

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LIANA SIGNORINI

EXTRAÇÃO E ANÁLISES DE DADOS DE HEMOGLOBINA GLICADA (HbA1c)  
COMO FERRAMENTA PARA TOMADA DE DECISÕES ESTRATÉGICAS PARA O  
*DIABETES MELLITUS* NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

CURITIBA

2022

LIANA SIGNORINI

EXTRAÇÃO E ANÁLISES DE DADOS DE HEMOGLOBINA GLICADA (HbA1c)  
COMO FERRAMENTA PARA TOMADA DE DECISÕES ESTRATÉGICAS PARA O  
*DIABETES MELLITUS* NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre, Setor de Ciências da Saúde, Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Picheth  
Coorientadores: Dr. Waldemar Volanski  
Profa Dra Fabiane Gomes de  
Moraes Rego

CURITIBA

2022

Signorini, Liana

Extração e análises de dados de hemoglobina glicada (HbA1c) como ferramenta para tomada de decisões estratégicas para o diabetes *mellitus* no Sistema Único de Saúde [recurso eletrônico] / Liana Signorini – Curitiba, 2022.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Picheth

Coorientadores: Prof. Dr. Waldemar Volanski

Profa. Dra. Fabiane Gomes de Moraes Rego

1. Hemoglobina glicada. 2. Diabetes *mellitus*. 3. Controle glicêmico. I. Picheth, Geraldo. II. Volanski, Waldemar. III. Rego, Fabiane Gomes de Moraes. IV. Universidade Federal do Paraná. V. Título.

CDD 615.1901



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LIANA SIGNORINI** intitulada: **Extração e análises de dados de hemoglobina glicada (HbA1c) como ferramenta para tomada de decisões estratégicas para o Diabetes mellitus no Sistema Único de Saúde**, sob orientação do Prof. Dr. GERALDO PICHETH, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 29 de Março de 2022.

Assinatura Eletrônica

01/04/2022 14:29:13.0

GERALDO PICHETH

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

01/04/2022 17:36:26.0

MARCIANE WELTER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

01/04/2022 16:12:27.0

ALEXESSANDER DA SILVA COUTO ALVES

Avaliador Externo (UNIVERSITY OF SURREY)

---

Avenida Prefeito Lothário Meissner, 632 - CURITIBA - Paraná - Brasil  
CEP 80210-170 - Tel: (41) 3360-4098 - E-mail: cfufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 169887

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 169887

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela vida;

Aos meus pais, pelo exemplo, dedicação e amor incondicional;

À Dra. Luciana, minha irmã, pelo amor e parceria;

Ao Mauricio, pelo amor, carinho e paciência;

À Universidade Federal do Paraná – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela formação de excelência;

À Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba, pela estrutura organizacional do sistema de saúde de referência;

Ao meu orientador, pela oportunidade, incentivo, sabedoria e confiança;

Aos meus coorientadores, pela dedicação e colaboração;

Aos colegas de trabalho e de mestrado, pela paciência e companheirismo.

“... Pedras no caminho?  
Guardo todas, um dia vou construir um castelo...”

Fernando Pessoa

## RESUMO

O diabetes *mellitus* (DM) é um processo patológico que afeta cerca de 10% da população mundial e está associado à elevada morbimortalidade. As complicações do DM estão associadas à hiperglicemia crônica. A hemoglobina glicada, fração A1c (HbA1c), é um biomarcador que permite o diagnóstico do DM e o monitoramento da glicemia. A HbA1c corresponde à ligação irreversível e não-enzimática da glicose à resíduos de valina N-terminais das cadeias beta da hemoglobina. A HbA1c captura a glicemia média ponderada de dois a três meses anteriores a sua dosagem. O objetivo do projeto foi extrair, processar e analisar registros centrados na determinação de HbA1c, obtidos do Laboratório Municipal de Curitiba, um laboratório terciário público vinculado à Prefeitura Municipal de Curitiba, Estado do Paraná, Sul do Brasil. Os registros, em número superior a 1.000.000, foram capturados, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 68027317.7.0000.0102) e representam o período de janeiro de 2016 a novembro de 2019. Após o crivo de critérios de inclusão/exclusão, remoção de homônimas e duplicidades, o tamanho amostral resultante de 122.852 registros foi analisado. A amostra contemplou indivíduos com faixa etária mediana de 60 anos (IQR, 48-69) e prevalência de mulheres (63,4%). A HbA1c foi quantificada por sistema automatizado, utilizando cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com coluna de troca iônica, Variant II Turbo (BioRad Laboratories), e mostrou CV<sub>a</sub> de 1,6%. A frequência de solicitações de HbA1c cresceu, em média, 28% ao ano entre 2016-2019. A partir de 2020 este padrão se altera decorrente das implicações geradas pela pandemia de COVID-19. A HbA1c apresentou correlação (Spearman) forte com a glicemia de jejum ( $r=0,727$ ;  $p<0,001$ ) e fraca com a idade ( $r=0,329$ ;  $p<0,001$ ). A aplicação da estatística para RCV (*reference change values*), utilizando valor de Z-score 1,65 (unidirecional), CV<sub>a</sub>=1,6% e CV<sub>i</sub>=1,2%, resultou em RCV=4,6%. Aplicando o RCV ao valor de corte para diabetes (HbA1c $\geq$ 6,5%), as concentrações entre 6,2% e 6,8% estão no intervalo de confiança de 95%. Portanto, considerando o RCV, concentrações de HbA1c iguais ou superiores a 6,2% podem indicar diabetes. A construção de uma subamostra (n=50.714), com remoção de registros de HbA1c com características de alterações em biomarcadores glicêmicos associados ao diabetes/controle glicêmico inadequado, permitiu estimar, para a amostra em estudo, o intervalo de confiança (95%) para HbA1c entre 4,7% e 6,1% (mediana 5,5%), que guarda similaridades com outros estudos em relação à mediana observada. A frequência das concentrações da HbA1c na amostra em estudo foi avaliada em múltiplos critérios de risco para o diabetes e controle glicêmico. Em destaque, as frequências de 36,1%, 27,1% e 36,8% foram associadas, respectivamente, a baixo risco ( $\leq$ 5,7%), pré-diabetes (5,7% a  $\leq$ 6,4%) e diabetes ( $\geq$ 6,5%), para o diabetes mais frequente, o tipo 2. Também foi identificado na amostra que 19,5% apresentaram controle glicêmico inadequado (HbA1c $>$ 8,0%) e 12,4%, com HbA1c $>$ 9,0%, representaram grupo de alto risco de complicações associadas ao diabetes e candidatos à terapia com insulina. Aplicando estatísticas de somas cumulativas (CuSum) e gráficos de controle de qualidade (Shewhart), foram propostos indicadores para monitorar a evolução do diabetes na população em estudo. Considerando 95% de probabilidade ( $\pm$ 2-desvios padrões), propomos que com o tratamento e obtenção da amostra em estudo, frequências anuais de HbA1c $\geq$ 6,5% menores que 34,2%, HbA1c $>$ 8% menores que 15,8% e razão HbA1c  $\geq$ 6,5%/ $>$ 8,0% menor que 1,93 são indicadores de melhora no quadro do diabetes e controle glicêmico no ambiente estudado. As análises realizadas oferecem aos gestores de saúde padrões importantes da HbA1c na população estudada, que podem ser convertidos em conhecimento para gerar ações que possibilitem ou auxiliem novos planejamentos e otimização do controle do paciente com diabetes, associados à melhora da qualidade de vida dos afetados. A HbA1c é um biomarcador estável, com variações analítica e biológica expressivamente pequenas (CV<sub>a</sub> e CV<sub>i</sub>  $<$ 2,0%), comparadas aos demais marcadores, e apresenta potencial para identificar e estabelecer indicadores para o sistema único de saúde (SUS) no monitoramento da evolução do diabetes e do controle glicêmico.

