mesmo após sobrecarga com glicose (Wu *et al.*, 2016; Freitas *et al.*, 2017). O ensaio demonstra ser muito estável mesmo em amostras armazenadas por um longo período de tempo (soro congelado por 19 – 23 anos a menos de  $70^{\circ}\text{C}$ ) (Nathan *et al.*, 2011).

## **RELEVÂNCIA CLÍNICA DE ALBUMINA GLICADA NO DIABETES**

### **a. Vantagens da avaliação da AG sobre HbA1c para manejo do DM**

Níveis elevados de glicemia promovem o desenvolvimento de lesões orgânicas extensas e irreversíveis, afetando a retina, os rins, os nervos e os vasos sanguíneos. Como acima referido, um dos mecanismos distintos que torna a hiperglicemia prolongada tóxica para o organismo é a promoção da glicação de proteínas. Do ponto de vista clínico, uma medida quantitativa simples que pode captar com precisão o grau de glicação é fundamental para fins diagnósticos, prognósticos ou terapêuticos do DM. Foram desenvolvidos vários testes para avaliar diferentes proteínas glicadas e dentre eles a HbA1c é o exame de rotina com crescente uso no manejo do DM (Welsh *et al.*,2016). Isso porque o papel da HbA1c no DM foi amplamente estudado em grandes experimentos prospectivos com acompanhamento em longo prazo, que validou o papel da HbA1c na predição das complicações diabéticas (DCCT,1993; UKPDS,1998; EDIC,1999). Além disso, foram estabelecidos os pontos de corte para o diagnóstico de DM e pré-diabetes (ADA,2018). No entanto, apesar da utilidade documentada da HbA1c na pesquisa e no manejo do DM, permanecem uma série de limitações em populações com certas condições clínicas (NGSP,2017; Cavagnoli *et al.*2015). HbA1c é uma medida indireta dos níveis médios de glicemia que reflete o estado glicêmico ao longo de um período de 120 dias, correspondente ao tempo médio de vida dos eritrócitos. Como a hemoglobina é encontrada dentro dessas células, sua glicação pode ser afetada por qualquer condição que afete a vida útil dos eritrócitos e metabolismo da hemoglobina. Por exemplo, transfusão recente e o aumento da eritropoese secundário à hemólise ou perda de sangue podem falsamente baixar o valor de HbA1c independentemente do estado glicêmico, pois hemácias mais antigas são mais glicadas do que as mais jovens (ADA,2018; SBD, 2015-2016; NGSP,2017). Por outro lado, os valores de HbA1c são falsamente elevados em condições em que a vida útil dos eritrócitos é aumentada, como asplenia, a anemia aplástica (SBD, 2015-2016; NGSP,2017). As hemoglobinopatias (HbS e HbC), a hemoglobina fetal elevada (HbF) e os derivados quimicamente modificados da hemoglobina (Hb carbamilada) também podem confundir os resultados da HbA1c, não apenas por alterar a sobrevivência das hemácias, mas porque existe a possibilidade de hemoglobinas anormais apresentarem sobreposição com HbA1c (SBD, 2015-2016; NGSP,2017). Diferente da HbA1c, AG é independente do eritrócito e hemoglobina, consequentemente, a sua avaliação não é afetada por vida útil das hemácias e metabolismo da hemoglobina.

AG é também independente da deficiência de ferro (Koga *et al.*,2010). Anemia ferropriva, um grande problema de saúde pública nos países em desenvolvimento, leva a resultados de HbA1c falsamente mais altos do que o esperado devido ao aumento da glicação da Hb pelo aumento do malondialdeído no plasma (English *et al.*,2015; Sundaram *et al.*,2007). Segundo o estudo de Hashimoto e colaboradores fenômeno semelhante é observado em gestantes e ao contrário do que acontece com a HbA1c, os níveis de AG não são influenciados pela deficiência de ferro em gestantes diabéticas (Hashimoto *et al.* 2010) e não diabéticas (Hashimoto *et al.* 2008).

Em pacientes com DRC, a subestimação do verdadeiro estado glicêmico pela HbA1c é associada a redução da vida útil dos eritrócitos pela anemia, necessidade de transfusões de sangue frequentes, tratamento com ferro e/ou eritropoietina. Outro problema adicional nestes pacientes é a formação da hemoglobina carbamila em condições urêmicas, que pode interferir na glicação da hemoglobina e levar a resultados falsamente mais elevados (Zheng *et al.*,2012). Esta discrepância entre o verdadeiro estado glicêmico e HbA1c torna o último não confiável como índice glicêmico em pacientes com DRC. A AG é relatado como o melhor indicador de controle glicêmico em relação à HbA1c e glicemia em pacientes diabéticos em diálise (Peacock *et al.*,2008; Inaba *et al.*,2007; Freedman *et al.*,2010).

Juraschek e colaboradores (Juraschek *et al.*,2012) reportaram associação entre AG e o desenvolvimento subsequente de DM independentemente dos valores basais de HbA1c e GJ, sugerindo que esse biomarcador pode ser útil na identificação de pessoas em risco de diabetes.

Atualmente, a AG é usada em países asiáticos para estratificação populacional, rastreamento e manejo do DM e suas complicações. E alguns países, como Japão, China e Taiwan, a validade de AG como uma ferramenta de rastreamento para o diagnóstico do DM foi examinada (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011; Ma *et al.*,2010; Ikezaki *et al.*,2015). Usou-se AG para o rastreamento e diagnóstico de DM, usando o TOTG como o padrão de referência, e a HbA1c e/ou glicemia em jejum como teste de comparação. Nesses estudos observou-se uma forte correlação entre AG, HbA1c e glicemia de jejum. A análise da curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) indicou que um nível de AG  $\geq 15,0 - 17,0\%$  seria adequado para o diagnóstico do DM com boa sensibilidade e especificidade nas populações estudadas (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011; Ma *et al.*,2010; Ikezaki *et al.*,2015). Pontos de corte acima destes relatados aumentariam a especificidade do teste para o diagnóstico do DM, no entanto

reduziriam a sensibilidade (Wu *et al.*,2016; Ikezaki *et al.*,2015). Também se observou que a área sob a curva ROC para AG no diagnóstico do DM pelo TOTG é similar à da HbA1c (Wu *et al.*,2016; Ikezaki *et al.*,2015).

Em estudos recentes foram demonstrados outros potenciais papéis para a AG no diagnóstico de pré-diabetes e diabetes. Usando o TOTG como padrão de referência, a combinação de HbA1c com AG detectou 78% de indivíduos com pré-diabetes em imigrantes africanos para os Estados Unidos da América, em comparação com apenas 50% detectados com HbA1c isoladamente ( $p>0,001$ ) (Sumner *et al.*, 2016<sup>a</sup>). Além disso, entre os não obesos, a AG detecta pré-diabetes em indivíduos não detectados pela HbA1c (Sumner *et al.*,2016<sup>b</sup>). Também foi relatado que após o TOTG, nos testes de reavaliação, a combinação da GJ  $\geq 7,0$  mmol/L e/ou HbA1c  $\geq 6,5\%$  e/ou AG  $\geq 17,1\%$  nos critérios de diagnóstico de DM era associado a uma taxa de erro no diagnóstico de 9,48%, enquanto que GJ  $\geq 7,0$  mmol/L e/ou HbA1c  $\geq 6,5\%$  era 14,35% (He *et al.*,2017).

Estes dados sustentam que AG pode ser um marcador útil não só para o rastreamento e diagnóstico de DM, mas também em estratificação de risco. Entretanto, deve-se ressaltar que os pontos de corte ótimos de AG para o diagnóstico de DM ainda não foram estabelecidos e ainda não existe estudo nas populações ocidentais.

#### **b. Marcador do estado glicêmico intermediário**

A formação da proteína glicada depende da duração e intensidade da interação entre as concentrações de glicose e proteínas do sangue; portanto, o período de reflexão da glicemia através da proteína glicada difere dependendo da meia-vida da proteína usada. A HbA1c revela a glicemia média progressiva dos últimos 4 meses, enquanto a AG reflete isso durante as últimas 2 a 3 semanas (Koga & Kasayama,2010; Furusyo & Hayashi,2013). Isso faz com que o nível de AG seja fortemente associado às mudanças recentes na glicemia quando comparado a HbA1c, conseqüentemente, as mudanças rápidas do estado glicêmico são acompanhadas pela rápida mudança dos níveis de AG, ao passo que a HbA1c muda gradualmente (Takahashi *et al.*,2007). Desta forma, a AG pode ser mais útil na avaliação em curto prazo do nível de controle glicêmico e da adequação da conduta terapêutica. Além disso, é possível estimar os níveis de HbA1c no futuro próximo após tratamento a partir da avaliação de AG antes e depois de um período curto de tratamento (aproximadamente 2 semanas após o tratamento) (Koga,2014). Esta estratégia no manejo do DM pode melhorar rapidamente o controle glicêmico na maioria dos pacientes.

Para pacientes após a alta dos programas de educação hospitalar, a AG foi útil para detecção precoce da deterioração do estado glicêmico, uma vez que AG precedeu a HbA1c (Murai *et al.*,2013). Assim, nos casos em que a AG detectar precocemente a deterioração do estado glicêmico, podem ser tomadas contramedidas adequadas prontamente para evitar uma maior deterioração.

Outro estudo (Koga *et al.*,2014), realizado em pacientes no início do tratamento medicamentoso do DM ou em terapia intensiva, mostrou que a AG diminui em algumas semanas, enquanto a HbA1c tendeu a aumentar, o que resulta numa discrepância entre as alterações de AG e HbA1c. Nessa situação, a avaliação precoce da HbA1c pode levar a um erro na avaliação da eficácia terapêutica.

Um estudo de Pan *et al.* (2013) realizado em mulheres na 24-32 semanas de gestação com níveis de glicemia pós sobrecarga de 50g de glicose anormais, mostrou que, em comparação à HbA1c, a AG está mais correlacionada com GJ e pós-prandial, independentemente da resistência à insulina e pressão arterial, podendo o último ser um melhor marcador de monitoramento em mulheres com DM gestacional.

Em pacientes com DM tipo 1, onde a elevação da glicemia ocorre de uma forma brusca devido à destruição rápida de células beta pancreáticas, a HbA1c é normal ou ligeiramente elevada. No entanto, os níveis de AG parecem refletir essas mudanças rápidas de glicemia. Além disso, a relação AG/HbA1c pode ser útil para o diagnóstico diferencial entre DM de tipo 1 e DM2. Um *cut-off* da relação AG/HbA1c de 3,4 fornece sensibilidade de 94% e especificidade de 79% para a identificação de indivíduos com DM tipo 1, daqueles com DM 2 não tratada (Koga *et al.*,2011). A alta sensibilidade da relação AG/HbA1c à rápida mudança de glicemia deve-se ao fato de AG/HbA1c refletir o controle glicêmico de curto prazo de apenas 9 dias (Koga *et al.*,2017).

### **c. Hiperglicemia pós-prandial e excursão glicêmica**

O uso da HbA1c na avaliação do controle glicêmico é baseado em evidências de vários estudos (DCCT,1993; UKPDS 1998; Holman *et al.*,2008; Nathan,2005). Por isso, a sua avaliação é considerada referência para determinar se o tratamento está adequado ou orientar quanto à necessidade de ajustes. No entanto, diversas evidências apontam a associação entre os níveis de HbA1c e o desenvolvimento de complicações microvasculares, mas com as complicações macrovasculares as evidências são limitadas.

A HbA1c é um indicador que evita as excursões dos níveis glicêmicos no dia-a-dia e/ou pós-prandial (variabilidade glicêmica) e reflete principalmente o nível médio de glicemia. Estudos sugerem grande variabilidade glicêmica como um fator de risco isolado, visto que oscilações muito amplas da glicemia ao redor de um valor médio ativam o estresse oxidativo e promovem dano tissular (Monnie & Colette,2008; Ceriello *et al.*,2008). A importância da variabilidade glicêmica é confirmada em estudos epidemiológicos, onde a glicemia pós-prandial tem um maior risco de causar complicações cardiovasculares e morte em relação à glicemia de jejum (DECODE,1999; Tominaga *et al.*,1999).

Yoshiuchi *et al.* (2008) demonstraram que a AG reflete com melhor precisão a glicemia pós-prandial e a excursão glicêmica que a HbA1c e isso foi associado à curta meia-vida circulante da albumina. Esse estudo indica que, pacientes com o mesmo nível de HbA1c (glicemia média) podem ter perfis de glicose dramaticamente diferentes, consequentemente as complicações diabéticas podem ocorrer em diferentes taxas dependendo da oscilação da glicose plasmática do paciente. Usualmente, os indivíduos com DM1 possuem alta variabilidade glicêmica. Portanto, não foi observada nenhuma diferença dos níveis de HbA1c entre os pacientes com DM1 e DM2, enquanto a AG em pacientes com DM1 foi significativamente maior (Yoshiuchi *et al.*,2008).

Um estudo realizado em pacientes diabéticos usando monitoramento contínuo da glicose devido ao mau controle glicêmico demonstrou que AG reflete melhor a glicose pós-prandial e excursão glicêmica em comparação com HbA1c e 1,5-AG (Suwa *et al.*,2010). Divani *et al.* (2017) também observaram resultados similares em pacientes diabéticos em hemodiálise usando monitoramento contínuo da glicose.

Até o momento não está claro porque a AG reflete variabilidade glicêmica melhor do que HbA1c. No entanto, isso sugere que AG pode ser um marcador diferente da HbA1c para complicações diabéticas, porque AG pode não apenas refletir o nível médio de glicemia, mas também as flutuações glicêmicas e as excursões glicêmicas pós-prandiais.

