

COMPARACION DE LA HEMOGLOBINA GLUCOSILADA CON LA PRUEBA DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA EN UNA POBLACION SELECCIONADA

GLORIA B. VIÑES, MARTIN ROUBICEK, ALICIA GONZALEZ SANGUINETI

Hospital Privado de Comunidad, Mar del Plata

Resumen En un estudio destinado a investigar la posible utilidad de la determinación de la hemoglobina glucosilada (HbA1c) como alternativa a la prueba oral de tolerancia a la glucosa, se analizó 405 curvas de tolerancia y HbA1c simultáneas, en pacientes consecutivos enviados al laboratorio para estudio de su tolerancia glucídica. La muestra consistió en 158 varones y 247 mujeres (no embarazadas) con edades entre 3 y 84 años (medianas 61.5 y 56 años, respectivamente). La prueba de tolerancia se realizó de acuerdo con la metodología habitual y la HbA1c con el inmunoensayo DCA 2000. Los resultados indican una buena correlación entre los valores de glucemias en ayunas o de 2 horas post-carga, con los de la HbA1c. Utilizando los criterios diagnósticos de la OMS, se halló una sensibilidad de 0.96 de la HbA1c empleando el nivel de 5.4% como valor máximo normal, para discriminar entre no diabéticos y los casos de sospecha a los fines de tamizaje. Con un nivel de 6.0 o 6.3%, la elevada especificidad (0.94 o 0.97) para discriminar entre diabéticos y los probables normales, indica su aplicabilidad para el diagnóstico de confirmación. Con los nuevos criterios de la ADA para la glucemia en ayunas, los resultados fueron similares. Se sugiere la determinación de la HbA1c con los métodos de alta precisión actualmente disponibles, como una alternativa válida a la prueba oral de tolerancia, para fines de pesquisa y de diagnóstico en poblaciones con sospecha o riesgo incrementado de presentar diabetes mellitus.

Abstract *A comparative study of glycosylated hemoglobin and oral glucose tolerance test in a selected population.* A series of 405 consecutive oral glucose tolerance tests was analyzed in comparison with simultaneous glycosylated hemoglobin (HbA1c) measurements, in order to ascertain the possible utility of HbA1c as an alternative method for diagnosis and screening in populations suspected or at increased risk of presenting diabetes mellitus. The study group consisted of 158 male and 247 nonpregnant female patients aged 3 to 84 years (median 61.5 and 56 years, respectively) referred by their physicians for diagnostic purposes. Tolerance test was performed according to usual methods and HbA1c was measured with the 2000 DC immunoassay. Results showed a good correlation between HbA1c and fasting or 2 hour glucose levels. Using WHO diagnostic criteria, HbA1c maximal normal level of 5.4% showed a sensitivity of 0.96 in distinguishing between non-diabetics and those at increased risk, for screening purposes. With HbA1c levels of 6.0 or 6.3%, specificity for a correct diagnosis of diabetes was high (0.94 or 0.97) making this a suitable level for diagnostic confirmation. With the new ADA criteria for fasting plasma glucose, the results were similar. We suggest that HbA1c measurement with highly accurate methods might be considered a valid alternative for diagnosis and screening in populations suspected or at increased risk of presenting diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, glycosylated hemoglobin, oral glucose tolerance test

El tema del diagnóstico y pesquisa (*screening*) de la diabetes y de la tolerancia alterada a hidratos de carbono se investigó y discutió durante décadas. Las innumerables variantes metodológicas para determinación de glucosa en orina y en sangre, y las diversas pruebas de estimulación usadas, hacían difícil arribar a un consenso. Recién en los últimos 20 años se logró unificar los distintos criterios, al aceptarse universalmente los del *National Diabetes Data Group* (NDDG) en 1979¹ y posteriormente los de la Organización Mundial de la Salud

(OMS) en 1980 y 1985². Se estableció como patrón la prueba oral de tolerancia a la glucosa (POTG) con 75 g para adultos y 1.75 g/kg de peso para niños, haciéndose diagnóstico de diabetes con 140 mg/dl en ayunas en dos oportunidades (OMS) o más de 200 mg/dl a las 2 horas post-sobrecarga (OMS y NDDG) y de 200 en otro punto de la curva (NDDG). La tolerancia a la glucosa alterada se definió como valores a las 2 horas de la POTG entre 140 y 200 mg/dl. Estos criterios fueron utilizados en casi todos los estudios poblacionales a partir de entonces.