**Palavras-chave:** hemoglobina glicada; indicadores glicêmicos; intervalo de referência; *reference change values* (RCV); *cumulative sum control charts* (CuSum); monitoramento diabetes; SUS.

## ABSTRACT

Diabetes *mellitus* (DM) is a pathological process that affects about 10% of the world population and is associated with high morbidity and mortality. Complications of DM are associated with chronic hyperglycemia. Glycated hemoglobin, fraction A1c (HbA1c), is a biomarker that allows the diagnosis of DM and blood glucose monitoring. HbA1c corresponds to the irreversible and non-enzymatic binding of glucose to the N-terminal valine residues of hemoglobin beta chains. HbA1c captures the weighted average blood glucose from two to three months prior to its measurement. The project objectives were extract, process and analyze records focused on the determination of HbA1c, obtained from the Municipal Laboratory of Curitiba, a public tertiary laboratory linked to the City of Curitiba, State of Paraná, Southern Brazil. The registers, numbering more than 1,000,000, were captured, after approval by the Research Ethics Committee (CAAE 68027317.7.0000.0102) and represent the period from January 2016 to November 2019. After screening the inclusion / exclusion criteria, removal of homonyms and duplicities, the resulting sample size of 122,852 records was analyzed. The sample included individuals with a median age of 60 years (IQR, 48-69) and a prevalence of women (63.4%). HbA1c was quantified by an automated system, using high performance liquid chromatography (HPLC) with an ion exchange column, Variant II Turbo (BioRad Laboratories), and showed CV<sub>a</sub> of 1.6%. The frequency of HbA1c requests grew an average of 28% per year between 2016-2019. As of 2020, this pattern changes due to the implications generated by the COVID-19 pandemic. HbA1c showed a strong (Spearman) correlation with fasting blood glucose ( $r=0.727$ ;  $p<0.001$ ) and a weak correlation with age ( $r=0.329$ ;  $p<0.001$ ). The application of statistics for RCV (reference change values), using the Z-score value of 1.65 (unidirectional), CV<sub>a</sub>=1.6% and CV<sub>i</sub>=1.2%, resulted in RCV=4.6%. Applying the RCV to the cutoff value for diabetes (HbA1c $\geq$ 6.5%), concentrations between 6.2% and 6.8% are in the 95% confidence interval. Therefore, considering the RCV, HbA1c concentrations equal to or greater than 6.2% may indicate diabetes. The construction of a subsample (n=50,714) with removal of HbA1c records with characteristics of alterations in glycemic biomarkers associated with diabetes/inadequate glycemic control, allowed us to estimate, for the sample under study, the confidence interval (95%) for HbA1c between 4.7% and 6.1% (median 5.5%), which has similarities with other studies in relation to the observed median. The frequency of HbA1c concentrations in the study sample was evaluated across multiple risk criteria for diabetes and glycemic control. In particular, frequencies of 36.1%, 27.1% and 36.8% were associated, respectively, with low risk ( $\leq$ 5.7%), pre-diabetes (5.7% to  $\leq$ 6.4%) and diabetes ( $\geq$ 6.5%), for the most frequent type 2 diabetes. It was also identified in the sample that 19.5% had inadequate glycemic control (HbA1c $>$ 8.0%) and 12.4% had HbA1c $>$ 9.0%, represented a high risk group for complications associated with diabetes and candidates for insulin therapy. Applying cumulative sum statistics (CuSum) and quality control charts (Shewhart), indicators were proposed to monitor the evolution of diabetes in the study population. Considering 95% probability ( $\pm$ 2-standard deviations), we propose that with the treatment and obtaining the sample under study, annual frequencies of HbA1c $\geq$ 6.5% lower than 34.2%, HbA1c $>$ 8.0% lower than 15.8% and HbA1c ratio  $\geq$ 6.5%/ $>$ 8.0% lower than 1.93 are indicators of improvement in diabetes and glycemic control in the studied environment. The analyzes performed provide health managers with important HbA1c standards in the population studied, which can be converted into knowledge to generate actions that enable or help new planning and optimization of the control of patients with diabetes, associated with improving the quality of life of those affected. HbA1c is a stable biomarker, with significantly small analytical and biological variations (CV<sub>a</sub> and CV<sub>i</sub>  $<$ 2.0%), compared to other markers, and has the potential to identify and establish indicators for the Unified Health System (SUS) in monitoring the evolution diabetes and glycemic control.

**Keywords:** glycated hemoglobin; glycemic indicators; reference range; reference change values; RCV; CuSum; diabetes monitoring; SUS.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
1.1	CASUÍSTICA	12
1.2	OBJETIVOS	13
1.2.1	Objetivo Geral	13
1.2.2	Objetivos Específicos	13
1.3	JUSTIFICATIVA	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>16</b>
2.1	DIABETES MELLITUS TIPO 2	19
2.1.1	Sinalização da Insulina	21
2.1.2	Patofisiologia do Diabetes mellitus tipo 2	25
2.2	COMPLICAÇÕES DO DIABETES	31
2.3	DIAGNÓSTICO DO DIABETES	33
2.4	PRÉ-DIABETES	36
2.5	HEMOGLOBINA GLICADA - FRAÇÃO A1C (HbA1c)	37
2.5.1	Principais métodos disponíveis para dosagem de HbA1c	50
2.5.2	Principais interferentes na dosagem de HbA1c	57
2.6	DESCOBERTA DE CONHECIMENTO EM BANCO DE DADOS	64
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>66</b>
3.1	AMOSTRA	66
3.2	MÉTODOS	67
3.2.1	Quantificação da hemoglobina glicada (HbA1c)	67
3.2.2	Quantificação da glicemia	67
3.2.3	Hemoglobina total e hemograma	67
3.2.4	Análises da variação analítica e biológica para HbA1c e glicemia de jejum	68
3.2.5	Intervalo de referência	69
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	69
<b>4</b>	<b>FLUXOGRAMA</b>	<b>71</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>72</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>97</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>99</b>
	REFERÊNCIAS	100

## 1 INTRODUÇÃO

Considerado um dos maiores problemas de saúde mundial, o *diabetes mellitus* ou diabetes melito (DM) atingiu níveis alarmantes. Em 2019, eram 463 milhões de diabéticos (9,3% dos adultos com idade entre 20 e 79 anos), sendo que 50,1% deles desconhecia sua condição (SAEEDI et al., 2019). Levando-se em conta apenas países de baixa e média renda, esta porcentagem de desconhecimento sobre a doença era ainda maior (84,3%) (SAEEDI et al., 2019).

