

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

**O uso das proteínas glicadas no diagnóstico de diabetes
mellitus pós-transplante renal**

TESE DE DOUTORADO

ANA LAURA PIMENTEL

Porto Alegre, agosto de 2018

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

**O uso das proteínas glicadas no diagnóstico de diabetes
mellitus pós-transplante renal**

ANA LAURA PIMENTEL

Orientadora:

Prof. Dra. Joíza Lins Camargo

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

Porto Alegre, agosto de 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Pimentel, Ana Laura
O uso das proteínas glicadas no diagnóstico de diabetes mellitus pós-transplante renal / Ana Laura Pimentel. -- 2018.
121 f.
Orientadora: Joíza Lins Camargo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. transplante de rim. 2. diabetes mellitus. 3. hemoglobina A glicada . I. Camargo, Joíza Lins, orient. II. Título.

FORMATO DA TESE DE DOUTORADO

Esta tese de Doutorado segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, sendo apresentada através de uma breve fundamentação teórica e três manuscritos originais acerca do tema estudado:

- 1) Artigo referente ao impacto do uso de imunossupressores sob a variabilidade nos níveis do teste hemoglobina glicada (HbA1c) durante o primeiro ano após o transplante renal em indivíduos sem diabetes transplantados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre:

“Variability of glycated hemoglobin levels in the first year post renal transplantation in patients without diabetes”

- 2) Revisão sistemática com meta-análise sobre a acurácia diagnóstica do teste HbA1c no diagnóstico de diabetes mellitus pós transplante renal utilizando o teste oral de tolerância à glicose como método de referência:

“Diagnostic accuracy of glycated hemoglobin for post-transplantation diabetes mellitus after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis”

- 3) Avaliação da acurácia diagnóstica e aplicabilidade da albumina glicada no diabetes mellitus pós-transplante aos quatro meses após o transplante renal, em indivíduos sem diabetes prévio e transplantados no HCPA.

“The usefulness of glycated albumin for post-transplant diabetes mellitus after kidney transplantation: a diagnostic accuracy study”

DEDICATÓRIA

À minha família.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana”.

Carl Jung

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Dra. Joíza Lins Camargo, pela amizade, confiança e pelo estímulo constante para que eu pudesse me desenvolver como pesquisadora, sempre com palavras de apoio e incentivo, independente da ideia maluca que eu pudesse ter. Agradeço também por todo o conhecimento compartilhado e leveza com que conduz nosso grupo de pesquisa.

Aos meus pais, Lorena e Paulo, que me ensinaram a trilhar qualquer caminho com honestidade, ética, persistência e positividade.

Aos meus irmãos, Ana Paula e Diogo, por serem meus conselheiros e incentivadores, independente da distância física.

Ao meu companheiro, Kleiton, por me fazer sentir a pessoa mais especial do mundo, e por ter compreendido e incentivado todas as minhas decisões e encarado comigo todos os desafios durante estes nossos dez anos.

Aos meus colegas de grupo de pesquisa, Fernando Chume, João Teló e Paula Renz, pela parceria. Agradeço também todas as alunas de iniciação científica com quem trabalhei desde o mestrado, em especial à aluna Mayana Kieling, que foi fundamental no desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas amigas Gabriela Cavagnolli, Priscila Freitas e Camila Marques, com quem compartilhei as dúvidas, angústias e alegrias de ser uma aluna de pós-graduação, e com quem hoje compartilho as incertezas e felicidades da vida.

Agradeço aos Serviços de Endocrinologia, de Nefrologia e de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela receptividade, e aos coletadores do Centro de Pesquisa Clínica do HCPA.

Por fim, agradeço à direção do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia pelas oportunidades, e ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do RS (FAPERGS) pelos auxílios financeiros.

LISTA DE ABREVIATURAS PARA A INTRODUÇÃO

ADA – American Diabetes Association

AG – albumina glicada

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CV_A – coeficiente de variação analítica

CV_I – coeficiente de variação biológico intra-individual

CV_G – coeficiente de variação biológico inter-individual

CV_T – coeficiente de variação total

DM – diabetes mellitus

DMPT – diabetes mellitus pós-transplante

GJ – glicemia de jejum

G2h – glicemia 2 horas após a ingestão de 75g de glicose

HbA1c – hemoglobina glicada

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HLA – Human leukocyte antigen

II – índice de individualidade

IMC – índice de massa corporal

MMF – micofenolato mofetil

RCV – reference change value

TOTG – teste oral de tolerância à glicose

WHO – World Health Organization

RESUMO

Diabetes mellitus pós-transplante (DMPT) renal é uma alteração metabólica caracterizada por hiperglicemia persistente que inicia após o transplante de rim. Além das complicações macrovasculares em longo prazo, estudos associam o desenvolvimento de DMPT com piora na função renal e menor sobrevida do enxerto e do paciente. O consenso internacional sobre DMPT renal recomenda que seu diagnóstico seja baseado nos resultados de glicemia de jejum e/ou hemoglobina glicada (HbA1c) e/ou teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e/ou por glicemia aleatória ≥ 200 mg/dL associada a sintomas característicos da doença. O uso do teste HbA1c não é recomendado antes dos três primeiros meses após o transplante, já que a utilização de eritropoietina, a realização de diálise e transfusão sanguínea alteram falsamente os seus resultados. O uso de medicamentos imunossupressores é o principal responsável pelo desenvolvimento de alterações no metabolismo da glicose, em indivíduos susceptíveis, após o transplante renal. Nesta tese avaliamos o impacto do uso dos imunossupressores (prednisona e tacrolimus) sob a variabilidade nos níveis de HbA1c em indivíduos sem diabetes após o transplante, realizamos também uma revisão sistemática com meta-análise para avaliar o desempenho da HbA1c no diagnóstico de DMPT e, para finalizar, avaliamos a acurácia diagnóstica da albumina glicada (AG) na detecção de DMPT após transplante renal utilizando o TOTG e HbA1c como testes de referência. Os resultados mostraram que a variabilidade intra-individual de HbA1c é maior do que aquela encontrada na literatura para a população em geral. Além disso, é necessária uma diferença relativa maior do que 16% entre dois resultados de HbA1c

