

## Técnicas diagnósticas en diabetes (I)

J.F. Merino Torres

Determinación ambulatoria de HbA<sub>1c</sub>

Servicio de Endocrinología. Hospital Universitario La Fe. Valencia

**Correspondencia:**

Juan Francisco Merino Torres. Servicio de Endocrinología Hospital Universitario "La Fe". Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. e-mail: merino\_jfr@gva.es

**RESUMEN**

La determinación de la HbA<sub>1c</sub> es el estándar de oro para la valoración del control metabólico en el paciente diabético. Debe ser realizada rutinariamente en todos los pacientes diabéticos para documentar el grado de control glucémico y para valorar la respuesta al tratamiento. La cifra de HbA<sub>1c</sub> refleja la glucemia media en los 2-4 meses precedentes, siendo el 50% de su valor representativo del mes previo. De entre los diferentes métodos para la determinación de la HbA<sub>1c</sub>, se deben elegir aquellos que estén estandarizados de acuerdo con el Nacional Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), con un coeficiente de variación (CV) interensayo e intraensayo < 3%, y un CV interlaboratorio < 5%. La determinación ambulatoria de HbA<sub>1c</sub>, al utilizar en el caso del DCA 2000 un método de inmunoanálisis, permite la determinación directa de la HbA<sub>1c</sub> y tiene una buena correlación con los métodos de laboratorio central (r = 0,92). Además, facilita la toma de decisiones por su rapidez, y puede suponer un ahorro en costes indirectos al evitar ausencias laborales y visitas a la sala de extracciones.

**Palabras Clave:** HbA<sub>1c</sub>; Diabetes mellitus; Control metabólico; DCA.

**ABSTRACT**

HbA<sub>1c</sub> testing is the gold standard use to know metabolic control in diabetic patients. HbA<sub>1c</sub> testing should be performed routinely in all patients with diabetes, first to document the degree of glycemic control and then to evaluate the response to treatment. At least, 50% of the level of HbA<sub>1c</sub> is determined by the plasma glucose level during the preceding month. Several assays to measure HbA<sub>1c</sub> are currently available, but there must be chosen those that are standardized in agreement with the Nacional Glycohemoglobin Standardization Program, with a interassay and intraassay CV < 3%, and an interlaboratory CV < 5%. The ambulatory determination of HbA<sub>1c</sub> with the DCA 2000 using an immunologic method adds the advantages of direct determination of the HbA<sub>1c</sub> and good correlation with the methods of central laboratory (r = 0.92). Furthermore, improves the clinical decision-making process because of it is rapid method and may lead to saving indirect costs due to labour absences and to the time lost during the visits to room extractions.

**Key Words:** HbA<sub>1c</sub>; Diabetes mellitus; Metabolic control; DCA.

Recibido: 31 de Agosto de 2005 / Aceptado: 8 de Septiembre de 2005

**Acrónimos:** ADA, American Diabetes Association; CV, Coeficiente de Variación; DM tipo 2, Diabetes Mellitus tipo 2; HbA<sub>1c</sub>, hemoglobina glicosilada; HPLC, High-performance liquid chromatography; NGSP, Nacional Glycohemoglobin Standardization Program.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad no existe ninguna duda en que mantener un buen control glucémico es fundamental para prevenir las complicaciones microangiopáticas en cualquier forma de diabetes. En cuanto a las complicaciones macroangiopáticas, se puede afirmar que el buen control glucémico precisa verse acompañado de otras medidas como son el adecuado control de la tensión arterial, dislipidemia, tabaquismo y antiagregación plaquetaria. Diversos estudios se han desarrollado en este sentido, a destacar fundamentalmente el Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) en la diabetes mellitus tipo 1 y el United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) en la diabetes mellitus tipo 2 (DM tipo 2)<sup>1-3</sup>. Todos estos estudios basan sus resultados en la determinación de HbA<sub>1c</sub> como medida del control glucémico<sup>1-5</sup>.