Há expectativa de que, em 2030, o número de diabéticos aumente para 578 milhões (10,2%) e, em 2045, para 700 milhões (10,9%) (SAEEDI et al., 2019). Os países em desenvolvimento, responsáveis por 75% dos casos, terão, segundo a SBD - Sociedade Brasileira de Diabetes (2021), o maior aumento de casos previstos para as próximas décadas. Todas as faixas etárias serão atingidas, com destaque para aquela entre 20 e 44 anos, em que a prevalência deverá duplicar (SBD, 2021). Já em países desenvolvidos, o aumento ocorrerá, principalmente, nas faixas etárias mais avançadas, em decorrência do aumento da expectativa de vida e do crescimento populacional (SBD, 2021).

Em 2019, o Brasil foi considerado o quinto país com maior prevalência de diabetes entre adultos com idades entre 20 e 79 anos (16,8 milhões). Projeções mostram que em 2030 e em 2045 ele manterá a mesma posição, com 21,5 milhões e 26 milhões de casos, respectivamente (SAEEDI et al., 2019). Os primeiros da lista foram China (116 milhões), Índia (77 milhões) e Estados Unidos (31 milhões) (SAEEDI et al., 2019).

O aumento da prevalência do diabetes está associado ao envelhecimento populacional, aumento da urbanização (SAEEDI et al., 2019; SBD, 2021), bem como a mudanças nos padrões nutricionais (dietas hipercalóricas) e de atividade física (sedentarismo). Nas últimas décadas, esses fatores levaram o Brasil à quarta posição dentre os países com maior prevalência de obesidade (PRÉCOMA et al., 2019).

Crianças e adolescentes, independente do sexo e classe social, também têm apresentado tendência crescente de sobrepeso e obesidade. Uma porção significativa deles tornar-se-á obesa na idade adulta (PRÉCOMA et al., 2019).

Para se conhecer a carga que o diabetes representa para os sistemas de saúde é necessário avaliar tanto a frequência de novos casos (incidência) como a de

casos existentes (prevalência) (SBD, 2021). A incidência indica o risco médio da população adquirir a doença e, também, serve de parâmetro para avaliação do impacto produzido por medidas de prevenção. Já a prevalência, além de ser indicadora da magnitude do ônus atual que a doença representa para os serviços de saúde e para a sociedade, também pode ser utilizada como preditora dos encargos que as complicações crônicas representarão no futuro (SBD, 2021).

Além de estar entre as dez principais causas de morte em adultos (SAEEDI et al., 2019) - mais de 80.000 mortes por ano no Brasil (SHERWANI et al., 2016) - o diabetes é responsável também por significativa morbidade (JIA, 2016). A doença cardiovascular é a principal causa de óbito entre os pacientes diabéticos (SBD, 2021).

Diabetes e hipertensão arterial sistêmica são as principais causas de mortalidade e hospitalização no SUS (PARANÁ, 2018). Além disso, o diabetes é responsável por 50-70% das amputações não traumáticas de membros inferiores e é a principal causa de cegueira adquirida (PARANÁ, 2018).

Dentre os testes para diagnóstico estão a glicemia em jejum, o teste oral de tolerância à glicose de 2 horas (TOTG 2h), a hemoglobina glicada (HbA1c) e a dosagem de glicose ao acaso, em pacientes que apresentem sintomas (LIM et al., 2018; CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

A inconveniência do grande tempo de espera do TOTG 2h, aliada à variabilidade diária da glicemia (JIA, 2016; WU et al., 2017) e à necessidade de monitoramento tanto do controle glicêmico, quanto do risco do desenvolvimento de complicações decorrentes do diabetes, fizeram com que o número de solicitações de HbA1c tenha crescido consideravelmente (DING et al., 2018).

Nesse contexto, a frase do matemático londrino Clive Humby, especializado em ciências de dados, *“Data is the new oil. It’s valuable, but if unrefined it cannot really be used (...) so must data be broken down, analyzed for it to have value.”* (RIPARI, 2019), mostra uma demanda dos laboratórios clínicos de grande porte: transformar uma grande quantidade de dados gerados em conhecimento para a gestão estratégica dos serviços de saúde, uma vez que a complexidade na extração de informações adequadas e úteis aumentou consideravelmente (SASS et al., 2014).

Localizar os dados não é um problema. Eles já estão à disposição. O desafio está em como fazer bom uso dessa fonte de inesgotáveis possibilidades (RIPARI, 2019), pois só enriquecerão com dados aqueles que souberem utilizá-los e aproveitá-los em todo seu potencial (RIPARI, 2019).

## 1.1 CASUÍSTICA

Na maioria dos países, o diabetes compromete de 5 a 20% do gasto total com saúde (SBD, 2021). O impacto econômico é, portanto, considerável (JIA, 2016). Ele se dá pela maior utilização dos serviços de saúde (maior índice de hospitalização e maior tempo de internação) e necessidade de cuidados prolongados no tratamento das complicações crônicas (SBD, 2021). Como os dados da Organização Mundial de Saúde estimam aumento de casos no Brasil (BEZERRA et al., 2020), estes gastos tendem a aumentar consideravelmente (SBD, 2021).

Nesse contexto, a necessidade de um controle de longo prazo da glicemia de pacientes diabéticos contribuiu para a explosão da popularidade da HbA1c, resultando no desenvolvimento de uma gama de métodos analíticos para dosá-la na rotina laboratorial (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009). A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE; em inglês: HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*) é um dos mais utilizados.

A cidade de Curitiba é formada, principalmente, por imigrantes europeus e compreende 10 regionais de saúde, que abrangem 75 bairros. A rede do Sistema Único de Saúde (SUS) atende usuários das 111 Unidades Básicas de Saúde, Unidades de Pronto Atendimento e hospitais municipais. Estimativas do IBGE (2020) apontaram 1.948.626 habitantes, com IDH de 0,823 (CURITIBA, 2021).

Desde 2014, o HPLC é o método utilizado para o monitoramento dos pacientes diabéticos.

O crescimento do número de casos de diabetes como problema de saúde pública mundial, combinado com fortes evidências em relação à prevenção de Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) - com intervenções medicamentosas e que levem a mudanças de hábitos de vida - mostraram, também, a importância da identificação eficiente de pacientes em risco para desenvolvimento de diabetes (ZHANG et al., 2010).