consecutivos para que esta seja considerada significativa. De acordo com os resultados da meta-análise, o uso do ponto HbA1c $\geq 6,5\%$ apresenta alta especificidade porém baixa sensibilidade, o que limita seu uso para o rastreamento da doença. Como alternativa, sugerimos que o ponto de corte HbA1c $\geq 6,2\%$ seja utilizado na detecção de DMPT durante os meses iniciais após o transplante. A AG apresentou desempenho moderado após o transplante e o ponto AG $\geq 17\%$ foi capaz de confirmar DMPT em quase 90% dos pacientes com a doença. Este trabalho apresenta a maior evidência disponível sobre o uso de HbA1c para identificar DMPT, além do primeiro estudo sobre o uso de AG em indivíduos após transplante renal. De acordo com os achados desta tese, concluímos que: a) HbA1c é um teste útil e com desempenho adequado para o diagnóstico de DMPT; e b) o teste AG apresenta potencial para ser utilizado após o transplante, embora mais estudos em outras populações ainda sejam necessários.

ABSTRACT

Post-transplantation diabetes mellitus (PTDM) is a metabolic disorder characterized by persistent hyperglycemia that occurs after kidney transplantation. In addition to the long-term macrovascular complications, studies have associated the development of PTDM with worsening renal function and reduced graft and patient survival. The international consensus on renal PTDM recommends that its diagnosis should be made based on the results of fasting glycemia and/or glycated hemoglobin (HbA1c) and/or oral glucose tolerance test (OGTT) and/or random blood glucose ≥ 200 mg/dL associated with characteristic symptoms of diabetes. The use of the HbA1c is not recommended before the first three months after transplantation, since the use of erythropoietin, dialysis and blood transfusion falsely alters its results. The use of immunosuppressive drugs is the main responsible for the development of persistent alterations in glucose metabolism, in susceptible individuals, following renal transplantation. In this thesis we evaluated the impact of using immunosuppressive drugs (prednisone and tacrolimus) on the variability of HbA1c levels in subjects without diabetes after kidney transplantation, we also performed a systematic review and meta-analysis to evaluate the performance of HbA1c in the diagnosis of PTDM and, finally, we evaluated the diagnostic accuracy of glycated albumin (GA) in the detection of PTDM after renal transplantation using OGTT and HbA1c as reference tests. The results showed that the within-subject biological variation of HbA1c is higher than that found in the literature for the general population. In addition, a relative difference higher than 16% between two consecutive HbA1c results is required to be considered significant. According to the results of the meta-analysis, the use of HbA1c

$\geq 6.5\%$ presents high specificity but low sensitivity, which limits its use for the screening of the disease. As an alternative, we suggested HbA1c $\geq 6.2\%$ to be used in the detection of PTDM during the initial months after transplantation. GA presented moderate performance after transplantation and the GA $\geq 17\%$ was able to confirm PTDM in almost 90% of the patients with the disease. This thesis presents the best evidence available about the use of HbA1c to identify PTDM, and also the first study on the use of GA in individuals after renal transplantation. According to these findings, we concluded that: a) HbA1c is useful and presents good performance for the diagnosis of PTDM; and b) GA test has potential to be used after transplant, although more studies in other populations are needed.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
Diabetes mellitus pós-transplante renal.....	13
Diagnóstico de DMPT.....	15
Variação biológica da HbA1c.....	17
HbA1c no diagnóstico de DMPT.....	20
Albumina glicada e diabetes.....	21
AG no diagnóstico de DM.....	24
2. REFERÊNCIAS.....	26
3. OBJETIVOS.....	33
4. ARTIGO I.....	34
- <i>Variability of glycated hemoglobin levels in the first year post renal transplantation in patients without diabetes</i>	
5. ARTIGO II.....	55
- <i>Diagnostic accuracy of glycated hemoglobin for post-transplantation diabetes mellitus after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis</i>	
6. ARTIGO III.....	89
- <i>The usefulness of glycated albumin for post-transplantation diabetes mellitus after kidney transplantation: a diagnostic accuracy study</i>	
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	119

1. INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus pós-transplante renal

O transplante renal é a terapia de escolha para indivíduos que desenvolvem doença renal em estágio final. No mundo todo, 78.519 transplantes de rim foram realizados no ano de 2016. Neste mesmo ano, 5.600 transplantes foram realizados no Brasil, representando 26.7 transplantes de rim por milhão de pessoas (1). Dentre os mais de 80 países que realizam o procedimento, os maiores números absolutos ocorrem em países como Estados Unidos, China, Brasil e Índia (2).

Os medicamentos imunossupressores utilizados na prevenção da rejeição do novo órgão estão associados com o desenvolvimento de um tipo específico de diabetes (DM), conhecido como diabetes mellitus pós-transplante (DMPT) (3,4). O DMPT foi descrito pela primeira vez nos anos 60, e é caracterizado pela ocorrência de hiperglicemia persistente que inicia após transplantes de órgãos sólido ou celular (5). A incidência de casos de DMPT relatada na literatura é bastante variável, e a maioria ocorre durante os primeiros meses após o transplante (6). Um estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa identificou DMPT em aproximadamente 20% dos pacientes durante os primeiros meses após transplante renal realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) (7), maior do que a prevalência de DM tipo 2 relatada para a população em geral (8).

O DMPT em receptores de transplante renal compartilha fatores de risco em comum com o DM tipo 2 na população em geral. Estes fatores estão associados com maior predisposição para alterações no metabolismo da glicose, tais como maior idade, maior índice de massa corporal (IMC), presença de síndrome metabólica, hepatite C e história familiar de DM. Embora os dados na literatura sejam contraditórios, outros fatores específicos associados com DMPT incluem níveis glicêmicos elevados no período pré-transplante e/ou no período inicial após o transplante, níveis elevados de triglicédeos, presença de certos antígenos HLA e infecção por citomegalovírus (4,9).