Por otra parte, prácticamente todas las guías de recomendaciones en diabetes, especialmente las de la American Diabetes Association (ADA)<sup>6</sup>, basan sus directrices para un buen control glucémico en la determinación periódica de HbA<sub>1c</sub>: "... La determinación de la HbA<sub>1c</sub> debe ser realizada rutinariamente en todos los pacientes diabéticos, primero para documentar el grado de control glucémico y luego para valorar la respuesta al tratamiento. En pacientes dentro de objetivos terapéuticos, dos determinaciones al año parecen suficientes, sin embargo, cuando hay cambios en el tratamiento o no se consiguen los objetivos terapéuticos, se debe hacer una determinación trimestral..."

En el presente trabajo se revisarán de manera breve los distintos métodos de determinación de la HbA<sub>1c</sub>, su correlación con la glucemia y la posibilidad de su determinación en sangre capilar con la consiguiente rapidez de resultados.

## DETERMINACIÓN DE LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA

La glicosilación no enzimática de proteínas es una reacción que depende de factores como el grado de hiperglucemia, vida media de la proteína considerada y permeabilidad tisular a la glucosa. La hemoglobina glicosilada engloba un grupo de hemoglobinas que llevan unidos restos de azúcares. La hemoglobina A<sub>1</sub> engloba las modificaciones amino terminales de la cadena β, y cuando el azúcar que lleva unido es la glucosa se conoce como HbA<sub>1c</sub>. De este modo su determinación teniendo en cuenta la vida media de los hematíes, refleja el control metabólico de la diabetes los 2-4 meses previos<sup>7,8</sup>.

En la práctica clínica hay diversos métodos para la determinación de la HbA<sub>1c</sub>, basados en las diferencias de carga

eléctrica de la HbA<sub>1c</sub> o en sus características estructurales. Entre los métodos basados en las diferencias de carga eléctrica se encuentra la cromatografía de intercambio iónico (por ejemplo, HPLC) y la electroforesis. Entre los métodos basados en las diferencias estructurales encontramos la cromatografía por afinidad, que calcula la hemoglobina glicosilada total e indirectamente la HbA<sub>1c</sub> mediante una ecuación de regresión lineal, y el inmunoanálisis, que determina específicamente la HbA<sub>1c</sub> mediante la reacción con anticuerpos monoclonales<sup>7,8</sup>.

En la actualidad existe incluso la posibilidad de determinar la HbA<sub>1c</sub> en la propia consulta mediante instrumentos de valoración rápida, de entre los cuales el más extendido en nuestro medio es el DCA 2000 (Bayer Diagnostics, Alemania), basado en inmunoanálisis. Mediante este instrumento se puede determinar la HbA<sub>1c</sub> en breves minutos con una excelente correlación con el laboratorio clínico<sup>9-11</sup>. No obstante, existen diversos factores que pueden interferir la validez de los valores obtenidos de HbA<sub>1c</sub>. Entre los factores fisiológicos se deben destacar la existencia de los llamados glicosiladores rápidos, individuos que tendrían una mayor capacidad para glicosilar proteínas, si bien éste es un aspecto discutido por otros autores<sup>12-15</sup>. En cuanto a factores patológicos que se deben tener en consideración, citar la hemorragia aguda o crónica, la anemia hemolítica, las hemoglobinopatías, el embarazo, la uremia o el alcoholismo.

La existencia de tantas interferencias y variabilidad en los métodos de determinación de la HbA<sub>1c</sub>, hacen que no sean comparables los resultados de distintos laboratorios, y esto llevó a la ADA a recomendar el uso de técnicas certificadas por el National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)<sup>16-18</sup>. De esta manera se realiza una certificación con carácter anual que garantiza la adecuada validez del método, exigiendo un CV intraensayo < 3%, interensayo < 5% (idealmente < 3%) e interlaboratorios < 5%<sup>16,17</sup>. En la actualidad la International Federation of Clinical Chemistry está elaborando un documento que garantice la estandarización definitiva de la determinación de HbA<sub>1c</sub><sup>19</sup>.