#### **d. AG como biomarcador de complicações crônicas do DM**

Atualmente para a prática clínica é recomendado o uso dos testes de glicemia e os de HbA1c para a avaliação do controle glicêmico. Os testes de glicemia refletem apenas o nível glicêmico atual e instantâneo no momento exato em que foram realizados, enquanto os testes de HbA1c podem fornecer uma avaliação do controle glicêmico médio no período de 60 a 120 dias (SBD,2015-2016). O uso rotineiro da HbA1c no manejo do DM é baseado em

grandes ensaios clínicos prospectivos com acompanhamento em longo prazo, que validaram extensamente o valor da HbA1c na predição das complicações crônicas do DM (DCCT,1993; UKPDS 1998; Holman *et al.*,2008; Nathan,2005). No entanto, apesar da utilidade documentada da HbA1c na pesquisa e manejo do DM, permanecem controvérsias não associadas com a vida útil das hemácias e metabolismo da hemoglobina. Os estudos epidemiológicos que constituem a base para recomendar a HbA1c para diagnóstico e manejo do DM incluíam apenas populações adultas. Portanto, não está claro se as mesmas recomendações sobre HbA1c em adultos devem ser usados para o diagnóstico e manejo do DM em crianças e adolescentes. Outra questão levantada é associada à relevância clínica na relação entre HbA1c e glicemia média em diferentes grupos étnicos (Ziemer *et al.*,2010; Herman *et al.*,2016; Selvin,2016).

Conforme discutido anteriormente, a AG pode estar diretamente envolvida no desenvolvimento das complicações crônicas do DM, como uma substância patogênica. Esse fenômeno foi observado no início da doença renal do diabetes, retinopatia e no desenvolvimento de placas ateromatosas. Nos últimos tempos vários estudos avaliam o valor de potencial preditivo do teste de AG como marcador glicêmico complementar ou alternativo à HbA1c. O estudo *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC)* demonstrou em população geral associações independentes, semelhantes às observadas para HbA1c, entre AG com a incidência do DM, risco de DRC e prevalência de retinopatia (Selvin *et al.*,2014). No estudo DCCT/EDIC, em pacientes com DM1, ambos AG e HbA1c foram associados de forma semelhante à retinopatia e à nefropatia, que foram fortalecidas quando ambas as medidas foram consideradas em conjunto, mas apenas HbA1c foi associada com as complicações cardiovasculares (Nathan *et al.*,2014). Por outro lado, Song *et al.*, sugerem AG como um marcador para estimar o risco de aterosclerose (Song *et al.*,2012), após verificarem num estudo prospectivo em pacientes com DM2 que a AG é um indicador que prevê a progressão da espessura da íntima-média da carótida, mas não a HbA1c. No estudo longitudinal ARIC, demonstraram que a AG estava associada de forma independente à doença cardíaca coronária, acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico, insuficiência cardíaca e morte, com padrões de associação semelhantes aos observados para HbA1c, com exceção do AVC, que teve uma forte associação apenas com HbA1c (Selvin *et al.*, 2015). Já, em pacientes diabéticos em diálise os níveis de AG, não os de HbA1c, foram positivamente associados com frequência e período de hospitalização cardiovasculares (Murea *et al.*,2012).



Esses dados sugerem que AG é preditivo para as complicações micro e macrovasculares em populações com perfis diferentes. A falta de associação entre AG e as complicações cardiovasculares observada em pacientes DM1 no estudo DCCT/EDIC (Nathan *et al.*,2014) pode se atribuir à participação de indivíduos com estado glicêmico relativamente estável. Estudos epidemiológicos de larga escala devem examinar esse ponto no futuro.

### **LIMITAÇÕES DE AG**

Não há dúvidas de que AG oferece algumas vantagens quando comparado aos marcadores clássicos para a avaliação do estado glicêmico em certas condições clínicas. Embora os valores de AG sérica sejam principalmente influenciados pela glicemia, em alguns distúrbios específicos, principalmente ligados com metabolismo da albumina, os níveis de AG podem não refletir com precisão o estado glicêmico. Os níveis de albumina inferior a 3,5 g/dl estão associados ao aumento das taxas de glicação das proteínas plasmáticas e a albumina compete pela glicação com outras proteínas plasmáticas, tornando-se a mais glicada no meio (Bhonsle *et al.*,2012). Por isso, níveis elevados de AG, independentes da glicemia, podem ser encontrados em pacientes com cirrose hepática e hipotireoidismo (Koga *et al.*,2009; Koga *et al.*,2008). O excesso de hormônios tireoidianos promove o catabolismo da albumina e resulta em valores baixos de AG, independentes da glicemia, em pacientes com hipertireoidismo (Koga *et al.*,2009).

A proteinúria também pode falsamente baixar os valores de AG em pacientes diabéticos com síndrome nefrótica (Freitas *et al.*,2017). Por isso, em pacientes diabéticos com DRC estágio avançado (III ou IV) e proteinúria evidente, os valores de AG podem ser mais baixos em relação aos níveis de glicemia. Contudo, a AG é relatado como o melhor indicador de controle glicêmico em relação a HbA1c e glicemia em pacientes diabéticos em diálise (Peacock *et al.*,2008; Inaba *et al.*,2007; Freedman *et al.*,2010), porque não é influenciado pela vida útil dos eritrócitos ou pelo tratamento com eritropoietina.

A AG é inversamente influenciado pelo índice de massa corporal, massa gorda corporal, tecido adiposo visceral e triglicerídeos (Wu *et al.*,2016; Wang *et al.*,2012). Os mecanismos desta relação permanecem desconhecidos. A hipótese é que as mudanças estruturais induzidas pela ligação dos ácidos graxos à albumina impedem os grupos aminos de lisinas a sofrerem rearranjo de Amadori para formar uma ligação de cetoamina estável

(Fanali *et al.*,2012). No entanto, isso não implica que o aumento dos níveis de ácidos graxos seja clinicamente vantajoso.

Os níveis de AG aumentam com a idade independentemente do estado glicêmico (Wu *et al.*,2016; Wang *et al.*,2012). Contudo, a AG é um indicador útil do controle glicêmico em pacientes neonatais com diabetes, enquanto a HbA1c é influenciada por mudanças relacionadas à presença de hemoglobina fetal e não reflete com precisão o controle glicêmico (Suzuki *et al.*,2011).

Estado inflamatório evidente e tabagismo são outros possíveis interferentes dos níveis de AG já descritos (Freitas *et al.*,2017). Há poucas evidências quanto à interpretação da AG em diferentes grupos étnicos e os atuais dados são conflitantes. Os indivíduos afrodescendentes podem apresentar níveis mais elevados de AG, HbA1c e frutamina do que os caucasóides (Selvin *et al.*,2011; Herman *et al.*,2009). Os achados inferem uma semelhança entre AG e HbA1c nas diferenças étnicas e sugerem existência de maiores taxas glicêmicas em afro-americanos quando comparado com população caucasiana, invés de interferência nos marcadores.

Embora a AG parece ser um bom indicativo do controle glicêmico, nos casos em que há discrepância entre a AG e as glicemias capilares ao longo do período estudado fatores aqui apresentados devem ser suspeitados.

## CONCLUSÃO

Diferente de HbA1c, ainda existem muito poucos estudos de AG com alto nível de evidência científica que estabelecem a sua utilidade clínica. Estudos adicionais, especialmente *in vivo*, são necessários para uma melhor compreensão do papel patológico da glicação da albumina na progressão das complicações do DM. No entanto, existe um número crescente de evidências sugerindo que a AG possui boa acurácia e precisão diagnóstica estando fortemente associado às complicações diabéticas. Uma vez que a AG é um marcador intermédio do estado glicêmico, fornece mais informações do que os biomarcadores de curto prazo ou pontuais (glicemia) e de longo prazo (HbA1c), testes atualmente empregados na prática clínica. Quando comparada com HbA1c, AG parece ser um marcador glicêmico superior na capacidade de refletir variabilidades glicêmicas e em condições clínicas que afetem a vida útil dos eritrócitos e metabolismo da hemoglobina (anemia e hemoglobinopatias). Além disso, vários estudos sugerem que a AG é especialmente indicado para pacientes diabéticos com DRC em estágio avançado ou em diálise. Atualmente a melhor técnica para a dosagem de AG com alta reprodutibilidade é o método enzimático. No entanto, para utilizar as suas vantagens no manejo clínico do DM, devem ser estabelecidos diretrizes, que incluam as indicações para o uso do teste, valores de correspondência entre os níveis de AG e os respectivos níveis médios de glicemia, pontos de corte compatíveis com o diagnóstico do DM, metas terapêuticas, desempenho na previsão de risco de complicações, padronização do ensaio, e análise custo-benefício. Apesar dos benefícios clínicos adicionais da AG no controle glicêmico, ela pode não ser uma medida adequada em pacientes com níveis de albumina sérica alterados. Consequentemente, a sua inclusão no manejo do DM não irá substituir totalmente o uso dos testes atualmente recomendados na prática clínica (testes de glicemia e HbA1c) podendo ser um teste alternativo promissor no diagnóstico e manejo do DM.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abidin D, Liu L, Dou C, Datta A, Yuan C. An improved enzymatic assay for glycated serum protein. *Anal. Methods*, 2013,5, 2461-2469 doi: 10.1039/C3AY40165K.
- Abordo, E.A., Thornalley, P.J.: Synthesis and secretion of tumour necrosis factor-alpha by human monocytic THP-1 cells and chemotaxis induced by human serum albumin derivatives modified with methylglyoxal and glucose-derived advanced glycation end products. *Immunol. Lett.* 1997; 58, 139–147. doi: 10.1016/S0165-2478(97)00080-1.
- Ahmed N, Dobler D, Dean M, Thornalley PJ. Peptide mapping identifies hotspot site of modification in human serum albumin by methylglyoxal involved in ligand binding and esterase activity. *J. Biol. Chem.* 2005; 280, 5724–5732. doi: 10.1074/jbc.M410973200.
- American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33(Suppl. 1):S62–S69. doi: 10.2337/dc10-S062.
- American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2018; 41(Supplement 1): S13-S27. doi: 10.2337/dc18-S002.
- Beisswenger PJ, Howell SK, Russell GB, Miller ME, Rich SS, Mauer M. Early glycated albumin, but not advanced glycated albumin, methylglyoxal, or 3-deoxyglucosone increase the expression of PAI-1 in human peritoneal mesothelial cells, *Perit. Dial. Int.* 2013; 21: 487–494. Available from: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.323.999&rep=rep1&type=pdf>. access on 30.11.2017.
- Bhonsle HS, Korwar AM, Kote SS, Golegaonkar SB, Chougale AD, Shaik ML, et al. Low plasma albumin levels are associated with increased plasma protein glycation and HbA1c in diabetes. *J Proteome Res.* 2012;11(2):1391-6. doi: 10.1021/pr201030m.
- Cavagnoli, G., Comerlato, J., Comerlato, C., Renz, P. B., Gross, J. L. and Camargo, J. L. (2011), HbA1c measurement for the diagnosis of diabetes: is it enough?. *Diabetic Medicine*, 28: 31–35. doi: 10.1111/j.1464-5491.2010.03159.x.
- Cavagnoli G, Pimentel AL, Freitas PA, Gross JL, Camargo JL. Factors affecting A1C in non-diabetic individuals: Review and meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2015;445:107–114. doi: 10.1016/j.cca.2015.03.024.
- Cavagnoli G, Pimentel AL, Freitas PAC, Gross JL, Camargo JL. Effect of ethnicity on HbA1c levels in individuals without diabetes: Systematic review and meta-analysis. *Ali R, ed. PLoS ONE.* 2017;12(2):e0171315. doi: 10.1371/journal.pone.0171315.

- Ceriello A, Esposito K, Piconi L et al. Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2008; 57:1349-54. doi: 10.2337/db08-0063.
- Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Abrahamian H, Fuller JH, Stehouwer CDA. Circulating and urinary transforming growth factor- $\beta$ 1, Amadori albumin and complications of type 1 diabetes: the EURODIAB prospective complications study, *Diabetes Care* 25 (2002) 2320–2327. doi: 10.2337/diacare.25.12.2320.
- Cohen MP. Clinical, pathophysiological and structure/function consequences of modification of albumin by Amadori-glucose adducts. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830:5480–5485. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.04.024.
- Cohen MP, Shea E, Chen S, Shearman CW. Glycated albumin increases oxidative stress, activates NF-kappa B and extracellular signal-regulated kinase (ERK), and stimulates ERK dependent transforming growth factor-beta 1 production in macrophage RAW cells. *J. Lab. Clin. Med.* 2003;141, 242–249. doi: 10.1067/mlc.2003.27.
- Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, et al. Prevalence of diabetes and high risk for diabetes using A1C criteria in the U.S. population in 1988–2006. *Diabetes Care* 2010; 33:562–568. doi: 10.2337/dc09-1524.
- Da Moura Semedo C, Webb M, Waller H, et al Skin autofluorescence, a non-invasive marker of advanced glycation end products: clinical relevance and limitations *Postgraduate Medical Journal* 2017;93:289-294. doi: 10.1136/postgradmedj-2016-134579.
- DCCT Research Group. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The effect of intensive treatment of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993; 329:977-986. doi: 10.1056/NEJM199309303291401.
- Divani M, Georgianos PI, Didangelos T, Iliadis F, Makedou A, Hatzitolios A, Liakopoulos V, Grekas DM. Comparison of Glycemic Markers in Chronic Hemodialysis Using Continuous Glucose Monitoring. *Am J Nephrol*. 2017;22;47(1):21-29. doi: 10.1159/000485843.
- EDIC Research Group Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC). Design and implementation of a long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care* 1999;22:99–111 pmid:10333910.