O esquema imunossupressor mais utilizado atualmente compreende o uso de corticosteróide, um inibidor da calcineurina (tacrolimus ou ciclosporina) e micofenolato mofetil (MMF) ou azatioprina (4,6). Em relação ao metabolismo da glicose, a principal alteração fisiológica resultante da utilização de corticosteróides é o aumento da resistência à insulina, que pode ocasionar o desenvolvimento de DMPT em indivíduos transplantados renais que apresentam outros fatores de risco associados (10). Os estudos que avaliaram o mecanismo diabetogênico do uso de inibidores da calcineurina apresentam resultados discordantes, e relatam o surgimento de resistência à insulina e/ou decréscimo de secreção de insulina pelas células beta-pancreáticas (10,11). Dentre os inibidores da calcineurina, o tacrolimus é o mais utilizado por apresentar maior melhora na função renal e perfil cardiovascular mais seguro quando comparado à ciclosporina. Entretanto, seu uso está associado a uma incidência mais alta de DMPT (12). MMF e azatioprina não têm sido associados ao início de DMPT (13).

Além das complicações macrovasculares que são relacionadas à presença de DM em longo prazo, estudos associam o desenvolvimento de DMPT com piora na função renal, menor sobrevida do enxerto e do paciente, e aumento de mortes por causa cardiovascular (14-17). Em contraste com a população em geral com DM, ainda há pouca evidência na literatura da associação de DMPT com complicações microvasculares (4). Os pacientes que apresentam glicemia de jejum alterada ou tolerância à glicose diminuída após o transplante renal também constituem um grupo que precisa de atenção especial, pois ambos os fatores são preditores do desenvolvimento de DM e doenças cardiovasculares (4).

Diagnóstico de DMPT

Atualmente, a *American Diabetes Association* (ADA) e a *World Health Organization* (WHO) recomendam que o diagnóstico de DM seja baseado nos resultados da glicemia de jejum (GJ) e/ou hemoglobina glicada (HbA1c) e/ou teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e/ou por glicemia aleatória ≥ 200 mg/dL associada a sintomas característicos da doença (Tabela 1) (3,18).

O último consenso internacional sobre DMPT, publicado em 2014, apresenta orientações sobre condutas para o seu diagnóstico, manejo e tratamento. De acordo com estas diretrizes, o diagnóstico de DMPT deve seguir os mesmos critérios recomendados pela ADA e pela WHO para DM na população em geral (4). Além disso, sugeriu-se que o diagnóstico desta patologia seja realizado após a estabilização dos níveis dos

imunossupressores, o que ocorre aproximadamente três meses após o transplante.

Tabela 1: Critérios para o diagnóstico de diabetes (3).

Testes Diagnósticos	Terminologia
Glicemia de jejum (mg/dL)	
<100	Normal
100 a 125	Glicemia de jejum alterada
≥126	Diabetes
Glicemia 2 horas após o teste oral de tolerância a glicose (mg/dL)	
<140	Normal
140 a 199	Tolerância à glicose diminuída
≥200	Diabetes
Sintomas característicos de diabetes e glicemia aleatória ≥200 mg/dL	Diabetes
Hemoglobina glicada (%)	
<5,7	Normal
5,7 a 6,4	Pré-diabetes
≥6,5	Diabetes

O TOTG é recomendado como o teste de escolha para diagnóstico de DMPT (4). Este consiste na determinação de GJ e glicemia 2 horas após a ingestão de 75g de glicose (2hG). Apesar do resultado de 2hG apresentar alta sensibilidade na detecção de DMPT, a realização do TOTG é demorada e pode ocasionar desconforto ao paciente. O uso de GJ isolado mostrou baixa sensibilidade no diagnóstico de DMPT (7,19).

O teste HbA1c tem sido utilizado na prática clínica há mais de 20 anos para monitoramento de DM, possuindo papel importante no prognóstico de complicações microvasculares e macrovasculares decorrentes da hiperglicemia

(3). Apesar da recomendação de seu uso também no diagnóstico desta patologia, sua utilização não é recomendada antes dos três primeiros meses após o transplante renal, já que o uso de eritropoietina, um tratamento comum nos casos de anemia severa, aumenta o turnover dos eritrócitos e diminui os níveis de HbA1c (4). Além disso, a realização de diálise e transfusão sanguínea também alteram os resultados de HbA1c, tornando este teste inválido durante este período (20).

Variação biológica da HbA1c

Um ponto importante a ser analisado durante a interpretação do resultado de um exame laboratorial, seja para uso diagnóstico ou para o monitoramento de uma patologia, é a sua variabilidade intrínseca (21).

Neste aspecto, alguns pontos tornam o uso do teste HbA1c vantajoso quando comparado aos testes baseados na dosagem da glicose plasmática, entre eles: (i) maior estabilidade pré-analítica; (ii) variabilidade analítica adequada e não inferior aos testes baseados em glicemia; (iii) os níveis de HbA1c não são alterados por condições agudas, como dieta, estresse e exercício físico; (iv) existência de um programa de padronização internacional para harmonização das dosagens de HbA1c e da apresentação dos resultados, e (v) menor variação biológica quando comparado à dosagem da glicose plasmática (22).