Sin embargo, se plantearon diversos problemas, la mayoría relacionados con la poca aplicabilidad práctica de la POTG, y con la validez de los niveles de corte propuestos. Debido a ello, se sugirió la necesidad de

Recibido: 16-III-1998

Aceptado: 3-IX-1998

Dirección postal: Dra. Gloria B. Viñes, Pellegrini 3784, 7600 Mar del Plata, Argentina

Fax: 023-99-0099; E-mail: statti@infovia.com.ar

algunas modificaciones. La American Diabetes Association (ADA) nombró un Comité Internacional de Expertos para elaborar una propuesta al respecto; el informe correspondiente se publicó recientemente³ y su versión traducida en la Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes⁴. Los nuevos criterios para el diagnóstico de la diabetes se basan fundamentalmente en nuevos "puntos de corte" más bajos para la glucemia en ayunas, ≥ 126 mg/dl confirmada en un día subsiguiente, reservándose la curva de tolerancia para los casos dudosos, y para el diagnóstico de la diabetes gestacional. La glucemia de ayunas alterada se define por niveles de glucosa plasmática en ayunas ≥ 110 pero < 126 mg/dl.

Otra alternativa sugerida en los últimos 20 años fue el uso de la determinación de la hemoglobina glucosilada (HbA1) o de su fracción "c" (HbA1c) como herramienta diagnóstica.

Hace 4 años nos propusimos iniciar un estudio comparativo de los resultados de la POTG y de la HbA1c, con el objetivo de evaluar su correlación, y la posible utilización de esta última como prueba diagnóstica alternativa a la primera. Cuando los datos obtenidos estaban siendo analizados, se publicó el informe del Comité de Expertos de la ADA³, por lo cual decidimos reanalizar nuestros datos incluyendo los nuevos criterios propuestos.

En el presente trabajo comunicamos los resultados del estudio original y los de su revisión.

Pacientes y métodos

Se estudiaron 405 personas consecutivas, de ambos sexos, referidas por sus médicos tratantes al laboratorio de análisis clínicos del Hospital Privado de Comunidad, para efectuar una prueba de tolerancia a la glucosa, entre 1993 y 1997 (Tabla 1). No se incluyó a mujeres embarazadas. Se excluyó una mujer adulta con diagnóstico de talasemia menor por ser esta hemoglobinopatía un factor determinante de valores falsamente bajos de HbA1c.

A los pacientes se les dieron las indicaciones usuales para una dieta normohidrocarbonada previa a la prueba, y las precauciones habituales durante la misma. Luego de efectuar la extracción de la muestra en ayunas, se administró la sobrecarga oral de glucosa de 75 g disuelta en 350 ml de agua en un lapso de 10 minutos y se extrajeron muestras a los 60 y 120 minutos. La dosis de glucosa en niños de peso menor a 43 kg fue de 1.75 g/kg. Las muestras para glucemia fueron anticoagu-

ladas con EDTA/fluoruro de sodio, y una muestra de ayunas para HbA1c con EDTA solamente.

La glucemia fue determinada en plasma por el método de glucosa oxidasa-peroxidasa en un Autoanalizador Technicon RA-XT, y la HbA1c por el inmunoensayo con el DCA 2000 Analyzer Ames (Bayer)⁵. Este método fue utilizado en diversos estudios publicados y hallado ser satisfactorio y comparable al método de la cromatografía líquida de alta presión (HPLC)^{6,7}.