A identificação de fatores de risco - em especial, dos distúrbios metabólicos - é, portanto, estratégia na prevenção da morbimortalidade. Os estudos epidemiológicos podem propiciar o melhor planejamento de cuidados e recursos destinados à implantação de projetos e medidas que visem à prevenção, ao diagnóstico precoce e ao tratamento eficaz (BOSI et al., 2009).

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Capturar e extrair informações de interesse diagnóstico e padrões da hemoglobina glicada - fração A1c (HbA1c) - em uma população atendida por laboratório terciário da rede pública do Sistema Único de Saúde (SUS), com ênfase no *Diabetes mellitus*.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Capturar registros com elevado tamanho amostral ( $n > 100.000$ ) de banco de dados de laboratório clínico vinculado ao SUS e implementar os processamentos adequados (extração, mineração, pré-processamento, limpeza e transformação) para gerar amostra a ser estudada;
- b) Caracterizar a amostra, com ênfase na HbA1c, considerando os critérios de inclusão/exclusão definidos quanto a biomarcadores glicêmicos e hematológicos;
- c) Estimar e analisar os valores de mudança de referência (RCV, *Reference Change Values*) para a HbA1c e glicemia em jejum;
- d) Estimar, com subamostra adequada, o intervalo de referência para a HbA1c e glicemia em jejum, na população em estudo;
- e) Descrever e analisar as frequências, na população em estudo, de concentrações de HbA1c, considerando diferentes critérios de risco para o diabetes e controle glicêmico; e
- f) Propor, com base na HbA1c, indicadores para monitorar a evolução do diabetes e do controle glicêmico na população em estudo, atendida pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

## 1.3 JUSTIFICATIVA

O diabetes faz parte do grupo de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), juntamente com doenças cardiovasculares, câncer, doenças respiratórias (asma e doença pulmonar obstrutiva crônica) e doenças neuropsiquiátricas

(SOMMER et al., 2015; BRASIL, 2017). Elas levam a incapacidades, alto grau de limitação em atividades em geral, além de morte antes dos 70 anos de idade, gerando grande pressão sobre os serviços de saúde (BRASIL, 2014).

Cavalcanti et al. (2018) constataram que, em Curitiba, a população está sujeita a um gradiente de vulnerabilidade às DCNTs de acordo com idade, sexo, nível educacional e faixa de renda.

Estudo publicado em 2015, com análise retrospectiva de prontuários eletrônicos dos usuários atendidos pelo serviço de clínica farmacêutica do município de Curitiba, do período de abril a junho de 2014, revelou que, dentre os 20 problemas de saúde mais prevalentes, a hipertensão arterial estava em primeiro lugar (83,5%) e o DM2, em segundo (72,7% dos pacientes). Dislipidemia (50,4%) e obesidade (48%) apareceram na sequência (BRASIL, 2015). Dentre os usuários que participaram do estudo 34% praticavam atividade física (BRASIL, 2015)

Entre 2014 e 2015, outro estudo, transversal, baseado em 1.103 habitantes de Curitiba, detectou 21,2% (18,8-23,6) de adultos com obesidade, sendo a maior prevalência entre mulheres com menor escolaridade 24,6% (21,1-28,1) (CAVALCANTI et al., 2018). Mais da metade dos participantes 56,3% (51,2-61,4) não praticavam atividades físicas regularmente (CAVALCANTI et al., 2018).

Diagnóstico do estado nutricional, considerando o IMC, realizado pelo Vigitel, na cidade de Curitiba, mostrou obesidade ( $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ ) em 18,9% (16,3-21,5) dos adultos, sendo 21% (17,3-25,9) do sexo masculino e 16,5% (13,4-19,6) do sexo feminino (BRASIL, 2017). Quanto ao excesso de peso ( $IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$ ), foram 54,2% (50,8-57,5) dos adultos de idade  $\geq 18$  anos, sendo 60,1% (54,8-65,3) do sexo masculino e 49% (44,7-53,3) do feminino (BRASIL, 2017). O excesso de peso aumentou com a idade até os 64 anos (BRASIL, 2017).

A obesidade é caracterizada pela inflamação crônica no tecido adiposo e, também, por disfunção mitocondrial (HOLT et al., 2017). A inflamação causa ativação de macrófagos, seguida da produção de fatores parácrinos e/ou endócrinos, que induzem resistência à insulina em células-alvo, como adipócitos e hepatócitos (PETERSEN; SHULMAN, 2018). Portanto, está fortemente associada ao DM2 (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

Brasil (2015) constatou mediana da idade dos pacientes atendidos pela rede pública de saúde de Curitiba de 66 anos (58-73), renda mensal média de R\$ 780,00,

índice de massa corporal (IMC) de 30 kg/m<sup>2</sup> (26-34) e a maioria (82,6%) gerenciava sua medicação de forma autônoma (BRASIL, 2015).

Mais de 99% dos usuários atendidos na primeira consulta farmacêutica apresentaram problemas relacionados ao uso dos medicamentos (BRASIL, 2015). Dentre os mais comuns, os problemas ligados à necessidade de automonitorização ou exame laboratorial foram encontrados em 80,2% e 58,4% dos usuários, respectivamente (BRASIL, 2015).

Cada usuário utilizava, em média, 7 medicamentos. A metformina (antidiabético oral da classe das biguanidas) estava sendo utilizada por 59,1% deles, a insulina NPH por 40,2%, a insulina regular por 21,4% e a glibenclamida (antidiabético da classe das sulfonilureias), por 16% (BRASIL, 2015).

Cavalcanti et al. (2018) encontraram maior prevalência de doenças crônicas com o aumento da idade: 32,9% (30,1-37,7) para adultos de 18 a 39 anos e 33% (30,2-35,8) para maiores de 60 anos. Apesar disso, o consumo abusivo de álcool e a dieta inadequada foram menos prevalentes no grupo de idosos em relação ao de adultos jovens (18 a 39 anos) (CAVALCANTI et al., 2018).

Diante desta realidade, verificou-se a necessidade de informações para tomada de decisões estratégicas, pelos gestores públicos (SASS et al., 2014). O interesse na descoberta de conhecimento em grandes bases de dados surge então para tornar possível a análise e extração de padrões para melhoramento das políticas públicas, a partir de uma grande quantidade de informação presente nos bancos de dados (SASS et al., 2014).

Portanto, é necessário que existam profissionais preparados para lidar com ferramentas computacionais para utilizá-los com todo seu potencial (RIPARI, 2019).

A utilização das dosagens de HbA1c no laboratório municipal, portanto, mostrou-se vantajosa por se tratar de um marcador amplamente utilizado e que está relacionado às complicações do diabetes (DIMEGLIO et al., 2018), em especial, às complicações microvasculares (JIA, 2016).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

O *Diabetes mellitus* (DM), também designado diabetes melito, é definido pela Sociedade Brasileira de Diabetes, seguindo outras diretrizes internacionais, como um “distúrbio metabólico caracterizado por hiperglicemia persistente, decorrente de deficiência na produção de insulina ou na sua ação, ou em ambos os mecanismos” (SBD, 2021).