- English E, Idris I, Smith G, Dhatriya K, Kilpatrick ES, John WG. The effect of anaemia and abnormalities of erythrocyte indices on HbA1c analysis: a systematic review. *Diabetologia*. 2015;58: 1409. doi: 10.1007/s00125-015-3599-3.
- Fan, X., Subramaniam, R., Weiss, M.F., Monnier, V.M.: Methylglyoxal-bovine serum albumin stimulates tumor necrosis factor alpha secretion in RAW 264.7 cells through activation of mitogen-activating protein kinase, nuclear factor kappa B and intracellular reactive oxygen species formation. *Arch. Biochem. Biophys.* 2003; 409, 274–286. doi: 10.1016/S0003-9861(02)00599-4.
- Fanali G, di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: from bench to bedside. *Mol Aspects Med.* 2012;33:209–290. doi: 10.1016/j.mam.2011.12.002.
- Fasano M, Curry S, Terreno E, Galliano M, Fanali G, Narciso P, Notari S, et al. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB Life.* 2005;57:787–796. doi: 10.1080/15216540500404093.
- Freedman BI, Shihabi ZK, Andries L, Cardona CY, Peacock TP, Byers JR, et al. Relationship between assays of glycemia in diabetic subjects with advanced chronic kidney disease. *American journal of nephrology.* 2010; 31(5):375–9. doi: 10.1159/000287561.
- Freitas PAC, Ehlert LR, Camargo JL. Glycated albumin: a potential biomarker in diabetes. *Arch. Endocrinol. Metab. São Paulo*, v.61, n.3, p.296-304, June 2017. doi: 10.1590/2359-3997000000272.
- Furusyo N, Hayashi J. Glycated albumin and diabetes mellitus. *Biochimica et biophysica acta.* 2013; 1830(12):5509–14. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.05.010.
- Furusyo N, Koga T, Ai M, Otokozawa S, Kohzuma T, Ikezaki H, et al. Utility of glycated albumin for the diagnosis of diabetes mellitus in a Japanese population study: results from the Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS). *Diabetologia.* 2011; 54(12):3028–36. doi: 10.1007/s00125-011-2310-6.
- Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. *Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe.* *Lancet* 354: 617-621. doi: 10.1016/S0140-6736(98)12131-1.
- Hashimoto K, Noguchi S, Morimoto Y, et al. A1C but Not Serum Glycated Albumin Is Elevated in Late Pregnancy Owing to Iron Deficiency . *Diabetes Care.* 2008;31(10):1945-1948. doi:10.2337/dc08-0352.

- Hashimoto K, Osugi T, Noguchi S, Morimoto Y, Wasada K, Imai S, et al. A1C but not serum glycated albumin is elevated because of iron deficiency in late pregnancy in diabetic women. *Diabetes care*. 2010; 33(3):509–11. doi: 10.2337/dc09-1954.
- Hattori, Y., Suzuki, M., Hattori, S., Kasai, K.: Vascular smooth muscle cell activation by glycated albumin (Amadori adducts). *Hypertension*. 2002;39, 22–28. doi: 10.1161/hy1201.097300.
- He X, Ying L, Ma X, Shen Y, Su H, Peng J, Wang Y, Bao Y, Zhou J, Jia W. An additional measurement of glycated albumin can help prevent missed diagnosis of diabetes in Chinese population. *Clin Chim Acta*. 2017 Dec;475:188-192. doi: 10.1016/j.cca.2017.10.018.
- Herman WH. Are there clinical implications of racial differences in HbA1c? Yes, to not rawconsider can do great harm! *Diabetes Care* 2016;39:1458–1461. doi: 10.2337/dc15-2686.
- Herman WH, Dungan KM, Wolffenbuttel BHR, et al. Racial and ethnic differences in mean plasma glucose, hemoglobin A1c, and 1,5-anhydroglucitol in over 2000 patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:1689–1694. doi: 10.1210/jc.2008-1940.
- Higai K, Shimamura A, Matsumoto K. Amadori-modified glycated albumin predominantly induces E-selectin expression on human umbilical vein endothelial cells through NADPH oxidation, *Clin. Chim. Acta*. 2006;367 137–143. doi: 10.1016/j.cca.2005.12.008.
- Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 359:1577–1589. doi: 10.1056/NEJMoa0806470.
- Ikezaki H, Furusyo N, Ihara T, Hayashi T, Ura K, Hiramane S, Mitsumoto F, Takayama K, Murata M, Kohzuma T, Ai M, Schaefer EJ, Hayashi J. Glycated albumin as a diagnostic tool for diabetes in a general Japanese population. *Metabolism*. 2015; 64(6), 698–705. doi: 10.1016/j.metabol.2015.03.003.
- Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T, et al. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2007; 18(3):896–903. doi: 10.1681/ASN.2006070772.

- International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. Eighth edition 2017. Versão on-line: [www.diabetesatlas.org](http://www.diabetesatlas.org). access on 20 Jan. 2018
- Juraschek SP, Steffes MW, Miller ER & Selvin, E. Alternative Markers of Hyperglycemia and Risk of Diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35(11): 2265–2270. doi: 10.2337/dc12-0787
- Koga M., Glycated albumin; clinical usefulness, *Clin. Chim. Acta* 433 (2014) 96–104. doi: 10.1016/j.cca.2014.03.001.
- Koga, M., Inada, S., Nakao, T., Kawamori, R. and Kasayama, S., The Glycated Albumin (GA) to HbA1c Ratio Reflects Shorter-Term Glycemic Control than GA: Analysis of Patients with Fulminant Type 1 Diabetes. *J. Clin. Lab. Anal.* 2017;31: n/a, e22023. doi:10.1002/jcla.22023.
- Koga M, Kasayama S. Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker. *Endocrine journal*. 2010; 57(9):751–62. pmid: 20724796. doi: 10.1507/endocrj.k10e-138.
- Koga M, Kasayama S, Kanehara H, Bando Y. CLD (chronic liver diseases)-HbA1C as a suitable indicator for estimation of mean plasma glucose in patients with chronic liver diseases, *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2008; 81 258–262. doi: 10.1016/j.diabres.2008.04.012.
- Koga M, Murai J, Saito H, Aoki K, Kanehara H, Bando Y, et al. Glycated albumin levels are higher relative to HbA1c levels in people with autoimmune acute-onset type 1 diabetes mellitus than in people with type 2 diabetes mellitus at the time of diagnosis. *Diabetes research and clinical practice*. 2011; 94(1):e12–4. doi: 10.1016/j.diabres.2011.06.022.
- Koga M, Murai J, Saito H, Matsumoto S, Kasayama S. Effects of thyroid hormone on serum glycated albumin levels: study on non-diabetic subjects, *Diabetes Res. Clin. Pract.* 84 (2009) 163–167. doi: 10.1016/j.diabres.2009.01.013.
- Koga M, Saito H, Kasayama S. Patients who showed paradoxical increase in HbA1c levels after intensification of diabetes treatment. *Clin Biochem*. 2015; 48(6):459–62. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.12.001.
- Koga M, Saito H, Mukai M, Matsumoto S, Kasayama S, Influence of iron metabolism indices on glycated haemoglobin but not glycated albumin levels in premenopausal women. *Acta Diabetol*. 2010;47(Suppl 1), 65–69. doi: 10.1007/s00592-009-0123-6.



- 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; 346:135e143. doi: 10.1016/j.cccn.2004.02.019.
- 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: 61–71. doi: 10.1016/S0009-8981(02)00207-3.
- Li H-Y, Ma W-Y, Wei J-N, Lin M-S, Shih S-R, Hung CS, et al. Hemoglobin A1c for the diagnosis of diabetes: To replace or to guide oral glucose tolerance tests? *Journal of Diabetes Investigation.* 2012; 3(3):259–65. doi: 10.1111/j.2040-1124.2011.00181.x.
- Lu L, Pu LJ, Xu XW, Zhang Q, Zhang RY, Zhang JS, Hu J, Yang ZK, Lu AK, Ding FH, Shen J, Chen QJ, Lou S, Fang DH, Shen WF, Association of serum levels of glycated albumin, C-reactive protein and tumor necrosis factor- $\alpha$  with the severity of coronary artery disease and renal impairment in patients with type 2 diabetes, *Clin. Biochem.* 40 (2007) 810–816. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.03.022.
- Ma XJ, Pan JM, Bao YQ, Zhou J, Tang JL, Li Q, et al. Combined assessment of glycated albumin and fasting plasma glucose improves the detection of diabetes in Chinese subjects. *Clinical and experimental pharmacology & physiology.* 2010; 37(10):974–9. doi: 10.1111/j.1440-1681.2010.05417.x.
- Mamputu JC, Renier G. Advanced glycation end-products increase monocyte adhesion to retinal endothelial cells through vascular endothelial growth factor-induced ICAM-1 expression: inhibitory effect of antioxidants, *J. Leukoc. Biol.* 75 (2004) 1062e1069. doi: 10.1016/S1056-8727(01)00229-X.
- Mandl-Weber S, Cohen CD, Haslinger B, Kretzler M, Sitter T. Vascular endothelial growth factor production and regulation in human peritoneal mesothelial cells, *Kidney Int.* 2002;61 570–578. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00143.x.
- Mbanya JC, Henry RR, Smith U. Presidents’ statement on WHO recommendation on HbA1c for diabetes diagnosis. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;93:310–311. doi: 10.1016/j.diabres.2011.06.026.
- Moman RN, Bhimji SS. Albumin. [Updated 2017 Oct 6]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017 Jun-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459198/>. access on 27 Nov. 2017.
- Monnie L, Colette C. Glycemic variability: should we and can we prevent it? *Diabetes Care.* 2008; 31(suppl 2):S150-S4. doi: 10.2337/dc08-s241.

- Murea M, Moran T, Russell GB, Shihabi ZK, Byers JR, Andries L, et al. Glycated albumin, not hemoglobin A1c, predicts cardiovascular hospitalization and length of stay in diabetic patients on dialysis. *American journal of nephrology*. 2012;36(5):488–96. doi: 10.1159/000343920.
- Murai J, Soga S, Saito H, Koga M. Usefulness of glycated albumin for early detection of deterioration of glycemic control state after discharge from educational admission. *Endocr J* 2013;69:409–13. doi: 10.1507/endocrj.EJ12-0281.
- Naitoh, T., Kitahara, M., Tsuruzoe, N.: Tumor necrosis factor alpha is induced through phorbol ester – and glycated human albumin-dependent pathway in THP-1 cells. *Cell. Signal*. 2001; 13, 331–334. doi: 10.1016/S0898-6568(01)00152-8.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al.; Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2005; 353:2643–2653.
- Nathan DM. Long-term complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 328:1676–1685. doi: 10.1056/NEJM199306103282306.
- Nathan DM, McGee P, Steffes MW, Lachin JM, Group DER. Relationship of glycated albumin to blood glucose and HbA1c values and to retinopathy, nephropathy, and cardiovascular outcomes in the DCCT/EDIC study. *Diabetes*. 2014; 63(1):282–90. doi: 10.2337/db13-0782.
- Nathan DM, Steffes MW, Sun W, Rynders GP, Lachin JM. Determining stability of stored samples retrospectively: the validation of glycated albumin. *Clin Chem*. 2011;57:286-290. doi: 10.1373/clinchem.2010.150250.
- Oetl K, Stauber R: Physiological and pathological changes in the redox state of human serum albumin critically influence its binding properties. *Br J Pharmacol* 2007, 151:580–590. doi: 10.1038/sj.bjp.0707251.
- Okumura A, Mitamura Y, Namekata K, Nakamura K, Harada C, Harada T. Glycated albumin induces activation of activator protein-1 in retinal glial cells. *Japanese journal of ophthalmology*. 2007; 51(3):236–7. doi: 10.1007/s10384-007-0431-8.
- Otagiri M, Chuang VT. Pharmaceutically important pre- and posttranslational modifications on human serum albumin. *Biol. Pharm. Bull*. 2009;32, 527–534. doi: <https://doi.org/10.1248/bpb.32.527>.
- Pan J, Zhang F, Zhang L, Bao Y, Tao M, Jia W. 2013. Influence of insulin sensitivity and secretion on glycated albumin and hemoglobin A1c in pregnant women with