De acuerdo con los resultados de glucemias en la curva, se clasificó a los pacientes en tres grupos, siguiendo los criterios de la OMS: normal (NOR), tolerancia glúcida alterada (INT), y diabetes (DIA). Para el caso de los nuevos criterios de la ADA, el grupo de la "glucosa en ayunas alterada" fue abreviado con las siglas GAA. Para analizar sensibilidad y especificidad se unieron los grupos NOR + INT o GAA con el fin de compararlos con el grupo DIA para fines diagnósticos.

Las determinaciones no fueron repetidas, como lo recomienda el informe de la ADA³, por lo cual las categorías diagnósticas deben ser tomadas con la debida reserva. Las evaluaciones estadísticas se hicieron con los programas EPI INFO 6.0, TWO BY TWO, BMDP Versión 1.1 para Windows y ROC Curve Analyzer.

Resultados

Los resultados obtenidos se presentan en las Tablas 2, 3, 4 y 5.

Los resultados correspondientes a los criterios del NDDG fueron similares a los de la OMS (cifras no presentadas).

El valor más elevado de HbA1c en el grupo NOR (6.7%) corresponde a un caso clasificado como tal por ambos criterios del NDDG y la OMS, pero cuyas glucemias fueron inusuales: 123, 225 y 123 en ayunas y a las 1 y 2 horas. El paciente con HbA1c de 7.1% clasificado como "intolerancia" presentó glucemias de 138, 224 y 197 respectivamente, y el de HbA1c de 6.6% tenía glucemias de 150, 251 y 175. Ambos casos podrían ser considerados más probablemente diabéticos que sólo intolerantes.

Se aplicó el método de análisis mediante la curva ROC ("receiver operating characteristic") a los datos obtenidos. El área bajo la curva ROC correspondiente a los resultados según los criterios de la OMS, fue de 0.842 ± 0.03 (SE), algo menor que la obtenida en un estudio

TABLA 1.- Población estudiada

Sexo	n	edad promedio (años)	mediana	rango
Masculino	158	54.15	61.5	11-84
Femenino	247	51.38	58	6-83
Total	405	52.46	58	11-84

TABLA 2.- Correlación entre HbA1c y glucemias

	r	95% IC
HbA1c y glucemia plasmática de ayunas	0.78	0.74-0.82
HbA1c y glucemia plasmática de 1 hora post-carga	0.70	0.64-0.76
HbA1c y glucemia plasmática de 2 horas post-carga	0.80	0.76-0.83

r: coeficiente de correlación
IC: intervalo de confianza de 95%

TABLA 3.- Valores de HbA1c de pacientes agrupados de acuerdo con los criterios OMS

Grupo	n	M	F	HbA1c%(\bar{x})	d.s.	rango	p*
NOR	275	98	177	5.37	0.42	4.1- 6.7) < 0.0001
INT	55	22	33	5.68	0.51	4.3- 7.1	
DIA	75	38	37	6.90	1.32	5.0-11.1) < 0.0001
NOR+INT	330	120	210	5.42	0.45	4.1- 7.1	

* Test de Mann-Whitney

TABLA 4.- Valores de HbA1c utilizando los criterios de la ADA para glucemia en ayunas

Grupo (mg/dl)	n	M	F	HbA1c%(\bar{x})	d.s.	rango	p*
NOR (< 110)	270	96	174	5.33	0.39	4.1-6.3) < 0.0001
GA A(110-125)	66	26	40	5.94	0.59	4.9-7.9	
DIA (> 125)	69	36	33	6.88	1.36	5.2-11.1) < 0.0001
NOR+GAA (<126)	336	122	214	5.45	0.50	4.1-7.9	

TABLA 5.- Características operativas de los niveles de HbA1c para discriminar entre el grupo DIA y los NOR e INT (o GAA) combinados, con diversos "puntos de corte"