A variação biológica é um conceito utilizado na medicina laboratorial para caracterizar a influência que as alterações fisiológicas exercem sob a concentração dos analitos presentes nos fluidos corporais, e é dividida em dois

componentes: variação biológica intra-individual ou coeficiente de variação biológico intra-individual (CV_I) e variação biológica inter-individual ou coeficiente de variação biológico inter-individual (CV_G) (23). O CV_I representa as flutuações aleatórias nas concentrações dos componentes dos fluidos em torno de seus pontos de equilíbrio homeostático, ou seja, em torno de seus valores verdadeiros em cada indivíduo. A CV_G representa as variabilidades nas concentrações dos analitos entre os indivíduos presentes na população em avaliação (Figura 1) (23,24). Outro parâmetro que deve ser avaliado durante a estimativa da variabilidade nos níveis de um analito é o coeficiente de variação analítica (CV_A), inerente a cada metodologia laboratorial. Através da informação de CV_I e CV_A , e por meio do uso de equações, é possível estimar o CV_G . Primeiro, se estima o coeficiente de variação total (CV_T) através da fórmula $CV_T = (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$. Em seguida, o CV_G é calculado como $CV_G = (CV_T^2 - CV_I^2 - CV_A^2)^{1/2}$ (21).

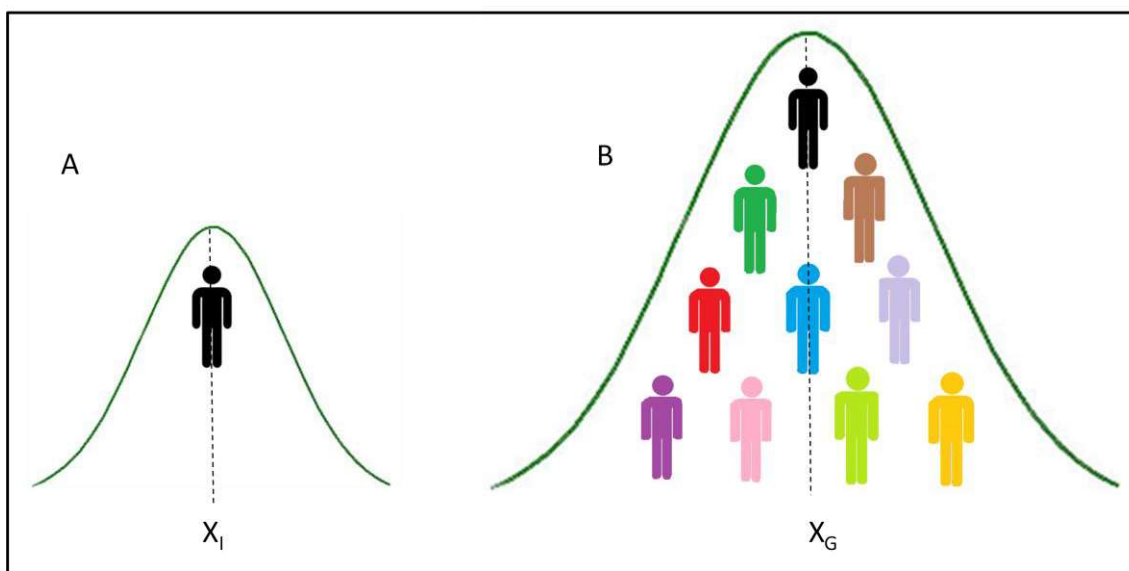


Figura 1: Representação gráfica da variação biológica intra-individual (A) e inter-individual (B), onde as linhas traçadas representam as médias na concentração de um analito em torno de seu valor verdadeiro em cada indivíduo ou entre os indivíduos presentes na população, respectivamente.

Após a obtenção destes valores, é possível ainda estimar outros dois parâmetros úteis na interpretação dos resultados de testes laboratoriais quantitativos: o índice de individualidade (II) e a diferença crítica - *reference change value* (RCV) (21,25).

O valor de II fornece informação sobre a utilidade do uso de intervalos de referência populacional na interpretação de alterações em resultados sucessivos de um mesmo paciente (25). Normalmente o CV_I é menor do que o CV_G e o II é calculado pela razão CV_I/CV_G , onde um valor abaixo de 0,6 indica que o uso de um intervalo de referência para avaliar a diferença entre dois resultados sucessivos não é adequado. Quando o valor de II é acima de 1,4 o uso de um intervalo de referência populacional parece adequado (25).

RCV é uma estimativa numérica que avalia a diferença requerida no resultado de um teste para que este seja significativamente diferente do resultado anterior em um mesmo indivíduo considerando (ou levando em conta) a variação biológica (26). A interpretação do RCV deve levar em consideração o pré-requisito de relevância biológica da diferença encontrada entre os dois resultados (24,26). O valor de RCV é obtido pela fórmula $RCV=2^{1/2} \times z \times (CV_A^2+CV_I^2)^{1/2}$, onde z representa nível de probabilidade de 95% (26).

Diversos estudos avaliaram a variação biológica do teste HbA1c em pacientes com e sem DM (27). Uma revisão sistemática publicada em 2010 reuniu estes dados e apresentou valores de CV_I que variaram de <0,7% a 9,8% e CV_G de 3,3% a 12,8%, evidenciando a disparidade metodológica na condução dos diferentes estudos (27). No ano seguinte, os mesmos autores

publicaram um estudo original seguindo as recomendações metodológicas para estudos de variação biológica, e encontraram valores de CV_I e CV_G para a HbA1c de 2,5% e 7,1%, respectivamente. O valor de RCV foi 9,5% e de II foi 0,35 (28). Ainda hoje, estudos de variação biológica apresentam diferentes delineamentos, e esforços estão sendo despendidos para padronização na condução deste tipo de estudo (29).

O uso de medicamentos imunossupressores após o transplante renal é o principal responsável pela ocorrência de hiperglicemia transitória no período recente após o transplante e, em indivíduos susceptíveis, pelo desenvolvimento de alterações persistentes no metabolismo da glicose (4). Não há na literatura estudos que avaliem o impacto do uso de imunossupressores sob a variabilidade nos níveis de HbA1c após o transplante renal em indivíduos sem DM.

HbA1c no diagnóstico de DMPT

O primeiro estudo que avaliou o uso do teste HbA1c no rastreamento de DMPT utilizando o TOTG como referência foi publicado em 2009 (30). Os autores observaram que este teste, isolado ou em associação com GJ, se mostrou útil na seleção de pacientes que deveriam realizar o TOTG dez semanas após o transplante renal, reduzindo a necessidade de realização deste último (30).