- gestational diabetes mellitus. *International Journal of Gynaecology & Obstetrics* 121:252–256. doi: 10.1016/j.ijgo.2013.01.017.
- Peacock TP, Shihabi ZK, Bleyer AJ, Dolbare EL, Byers JR, Knovich MA, et al. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A(1c) levels in diabetic subjects on hemodialysis. *Kidney international*. 2008; 73(9):1062–8. doi: 10.1038/ki.2008.25.
  - Program NGS. Factors that Interfere with HbA1c Test Results <http://www.ngsp.org/factors.asp> 2017 [Updated 03/11/2017]. access on 27 Nov. 2017.
  - Pu LJ, Lu L, Shen WF, Zhang Q, Zhang RY, Zhang JS, Hu J, Yang ZK, Ding FH, Chen QJ, Shen J, Fang DH, Lou S. Increased serum glycated albumin level is associated with the presence and severity of coronary artery disease in type 2 diabetic patients, *Circ. J.* 2007;71:1067–1073. doi: 10.1253/circj.71.1067.
  - Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS letters*. 2008;582:1783–1787. doi: 10.1016/j.febslet.2008.04.057.
  - Rodriguez-Capote K, Tovell K, Holmes D, Dayton J, Higgins TN. Analytical evaluation of the Diazyme glycated serum protein assay on the siemens ADVIA 1800: comparison of results against HbA1c for diagnosis and management of diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2015; 9:192–199. doi: 10.1177/1932296814567894.
  - Rondeau P, Bourdon E. The glycation of albumin: Structural and functional impacts. *Biochimie*. 2011;93:645–658. doi: 10.1016/j.biochi.2010.12.003.
  - Roohk HV and Zaidi AR. A Review of Glycated Albumin as an Intermediate Glycation Index for Controlling Diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology (Online)*, 2008; 2(6), 1114–1121. doi: 10.1177/193229680800200620.
  - Schalkwijk CG, Chaturvedi N, Twaafhoven H, van Hinsbergh VM, Stehouwer CDA. Amadori-albumin correlates with microvascular complications and precedes diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients, *Eur. J. Clin. Invest.* 32 (2002) 500–506. doi: 10.1046/j.1365-2362.2002.01011.x.
  - Schalkwijk, C.G., Lieuw-a-Fa, M., van Hinsbergh, V.W., Stehouwer, C.D.: Pathophysiological role of Amadori-glycated proteins in diabetic microangiopathy. *Semin. Vasc. Med.* 2002; 2, 191–197.
  - Schalkwijk CG, Ligtoet N, Twaalfhoven H, Jager A, Blaauwgeers HG, Schlingemann RO, Tarnow L, Parving HH, Stehouwer CD, van Hinsbergh VW. Amadori albumin in type 1 diabetic patients: correlation with markers of endothelial function, association

- with diabetic nephropathy, and localization in retinal capillaries, *Diabetes* 48 (1991) 2446–2453. doi: <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.12.2446>.
- Selvin E. Are there clinical implications of racial differences in HbA1c? A difference, to be a difference, must make a difference. *Diabetes Care* 2016;39:1462–1467. doi: 10.2337/dc16-0042.
  - Selvin E, Rawlings AM, Grams M, Klein R, Sharrett AR, Steffes M, Coresh J. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014; 2:279–288. doi: 10.1016/S2213-8587(13)70199-2.
  - Selvin E, Rawlings AM, Lutsey P, Maruthur N, Pankow JS, Steffes M, Coresh J. Fructosamine and Glycated Albumin and the Risk of Cardiovascular Outcomes and Death. *Circulation.* 2015; 132(4), 269–277. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015415.
  - Selvin E, Steffes MW, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Coresh J, Brancati FL. Racial differences in glycemic markers: a cross-sectional analysis of community-based data. *Ann Intern Med* 2011;154:303–309. doi: 10.7326/0003-4819-154-5-201103010-00004.
  - Singh, R.; Barden, A.; Mori, T.; Beilin, L. Advanced glycation endproducts: A review. *Diabetologia.* 2001; 44, 129–146. doi: 10.1007/s001250051591.
  - Sociedade Brasileira de Diabetes. Epidemiologia e prevenção do diabetes mellitus. *Diretrizes SBD.* 2015-2016:11-25.
  - Song SO, Kim KJ, Lee BW, Kang ES, Cha BS, Lee HC. Serum glycated albumin predicts the progression of carotid arterial atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2012; 225(2):450–5. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.005.
  - Sparvero, L.J.; Asafu-Adjei, D.; Kang, R.; Tang, D.; Amin, N.; Im, J.; Rutledge, R.; Lin, B.; Amoscato, A.A.; Zeh, H.J.; et al. RAGE (receptor for advanced glycation end products), RAGE ligands, and their role in cancer and inflammation. *J. Transl. Med.* 2009, 7, 17. doi: 10.1186/1479-5876-7-17.
  - <sup>a</sup> Sumner, A. E., Duong, M. T., Aldana, P. C., Ricks, M., Tulloch-Reid, M. K., Lozier, J. N., Chung S.T., Sacks, D. B. A1C Combined With Glycated Albumin Improves Detection of Prediabetes in Africans: The Africans in America Study. *Diabetes Care,* 2016; 39(2), 271–277. doi: 10.2337/dc15-1699.

- <sup>b</sup> Sumner AE, Duong MT, Bingham BA, Aldana PC, Ricks M, Mabundo LS, Tulloch-Reid MK, Chung ST, Sacks DB. Glycated Albumin Identifies Prediabetes Not Detected by Hemoglobin A1c: The Africans in America Study. *Clinical Chemistry*. 2016; 62 (11) 1524-1532; doi: 10.1373/clinchem.2016.261255.
- Sundaram RC, Selvaraj N, Vijayan G, Bobby Z, Hamide A, Rattina Dasse N. Increased plasma malondialdehyde and fructosamine in iron deficiency anemia: effect of treatment. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2007;61(10):682–5. pmid:17698317. doi: 10.1016/j.biopha.2007.06.013.
- Suwa T, Ohta A, Matsui T, et al. Relationship between clinical markers of glycemia and glucose excursion evaluated by continuous glucose monitoring (CGM). *Endocr J* 2010;57:135–40.
- Suzuki S, Koga M, Amamiya S, Nakao A, Wada K, Okuhara K, Hayano S, Sarhat AR, Takahashi H, Matsuo K, Tanahashi Y, Fujieda K. Glycated albumin but not HbA1c reflects glycaemic control in patients with neonatal diabetes mellitus, *Diabetologia*. 2011; 54: 2247–2253. doi: 10.1007/s00125-011-2211-8.
- Takei I, Hoshino T, Tominaga M, Ishibashi M, Kuwa K, Umemoto U, Tani W, Okahashi M, Yasukawa K, Kohzuma T, Sato A. Committee on Diabetes Mellitus Indices of the Japan Society of Clinical Chemistry-recommended reference measurement procedure and reference materials for glycated albumin determination. *Ann Clin Biochem*. 2016;53(Pt 1):124-32. doi: 10.1177/0004563215599178.
- Takahashi S, Uchino H, Shimizu T, et al. Comparison of glycated albumin (GA) and glycated hemoglobin (HbA1c) in type 2 diabetic patients: usefulness of GA for evaluation of short-term changes in glycemic control. *Endocr J* 2007;54:139–44. doi: 10.1507/endocrj.K06-103.
- Tominaga M, Eguchi H, Manaka H, Igarashi K, Kato T, Sekikawa A. Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata Diabetes Study. *Diabetes Care*. 1999; 22(6): 920-924. doi: 10.2337/diacare.22.6.920.
- UK 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; 352:837-853. doi: 10.1016/S0140-6736(98)07019-6.
- Vistoli G, De Maddis D, Cipak A, Zarkovic N, Carini M, Aldini G.(2013) Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their

mechanisms of formation, *Free Radical Research*. 2013;47:sup1, 3-27, doi:10.3109/10715762.2013.815348.

- Vlassara H, Fuh H, Donnelly T, Cybulsky M. Advanced glycation endproducts promote adhesion molecule (VCAM-1, ICAM-1) expression and atheroma formation in normal rabbits, *Mol. Med.* 1. 1995; 447e456.
- Wang F, Ma X, Hao Y, Yang R, Ni J, Xiao Y, Xiao Y, Tang J, Bao Y, Jia W. Serum Glycated Albumin Is Inversely Influenced by Fat Mass and Visceral Adipose Tissue in Chinese with Normal Glucose Tolerance. *PLoS ONE*; 2012: 7(11), e51098. doi: 10.1371/journal.pone.0051098.
- Wautier, J.L., Zoukourian, C., Chappey, O., Wautier, M.P., Guillausseau, P.J., Cao, R., Hori, O., Stern, D., Schmidt, A.M.: Receptor-mediated endothelial cell dysfunction in diabetic vasculopathy. Soluble receptor for advanced glycation end products blocks hyperpermeability in diabetic rats. *J. Clin. Invest.* 1996;97, 238–243. doi: 10.1172/JCI118397.
- Welsh KJ, Kirkman MS, Sacks DB. Role of Glycated Proteins in the Diagnosis and Management of Diabetes: Research Gaps and Future Directions. *Diabetes Care*. 2016, 39 (8) 1299-1306; doi: 10.2337/dc15-2727.
- World Health Organization. *The World Health Organization Report 2016: Global Reporting on Diabetes reducing*. Geneve: WHO, 2016.
- Wu W-C, Ma W-Y, Wei J-N, Yu T-Y, Lin M-S, Shih S-R, et al. Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *PLoS ONE*. 2016; 11(1): e0146780. doi:10.1371/journal.pone.0146780.
- Yoshiuchi K, Matsuhisa M, Katakami N, Nakatani Y, Sakamoto K, Matsuoka T, Umayahara Y, Kosugi K, Kaneto H, Yamasaki Y, Hori M. (2008) Glycated albumin is a better indicator for glucose excursion than glycated hemoglobin in type 1 and type 2 diabetes. *Endocr J* 55: 503-507.
- Ziemer DC, Kolm P, Weintraub WS, et al. Glucose-independent, black-white differences in hemoglobin A1c levels: a cross-sectional analysis of 2 studies. *Ann Intern Med* 2010;152:770–777. doi: 10.7326/0003-4819-152-12-201006150-00004.
- Ziyadeh FN, Cohen MP. Effects of glycated albumin on mesangial cells: evidence for a role in diabetic nephropathy. *Mol Cell Biochem* 1993;125:19–25. doi: 10.1007/BF00926830.

- Zheng CM, Ma WY, Wu CC, Lu KC. Glycated albumin in diabetic patients with chronic kidney disease. *Clin Chim Acta*. 2012. 9;413(19-20):1555-61. doi: 10.1016/j.cca.2012.04.025.

## **OBJETIVOS**

### **Geral:**

Avaliar o desempenho do teste de albumina glicada (AG) no diagnóstico de diabetes mellitus (DM) e estimar um ponto de corte específico em população amostral do sul do Brasil.

### **Específicos:**

- 1) Comparar o desempenho da AG com os testes de glicemia para o diagnóstico de DM;
- 2) Comparar o desempenho da AG com a HbA1c para o diagnóstico de DM;
- 3) Comparar o desempenho da AG com a associação de diferentes testes diagnósticos para o diagnóstico de DM;



## Capítulo 2

### Glycated Albumin as a diagnostic tool in diabetes mellitus

Fernando Chimela Chume <sup>1,2</sup>

Mayana Kieling Hernandez <sup>1</sup>

Priscila Aparecida Correa Freitas <sup>1,3</sup>

Gabriela Cavagnoli <sup>4</sup>

Joíza Lins Camargo<sup>1,5</sup>

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

<sup>2</sup> Universidade Zambeze, Beira, Mozambique

<sup>3</sup> Laboratory Diagnosis Division, Clinical Biochemistry Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil

<sup>4</sup> Centro Universitário FSG, Caxias do Sul, Brazil

<sup>5</sup> Endocrinology Division and Experimental Research Centre, 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

## **ABSTRACT:**

**Background** - Recent studies have revealed that glycated albumin (GA) presents as a useful alternative to glycated hemoglobin (HbA1c) under conditions wherein the latter does not reflect glycemic status accurately in diabetes mellitus (DM). Until now, we are not aware of any studies with non-Asians subjects that report on the validity of GA test in screening and diagnosis of DM, using OGTT as a reference test. Thus, the aim of this study was to assess the clinical utility of GA in screening and diagnosis of DM in Brazil population.

**Research design and methods** - This diagnostic test accuracy study was performed in 242 individuals referred to Clinical Pathology Department for oral glucose tolerance test (OGTT). After fasting overnight, GA, HbA1c, fasting plasma glucose (FPG) and 2-h plasma glucose (2hPG) after a 75-g OGTT were measured. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to assess the performance of GA and HbA1c in the diagnosis of DM by OGTT and likelihood ratios (LR) were used to estimate post-test probability of having DM.

**Results** - Based on glucose criteria for the OGTT, DM was detected in 31.8% (77/242). The optimal threshold value of  $GA \geq 14.8\%$  for diagnosis of DM had sensitivity, specificity, LR+, LR- of 64.9%, 65.5%, 1.88 and 0.54, respectively. The area under the ROC curve (AUC) for GA (0.703) was lower than for HbA1c (0.802). GA value of 16.8% had the similar accuracy for detecting DM as defined by  $HbA1c \geq 6.5\%$  with sensitivity of 31.2%, specificity of 93.3% and presented LR+ of 4.68 and LR- of 0.74. The AUC for FPG/GA ratio in the diagnosis of DM by the OGTT (0.705) was similar to AUC for GA, on the other hand, the AUC for 2hPG/GA ratio improved to 0.902. The optimal cut-off value for 2hPG/GA for the diagnosis of DM was 11.6; the sensitivity, specificity, LR+ and LR- were 84.4% and 84.2%, 5.36 and 0.19, respectively. Additionally, GA correlated significantly to age ( $r = 0.262$ ,  $p < 0.001$ ), albumin ( $r = - 0.259$ ,  $p < 0.001$ ) but correlations between GA with (body mass index) BMI, waist circumference and (low density lipoprotein cholesterol) LDL were not significant.

**Conclusions** - Our results indicate that GA test is reliable in diagnosis of DM and might be a useful alternative to HbA1c. 2hPG/GA ratio presented a better screening strategy than FPG/GA ratio, with higher sensitivity and lower rates of misdiagnosed individuals than by GA or  $HbA1c \geq 6.5\%$ , indicating that applying a real postprandial glucose (PPG) and GA (PPG/GA) ratio approach may be more convenient for patients and increase the diagnostic performance of the test.