Nivel límite para HbA1c "no diabetes"	5.4 %	5.7 %	6.0 %	6.3 %
Sensibilidad (criterios OMS)	0.96	0.81	0.62	0.48
Especificidad (criterios OMS)	0.55	0.83	0.94	0.97
Sensibilidad (criterios ADA)	0.97	0.86	0.65	0.54
Especificidad (criterios ADA)	0.52	0.80	0.91	0.95

similar en Japón (0.935 ± 0.002)⁸. Los valores de HbA1c con la máxima deflexión de la curva corresponden a los niveles de 5.6, 5.7 y 5.8%.

Discusión

Los resultados presentados permiten sugerir que la determinación del nivel de HbA1c podría ser una alternativa válida para la pesquisa y el diagnóstico de la diabetes mellitus en una población sospechada de estar en

riesgo, referida con ese propósito. Con el inmunoensayo sensible utilizado y con un límite máximo normal de 5.4%, la prueba tiene una alta sensibilidad de 96-97% para tamizaje. Para los fines diagnósticos, con un valor máximo normal de 6.0 ó 6.3, la especificidad de la prueba alcanza un nivel de 94-97 ó 91-95% según cuáles fueron los criterios comparativos empleados. Debemos recalcar que estos índices fueron obtenidos utilizando los criterios generalmente aceptados de la OMS para la curva de tolerancia o los de la ADA para la glucemia en

ayunas, como "patrón o estándar de oro", y cuya validez predictiva absoluta para un caso individual queda por ser establecida. Cuando se comparan dos o más pruebas diagnósticas para una cierta enfermedad, deberían ser ambas referidas idealmente a un "estándar de oro" independiente. Al comparar directamente con el que se tomó *a priori* como "patrón oro", cualquier otra prueba necesariamente mostrará una precisión menor que 100%. El verdadero "patrón oro" para la diabetes debería ser la aparición de las complicaciones a largo plazo (retinopatía, nefropatía), lo cual obviamente requiere un período prolongado de observación. Una prueba bioquímica o molecular patognomónica no ha sido hallada hasta ahora. Los autores de un estudio en los indios Pima de Arizona, E.U.A., tomando como "estándar de oro" la presencia de complicaciones, concluyeron que, por lo menos en este grupo étnico, la determinación de la HbA1c era equivalente a la POTG y/o a las glucemias en ayunas o a las 2 horas, en su valor predictivo⁹⁻¹¹. Sin embargo, los elevados índices de sensibilidad y especificidad hallados, y resultados similares obtenidos en varios otros estudios^{8, 12, 13} sustentan la idea de que la HbA1c puede ser considerada una alternativa diagnóstica válida también en otras poblaciones. Las ventajas sobre la POTG son su sencillez, la poca molestia para el paciente, la ausencia de una sobrecarga no fisiológica como en la POTG y no requerir una muestra en ayunas. La POTG presenta además una elevada variabilidad intraindividual¹⁴. El mayor costo de la HbA1c se compensa por el menor tiempo utilizado y menores molestias ocasionadas al paciente. En cuanto a la comparación con la sola determinación de glucemia en ayunas, según la propuesta de la ADA³, estimamos que la HbA1c indica un panorama más amplio del estado metabólico hidrocarbonado, al abarcar un período de 1-3 meses en vez de indicar una situación momentánea, susceptible de diversas alteraciones transitorias e irrelevantes.

Aplicando los criterios propuestos por Singer¹⁵, según los cuales los niveles de HbA1c por debajo de la media de la población no diabética deberían ser calificados como "normales" y aquéllos superiores a 3 desvíos estándar por encima de la media como "diabéticos", un 60% de nuestros pacientes habrían sido correctamente clasificados, evitando así la necesidad de efectuarles la POTG.