O DM é uma doença crônica complexa, que requer cuidados à saúde contínuos, além do controle glicêmico (ADA, 2022).

A hiperglicemia crônica está diretamente associada a danos de longo prazo, tais como disfunção e falência de vários órgãos (olhos, rins, nervos, coração, vasos sanguíneos) (DING et al., 2018; BEZERRA et al., 2020) e, também, ao aumento da morbidade, mortalidade, bem como a redução da qualidade de vida (SBD, 2021).

A classificação do DM proposta nas diferentes diretrizes internacionais está fundada na etiologia ou etiopatogenia do processo patológico. A Figura 1 sumariza os principais tipos de diabetes e os critérios diagnósticos (SBD, 2021; ADA, 2022).

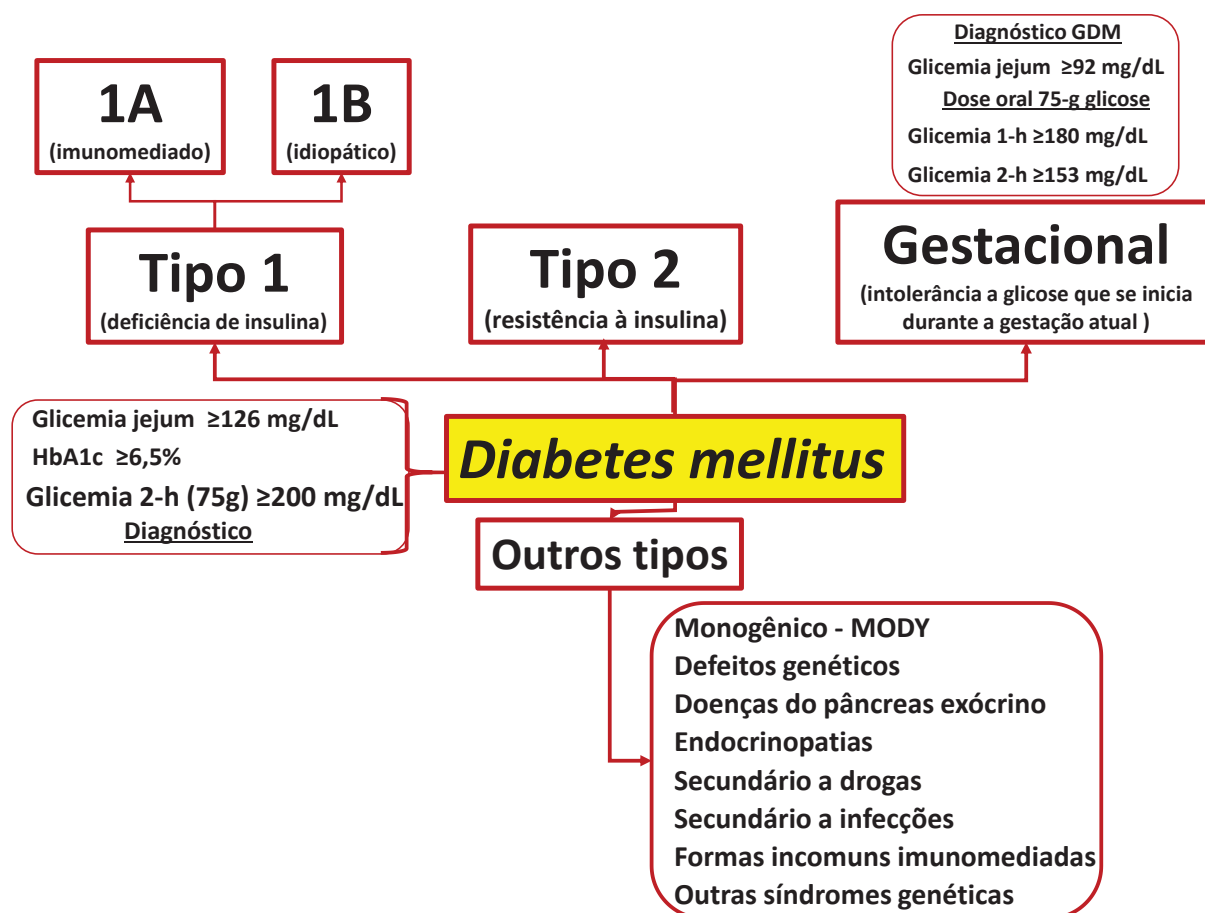
Entre os principais tipos de diabetes, o tipo 2 representa mais de 90% dos afetados, enquanto o tipo 1 cerca de 10% do total. Quanto ao diabetes gestacional (DMG), este pode afetar 10% ou mais das gestações (SBD, 2021).

A prevalência do DM apresenta ampla variação entre as diferentes populações. Países de alta, média e baixa renda, apresentaram, em 2019, 10,4%, 9,5% e 4%, respectivamente. Para 2045, a projeção é, na ordem citada, de 11,9%, 11,8% e 4,7% (SAEEDI et al., 2019).

Considerando o gênero, a prevalência mundial, em 2019, foi estimada em 9% para mulheres e 9,6% para homens, entre 20 e 79 anos (SAEEDI et al., 2019). Considerando o aumento de casos com a idade, os autores chegaram a 19,9% (111,2 milhões) de diabéticos com idades entre 65 e 79 anos (SAEEDI et al., 2019).

O Ministério da Saúde do Brasil implantou, em 2006, o Vigitel (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico), que visa obter dados a partir de inquérito telefônico de adultos com idade maior ou igual a 18 anos, em todas as capitais do país e do Distrito Federal (BRASIL, 2017). A atualização contínua dos indicadores é imprescindível para o monitoramento das metas previstas no Plano Brasil 2011-2022 (BRASIL, 2017).



FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO ETIOLÓGICA DO *DIABETES MELLITUS* E CRITÉRIOS DIAGNÓSTICO

Descrição dos principais tipos de diabetes e critérios diagnósticos com base na glicemia.  
 FONTE: Adaptado de ADA (2022); SBD (2021).

Dados obtidos pelo sistema governamental Vigitel em 2016 evidenciaram, no período, que 9,6% (95%IC; 8,1-11,2) dos adultos maiores de 18 anos referiam diagnóstico de diabetes no município de Curitiba, estado do Paraná (Brasil), sendo 9,3% (7-11,6) de homens e 9,9% (7,8-12) de mulheres (BRASIL, 2017).

O diagnóstico precoce e o manejo correto para o tipo de diabetes mais frequente, o tipo 2 (DM2), ao contribuírem para o aumento da expectativa de vida dos pacientes e diminuição das mortes prematuras, também foram responsáveis pelo aumento da prevalência total da doença (SAEEDI et al., 2019).

O Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs), no Brasil, no período de 2011-2022, instituiu metas a serem monitoradas para redução de DCNTs pactuadas com a Organização Mundial da Saúde-OMS (BRASIL, 2014). No Plano Brasil 2011-2022 são abordados os quatro principais grupos de DCNT (diabetes, doenças do aparelho circulatório, câncer e doenças respiratórias crônicas) e seus principais fatores de risco (tabagismo,

consumo abusivo de álcool, inatividade física, alimentação inadequada e obesidade) (MALTA; SILVA JR, 2013).