**Key words:** Diabetes mellitus, Glycated Albumin, HbA1c, Oral glucose tolerance test, Diagnostic accuracy.

## INTRODUCTION

Despite being largely preventable, the worldwide increase in type 2 diabetes mellitus (DM) is becoming a major health concern. It has been estimated that globally as many as 212.4 million people or half (50.0%) of all people aged 20-79 years old with DM are unaware of their disease (IDF,2017). Any improvement in the identification of hyperglycaemia will be of significant impact, because delays in diagnosis and treatment may increase the incidence of cardiovascular outcomes and all-cause mortality related to this disease (Herman *et al.*,2015). At present type 2 DM may be diagnosed based on plasma glucose criteria, either by fasting plasma glucose (FPG) or 2-h plasma glucose (2hPG) after a 75-g oral glucose tolerance test (OGTT) or HbA1c criteria, all tests are equally appropriate (ADA,2018). Although OGTT measurement is still a top-of-the-line in DM and pre-DM diagnosis, this method is onerous, time-consuming and requires two blood samples. In contrast, the sole use of FPG measurement in DM screening will fail to diagnose those subjects presenting only with 2hPG  $\geq$ 200 mg/dL ( $\geq$ 11.1 mmol/L). Therefore, HbA1c, which is considered the reference standard for monitoring long-term glycaemic control in subjects with DM, is also primary diagnostic tool for DM. HbA1c has several advantages compared with the FPG and OGTT, including greater convenience (fasting is not required), greater preanalytical stability, and less day-to-day variations during stress and illness (ADA,2018). However, HbA1c is not suitable for conditions with altered blood red cell turnover, such as some hemoglobinopathies and thalasseмии, chronic kidney disease (CKD), hemolytic anaemia, and it is also not appropriate for evaluating short-term variations in glycaemic control due to the long lifespan of erythrocytes (NGSP,2017). Furthermore, the presence of hemoglobin variants (e.g. HbS trait, HbC trait), elevated fetal hemoglobin (HbF) and chemically modified derivatives of hemoglobin (e.g. carbamylated Hb in patients with renal failure) can interfere either positively or negatively with the HbA1c measurement and consequently adversely affect the interpretation of HbA1c results (Camargo & Gross,2004; NGSP,2017; Rohlfing *et al.*,2016). Therefore, it is important to consider alternative procedures in the diagnosis of DM.

Glycated albumin (GA) is a ketamine produced by binding of albumin and glucose by a nonenzymatic glycation reaction (Freitas *et al.*,2017). It reflects short-term mean glycemic values (2–3 weeks) due to the shorter half-life of serum albumin, rather than 2–3 months mean glycemic values observed in HbA1c (Furusyo & Hayashi,2013). Similar to HbA1c, GA correlates with diabetic complications such as retinopathy progression, chronic kidney

disease, peripheral neuropathy, cardiovascular disease, and even death (Selvin *et al.*,2014; Selvin *et al.*,2015; Nathan *et al.*,2014). Additionally, GA is hemoglobin/erythrocyte independent, consequently, measurement of GA is not influenced by anaemia or other conditions considered potential factors that can affect the interpretation of HbA1c results (Freitas *et al.*,2017; Furusyo & Hayashi,2013). Furthermore, evidences suggest that GA is a better glycaemic indicator than HbA1c in diabetic subjects on hemodialysis (Peacock *et al.*,2008; Inaba *et al.*,2007; Freedman *et al.*,2010). In the latest, high GA values in Asian populations were associated with DM (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011; Hsu *et al.*,2015). These studies indicate that GA levels are useful for the diagnosis of DM. Although GA data have been accumulating in Asian populations, limited data are available in other regions. Therefore, the current study was designed to assess the clinical utility of GA in screening and diagnosis of DM in Brazil population. Additionally, we hypothesized that the ratio of glyceemic tests with GA or HbA1c would increase the sensitivity of the test and increase the performance in screening and diagnosis of DM. Therefore, we also evaluated the performance of FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c ratios in the diagnosis of DM.

## **MATERIALS AND METHODS**

### ***Study design***

We conducted a cross-sectional study and reported corresponding results in line with Standard for Reporting Diagnostic Accuracy (STARD) statement (Bossuyt *et al.*, 2015).

### ***Participants***

All outpatient older than 18 years old at high risk of developing DM (ADA,2018), who were referred to the Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA) between August 2016 and August 2017 to perform OGTT tests were consecutively invited to participate in this study. Subjects who accepted the invitation completed a questionnaire, underwent a physical examination, and received blood tests. We also included 139 subjects who were recruited between September 2008 and May 2009 to participate in a previous study (08/0321 GPPG research project; Cavagnoli *et al.*,2011). These individuals had their baseline database available (FPG, 2hPG, HbA1c, and other biochemistry results) and serum sample stored at -80°C [the stability of the glycated albumin assay in long-term stored specimens has already been evaluated (Nathan *et al.*,2011)]. The eligibility criteria for the current study do not differ from the previous ones (Cavagnoli *et al.*,2011).

Study exclusion criteria were: albumin levels <3.0 g/dl; subjects with established diagnosis of diabetes or who were receiving anti-diabetic medication; pregnant women; presence of anaemia, hemoglobinopathy, recent transfusion, hepatic cirrhosis, nephrotic syndrome, chronic kidney disease, untreated thyroid dysfunction, and/or Cushing syndrome, since these disorders are known to influence values of GA and/or HbA1c.

Each participant provided written informed consent. This study was reviewed and approved by the Institutional Review Board of the HCPA (GPPG 160448).

Glycaemic status was defined according to American Diabetes Association criteria (ADA,2018). DM was defined by: (a) FPG  $\geq$ 126 mg/dL (7.0 mmol/L); (b) 2hPG  $\geq$ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) during an OGTT; and/or (c) A1C  $\geq$ 6.5% (48 mmol/mol).

### ***Test methods***

All subjects underwent standard 75g OGTT after an overnight fast of at least 8 hours. Blood samples for the glucose assay were collected by venepuncture into tubes containing sodium fluoride at fasting and at 2-hour after 75g glucose oral intake.

Plasma glucose concentrations were measured by colorimetric enzymatic method in the biochemistry automated analyser Cobas<sup>®</sup> c702 (Roche Diagnostics, Germany).

HbA1c values were measured in K2EDTA-anticoagulated whole blood by high performance liquid chromatography (HPLC) using VARIANT II<sup>™</sup> System (BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA). This HbA1c assay is certified by the National Glycohemoglobin Standardization Programme (NGSP), aligned to the DCCT assay and it is also standardized by International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) (Hoelzel *et al.*,2004). Analytical inter assay coefficient of variation (CV) in our lab was <3.0%.

Fasting serum samples were stored at -80°C until it was used for measurement of GA. GA levels were determined in serum samples by an enzymatic method (GlycoGap<sup>®</sup>, Diazyme Laboratories, Poway, CA) in the automated analyser Cobas<sup>®</sup> c702 (Roche Diagnostics, Germany). This method was previously validated in our lab and the intra-assay repeatability was 3.5% (Freitas *et al.*,2016). Total albumin was measured with bromocresol green colorimetric method. GlycoGap<sup>®</sup> GA assay quantifies the total of glycated serum proteins (GSP,  $\mu$ mol/L), which are converted to percent of GA by the following conversion equation:  $GA (\%) = \{[GSP (\mu\text{mol/L}) \times 0.182 + 1.97]/\text{total albumin (g/dL)}\} + 2.9$  (Rodriguez-Capote *et al.*,2015).

Serum creatinine was measured by Jaffé colorimetric method and triglycerides by enzymatic assay, both using Cobas<sup>®</sup> c702 analyser (Roche Diagnostic, Mannheim, Germany). Hemoglobin and hematocrit were assayed using routine techniques.

Body mass index (BMI) was calculated by dividing body weight (kg) by the square of body height (m). The waist circumference was measured midway between the lowest rib and the iliac crest in a standing position. Systolic blood pressure and diastolic blood pressure were measured on the right arm, in the sitting position, with an automated sphygmomanometer (HEM-780, Omron Healthcare, Kyoto, Japan) after at least 5-minute rest. Smoking and drinking habit (current, past or never), and ethnicity was determined by self-report.

### ***Statistical Analysis***

Unless otherwise stated, data are presented as means  $\pm$  standard deviations (SDs) for continuous variables and as percentages for categorical variables. Group comparisons were made using Student's t-tests and the chi-square test as appropriate. Relationships among variables were explored using Spearman's correlation coefficients and regression models. To verify if the regression is significant we examined the analysis of variance (ANOVA). Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to assess the performance of GA and HbA1c in the diagnosis of diabetes by OGTT. The optimal cut-off for serum GA was derived from the ROC curve with the shortest distance to sensitivity and specificity with maximum value of the Youden index. Combining sensitivity and specificity, we assessed likelihood ratios (LR) for different cut-off points. The LR+ was calculated by dividing the sensitivity of the test by 1-specificity (Sensitivity/1 - specificity), while LR- of a test can be calculated by dividing 1 - sensitivity by specificity (1 - Sensitivity/Specificity) (Akobeng,2007). To present the applicability of the test we combined the likelihood ratio of a test with a patient's pre-test probability of disease to estimate post-test probability using Fagan's nomogram.

In addition, according to the methodology described above, we also evaluated the utility of FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c ratios in the diagnosis of DM.

The SPSS 20.0 programme was used for data analysis. P values 0.05 were considered significant.

## RESULTS

### a) Study subjects

A total of 242 participants were enrolled in the present study, of those 144 (69.5%) were women. One hundred ninety five (80.2%) subjects self-reported European ancestry (mainly of Portuguese, German, Italian and Spanish descent). Participants presented mean age of 54.4 years ( $\pm 13.0$ ) and values for GA, FPG, 2hPG, and HbA1c of  $14.9 \pm 2.2$  %,  $112 \pm 21$  mg/dL  $165 \pm 73$  mg/dL,  $5.79 \pm 0.79$ %, respectively. GA values were not normally distributed [median 14.5 % (GA<sub>minimum</sub> 8.2%, GA<sub>maximum</sub> 26.9%)]. Based on glucose criteria for the OGTT, DM was detected in 31.8% (77/242). The clinical and laboratory characteristics of all individuals, divided by upper tertile of GA (16.0%), are shown in Table 1 and 2, respectively. Compared to the group with GA <16.0%, the group with GA  $\geq$ 16.0% were older and had higher values of GA, FPG, 2hPG, HbA1c, FPG/GA and 2hPG/HbA1c ratios and higher diagnosis rate of DM. On the other hand, mean serum total albumin concentrations, alcohol consumers and HIV prevalence were greater in subjects with GA <16.0% as compared to those above 16.0%. No significant differences in BMI and lipid profile were observed among the groups. Additionally, the ethnic difference between groups was not accessed due to small sample size, though tended to be significantly ( $p = 0.057$ ).

### b) Factors potentially associated with the measurement of serum GA

The correlations between GA and factors potentially associated with the measurement of serum GA in all patients are presented in Table 3. GA and age were positively correlated ( $r = 0.294$ ,  $p < 0.001$ ). GA concentrations increased by 0.44% per decade ( $GA = 12.503 + 0.044 \times \text{age}$ ). GA and albumin were negatively correlated ( $r = -0.259$ ,  $p < 0.001$ ). For every 0.1 g/dL increase in serum albumin, GA decreased by 0.1462 % ( $GA = 21.317 - 1.462 \times [\text{albumin}]$ ). GA was inversely correlated with triglyceride ( $r = -0.197$ ,  $p < 0.001$ ). For every 10 mg/dL increase in serum triglyceride, GA decreased by 0.04% ( $GA = 15.623 - 0.004 \times [\text{triglyceride}]$ ). However, in participants recently diagnosed with DM, those correlations were not significant [age ( $r = 0.101$ ,  $p = 0.380$ ), albumin ( $r = 0.107$ ,  $p = 0.070$ ) and triglyceride ( $r = -0.020$ ,  $p = 0.429$ )]. The relationship of HbA1c, FPG/GA and 2-h PG/GA ratios, and factors potentially associated with the measurement of serum GA were also examined. Whereas HbA1c was positively correlated with BMI, waist circumference (WC), total cholesterol, triglyceride and LDL; GA was negatively correlated with BMI, WC, total



cholesterol, triglyceride and LDL, though some of these correlations were not significant (Table 3).

### **c) Correlations of GA with other glycemic parameters and ratios**

Correlations between GA and HbA1c, FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c ratios are presented in Table 4. Whereas GA significantly correlated with 2hPG (subjects without DM:  $r = 0.202$ ,  $p = 0.005$ ; subjects with DM:  $r = 0.398$ ,  $p < 0.001$ ), GA only correlated significantly with FPG on subjects with DM (subjects with DM:  $r = 0.354$ ,  $p = 0.001$ ; subjects without DM:  $r = 0.071$ ,  $p = 0.182$ ). For every 1 mg/dL increase in 2hPG, GA concentrations increased by 0.014% in subjects with DM ( $GA = 12.3 + 0.014 \times 2hPG$ ) and 0.01% in subjects without DM ( $GA = 12.3 + 0.01 \times 2hPG$ ). While every 1 mg/dL increase in FPG, GA concentrations increased by 0.035% only in subjects with DM ( $GA = 11.3 + 0.035 \times FPG$ ). GA and HbA1c were positively correlated (subjects without DM:  $r = 0.174$ ,  $p = 0.013$ ; subjects with DM:  $r = 0.296$ ,  $p = 0.004$ ). GA concentrations increased by 0.6% for every 1% of HbA1c in subjects without DM ( $GA = 11.3 + 0.6 \times HbA1c$ ) and by 0.8% in subjects with DM ( $GA = 10.7 + 0.8 \times 2hPG$ ). Additionally, the correlations of FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c ratios were evaluated (Table 4). While FPG/GA and 2hPG/GA ratios were negatively correlated with GA, 2hPG/HbA1c ratios was positively correlated with GA. 2hPG/GA was correlated with 2hPG ( $r = 0.902$ ,  $p < 0.001$ ). FPG/GA, 2hPG/GA, and FPG/HbA1c ratios were positively correlated with FPG in both groups of subjects. 2hPG/GA, and 2hPG/HbA1c ratios were positively correlated with 2hPG (Table 4).