## CORRELACIÓN CON LA GLUCEMIA

Como ya se ha comentado la HbA<sub>1c</sub> es una medida de la glucemia media de los 2-4 meses previos. Sin embargo, es el promedio de glucemia del último mes el que más influencia tiene en el valor de HbA<sub>1c</sub>. En un paciente diabético con control estable el 50% de la HbA<sub>1c</sub> depende de la glucemia del mes previo, el 25% del mes precedente y el otro 25% de los meses anteriores<sup>20</sup>.

**TABLA I. Modelos de regresión lineal simple entre la HbA<sub>1c</sub> (variable independiente) y la glucemia media en distintos momentos del día (variable dependiente)**

	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i> <sup>2</sup>	Constante	Coefficiente β
Glucemia total	49	0,71	<0,001	0,50	23	19
Glucemia basal	48	0,65	<0,001	0,42	12	22
Glucemia preprandial	49	0,69	<0,001	0,47	21	19
Glucemia posprandial	48	0,50	<0,001	0,25	4	22

Modificado de referencia 12.

**TABLA II. Correlación entre los niveles de HbA<sub>1c</sub> y los de glucemia media plasmática en el DCCT**

HbA <sub>1c</sub>	Glucemia media plasmática (mg/dl)
6	135
7	170
8	205
9	240
10	275
11	310
12	345

Modificado de referencia 20.

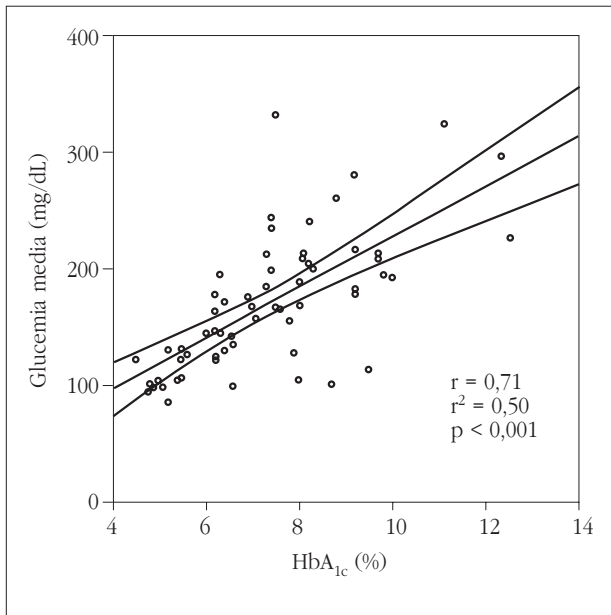
Diversos estudios evidencian la relación estrecha entre la glucemia y la HbA<sub>1c</sub><sup>12,20,21</sup>. En nuestro medio se calculó esta relación y para ello recurrimos a un grupo de 25 pacientes diabéticos tipo 1 (12 hombres), edad de 22,0 ± 5,2 años (17-34 años), tiempo de evolución de su diabetes de 5,3 ± 5,0 años (1-18 años), HbA<sub>1c</sub> 7,3 ± 1,8% (4,5-12,5%)<sup>12</sup>. Todos se siguieron durante un periodo de 3-9 meses con determinación trimestral de HbA<sub>1c</sub>, obteniendo un total de 62 determinaciones. A todos los pacientes se les instruyó en el manejo del glucómetro One Touch Profile (LifeScan, Johnson&Johnson, Milpitas, California, EEUU) y se les indicó que realizasen, además de sus controles de glucemia capilar diarios, un perfil de 7 puntos cada 8 días para incluir todos los días de la semana. El día en que se citaban para determinación de HbA<sub>1c</sub> (Hitachi L-9100, Tokio, Japón) los datos del glucómetro se transferían al software In Touch versión 1.3 (LifeScan, Johnson&Johnson, Milpitas, California, EEUU). Para el cálculo de la correlación entre la HbA<sub>1c</sub> y la glucemia sólo se utilizaron los valores determinados en los 60 días previos, y sólo se incluyeron aquellas determinaciones de HbA<sub>1c</sub> que se acompañaban de un mínimo de 50 glucemias en los 60 días previos. Esto dio como resultado 49 determinaciones válidas de HbA<sub>1c</sub> y 8320 glucemias<sup>12</sup>.