Os indicadores do Vigitel mostraram variação temporal significativa e desfavorável do percentual de adultos que referiram diagnóstico médico de diabetes em todas as capitais do país, além do Distrito Federal, de 2006 (5,5%) a 2016 (8,9%). O mesmo ocorreu com o excesso de peso (42,6% a 53,8%) e obesidade (11,8% a 18,9). Os dados da hipertensão arterial foram avaliados de 2012 (24,3%) a 2016 (25,7%). Por outro lado, o percentual de fumantes evoluiu favoravelmente, com diminuição de 15,7%, em 2006 para 10,2%, em 2016 (BRASIL, 2017).

A inatividade física (indivíduo que não praticou atividade física no tempo livre nos últimos três meses e que não realiza esforço físico intenso no trabalho, não se desloca para o trabalho ou escola caminhando ou de bicicleta e que não participa da limpeza pesada de sua casa) foi de 14% (11,7-16,4) entre os adultos de Curitiba, distribuídos em 14,5% (10,9-18,1) entre os homens e 13,7% (10,5-16,8) entre as mulheres (BRASIL, 2017).

A frequência de consumo de bebidas alcoólicas (ingestão de quatro ou mais doses para mulheres e cinco ou mais doses para homens, em uma mesma ocasião dentro dos últimos 30 dias) foi de 15,9% (13,3-18,5), divididos entre 23,3% (18,7-27,8) de homens e 9,5% (6,6-12,3) de mulheres (BRASIL, 2017). A frequência de fumantes em Curitiba foi de 14% (11,7-16,3), sendo 17,8% (13,9-21,6) entre homens e 10,7% (8,0-13,4) entre mulheres (BRASIL, 2017). O tabagismo e a exposição passiva ao tabaco são importantes fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas como câncer, doenças pulmonares e cardiovasculares (BRASIL, 2017).

Estima-se que a eliminação de fatores de risco (inatividade física, alimentação não saudável, consumo excessivo de álcool e tabagismo) poderia prevenir 80% das cardiopatias, acidentes vasculares cerebrais e DM2, além de mais de 40% de casos de câncer (PARANÁ, 2018).

Como a maioria dos indivíduos com DM2 apresenta obesidade, hipertensão arterial e dislipidemia, as intervenções devem abranger as múltiplas anormalidades metabólicas, a fim de se evitar, além do diabetes, doenças cardiovasculares (SBD, 2021).

A prevenção se dá com mudanças nos hábitos de vida (planejamento alimentar, atividades físicas regulares) e terapia medicamentosa (DE LADE et al., 2016; SAEEDI et al., 2019). O desafio está no desenvolvimento de estratégias para

prevenção em indivíduos sob alto risco de desenvolvimento da doença. As tentativas feitas até o momento têm como alvo os fatores de risco modificáveis mais importantes, como hábitos alimentares não saudáveis e inatividade física, que são determinantes do sobrepeso e obesidade (SAEEDI et al., 2019).

Segundo Paraná (2018), o programa de prevenção do diabetes demonstrou que, em pessoas obesas, a perda de peso e a prática regular de atividade física foram mais efetivas na redução da incidência de DM2 (58%) do que o uso de metformina (31%), quando comparadas ao grupo controle. Ainda, este estudo demonstrou que o grupo que utilizou a metformina retardou o aparecimento de DM2 em três anos, enquanto o grupo que mudou o estilo de vida, esse período foi de onze anos (PARANÁ, 2018). A perda de peso significativa ( $\geq 5\%$  do peso inicial) acarreta melhora nos níveis de pressão arterial, LDL-c, triglicerídeos e glicose, retardando o aparecimento do DM2 (PRÉCOMA et al., 2019).

Levando-se em conta que além do tratamento e das ações de cuidado ao diabético (incentivo à atividade física e alimentação saudável) os exames de controle glicêmico (HbA1c e glicemia em jejum) também estão disponíveis na rede pública de saúde, o monitoramento dos biomarcadores pode ser mais uma ferramenta para a consolidação de propostas de manejo adequado dos pacientes pelos agentes públicos de saúde, reduzindo custos ao sistema de saúde.

O estudo em tela analisa registros de laboratório clínico, de elevado tamanho amostral. Considerando a elevada proporção do diabetes tipo 2, é possível supor que este diabetes é captado preferencialmente nos resultados.

## 2.1 DIABETES *MELLITUS* TIPO 2

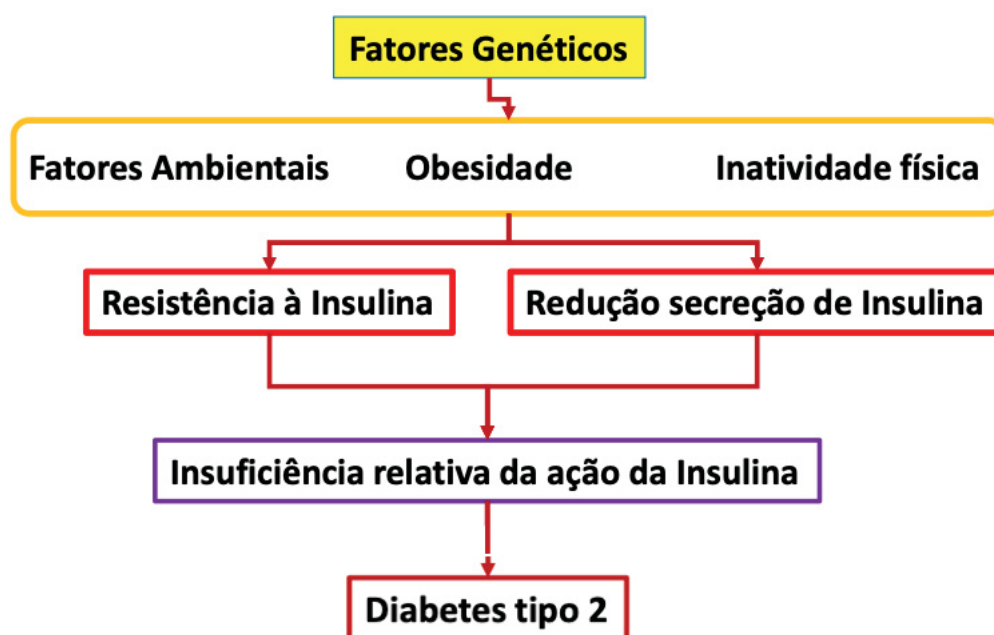
A classificação do diabetes *mellitus* baseia-se na sua etiologia (ADA, 2022) e está sumarizada na Figura 2.

O DM2 é responsável por 90 a 95% de todos os casos (SAEEDI et al., 2019; SBD, 2021). Possui etiologia complexa e multifatorial, que envolve componentes genéticos e ambientais (Figura 2) (KAKU, 2010; ZHENG; LEY; HU, 2017; SBD, 2021).