### **d) Performance of GA in the diagnosis of DM by the OGTT**

In ROC analysis (Fig. 2), the area under the ROC curve (AUC) for GA considering the diagnosis of DM by the OGTT was 0.703 (95% CI 0.631 – 0.775), whereas the AUC for HbA1c was 0.802 (95% CI 0.740 – 0.864). The optimal cut-off value for serum GA was 14.8%; sensitivity and specificity for GA were 64.9% and 65.5%, respectively.  $GA \geq 14.8\%$  yielded LR+ and LR- of 1.88 and 0.54, respectively (Table 5). Inferring in our population [pre-test probability of 9.0 % for DM (IDF, 2018)] and considering  $GA \geq 14.8\%$  as DM diagnostic criterion, after a positive test ( $GA \geq 14.8\%$ ) the post-test probability for DM would increase to 16%, while a negative test ( $GA < 14.8\%$ ) would decrease the post-test probability for DM to 5%.

In this study, using the optimal point of GA as the criterion for diagnosis of DM (GA <14.8%), 50 subjects with DM were true positive, but then 27 subjects with DM and 57 subjects without DM were falsely diagnosed.

GA value of 16.8% had the similar accuracy for detecting DM as defined by HbA1c  $\geq 6.5\%$  (Table 5) with sensitivity of 31.2% and specificity of 93.3% and presented LR+ of 4.68 and LR- of 0.74. Considering this cut-off, after a positive test (GA  $\geq 16.8\%$ ), the post-test probability for DM would increase to 32%, while a negative test (GA <16.8%) would decrease the post-test probability for DM to 7% (Fig. 2). In our study group, considering this point (GA  $\geq 16.8\%$ ), the number of true negative subjects would increase to 154, the number of false positive results would be reduced to 11, however also would reduce true positive results to 24.

**e) Performance of FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c ratios in the diagnosis of DM by the OGTT**

The use of combined plasma glycemic tests with glycosylated proteins into FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c ratios in the diagnosis of DM was examined in ROC analysis (Fig. 2). The AUC for FPG/GA and FPG/HbA1c ratios in the diagnosis of DM by the OGTT (0.705 and 0.670, respectively) were similar to AUC for GA and HbA1c alone, on the other hand, the AUC for 2hPG/GA and 2hPG/HbA1c ratios improved to 0.902 and 0.899, respectively. The optimal cut-off value for 2hPG/GA was 11.6; the sensitivity and specificity for this cut-off point in the diagnosis of DM were 84.4% and 84.2%, respectively. 2hPG/GA  $\geq 11.6$  yielded LR+ and LR- of 5.36 and 0.19, respectively (Table 5). Inferring in our population, after a positive test (2hPG/GA  $\geq 11.6$ ) the post-test probability for DM increased to 35%, while a negative test (2hPG/GA  $\geq 11.6$ ) decreased the post-test probability for DM to 2%. Considering 2hPG/GA  $\geq 11.6$  as the criterion for diagnosis of DM, 65 subjects would be true positive and 139 true negative, while 12 subjects with DM and 26 subjects without DM would be misdiagnosed. 2hPG/GA value of 12.5 was the first point in the ROC curve with specificity values over 90% and had LR+ of 8.28, LR- of 0.27 and post-test probability for DM after a positive and negative test of 45% and 3%, respectively. Using this point (2hPG/GA  $\geq 12.5$ ) beside optimal point of 2hPG/GA, the number of true negative subjects increased to 149, the number of false positive reduced to 16, still the number of true positive was 60 out of 77 subjects with DM. When considering

2hPG/HbA1c ratio in the diagnosis of DM, similar results of 2hPG/GA ratio were seen (Table 5).

## DISCUSSION

This report presents several new findings. First, this study evaluated the performance of GA test in screening and diagnosis of DM in Brazilians. Secondly, findings of this study revealed that, different from GA, HbA1c is more sensitive to anthropometric measurements. Thirdly, the relationships among serum GA, plasma glucose, and HbA1c are better in subjects with DM than those without DM. At last, this investigation showed the previously unrecognized performance of combining plasma glycemic tests with glycosylated proteins into FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c ratios in the diagnosis of DM.

In this study, based on HbA1c  $\geq 6.5\%$  for DM screening (ADA, 2018), only 31.2% of diabetic subjects were detected. This indicates that there is a large gap between HbA1c and OGTT criteria for diagnosing DM. Although GA is not currently recommended for the screening or diagnosis of DM, there are several studies which advocate GA as a screening test for undiagnosed DM (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011; Hsu *et al.*,2015; Ma *et al.*,2010). According to the LR+ and LR- obtained, GA  $\geq 14.8\%$  is more likely to occur in people with the disease than in people without the disease. However, this cut-off did not show enough sensitivity to correctly define the proportion of people with DM, nor had high enough specificity to correctly define the proportion of people without the disease DM. On the other hand, GA value of 16.8% presented lower sensitivity but specificity over to 90%, performance similar to HbA1c  $\geq 6.5\%$  in screening and diagnosis of DM, and therefore it may be a good cut-off point for detecting DM in individuals with high-risk of developing the disease.

The cut-off of GA  $\geq 16.8\%$  is lower than those proposed by other previous studies (Wu *et al.*,2016; Ma *et al.*,2010). Compared with these studies, our data showed different sensitivity and specificity for the same cut-off values. Some factors may be related to these differences. Firstly, ethnic differences among our study and previous studies are an important reason, since GA levels may vary with race/ethnicity independently of glycemia (Selvin *et al.*,2011). Secondly, the inclusion criteria may have an effect in our results, our study included Brazil subjects who had known risk factors for DM, while some of studies (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011) included random samples from the general population. Till now, we are not aware of any studies with non-Asians subjects that report on the validity

of GA test in screening and diagnosis of DM, so this is the first performed in non-Asian population.

Our study also showed that FPG/GA or FPG/HbA1c ratios performed equal to GA and HbA1c, while 2hPG/GA or 2hPG/HbA1c ratios performed better in the diagnosis of DM. This relatively better performance by 2hPG/GA or 2hPG/HbA1c ratios may be due to the addition of glycemic variability into GA and HbA1c information. The finding that the ratio of FPG/GA presented slight better performance than FPG/HbA1c ratio, as well as 2hPG/GA showed slight better performance than 2hPG/HbA1c ratio was surprising, as HbA1c alone showed better performance than GA. However, it is also in agreement with other studies that reported GA a better indicator for glucose excursion than HbA1c (Yoshiuchi *et al.*,2008; Suwa *et al.*,2010). This high performance of 2hPG/GA or 2hPG/HbA1c ratios may be important information to be translated to clinical practice, where 2hPG could be replaced by postprandial glucose (PPG). This approach would be convenient for patients because fasting is still not required and would increase the performance of GA or HbA1c to diagnose DM. Additionally, using PPG/GA ratio would have advantage over PPG/HbA1c ratio, because GA can be measured accurately in plasma or serum samples (Wu *et al.*,2016). Consequently, GA can be analysed together with common biological markers, including glucose, cholesterol, triglycerides and creatinine, without requiring a blood collection in a separate tube, by contrast, HbA1c can only be measured in whole blood samples.

Like HbA1c, GA correlates with diabetic complications, and even death in diabetic patients (Selvin *et al.*,2015; Selvin *et al.*,2014; Nathan *et al.*,2014). Additionally, GA is hemoglobin/erythrocyte independent, consequently, measurement of GA appears appropriate for patients with anemia or hemoglobinopathies (Freitas *et al.*,2017; Furusyo & Hayashi,2013). Although both GA and HbA1c measurements underestimate glycemic values, evidences suggest that GA is a better glycaemic indicator than HbA1c in diabetic subjects on hemodialysis with end-stage diabetic nephropathy (Peacock *et al.*,2008; Inaba *et al.*,2007; Freedman *et al.*,2010). Furthermore, epidemiological studies have shown that postprandial glycemia is related to a higher risk of causing cardiovascular complications and death than fasting glycemia (DECODE,1999; Tominaga *et al.*,1999). According to the study carried out by Yoshiuchi *et al.* (2008), GA better accurately reflects PPG than HbA1c.

In the present study, GA was found to be more strongly associated with 2hPG than FPG, whereas HbA1c was more strongly associated with FPG than 2hPG in subjects with and without DM. Also, there was a significant positive correlation between GA and age. A similar association was observed in other studies (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011). GA and albumin were negatively correlated and is also in agreement with findings of other study (Wu *et al.*,2016). GA was inversely correlated with triglycerides. Different of GA, HbA1c is more sensitive to BMI and WC, this may also explain why GA identifies a substantial number of non-obese individuals with prediabetes not detected by HbA1c (Sumner *et al.*,2016).

The correlations between GA with FPG, 2hPG and HbA1c in subjects with DM were greater than the ones in subjects without DM. Previous studies (Wu *et al.*,2016; Furusyo *et al.*,2011; Selvin *et al.*,2015) already revealed nonlinear associations of GA to FPG, 2hPG and HbA1c, this is because glycation depends on the degree and duration of protein exposure to glucose concentration (Freitas *et al.*,2017).

Some situations that interfere with albumin metabolism may also influence GA values independently of glycemia status. Therefore, in conditions as liver cirrhosis, thyroid dysfunction, nephrotic syndrome with massive proteinuria, or inflammatory conditions, the use of GA may be misleading (Freitas *et al.*,2017; Furusyo & Hayashi,2013). Other interfering situations on GA levels already described are age and obesity (Koga,2014). Nonetheless, the overall similarity of major DM risk factor associations for elevated HbA1c and GA is reassuring and suggests that, in general, elevations in GA are largely being driven by the same pathophysiological processes that act to raise blood glucose concentrations over time (Cohen,2013, Selvin *et al.*,2014; Selvin *et al.*,2015; Nathan *et al.*,2014).

## **STRENGTHS AND WEAKNESSES**

This study is the first to evaluate DM diagnostic utility of GA, using OGTT as a reference test, in non-Asian population, precisely in Brazil population. Bellia et al (2018) evaluated the performance of GA in Caucasian subjects using HbA1c as a reference test and found the optimal threshold value of GA >14.0% for diagnosis of DM had sensitivity and specificity of 72.2% and 71.8%, respectively. The AUC for GA (0.80; 95% CI: 0.75-0.84) was similar for the present study (0.76; 95% CI: 0.67-0.84) when using HbA1c as reference test, although in the present study we found the optimal threshold value of GA >15.1% with a sensitivity of 66.7% and a specificity of 67.5% for diagnosis of DM (results not shown).

At enrolment, we excluded pregnant women, as well as individuals with anaemia, renal failure, cirrhosis, or thyroid disease, as they can interfere with the interpretation of HbA1c and GA (Freitas *et al.*,2017; Furusyo & Hayashi,2013). Therefore, we were able to evaluate the diagnostic efficacy of GA and HbA1c in the absence of confounding factors. Additionally, different screening strategies using ratio of glyceimic tests with GA or HbA1c in the diagnosis of DM were developed.

There were limitations to the present study that must be considered when interpreting the results. First, the size of the study population was not large enough, especially to evaluate the relationship between GA and factors potentially associated with its measurement. Second, we recruited the participants in two moments, however, the clinical and laboratory characteristics of the participants were not significantly different (results not shown). Third, OGTT was performed only once, even when the results are positive, which is different from the recommendations by the ADA (ADA,2018).

## **CONCLUSIONS**

GA test is reliable in diagnosis of DM and might be useful alternative to HbA1c under conditions wherein HbA1c does not reflect glyceimic status accurately. GA  $\geq 16.8\%$  has similar performance for diagnosing DM as HbA1c  $\geq 6.5\%$  and its use as the sole DM diagnostic test should be interpreted with caution to assure the correct classification of diabetic individuals. 2hPG/GA or 2hPG/HbA1c ratios increase the sensitivity of the screening strategy and would reduce individuals misdiagnosed. Translating these findings to clinical practice, the use of PPG/GA or PPG/HbA1c ratios in the diagnosis of DM would be more practical and time-saving than carry out an OGTT and the validation of this approach deserves more research.