Las correlaciones encontradas se reflejan en la tabla I. En el caso de la glucemia media total encontramos que glucemia (mg/dl) = 19 HbA<sub>1c</sub> + 23 (r = 0,71; Fig. 1). Esta relación fue muy similar cuando sólo se incluyeron las glucemias preprandiales (r = 0,69) o sólo la glucemia antes del desayuno (r = 0,65). Estos resultados difieren de los del DCCT, en nuestro caso un incremento del 1% de la HbA<sub>1c</sub> supone un aumento de 23 mg/dl de la glucemia media en los 2 meses previos, y una HbA<sub>1c</sub> del 7,0% equivale a una glucemia media de 156 mg/dl los 2 meses previos frente a los 170 mg/dl del DCCT (Tabla II)<sup>21</sup>. Probablemente esta diferencia se deba a que en las fechas en que se realizó el estudio, el método de determinación de la HbA<sub>1c</sub> no estaba estandarizado. En cualquier caso refleja la necesidad de conocer las correlaciones HbA<sub>1c</sub>-glucemia en el propio medio para una adecuada monitorización del paciente diabético y definición de objetivos terapéuticos.

Otro punto de debate es la influencia de las glucemias preprandiales y posprandiales en los valores de la HbA<sub>1c</sub>. Los trabajos de Avignon et al, encontraron en una población de pacientes con DM tipo 2 que los valores de la glucemia posprandial tardía eran mejores predictores de la HbA<sub>1c</sub> que la glucemia basal y preprandial<sup>22</sup>. Sin embargo, otros trabajos también en pacientes con DM tipo 2 encuentran una mejor correlación de la HbA<sub>1c</sub> con la glucemia preprandial que con la posprandial<sup>23,24</sup>. Los mismos resultados se encontraron en nuestra serie de pacientes con diabetes tipo 1 (Tabla I)<sup>12</sup>.

#### DETERMINACIÓN DE LA HbA<sub>1c</sub> EN SANGRE CAPILAR

La determinación de HbA<sub>1c</sub> supone, por tanto, una demanda importante en la práctica clínica, y la posibilidad de su rápida determinación mediante dispositivos pequeños y automatizados, facilitaría el seguimiento de los pacientes diabéticos. El DCA 2000 (Bayer Diagnostics, Alemania) es uno de estos dispositivos y el más extendido en nuestro medio. La determinación de HbA<sub>1c</sub> se basa en una muestra

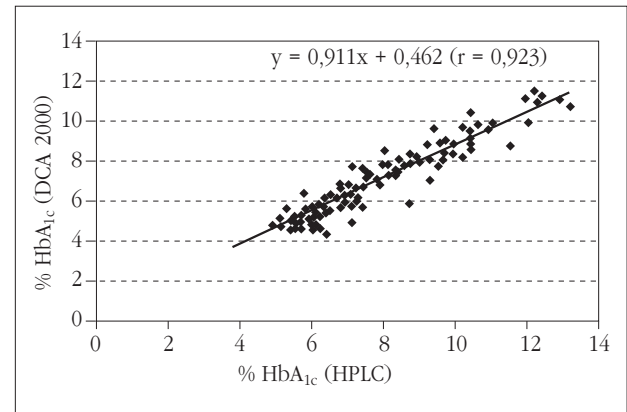


**Figura 1.** Correlación entre la glucemia media plasmática y la HbA<sub>1c</sub>. Se indica la regresión lineal con su intervalo de confianza del 95%. (Modificado de referencia 12).

de sangre capilar y utiliza una técnica inmunológica, con lo que la medición es directa, habiendo demostrado una buena correlación ( $r = 0,92$ ) con métodos como la HPLC (high-performance liquid chromatography) (Fig. 2)<sup>25</sup>. A esto se debe añadir su rapidez, con un tiempo de determinación de 6 minutos.