Dentre os fatores genéticos que acarretam disfunção das células  $\beta$  pancreáticas estão mutações em proteínas envolvidas na regulação do metabolismo da glicose, processamento ou secreção da insulina, no gene da glicoquinase, no DNA mitocondrial e em certos tRNA (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002; KAKU, 2010).

Mutações de ponto na região codificadora do gene da insulina resultam em insulina estruturalmente anormal, níveis de pró-insulina anormais ou decréscimo da conversão de pró-insulina à insulina (MAHLER; ADLER, 1999; CHATTERJEE; SCOBIE, 2002). Mutações no receptor da insulina são raras e podem causar resistência à insulina severa (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002). É, portanto, uma doença poligênica, com forte herança familiar (REIS; VELHO, 2002; SBD, 2021).

FIGURA 2 - ETIOLOGIA E PATOFISIOLOGIA DO DIABETES TIPO 2



Sumário dos principais fatores de risco associados ao DM2.  
 FONTE: Modificado de KAKU (2010).

A resistência à insulina no DM2 pode envolver redução no número de receptores de insulina (secundária à hiperinsulinemia e hiperglicemia), redução da atividade tirosina-quinase ou devido a anormalidades nos receptores (proteínas transportadoras de glicose) (OZOUGWU et al., 2013). Os genes que codificam o GLUT2 (expresso no fígado e nas células  $\beta$ -pancreáticas) e o GLUT4 (expresso no músculo esquelético e adipócitos) são candidatos à suscetibilidade genética do DM2 (OZOUGWU et al., 2013).

Os fatores ambientais (obesidade, dieta hipercalórica, inatividade física, estresse, consumo abusivo de álcool, fumo e idade avançada) são fatores de risco independentes (SBD, 2021).

Outros fatores de risco incluem história familiar da doença, diabetes *mellitus* gestacional (DMG) e presença de componentes da síndrome metabólica, tais como

hipertensão arterial e dislipidemia (SBD, 2021). 80 a 90% dos casos estão associados ao excesso de peso e a outros componentes da síndrome metabólica (SBD, 2021).

Na maioria das vezes, o DM2 é assintomático ou oligossintomático por longo período, sendo o diagnóstico realizado por dosagens laboratoriais de rotina ou manifestações das complicações crônicas. Com menor frequência, os pacientes apresentam sintomas clássicos de hiperglicemia (poliúria, polidipsia, polifagia e emagrecimento inexplicado) (SBD, 2021).

Indivíduos com sinais e sintomas devem realizar exames para confirmação diagnóstica de DM2. Os assintomáticos que tiverem fatores de risco devem ser rastreados para garantir o diagnóstico precoce. Se a investigação laboratorial for normal, sugere-se repetição do rastreamento em intervalos de 3 anos (SBD, 2021).

### 2.1.1 Sinalização da Insulina

Em condições fisiológicas normais, as concentrações plasmáticas de glicose são mantidas em uma faixa estreita de valores, apesar das flutuações geradas no suprimento e na demanda, por meio da interação dinâmica e regulada entre a secreção de insulina e a sensibilidade dos tecidos a ela (especialmente o fígado) (OZOUGWU et al., 2013).

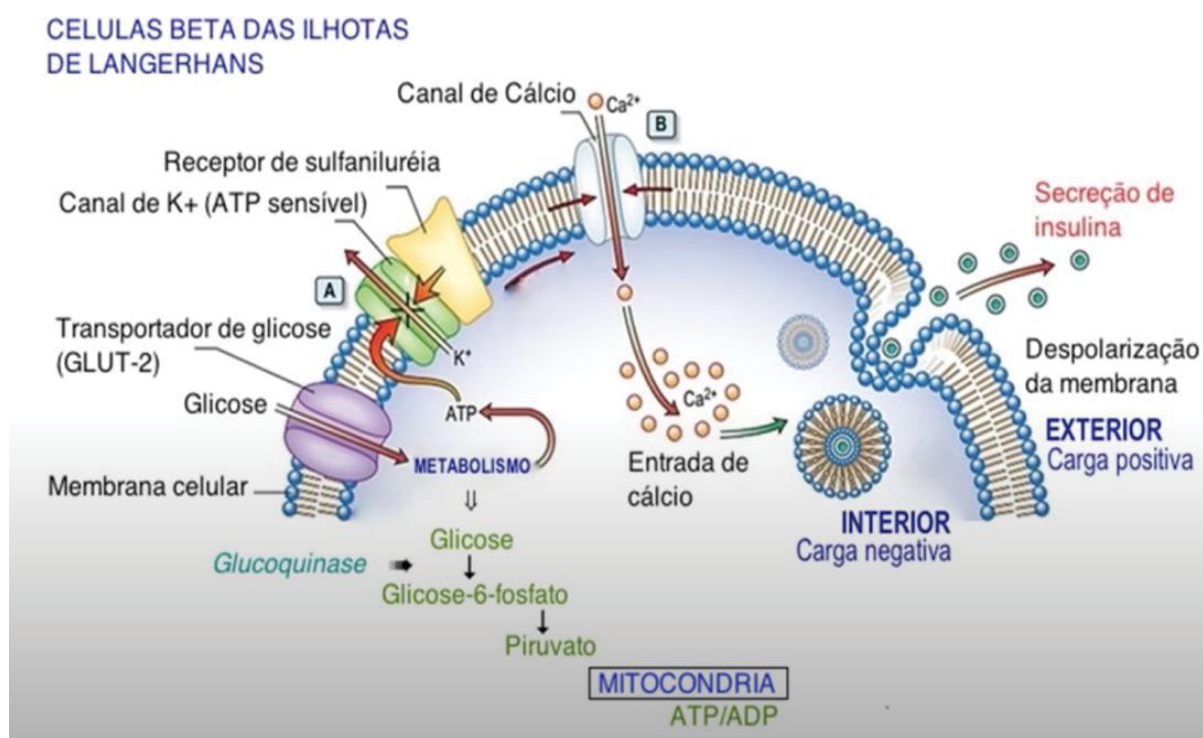
Assim, um rápido aumento na glicemia (em resposta à glicose ou devido à ingestão alimentar) induz secreção da insulina em duas fases. A primeira delas inicia-se rapidamente e é transitória (5 a 10 minutos), caracterizando um pico de secreção. Ela tem importante papel na inibição da produção endógena de glicose pelo fígado (HOLT et al., 2017).

A segunda fase ocorre mais lentamente e persiste enquanto os níveis de glicose permanecerem elevados. Ela é responsável pela maior parte da insulina liberada (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002; HOLT et al., 2017).

O início da resposta à insulina depende tanto da ligação da glicose ao seu receptor, quanto do seu transporte transmembrana (MAHLER; ADLER, 1999). A glicose é transportada para dentro das células  $\beta$  por meio de um transportador de glicose 2 (GLUT2 - *Glucose Transporter 2*), que tem baixa afinidade pela glicose, permitindo um rápido equilíbrio entre as concentrações de glicose intra e extracelular (HABER et al., 2001; HOLT et al., 2017).