Após a publicação das diretrizes que recomendam o uso do teste HbA1c no diagnóstico de DM na população em geral (4), outros pesquisadores

também avaliaram a sua utilidade e acurácia diagnóstica no DMPT renal (31-34).

Em 2013, dois grupos de pesquisa avaliaram HbA1c $\geq 6,5\%$ no diagnóstico de DMPT e encontraram resultados comparáveis ao TOTG depois de 3 meses após o transplante (31,32). Por outro lado, outros autores encontraram resultados discrepantes, e sugeriram que um ponto de corte de HbA1c menor seria mais adequado para a detecção de DMPT (33,34).

Em 2015, nosso grupo de pesquisa publicou um estudo que avaliou o papel deste teste no diagnóstico de DMPT renal (7). Assim como para a população em geral, o ponto de corte HbA1c $\geq 6,5\%$ apresentou baixa sensibilidade e alta especificidade aos 4 meses pós-transplante. A utilização de um algoritmo de HbA1c $\leq 5,8\%$ para excluir e HbA1c $\geq 6,2\%$ para confirmar a presença de DMPT seria capaz de reduzir em 85% a necessidade da realização do TOTG no período recente após o transplante. Assim como relatado por outros autores, o uso do TOTG apresentou maior sensibilidade e permanece como teste de primeira escolha na detecção de DMPT (4).

Albumina glicada e diabetes

Assim como a hemoglobina, outras proteínas passam pelo processo fisiológico de glicação e suas concentrações também refletem os níveis glicêmicos no indivíduo (35). Por definição, a glicação é uma reação espontânea não enzimática, na qual um carboidrato (glicose ou outros açúcares) é adicionado a um resíduo amino-terminal de um aminoácido livre (lisina ou arginina) presente em uma proteína, sendo também denominada

reação de Maillard (Figura 2) (35,36). O conjunto de cetoaminas formadas pela glicação não enzimática de proteínas é denominado quimicamente de “frutosamina”, e a albumina corresponde a 80% do total de proteínas glicadas presentes no plasma. A dosagem específica da fração de albumina ligada à glicose é chamada albumina glicada (AG) (36).

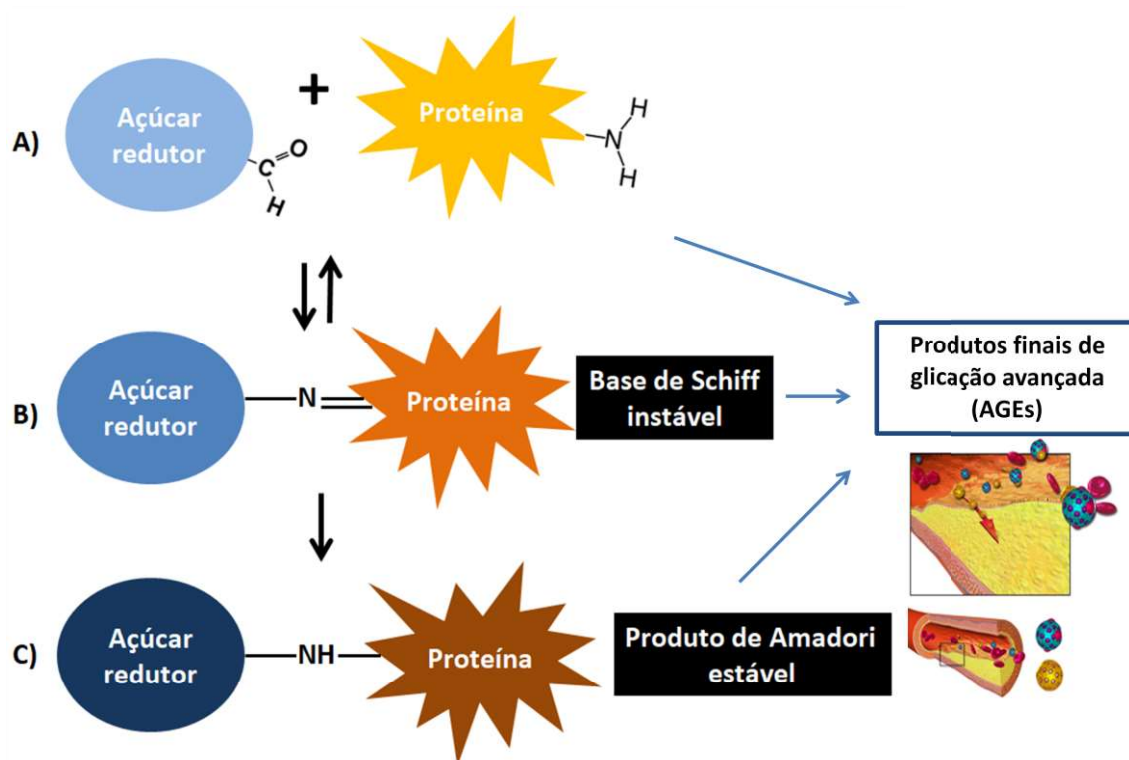


Figura 2: Reação de Maillard. Adaptado de (36).

Nos últimos anos, o papel da AG tem sido investigado no controle e diagnóstico de DM na população em geral (35). Como principais características, este marcador não requer jejum prévio e reflete a glicemia de curto prazo, devido ao tempo de meia-vida da albumina que é de aproximadamente 3 semanas (36). Autores consideram que o uso da AG está especialmente indicado no controle de DM em indivíduos submetidos à hemodiálise e em outras condições como anemia, gravidez, hiperglicemia pós-prandial, DM tipo 1 e tipo 2 sob o uso de insulina (37). Entretanto, os resultados

deste teste podem ser influenciados por proteinúria maciça, doença intestinal perdedora de proteínas, diálise peritoneal, disfunções na tireoide e idade (36,37). O uso do teste AG em indivíduos receptores de transplante renal eliminaria os potenciais interferentes relacionados às alterações na produção e no tempo de meia-vida dos eritrócitos, que são comuns no período recente após o transplante e que podem afetar os resultados do teste HbA1c.