En un reciente artículo¹⁶ se sugiere que la HbA1c es de validez limitada para su utilización en tamizaje, debido a que la variación interindividual es mayor que la intraindividual. En este sentido, la HbA1c no difiere de otros métodos de tamizaje y no queda invalidada por una argumentación puramente teórica, ya que su aplicabilidad en la práctica quedó demostrada en numerosos ejemplos⁸⁻¹³.

El empleo de la HbA1c para evaluar el grado de control de la diabetes está universalmente aceptado desde

su introducción en la década del 70, y su validez predictiva para desarrollo de complicaciones diabéticas fue claramente demostrada en los resultados del Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)¹⁷ y en otros estudios similares^{18, 19}. Su aplicabilidad para el diagnóstico y/o pesquisa fue discutida y frecuentemente rechazada²⁰, basándose en resultados inconsistentes.

El Comité de Expertos de la ADA^{3, 4} no recomienda esta determinación actualmente como una prueba diagnóstica por no haberse concluido una estandarización de los diversos métodos en uso. Sin embargo, en varios estudios publicados se demostró su validez para eventual uso diagnóstico, tanto en tamizaje poblacional general como en grupos seleccionados⁸⁻¹³.

Recientemente en la 58ª Reunión Anual de la ADA se presentó en forma de poster un estudio poblacional basado en datos del National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III), que arribó a resultados muy similares a los del presente trabajo: para glucemias ≥ 126 mg/dl y HbA1c $> 5.8\%$ la sensibilidad y especificidad de la glicohemoglobina para diagnóstico fue de 0.87 y 0.877 respectivamente²².

En el presente estudio se empleó un método altamente satisfactorio y confiable para la HbA1c como es el DCA 2.000^{6, 7}, comparable al utilizado por el DCCT para evaluar la predicción de complicaciones.

Indudablemente habrá casos de discrepancia entre HbA1c y POTG. Frente a tales situaciones sólo estudios prospectivos prolongados darán la respuesta adecuada en cuanto a complicaciones a largo plazo²³.

Conclusiones

1. Se sugiere al inmunoensayo de alta sensibilidad para la HbA1c como una alternativa adecuada para los fines de pesquisa y diagnóstico de diabetes mellitus, en los pacientes con sospecha o en riesgo de padecerla.
2. Tomando el nivel de 5.4% como máximo normal, el método presenta alta sensibilidad (96%) para los fines de tamizaje.
3. Con un nivel de 6.0 o 6.3% como límite máximo no diabético, la especificidad para diagnóstico de la diabetes es elevada (91-94 y 95-97% respectivamente).
4. El método es simple, cómodo y de costo aceptable cuando se considera el beneficio del tiempo y molestias ahorrados.
5. Los resultados de este estudio concuerdan en términos generales con los obtenidos en otros estudios similares.
6. Sólo un seguimiento por un tiempo prolongado podrá dilucidar si la HbA1c es mejor que la POTG o la glucemia de ayunas para predecir el riesgo de complicaciones diabéticas crónicas.

Agradecimiento: Los autores desean expresar su reconocimiento a los Laboratorios Bayer Argentina por la gentil provisión de los materiales de diagnóstico empleados, al Dr. Juan Pablo Roubicek, y a la Lic. Lila Ricci (Universidad Nacional de Mar del Plata) por su valiosa colaboración en el análisis estadístico.