Diversos estudios han demostrado que la determinación de la HbA<sub>1c</sub> en la propia visita clínica del paciente facilita el control metabólico, proporcionando la mejor interpretación de los controles de glucemia capilar y la toma de decisiones terapéuticas<sup>26,27</sup>. Cagliero et al, en un estudio con 201 pacientes diabéticos tipo 1 y diabéticos tipo 2 tratados con insulina, observó que aquellos pacientes en los que se determinó la HbA<sub>1c</sub> en la consulta mediante DCA 2000, mejoraron su control glucémico a los 6 meses y, esta diferencia, se mantuvo a los 12 meses<sup>26</sup>. Millar et al, en un grupo de pacientes diabéticos tipo 2 tratados con antidiabéticos orales y/o insulina, obtuvo conclusiones similares<sup>27</sup>.

Otro punto de interés es el análisis de costes de la determinación de HbA<sub>1c</sub> por diferentes métodos, pregunta ésta que responderán otros estudios actualmente en fase avanzada.



**Figura 2.** Regresión lineal entre los valores de HbA<sub>1c</sub> determinados en sangre venosa mediante HPLC y los valores en sangre capilar mediante DCA 2000. (Modificado de referencia 25).

## CONCLUSIONES

Como conclusiones de la presente revisión se debería destacar que la HbA<sub>1c</sub> es el mejor método para monitorizar el control glucémico, que el buen control glucémico previene las complicaciones microangiopáticas de la diabetes mellitus y que la determinación de la HbA<sub>1c</sub> debe basarse en un método adecuadamente validado y estandarizado. Además, la determinación de HbA<sub>1c</sub> en la visita clínica debe facilitar el seguimiento y el adecuado ajuste terapéutico del paciente diabético, evitando de esta manera visitas innecesarias al centro sanitario para la realización de extracciones de sangre para las determinaciones analíticas.

## CONSIDERACIONES PRÁCTICAS

- La HbA<sub>1c</sub> es el estándar de oro para la valoración del grado de control metabólico en el paciente diabético.
- Para la medición de la HbA<sub>1c</sub> debemos utilizar un método homologado por el National Glycohemoglobin Standardization Program.
- La determinación ambulatoria de HbA<sub>1c</sub> por inmunanálisis (DCA 2000) tiene una buena correlación con los métodos del laboratorio, facilita la toma de decisiones, y puede suponer un ahorro en costes indirectos al evitar ausencias laborales y visitas a sala de extracciones.