Diversas metodologias estão disponíveis para a determinação de AG, como cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia de afinidade, imunoenensaio, colorimetria, e eletroquímica (38,39). No entanto, estes métodos apresentam algumas desvantagens como, por exemplo, necessidade de pré-tratamento das amostras e procedimentos analíticos complicados. A fim de determinar a AG com maior facilidade, rapidez e especificidade, um método enzimático ou de protease específica foi introduzido (40,41). Recentemente, nosso grupo validou um método enzimático para dosagem da AG no HCPA (42), o qual foi recentemente aprovado para uso no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). No entanto, no Brasil, o teste AG não está disponível na rotina laboratorial e sua dosagem atualmente é utilizada somente em pesquisas. Diversos estudos publicados nos últimos anos compararam o uso da HbA1c e da AG no monitoramento de DM em diferentes situações clínicas. Um estudo que incluiu indivíduos com DM tipo 2 mostrou que os níveis de AG diminuíram mais rapidamente durante o tratamento intensivo com insulina (43). O uso da AG se mostrou um melhor marcador de controle glicêmico em indivíduos em hemodiálise quando comparado ao teste HbA1c (44). Além disso, AG parece refletir adequadamente as complicações microvasculares do DM. O aumento nos níveis de AG tem sido associado à

presença de retinopatia diabética, nefropatia e complicações cardiovasculares (45,46). Níveis elevados de glicemia pós-prandial estão associados à maior risco de desenvolvimento de complicações cardiovasculares e morte em relação aos níveis de GJ (47). O teste AG parece refletir com melhor precisão a glicemia pós-prandial quando comparado ao teste HbA1c, suportando seu uso no diagnóstico e monitoramento do DM (48).

AG no diagnóstico de DM

Estudos que avaliaram o uso da AG no diagnóstico de DM reportaram diferentes pontos de corte. AG $\geq 15,5\%$ apresentou boa sensibilidade e especificidade quando GJ e/ou HbA1c foram utilizados como testes de referência (49). Outro estudo sugeriu os pontos 12,5% para identificar pré-diabetes e 14,3% para DM. AG apresentou maior sensibilidade do que a HbA1c (66,4% *versus* 52,5%), mas menor especificidade (88,3% *versus* 95,1%) quando utilizado o valor de G2h ≥ 200 mg/dL como referência (50).

A grande maioria dos estudos publicados sobre o uso da AG no diagnóstico de DM foi conduzida em indivíduos asiáticos e, no momento, há pouca informação sobre seu uso diagnóstico em populações ocidentais. Um estudo conduzido pelo nosso grupo de pesquisa avaliou a acurácia diagnóstica da AG em um grupo de indivíduos em alto risco de desenvolver DM atendidos no HCPA. Este estudo utilizou o TOTG como método de referência e o ponto de equilíbrio entre sensibilidade e especificidade foi AG de 14,8%, com uma área sob a curva de 0,703. O ponto de corte de AG de 16,8% mostrou acurácia

similar ao valor de HbA1c de 6,5% para detectar DM nesta população (sensibilidade 31,2% e especificidade 93,3%) (51).

Como já mencionado, o desenvolvimento de DMPT tem sido associado com menor sobrevida do paciente e do enxerto (14-17). Em vista disto, a detecção de DMPT nos meses iniciais após o transplante torna-se um recurso auxiliar importante na manutenção da qualidade de vida do paciente. Desta forma, o uso do teste AG seria, nesta situação, uma alternativa disponível para os casos onde o uso da HbA1c não fosse recomendado, proporcionando mais comodidade do que a realização do TOTG. Até o momento, não há estudos que avaliam o papel da AG no diagnóstico ou monitoramento do DMPT.

2. REFERENCIAS

1. Global Observatory on Donation and Transplantation. International Data On Organ Donation And Transplantation Activity, Waiting List And Family Refusals - Year 2016 (<http://www.transplant-observatory.org/summary/>, acessado em 5 de junho de 2018).
2. Garcia GG, Harden P, Chapman J, World Kidney Day Steering C. The global role of kidney transplantation. *Lancet* 2012; 379: e36-38.
3. American Diabetes Association. Position Statements - Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care* 2018; 41(Supplement 1): S13-S27.
4. Sharif A, Hecking M, de Vries AP, Porrini E, Hornum M, Rasoul-Rockenschaub S, et al. Proceedings from an international consensus meeting on posttransplantation diabetes mellitus: recommendations and future directions. *Am J Transplant* 2014; 14: 1992-2000.
5. Starzl TE, Marchioro TL, Rifkind D, Holmes JH, Rowlands DT, Waddell WR. Factors in Successful Renal Transplantation. *Surgery* 1964; 56: 296-318.
6. Montori VM, Basu A, Erwin PJ, Velosa JA, Gabriel SE, Kudva YC. Posttransplantation diabetes: a systematic review of the literature. *Diabetes Care* 2002; 25: 583-592.
7. Pimentel AL, Carvalho LS, Marques SS, Franco RF, Silveiro SP, Manfro RC, et al. Role of glycated hemoglobin in the screening and diagnosis of posttransplantation diabetes mellitus after renal transplantation: A diagnostic accuracy study. *Clin Chim Acta* 2015; 445: 48-53.