## REFERENCES

- Akobeng AK. Understanding diagnostic tests 2: likelihood ratios, pre- and post-test probabilities and their use in clinical practice. *Acta Paediatr.* 2007;96(4):487–91. doi:10.1111/j.1651-2227.2006.00179.x.
- American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2018; 41(Supplement 1): S13-S27. doi: 10.2337/dc18-S002.
- Bellia C, Zaninotto M, Cosma C, Agnello L, Bivona G, Marinova M, Lo Sasso B, Plebani M, Ciaccio M. Clinical usefulness of Glycated Albumin in the diagnosis of diabetes: Results from an Italian study. *Clin Biochem.* 2018;54:68-72. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.02.017.
- Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig L, Lijmer JG, Moher D, Rennie D, de Vet HC, Kressel HY, Rifai N, Golub RM, Altman DG, Hooft L, Korevaar DA, Cohen JF; STARD Group. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *Clin Chem* 61: 1446–1452, 2015.
- Camargo JL, Gross JL. Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method. *Journal of Clinical Pathology.* 2004;57(4):346-349. doi:10.1136/jcp.2002.007088.
- Cavagnoli, G., Comerlato, J., Comerlato, C., Renz, P. B., Gross, J. L. and Camargo, J. L. (2011), HbA1c measurement for the diagnosis of diabetes: is it enough?. *Diabetic Medicine*, 28: 31–35. doi: 10.1111/j.1464-5491.2010.03159.x.
- Cohen MP. Clinical, pathophysiological and structure/function consequences of modification of albumin by Amadori-glucose adducts. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830:5480–5485. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.04.024.
- Freedman BI, Andries L, Shihabi ZK, et al. Glycated albumin and risk of death and hospitalizations in diabetic dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6: 1635–43.
- Freitas PAC, Ehlert LR, Camargo JL. Comparison between two enzymatic methods for glycated albumin. *Anal Methods.* 2016;8:8173-8. doi: 10.1039/C6AY02350A.
- Freitas PAC, Ehlert LR, Camargo JL. Glycated albumin: a potential biomarker in diabetes. *Arch. Endocrinol. Metab. São Paulo*, v.61, n.3, p.296-304, 2017. doi: 10.1590/2359-3997000000272.
- Furusyo N, Hayashi J. Glycated albumin and diabetes mellitus. *Biochimica et biophysica acta.* 2013;1830(12):5509–14.

- Furusyo N, Koga T, Ai M, Otokozawa S, Kohzuma T, Ikezaki H, et al. Utility of glycated albumin for the diagnosis of diabetes mellitus in a Japanese population study: results from the Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS). *Diabetologia*. 2011;54(12):3028–36.
- Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. *Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe*. *Lancet* 354: 617-621. doi: 10.1016/S0140-6736(98)12131-1.
- Herman WH, Ye W, Griffin SJ, et al. Early detection and treatment of type 2 diabetes reduce cardiovascular morbidity and mortality: a simulation of the results of the Anglo-DanishDutch study of intensive treatment in people with screen-detected diabetes in primary care (ADDITION-Europe). *Diabetes Care* 2015;38: 1449–1455.
- Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, et al. IFCC Reference System for Measurement of Hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan and Sweden: a method comparison study. *Clin.Chem.* 2004; 50: 166-174. doi: 10.1373/clinchem.2003.024802.
- Hsu P, Ai M, Kanda E, Yu NC, Chen HL, Chen HW, et al. A comparison of glycated albumin and glycosylated hemoglobin for the screening of diabetes mellitus in Taiwan. *Atherosclerosis*. 2015;242(1):327-33.
- Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T, et al. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycosylated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2007; 18(3):896–903. doi: 10.1681/ASN.2006070772.
- International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*. Eighth edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2017. access on 17 Jan. 2018.
- Koga M. Glycated albumin; clinical usefulness. *Clin Chim Acta*. 2014;433:96-104. doi: 10.1016/j.cca.2014.03.001.
- Ma XJ, Pan JM, Bao YQ, Zhou J, Tang JL, Li Q, et al. Combined assessment of glycosylated albumin and fasting plasma glucose improves the detection of diabetes in Chinese subjects. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2010;37(10):974–9. doi: 10.1111/j.1440-1681.2010.05417.x.



- Nathan DM, McGee P, Steffes MW, Lachin JM, Group DER. Relationship of glycosylated albumin to blood glucose and HbA1c values and to retinopathy, nephropathy, and cardiovascular outcomes in the DCCT/EDIC study. *Diabetes*. 2014;63(1):282–90.
- Nathan DM, Steffes MW, Sun W, Rynders GP, Lachin JM. Determining stability of stored samples retrospectively: the validation of glycosylated albumin. *Clin Chem*. 2011;57:286-290.
- Peacock TP, Shihabi ZK, Bleyer AJ, Dolbare EL, Byers JR, Knovich MA, et al. Comparison of glycosylated albumin and hemoglobin A(1c) levels in diabetic subjects on hemodialysis. *Kidney international*. 2008;73(9):1062–8.
- Program NGS. Factors that Interfere with HbA1c Test Results <http://www.ngsp.org/factors.asp> 2017 [Updated 03/11/2017].
- Rodriguez-Capote K, Tovell K, Holmes D, Dayton J, Higgins TN. Analytical evaluation of the Diazyme glycosylated serum protein assay on the siemens ADVIA 1800: comparison of results against HbA1c for diagnosis and management of diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2015; 9:192–199. doi: 10.1177/1932296814567894.
- Rohlfing C, Hanson S, Weykamp C, et al. Effects of Hemoglobin C, D, E and S traits on Measurements of Hemoglobin A1c by Twelve Methods. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2016;455:80-83. doi:10.1016/j.cca.2016.01.031.
- Selvin E, Rawlings AM, Grams M, Klein R, Sharrett AR, Steffes M, Coresh J. Fructosamine and glycosylated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(4):279–288. doi: 10.1016/S2213-8587(13)70199-2.
- Selvin E, Rawlings AM, Lutsey P, Maruthur N, Pankow JS, Steffes M, Coresh J. Fructosamine and Glycosylated Albumin and the Risk of Cardiovascular Outcomes and Death. *Circulation*. 2015; 132(4), 269–277. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015415.
- Selvin E, Steffes MW, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Coresh J, Brancati FL. Racial differences in glycemic markers: a cross-sectional analysis of community-based data. *Ann Intern Med* 2011; 154:303–309. doi: 10.7326/0003-4819-154-5-201103010-00004.
- Sumner AE, Duong MT, Bingham BA, Aldana PC, Ricks M, Mabundo LS, Tulloch-Reid MK, Chung ST, Sacks DB. Glycosylated Albumin Identifies Prediabetes Not Detected

by Hemoglobin A1c: The Africans in America Study. *Clinical Chemistry*. 2016; 62 (11) 1524-1532; doi: 10.1373/clinchem.2016.261255.

- Suwa T, Ohta A, Matsui T, et al. Relationship between clinical markers of glycemia and glucose excursion evaluated by continuous glucose monitoring (CGM). *Endocr J* 2010;57:135–40.
- Tominaga M, Eguchi H, Manaka H, Igarashi K, Kato T, Sekikawa A. Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata Diabetes Study. *Diabetes Care*. 1999; 22(6): 920-924. doi: 10.2337/diacare.22.6.920.
- Wang F, Ma X, Hao Y, Yang R, Ni J, Xiao Y, Xiao Y, Tang J, Bao Y, Jia W. Serum Glycated Albumin Is Inversely Influenced by Fat Mass and Visceral Adipose Tissue in Chinese with Normal Glucose Tolerance. *PLoS ONE*; 2012: 7(11), e51098. doi: 10.1371/journal.pone.0051098.
- Wu W-C, Ma W-Y, Wei J-N, Yu T-Y, Lin M-S, Shih S-R, et al. (2016) Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *PLoS ONE*11(1): e0146780. doi: 10.1371/journal.pone.0146780.
- Yoshiuchi K, Matsuhisa M, Katakami N, Nakatani Y, Sakamoto K, Matsuoka T, Umayahara Y, Kosugi K, Kaneto H, Yamasaki Y, Hori M. (2008) Glycated albumin is a better indicator for glucose excursion than glycated hemoglobin in type 1 and type 2 diabetes. *Endocr J* 55: 503-507.

Table 1. Clinical characteristics of the study participants by upper tertile of glycated albumin.

	Total	GA < 16.0%	GA ≥ 16.0%	P
n	242	181	61	
Age (years)	54.4 ± 13.0	53.0 ± 13.3	58.5 ± 11.5	0.005
Sex (male/female)	98/144	76/105	22/39	0.415
Ancestry				0.057
European, n (%)	195 (80.5)	149 (82.2)	46 (75.4)	
African, n (%)	28 (11.6)	16 (8.9)	12 (19.7)	
Other ancestry, n (%)	19 (7.9)	16 (8.9)	3 (4.9)	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.9 ± 6.3	29.1 ± 6.3	28.5 ± 6.3	0.558
WC (cm)	99.26 ± 13.38	99.7 ± 13.8	98.0 ± 12.1	0.437
SBP (mm Hg)	131.69 ± 16.74	131 ± 17	140 ± 11	0.066
DBP (mm Hg)	80.38 ± 12.72	80 ± 13	83 ± 10	0.473
Family history of diabetes, n (%)	122 (51.3)	93 (52.5)	29 (47.5)	0.500
History of smoking, n (%)	67 (27.9)	53 (29.6)	14 (23.0)	0.605
Present smoking, n (%)	62 (25.8)	45 (25.1)	17 (27.9)	0.605
Alcohol consumers, n (%)	32 (13.3)	30 (16.8)	2 (3.3)	0.007
Hypertension, n (%)	146 (60.8)	105 (58.7)	41 (67.2)	0.237
Hypertension treatment, n (%)	139 (57.4)	98 (54.7)	41 (67.2)	0.089
HIV +, n (%)	45 (18.6)	41 (22.7)	4 (6.6)	0.005

Mean

s ± SDs were shown for continuous variables. BMI, body mass index; WC, waist circumference (cm); SBP, systolic blood pressure; DBP diastolic blood pressure; HIV, human immunodeficiency virus; GA, glycated albumin.

Table 2. Laboratory characteristics of the study participants by upper tertile of glycated albumin.

	Total	GA < 16.0%	GA ≥ 16.0%	P
n	242	181	61	
Total cholesterol (mg/dl)	189 ± 42	190 ± 43	185 ± 38	0.389
Triglycerides (mg/dl)	167 ± 105	172 ± 102	149 ± 103	0.137
HDL (mg/dl)	47 ± 15	46 ± 17	48 ± 12	0.359
LDL (mg/dl)	142 ± 44	144 ± 45	136 ± 40	0.253
Serum Creatinine (mg/dl)	0.83 ± 0.22	0.82 ± 0.2	0.89 ± 0.2	0.239
Serum albumin (g/dl)	4.4 ± 0.4	4.4 ± 0.3	4.3 ± 0.5	0.019
Hemoglobin (g/dl)	13.8 ± 1.4	13.9 ± 1.4	13.5 ± 1.3	0.250
FPG (mg/dl)	112 ± 21	108 ± 14	125 ± 31	< 0.001
2hPG (mg/dl)	165 ± 73	151 ± 57	207 ± 97	< 0.001
HbA1c (%)	5.79 ± 0.79	5.6 ± 0.6	6.1 ± 1.1	< 0.001
GA (%)	14.91 ± 2.2	13.9 ± 1.2	17.7 ± 2.0	< 0.001
FPG/HbA1c ratio	19.56 ± 2.84	19.3 ± 2.4	20.2 ± 3.8	0.073
FPG/GA ratio	7.6 ± 1.4	7.8 ± 1.2	7.1 ± 1.8	0.005
2hPG/HbA1c ratio	28.31 ± 10.48	26.7 ± 9.2	33.0 ± 12.5	0.001
2hPG/GA ratio	11.03 ± 4.47	10.9 ± 4.3	11.6 ± 4.9	0.292
DM by FPG, n (%)	42 (17.2)	20 (11.0)	22 (36.1)	<0.001
DM by 2hPG, n (%)	66 (27.3)	37 (20.4)	29 (47.5)	<0.001
DM by HbA1c, n (%)	33 (13.6)	13 (7.2)	20 (32.8)	<0.001
DM by OGTT	77 (31.8)	44 (24.3)	33 (54.1)	<0.001
DM by OGTT+HbA1c	86 (35.5)	50 (27.6)	36 (59.0)	<0.001

Means ± SDs were shown for continuous variables. HDL, serum high density lipoprotein cholesterol; LDL, serum low density lipoprotein cholesterol; FPG, fasting plasma glucose; 2hPG, plasma glucose 2 h after oral glucose; HbA1c, glycated hemoglobin; GA, glycated albumin; OGTT, oral glucose tolerance test; DM, diabetes mellitus.

Table 3. Correlations between GA, HbA1c, FPG/GA and 2hPG/GA ratios, and factors potentially associated with the measurement of serum GA in all participants

	GA	HbA1c	Age	BMI	WC	Albumin	Total cholesterol	Trigl.	HDL	LDL
GA	1	0.304**	0.294**	-0.081	-0.115	-0.259**	-0.049	-0.197**	0.085	-0.099
HbA1c		1	0.267**	0.275**	0.240**	-0.020	0.290**	0.148*	0.099	0.252**
Age			1	-0.029	0.011	-0.038	-0.013	0.082	0.087	-0.038
BMI				1	0.844**	-0.079	0.122	0.130*	-0.035	0.161*
WC					1	-0.047	0.053	0.149*	-0.057	0.090
Albumin						1	0.188**	0.177**	-0.053	0.205**
Total Cholesterol							1	0.336**	0.131*	0.939**
Trigl.								1	-0.446**	0.467**
HDL									1	-0.175**
LDL										1

\*\*Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed). \*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

GA, glycated albumin; HbA1c, glycated hemoglobin; FPG, fasting plasma glucose; 2hPG, plasma glucose 2 h after oral glucose; BMI, body mass index; WC, waist circumference (cm); Trigl., Triglyceride; HDL, serum high density lipoprotein cholesterol; LDL, serum low density lipoprotein cholesterol.