## BIBLIOGRAFÍA

1. The Diabetes Control and Complications Trial Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications of insulin-dependent diabetes mellitus: the diabetes control and complications trial. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
2. 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.
3. UK Prospective Diabetes Study Group. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes: prospective observational study (UKPDS 35). *BMJ* 2000; 321: 405-412.
4. Ohkubo Y, Kishikawa H, Araki E, Miyata T, Isasi S, Motoyosi S et al. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 28: 103-117.
5. Davidson JA. Treatment of the patient with diabetes: importance of maintaining target HbA1C levels. *Curr Med Res Opin* 2004; 20: 1919-1927.
6. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28 (Suppl 1): S4-S36.
7. Pallardo LF, Grande C, Pallardo B. ¿Cómo valorar el control metabólico del paciente diabético? *Av Diabetol* 2004; 20 (Suppl 1): 13-24.
8. Goldstein DE, Little DR, Wiedmeyer HN, England JD, Mc Kenzie E. Glycated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986; 32: 64-67.
9. Guerci B, Durain D, Leblanc H, Rouland JC, Passa P, Godeau T y cols. Multicentre evaluation of the DCA 2000 system for measuring glycated haemoglobin. DCA 2000 Study Group. *Diabetes & Metabolism* 1997; 23: 195-201.
10. John WG, Edwards R, Price P. Laboratory evaluation of the DCA 2000 clinic HbA1C immunoassay analysis. *Ann Clin Biochem* 1994; 31: 367-370.
11. Shemesh T, Piers LS, O'Dea K. Use of the Bayer DCA 2000+ for the measurement of glycated haemoglobin in a remote Australian Aboriginal community. *Ann Clin Biochem* 2003; 40: 566-568.
12. Merino JF, Fajardo C, Ferrer JC, Piñón F. Hemoglobin glycosylation index is not related with blood glucose. *J Diabet Compl* 2003; 17: 249-253.
13. Yudkin JS, Forrest RD, Jackson CA, Ryle AJ, Davie S, Gould BJ. Unexplained variability of glycated haemoglobin in non-diabetic subjects not related to glycaemia. *Diabetologia* 1990; 33: 208-215.
14. Kilpatrick ES, Maylor PW, Keevil BG. Biological variation of glycated haemoglobin. Implications for diabetes screening and monitoring. *Diabetes Care* 1998; 21: 261-264.
15. Kilpatrick ES. Glycated haemoglobin in the year 2000. *J Clin Pathol* 2000; 53: 335-339.
16. Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Myers GL, Sacks DB, Goldstein for the NGSP Steering Committee. The National Glycohemoglobin Standardization Program: A five-year progress report. *Clin Chem* 2001; 47: 1985-1992.
17. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, Mc Donald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002; 48: 436-472.
18. Home P, Mbanya JC, Horton E. Standardisation of glycated haemoglobin. *BMJ* 2004; 329: 1196-1197.
19. Little RR. Recent progress in glycohemoglobin (HbA1C) testing. *Diabetes Care* 2000; 23: 265-266.
20. Tahara Y, Shima K. Kinetics of HbA1C, glycated albumina and fructosamine and analysis of their weights function against preceding plasma glucose level. *Diabetes Care* 1995; 18: 440-447.
21. Rohlfing CL, Wiedemeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1C: analysis of glucose profiles and HbA1C in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2002; 25: 275-278.
22. Avignon A, Raduceanu A, Monnier L. Non fasting plasma glucose is a better marker of diabetes control than fasting plasma glucose in type 2 diabetes. *Diabetes care* 1997; 20: 822-826.
23. Bonora E, Calcaterra F, Lombardi S, Bonafante N, Formentini G, Bonadonna RC et al. Plasma glucose levels throughout the day and HbA1C interrelationships in type 2 diabetes. *Diabetes care* 2001; 24: 2023-2029.
24. Faure E, Pallardo LF, Mesa J, Puig Domingo M, García Mayor R, Benito P et al. On behalf of the MIDIA Study Group. HbA1C and glycemic profile- basal and post treatment- with myglitol, in a area with a Mediterranean diet. *Diabetes care* 2002; 25: 1896-1897.
25. Arsie MP, Marchioro L, Lapolla A, Giacchetto, GF, Bordin, MR, Rizzotti, P et al. Evaluation of diagnostic reliability of DCA 2000 for rapid and simple monitoring of HbA1C. *Acta Diabetologica* 2000, 37: 1-7.
26. Cagliero E, Levina E, Nathan DM. Immediate feedback of HbA1C levels improves glycemic control in type 1 and insulin-treated type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1999, 22: 1785-1789.
27. Miller CD, Barnes CS, Phillips LS, Ziemer DC, Gallina DL, Cook CB et al. Rapid A1c availability improves clinical decision-making in an urban primary care clinic. *Diabetes Care* 2003, 26: 1158-1163.