8. 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.
9. Pimentel AL, Bauer AC, Camargo JL. Renal posttransplantation diabetes mellitus: An overview. *Clin Chim Acta* 2015; 23: 327-332.
10. Hooff JP, Christiaans MHL, Duijnhoven EM. Tacrolimus and Posttransplant Diabetes Mellitus in Renal Transplantation. *Transplantation* 2005; 79(11): 1465–1469.
11. Drachenberg CB, Klassen DK, Weir MR, Wiland A, Fink JC, Bartlett ST, et al. Islet cell damage associated with tacrolimus and cyclosporine: Morphological features in pancreas allograft biopsies and clinical correlation. *Transplantation*. 1999; 68(3): 396–402.
12. Boots J, Christiaans M, van Hooff J. Effect of Immunosuppressive agents on long-term survival of renal transplant recipients: focus on the cardiovascular risk. *Drugs*. 2004; 64: 2047-2073.
13. Boots JMM, Duijnhoven EMV, Christiaans MHL, Wolffenbuttel BHR, Hoof JPV. Glucose Metabolism in Renal Transplant Recipients on Tacrolimus: The Effect of Steroid Withdrawal and Tacrolimus Trough Level Reduction. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13: 221–227.
14. Hjelmessaeth J, Hartmann A, Leivestad T, Holdaas H, Sagedal S, Olstad M, Jenssen T. The impact of early-diagnosed new-onset post-transplantation diabetes mellitus on survival and major cardiac events. *Kidney Int* 2006; 69(3):588-595.

15. Eide IA, Halden TA, Hartmann A, Åsberg A, Dahle DO, Reisaeter AV, Jenssen T. Mortality risk in post-transplantation diabetes mellitus based on glucose and HbA1c diagnostic criteria. *Transpl Int* 2016; 29 (5):568-578.
16. Gaynor JJ, Ciancio G, Guerra G, Sageshima J, Hanson L, Roth D, Goldstein MJ, Chen L, Kupin W, Mattiazzi A, Tueros L, Flores S, Barba LJ, Lopez A, Rivas J, Ruiz P, Vianna R, Burke GW. Single-centre study of 628 adult, primary kidney transplant recipients showing no unfavourable effect of new-onset diabetes after transplant. *Diabetologia* 2015; 58(2): 334-45.
17. Eide IA, Halden TAS, Hartmann A, Dahle DO, Åsberg A, Jenssen T. Associations Between Posttransplantation Diabetes Mellitus and Renal Graft Survival. *Transplantation* 2017; 101(6): 1282-1289.
18. World Health Organization. The World Health Organization Report 2016: Global Reporting on Diabetes reducing. Geneve: WHO, 2016.
19. Yates CJ, Furlanos S, Colman PG, Cohney SJ. Screening for new-onset diabetes after kidney transplantation: limitations of fasting glucose and advantages of afternoon glucose and glycated hemoglobin. *Transplantation* 2013; 96(8): 726-31.
20. Winkelmayer WC, Chandraker A. Pottransplantation anemia: Management and rationale. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(2): s49-s55.
21. C.G. Fraser, E. Harris. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1989; 27: 409–437.
22. Bonora E, Tuomilehto J. The pros and cons of diagnosing diabetes with A1C. *Diabetes Care* 2011; 34 (Suppl 2): S184-190.

23. Fraser CG. Biological variation: from principles to practice. Washington, DC: AACC Press, 2001.
24. Ricós C, Álvarez V, Perich C, Fernández-Calle P, Minchinela J, Cava F, et al. Rationale for using data on biological variation. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53(6): 863-870.
25. Harris EK. Effects of intra- and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges. *Clin Chem* 1974; 20(12): 1535-1542.
26. Fraser, CG. Reference change values. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012; 50: 807–812.
27. Braga F, Dolci A, Mosca A, Panteghini M. Biological variability of glycosylated hemoglobin. *Clin. Chim. Acta* 2010; 411: 1606–1610.
28. Braga F, Dolci A, Montagnana M, Pagani F, Paleari R, Guidi GC, et al. Reevaluation of biological variation of glycosylated hemoglobin (HbA(1c)) using an accurately designed protocol and an assay traceable to the IFCC reference system, *Clin. Chim. Acta* 2011; 412: 1412–1416.
- 29- W.A. Bartlett, F. Braga, A. Carobene, et al., Biological Variation Working Group, European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). A checklist for critical appraisal of studies of biological variation, *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53: 879–885.
30. Valderhaug TG, Jenssen T, Hartmann A, Midtvedt K, Holdaas H, Reisaeter AV, et al. Fasting plasma glucose and glycosylated hemoglobin in the screening for diabetes mellitus after renal transplantation. *Transplantation* 2009; 15; 88(3):429-434.

31. Shabir S, Jham S, Harper L, Ball S, Borrowes R, Sharif A. Validity of glycated haemoglobin to diagnose new onset diabetes after transplantation. *Transpl Int* 2013; 26(3): 315-21.
32. Yates CJ, Furlanos S, Colman PG, Cohny SJ. Screening for new-onset diabetes after kidney transplantation: limitations of fasting glucose and advantages of afternoon glucose and glycated hemoglobin. *Transplantation* 2013; 96(8): 726-731.
33. Eide IA, Halden TA, Hartmann A, Åsberg A, Dahle DO, Reisæter AV, et al. Limitations of hemoglobin A1c for the diagnosis of posttransplant diabetes mellitus. *Transplantation*. 2015; 99(3): 629-35.
34. Clayton PA, Aouad L, Wyburn KR et al. HbA1c is insensitive at month 3 after kidney transplantation. *Transplantation* 2015; 99: e37–e38.
35. 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.
36. PAC Freitas, Ehlert LR, Camargo JL. Glycated albumin: a potential biomarker in diabetes. *Arch Endocrinol Metab* 2017; 61(3): 296-304.
37. Koga M. Glycated albumin; clinical usefulness. *Clin Chim Acta*. 2014; 433: 96–104.
38. Roohk HV, Zaidi AR. A review of glycated albumin as an intermediate glycation index for controlling diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2008; 8: 1114-1121.