Table 4. Correlations between GA and HbA1c, FPG, 2hPG, FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c, and 2hPG/HbA1c ratios by DM status

<b>A. Subjects without DM (n = 165)</b>								
	GA	FPG	2hPG	HbA1c	FPG/GA	2hPG/GA	FPG/HbA1c	2hPG/HbA1c
GA	1	0.033	0.202**	0.174*	-0.738**	-0.219**	0.739**	0.160*
FPG		1	0.229**	0.239**	0.587**	0.215**	0.632**	0.137
2hPG			1	0.168*	-0.001	0.902**	0.057	0.928**
HbA1c				1	0.013	0.103	-0.594**	-0.198*
FPG/GA					1	0.337**	0.459**	-0.023**
2hPG/GA						1	0.092	0.846**
FPG/HbA1c							1	0.274**
2hPG/HbA1c								1
<b>B. Subjects with DM (n = 77)</b>								
	GA	FPG	2hPG	HbA1c	FPG/GA	2hPG/GA	FPG/HbA1c	2hPG/HbA1c
GA	1	0.354**	0.398**	0.296**	-0.428**	-0.253*	0.209	0.282*
FPG		1	0.527**	0.600**	0.648**	0.271*	0.635**	0.205
2hPG			1	0.561**	0.220	0.765**	0.107	0.822**
HbA1c				1	0.328**	0.342**	-0.218	-0.003
FPG/GA					1	0.522**	0.429**	0.024
2hPG/GA						1	-0.034	0.690**
FPG/HbA1c							1	0.252*
2hPG/HbA1c								1

\*\*Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed). \*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

FPG, fasting plasma glucose; 2hPG, plasma glucose 2 h after oral glucose; HbA1c, glycosylated hemoglobin; GA, glycosylated albumin; DM, diabetes mellitus.

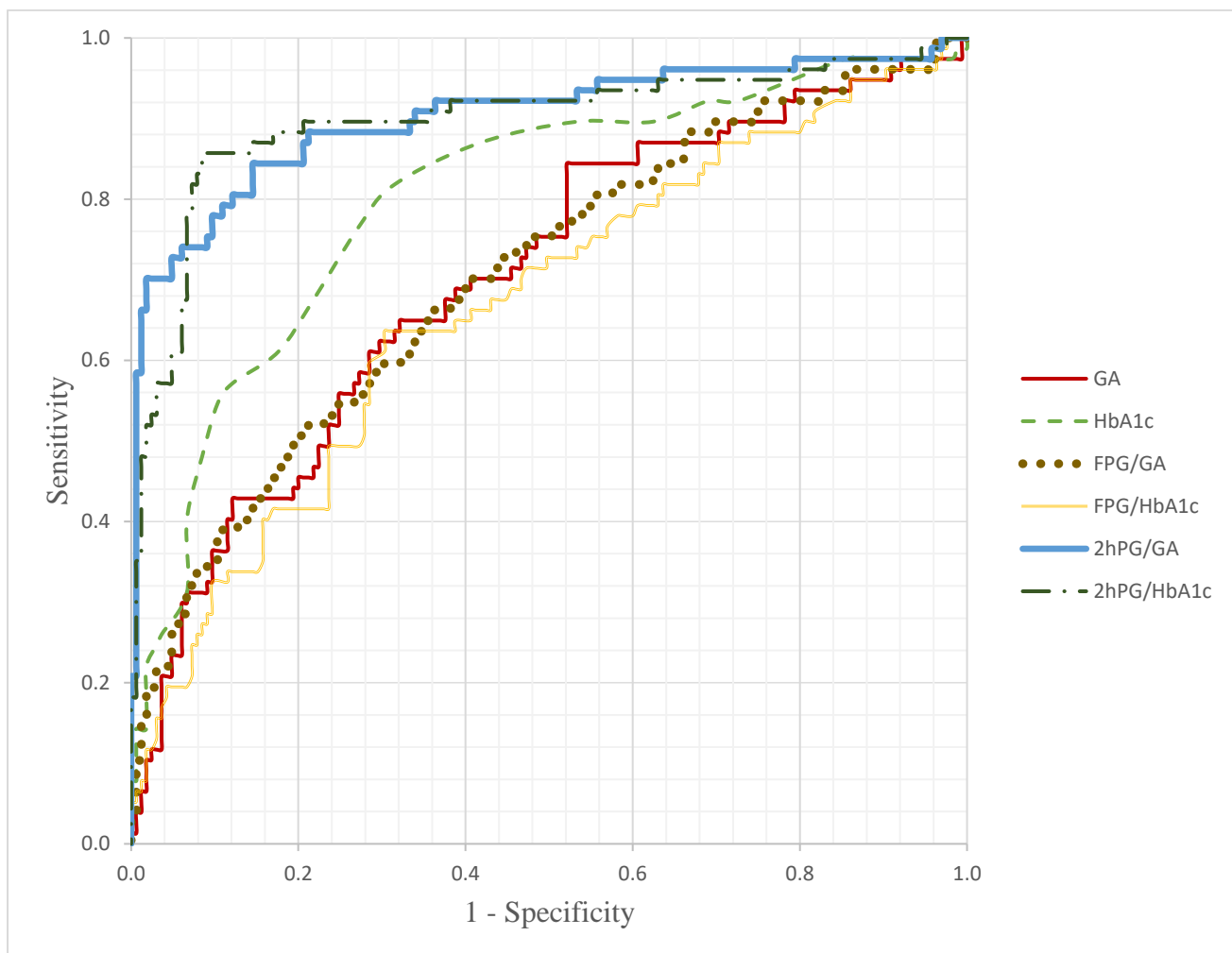


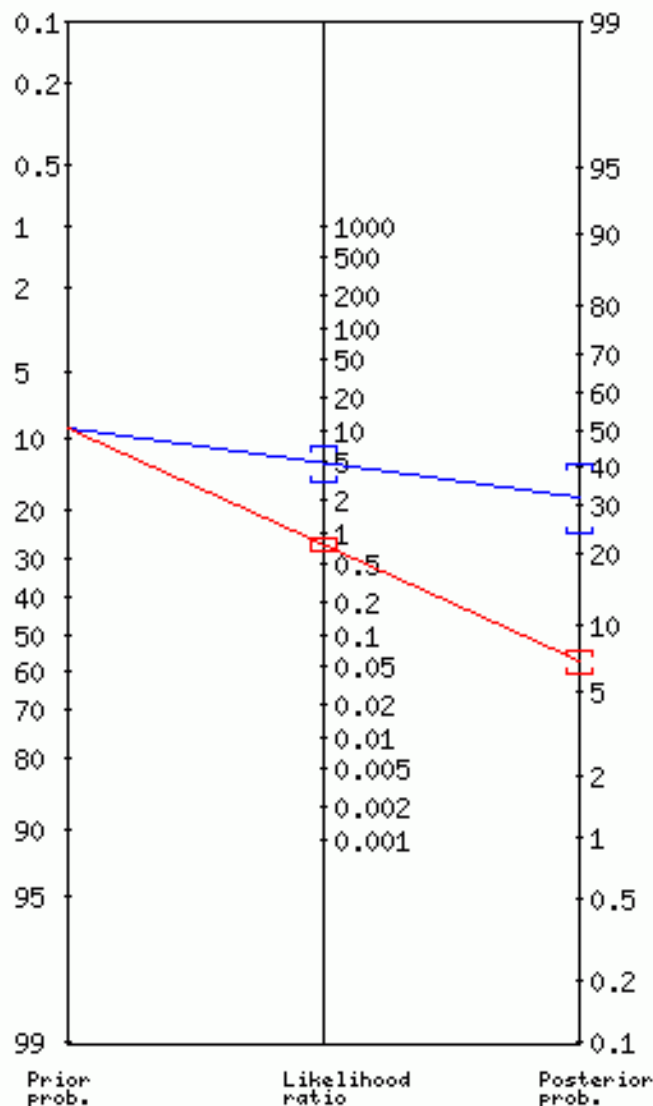
Fig. 1 – Receiver operating characteristic (ROC) curves to assess the performance of GA, HbA1c, FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c in the diagnosis of diabetes by OGTT. The AUC value for GA was 0.703 (SE: 0.037, 95% CI: 0.631 – 0.775,  $p < 0.001$ ); for HbA1c was 0.802 (SE: 0.032, 95% CI: 0.740 – 0.864,  $P < 0.001$ ); FPG/GA 0.705 (SE: 0.037, 95% CI: 0.633 – 0.777,  $p < 0.001$ ); FPG/HbA1c 0.670 (SE: 0.038, 95% CI: 0.595 – 0.744,  $p < 0.001$ ); 2hPG/GA 0.902 (SE: 0.025, 95% CI: 0.853 – 0.951,  $p < 0.001$ ); 2hPG/HbA1c 0.899 (SE: 0.026, 95% CI: 0.848 – 0.950,  $p < 0.001$ ). FPG, fasting plasma glucose; 2hPG, plasma glucose 2 h after oral glucose; HbA1c, glycated hemoglobin; GA, glycated albumin; OGTT, oral glucose tolerance test; AUC, area under the ROC curve; SE, standard error; CI, confidence interval

Table 5. Performance of different cut-offs of GA, HbA1c, FPG/GA, 2hPG/GA, FPG/HbA1c and 2hPG/HbA1c to diagnose DM. (n=242)

	<b>Threshold</b>	<b>Sensitivity (%)</b>	<b>Specificity (%)</b>	<b>LR+</b>	<b>LR-</b>
GA (%)	13.0	93.5	15.2	1.10	0.43
	14.0	84.4	44.2	1.51	0.35
	14.8	64.9	65.5	1.88	0.54
	15.0	62.3	69.7	2.06	0.54
	15.5	48.1	77.6	2.14	0.67
	16.0	42.9	84.8	2.83	0.67
	16.8	31.2	93.3	4.68	0.74
	17.0	29.9	93.9	4.93	0.74
	17.5	20.8	96.4	5.71	0.82
HbA1c	5.7	81.8	68.5	2.59	0.27
	5.8	76.6	72.7	2.81	0.32
	6.5	31.2	93.3	4.68	0.74
	6.8	22.1	98.2	12.14	0.79
FPG/GA ratio	7.0	81.8	40.6	1.37	0.45
	7.7	64.9	64.8	1.85	0.54
	8.0	53.2	76.4	2.25	0.61
	9.0	22.1	95.2	4.55	0.81
2hPG/GA ratio	10.0	90.6	65.5	2.63	0.14
	10.5	88.3	70.9	3.04	0.17
	11.0	88.3	78.8	4.16	0.15
	11.6	84.4	84.2	5.36	0.19
	12.2	77.9	90.3	8.04	0.24
	12.5	75.3	90.9	8.28	0.27
	13.0	72.7	93.9	12.00	0.29
	13.5	70.1	98.2	38.57	0.30
FPG/HbA1c ratio	19.0	68.8	53.3	1.48	0.58
	19.6	63.6	63.6	1.75	0.57
	21.0	41.6	83.0	2.45	0.70
	23.0	22.1	92.7	3.03	0.85
2hPG/HbA1c ratio	26.1	89.6	64.8	2.54	0.16
	28.2	89.6	74.5	3.5	0.14
	29.9	85.7	85.5	5.89	0.16
	32.1	83.1	91.5	9.80	0.18
	34.1	74.0	93.3	11.1	0.29
	36.5	61.0	95.2	12.59	0.41

FPG, fasting plasma glucose; 2hPG, plasma glucose 2 h after oral glucose; HbA1c, glycated hemoglobin; GA, glycated albumin; LR, likelihood ratio.





Prior probability (odds): 9% (0.1)

**NEGATIVE TEST:**

Negative Likelihood ratio: 0.74  
 95% confidence interval: [0.55,0.98]  
 Posterior probability (odds): 7% (0.1)  
 95% confidence interval: [5%,9%]  
 (~ 1 in 1.1 with negative test are well)

**POSITIVE TEST:**

Positive Likelihood ratio: 4.66  
 95% confidence interval: [2.10,10]  
 Posterior probability (odds): 32% (0.5)  
 95% confidence interval: [17%,50%]  
 (~ 1 in 3.2 with positive test are sick)

Odds = Probability / (1-Probability)  
 +LR = Sensitivity / (1 - Specificity)  
 -LR = (1 - Sensitivity) / Specificity  
 Posterior Odds = Prior Odds x LR

Fig. 2. Fagan's Nomogram for  $GA \geq 16.8\%$  cut-off inferring a patient's pre- and post-test probability of having DM. Prior probability in line with International Diabetes Federation data (IDF, 2017).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A AG parece ser um teste confiável no rastreio e diagnóstico de DM e pode ser uma alternativa útil à HbA1c em condições em que esta não reflete o estado glicêmico com precisão. No entanto, apesar da utilidade documentada da AG na pesquisa e no manejo de DM, o papel da AG no DM deve ser amplamente estudado de forma prospectiva com acompanhamento em longo prazo, possibilitando validar extensivamente o papel da GA na predição das complicações diabéticas. Além disso, o estabelecimento de pontos de corte do teste para o diagnóstico de pré-diabetes e do DM em diferentes grupos de indivíduos, inclusive étnicos, é necessário para usar esta ferramenta de forma segura no rastreio e diagnóstico de DM. Além disso, como para HbA1c, a padronização do ensaio será fundamental para a redução da variação das medidas de AG, melhorando a pesquisa e o manejo clínico do DM.

O uso da razão de PPG/AG pode aumentar a sensibilidade da estratégia de triagem e possuir desempenho comparável à TOTG. Usar a razão de PPG/AG no diagnóstico de DM seria mais prático e rápido do que realizar um TOTG. Todavia, estudos adicionais com participantes em estado pós-prandial real, para validar esta estratégia são necessários.

Também, deve-se avaliar extensivamente a significância clínica no diagnóstico e manejo de diabetes dos possíveis fatores associados à AG, como idade, etnia e IMC.