Bibliografía

1. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose tolerance. *Diabetes* 1979; 28: 1039-57.
2. World Health Organization Expert Committee on Diabetes Mellitus. Report of a WHO Study Group. Technical Report Series N° 727. Ginebra, OMS 1985.
3. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20: 1183-97.
4. Comité de Expertos para el Diagnóstico y Clasificación de la Diabetes Mellitus de la Asociación Americana de Diabetes, Alexandria Virginia EE.UU. Informe del comité de expertos para el diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus. *Rev Soc Arg de Diabetes* 1997; 31: 96-121.
5. McCloud WW, Messenger LJ, Schell R, Wogoman F, Yip KF. Unitized cartridge system for the de-centralized measure of hemoglobin A1c. *Biochem Clin* 1990; 14 (Suppl. 2): 14.
6. Marrero DG, Vandagriff JL, Gibson R, Fineberg SE, Fineberg NS, Hiar CE, et al. Immediate HbA1c results. Performance of new HbA1c system in pediatric outpatient population. *Diabetes Care* 1992; 15: 1045-9.
7. Gillery P, Dumont G, Vassault A. Evaluation of Ghb assays in France by National Quality Control surveys. *Diabetes Care* 1998; 21: 265-70.
8. Tsuji I, Nakamoto K, Hasegawa T, Hisashige A, Inawashiro H, Fukao A, et al. Receiver operating characteristic analysis on fasting plasma glucose, HbA1c, and fructosamine on diabetes screening. *Diabetes Care* 1991; 14: 1075-7.
9. McCance DR, Hanson RL, Charles M-A, Jacobsson LTH, Pettitt DJ, Bennett PH, et al. Comparison of tests for glycated haemoglobin and fasting and two hour plasma glucose concentrations as diagnostic methods for diabetes. *BMJ* 1994; 308: 1323-8.
10. Narayan KMV, Hanson RL, Pettitt DJ, Bennett PH, Knowler WC. A two-step strategy for identification of high-risk subjects for a clinical trial of prevention of NIDDM. *Diabetes Care* 1996; 19: 972-8.
11. McCance DR, Hanson RL, Pettitt DJ, Bennett PH, Hadden DR, Knowler WC. Diagnosing diabetes mellitus: do we need new criteria? *Diabetologia* 1997; 40: 247-55.
12. Davidson MB, Peters AL, Schriger DL. An alternative approach to the diagnosis of diabetes with a review of the literature. *Diabetes Care* 1995; 18: 1065-71.
13. Peters AL, Davidson MB, Schriger DL, Hasselblad V. A clinical approach for the diagnosis of diabetes mellitus. An analysis using glycosylated hemoglobin levels. *JAMA* 1996; 276: 1246-52.
14. Mooy JM, Grootenhuis PA, de Vries H, Kostense PJ, Popp-Snijders C, Bouter LM et al. Intra-individual variation of glucose, specific insulin and proinsulin concentrations measured by two oral glucose tolerance tests in a general Caucasian population: the Hoorn study. *Diabetologia* 1996; 39: 298-305.
15. Singer DE, Coley CM, Samet JH, Nathan DM. Tests for glycemia in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1989; 110: 125-37.
16. Kilpatrick ES, Maylor PW, Keevil BG. Biological variation of glycated hemoglobin. Implications for diabetes screening and monitoring. *Diabetes Care* 1998; 21: 261-4.
17. The DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1993; 329: 977-86.
18. Ohkubo Y, Kishikawa H, Araki E, Miyata T, Isami S, Motoyoshi S, et al. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 28: 103-17.
19. Krolewski AS, Laffel LMB, Krolewski M, Quinn M, Warram JH. Glycosylated hemoglobin and the risk of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *New Eng J Med* 1995; 332: 1251-5 (ver también pp. 1305-6).
20. Harris MI, Modan M. Screening for NIDDM. Why is there no national program? *Diabetes Care* 1994; 17: 440-44.
21. Engelgau MM, Thompson TJ, Herman WH, Boyle JP, Aubert RE, Kenny SJ et al. Comparison of fasting and 2-hour glucose and HbA1c levels for diagnosing diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20: 785-91.
22. Rohlfing C, Little R, Wiedmeyer H-M, Madsen R, Goldstein D. Is glycohemoglobin useful for diabetes screening? NHANES III data. Abstract N° 0274. 58th Annual Meeting & Scientific Sessions. Chicago. Illinois. June 13-16, 1998.
23. de Courten M, Zimmet P. Screening for non-insulin-dependent diabetes mellitus: where to draw the line? *Diabetic Medicine* 1997; 14: 95-8.