39. Paroni R, Ceriotti F, Galanello R, Battista LG, Panico A, Scurati E, et al. Performance characteristics and clinical utility of an enzymatic method for the measurement of glycated albumin in plasma. *Clin Biochem* 2007; 40: 1398–1405.
40. 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.
41. Kouzuma T, Uemastu Y, Usami T, Imamura S. Study of glycated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycated albumin measurement method. *Clin Chim Acta* 2004; 346: 135–143.
42. Freitas PAC, Ehlert LR, Camargo JL. Comparison between two enzymatic methods for glycated albumin. *Anal. Methods* 2016; 8: 8173–8178.
43. Takahashi S, Uchino H, Shimizu T, Kanazama A, Tamura Y, Sakai K, 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(1): 139-144.
44. Dozio E, Corradi V, Proglino M, Vianello E, Menicanti L, Rigolini R, et al. Usefulness of glycated albumin as a biomarker for glucose control and prognostic factor in chronic kidney disease patients on dialysis (CKD-G5D). *Diabetes Res Clin Pract* 2018; 140: 9-17.
45. 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): 282–290.

46. Selvin E, Rawlings AM, Grams M, Klein R, Sharrett AR, Steffes M, et al. 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.
47. 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: 920-924.
48. Yoshiuchi K, Matsuhisa M, Katakami N, Nakatani Y, Sakamoto K, Matsuoka T, et al. Glycated albumin is a better indicator for glucose excursion than glycated hemoglobin in type 1 and type 2 diabetes. *Endocr J* 2008; 55: 503-507.
49. 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): 3028-3036.
50. Hwang YC, Jung CH, Ahn HY, Jeon WS, Jin SM, Woo JT. Optimal glycated albumin cutoff value to diagnose diabetes in Korean adults: a retrospective study based on the oral glucose tolerance test. *Clin Chim Acta* 2014; 437: 1-5.
51. Chume, Fernando Chimela. Albumina Glicada como uma Ferramenta de Diagnóstico do Diabetes Mellitus. 74f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto Alegre, 2018.

3. OBJETIVOS

Avaliar o uso das proteínas glicadas no diagnóstico de DMPT.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o impacto do uso de imunossupressores sob a variabilidade nos níveis de HbA1c em indivíduos sem diabetes durante o primeiro ano após transplante renal realizado no HCPA;
- Realizar revisão sistemática da literatura com meta-análise para avaliar o desempenho de HbA1c no diagnóstico de DMPT;
- Avaliar a acurácia diagnóstica da AG na detecção de DMPT aos 4 meses após transplante renal, utilizando o TOTG e HbA1c como testes de referência.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para esta tese, avaliamos o comportamento dos testes HbA1c e AG em indivíduos após transplante renal. Para tanto, três estudos com objetivos distintos foram realizados.

Foi estimada a variabilidade nos níveis de HbA1c em indivíduos sem diabetes e em uso de medicamentos imunossupressores durante o primeiro ano após o transplante renal. Os resultados deste estudo mostraram que a variabilidade intra-individual nos níveis de HbA1c após o transplante é maior do que aquela encontrada na literatura para a população em geral. Além disso, é necessária uma diferença relativa maior do que 16% entre dois resultados consecutivos para que esta diferença seja considerada clinicamente significativa. Esta diferença é maior do que a esperada para indivíduos não transplantados relatada na literatura. De acordo com estes achados, concluímos que os valores de HbA1c podem ser influenciados pelo uso contínuo de medicamentos imunossupressores (prednisona e tacrolimus) após o transplante renal, o que resulta em maior variabilidade intra-individual, mesmo em pacientes sem diabetes. Esta informação deve ser considerada no momento da interpretação dos resultados de HbA1c após o transplante.

Além disso, avaliamos a informação disponível na literatura sobre o desempenho da HbA1c no diagnóstico de DMPT através da realização de um estudo de revisão sistemática com meta-análise. De acordo com os resultados, o uso do ponto HbA1c $\geq 6,5\%$ apresenta alta especificidade de 96% e excelente desempenho para a confirmação de DMPT. Entretanto, sua baixa sensibilidade de 48% limita seu uso para o rastreamento da doença e muitos casos positivos são perdidos quando este é utilizado de forma isolada. Como alternativa, e

após avaliação dos dados já publicados, sugerimos que o ponto de corte HbA1c $\geq 6,2\%$ seja utilizado na detecção de DMPT durante os meses iniciais após o transplante. O uso deste ponto aumentou a sensibilidade do teste para 76% e reduziu a especificidade para 89%. A redução na especificidade ocasiona em aumento no número de casos falso-positivos, não resultando em prejuízo a estes pacientes que são constantemente monitorados durante o primeiro ano após o transplante renal. Até o momento, não há na literatura dados sobre o desempenho de HbA1c $\geq 6,2\%$ no diagnóstico de DMPT tardio, com ocorrência após os 4 meses de transplante.

Por fim, avaliamos pela primeira vez a acurácia diagnóstica da AG na detecção de DMPT após transplante renal utilizando o TOTG e HbA1c como testes de referência. Em concordância com resultados apresentados para a população em geral, AG apresentou desempenho moderado após o transplante. O ponto AG $\geq 17\%$ apresentou alta especificidade e foi capaz de confirmar DMPT em quase 90% dos pacientes com a doença. Este é o primeiro estudo na literatura sobre este assunto, e outros estudos em diferentes populações serão necessários.

De acordo com os achados desta tese, o uso de um único teste diagnóstico para DMPT não parece ser suficiente para detectar todos os indivíduos com a doença, o que corrobora com os resultados apresentados para a população em geral e já discutidos pela *American Diabetes Association*. Idealmente, o desempenho dos testes HbA1c e AG após transplante renal deveriam ser avaliados através de estudos prospectivos que relacionassem seus níveis e o desenvolvimento de complicações futuras. Entretanto, não há na literatura estudos que tenham feito este tipo de avaliação. Nesta tese

apresentamos, portanto, a maior evidência disponível sobre o uso de HbA1c para identificar DMPT, além do primeiro estudo sobre o uso de AG em indivíduos após transplante renal.