Uma vez dentro das células  $\beta$ , a glicose é prontamente fosforilada pela glicocinase, permitindo sua entrada na via glicolítica, levando à geração de adenosina tri-fosfato (ATP), o principal responsável pela indução da secreção de insulina. O aumento citosólico de ATP leva ao fechamento de canais de  $K^+$  sensíveis ao ATP e à despolarização da membrana plasmática, causando a abertura de canais de  $Ca^{2+}$  voltagem-dependentes. O consequente aumento do  $Ca^{2+}$  intracelular estimula a fusão das vesículas armazenadoras de insulina e dispara a exocitose (liberação dos grânulos de insulina para o sangue) (figura 3) (HABER et al., 2001; HOLT et al., 2017).

FIGURA 3 - MECANISMO DE LIBERAÇÃO DA INSULINA



FONTE: Diabetes *mellitus*, insulino terapia, hipoglicemiantes orais. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/109632236-Diabetes-mellitus-insulino-terapia-hipoglicemiantes-orais.html>>. Acesso em: 24 ago, 2020.

A insulina exerce seus efeitos fisiológicos ligando-se a receptores INSR (*Insulin Receptor*) na membrana plasmática das células-alvo. Esses receptores são heterotetraméricos, formados por duas subunidades  $\alpha$  extracelulares, que contêm os sítios de ligação à insulina, e duas subunidades  $\beta$  transmembrana, que contêm domínios tirosina-quinase (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

A cascata de sinalização desencadeada pela ativação de INSR pode ser dividida em metabólica e mitógena. A sinalização metabólica atua recrutando

proteínas ligantes de fosfato que, por sua vez, ativam demais efetores para propagar e amplificar a resposta. A mitógena envolve a ativação da via das proteínas quinases ativadoras de mitógenos (MAPK), comum a muitas vias de receptores tirosina-quinase (JÚNIOR, 2017; PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Após a ligação do substrato ao receptor, ocorre fosforilação de resíduos de tirosina de proteínas citoplasmáticas IRS (*Insulin Receptor Substrate*), que recrutam efetores sinalizadores para propagar e amplificar a resposta (JÚNIOR, 2017; PETERSEN; SHULMAN, 2018). As isoformas IRS1 e IRS2 as responsáveis por mediar os principais efeitos metabólicos (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

A fosforilação de IRS é, também, um dos principais mecanismos de resistência à insulina (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Proteínas IRS fosforiladas nos resíduos de tirosina recrutam PI3K (fosfatidilinositol 3-quinase), que contém uma unidade reguladora e outra catalítica. A PI3K catalisa a produção de fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3) a partir de PIP2 (fosfatidilinositol 4,5-bifosfato) (HABER et al., 2001; PETERSEN; SHULMAN, 2018).

PIP3, por sua vez, recruta proteínas com domínios fosfato, dentre elas a PDK1 (quinase-1 dependente de fosfoinositol) e a AKT (proteína quinase B). Após se ligar ao PIP3, a AKT é ativada, tendo papel importante na regulação do metabolismo (PETERSEN; SHULMAN, 2018) porque medeia a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática e regula a produção de glicose pelo fígado a partir dos ácidos graxos (HOLT et al., 2017). A inibição da PI3K cessa o transporte de glicose estimulado pela insulina (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Apesar de muitas células somáticas expressarem receptores da insulina, seu papel na homeostase glicêmica se dá tipicamente por seus efeitos diretos no músculo esquelético, fígado e tecido adiposo. Esses tecidos têm diferentes papéis na homeostase metabólica; no entanto, os principais componentes da via de transdução de sinal da insulina são similares entre eles (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

A ativação do receptor de insulina e recrutamento/fosforilação de proteínas sinalizadoras, mais especificamente IRS, PI3K e AKT, iniciam a resposta à insulina (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

A atenuação da sinalização é dada pela internalização do receptor e defosforilação. Um regulador da internalização de INSR é o CEACAM1 (*Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1*), que também é um

substrato para INSR. A defosforilação do INSR é dada pelas proteínas tirosinafosfatases (PTPases), especialmente PTP1B (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Imediatamente após a ativação pela insulina, INSR inibe a atividade de PTP1B, ativando NAD(P)H oxidase 4 (NOX4). O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gerado pela NOX-4 também inibe a atividade de PTP1B, provendo amplificação da primeira fase de sinalização da insulina (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

No fígado, os substratos de AKT incluem GSK3 (glicogênio sintase quinase-3), que regula a síntese de glicogênio; fatores de transcrição FOXO1 (*Forkhead Box O1*), que regulam a expressão de genes da gliconeogênese; e múltiplos reguladores da atividade de mTORC1 (*mechanistic Target of Rapamycin Complex 1*), que controla a programação anabólica, aumentando a expressão de genes lipogênicos e a síntese de proteínas (PETERSEN; SHULMAN, 2018). A óxido nítrico sintase (ENOS) - que estimula a síntese de NO e vasodilatação - também é um substrato de AKT (HOLT et al., 2017).

No fígado ocorrem, então, os efeitos anabólicos da insulina, que consistem em síntese de macromoléculas (proteínas, lipídeos e glicogênio). O estímulo da síntese de glicogênio é a maior função fisiológica direta da insulina pós-prandial nos hepatócitos (PETERSEN; SHULMAN, 2018). Além disso, a insulina reduz a síntese hepática de glicose (diminui a expressão de genes gliconeogênicos) (FREEMAN, 2014; PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Nos tecidos muscular esquelético e adiposo, a maior concentração de transportadores de glicose é do tipo GLUT4. 90% deles encontram-se em vesículas intracelulares. Quando a célula é estimulada por insulina ou exercício físico, estas vesículas são translocadas até a membrana celular, fundem-se a ela, acarretando aumento do número de transportadores e da taxa de transporte da glicose para o interior da célula. O comprometimento deste processo leva a um menor aproveitamento da glicose pelos tecidos, com consequente elevação da glicemia plasmática (HOLT et al., 2017).

No músculo esquelético, a insulina promove a utilização da glicose (glicólise) e seu armazenamento na forma de glicogênio. Ela regula positivamente a transcrição da hexoquinase II (primeira enzima glicolítica), controlando a glicólise (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Nos adipócitos, a insulina também estimula a expressão do GLUT4 por mecanismo dependente de IRS1, PI3K e AKT. A capacidade de a insulina controlar a



concentração plasmática de ácidos graxos, pela PKA (proteína quinase A), suprimindo a lipólise, é crítica para manter a euglicemia, pois os ácidos graxos são reguladores da gliconeogênese hepática (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

A insulina também inativa a lipoproteína lipase (LpL), que age localmente em tecidos-alvo para hidrolisar triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol. Nos músculos, os ácidos graxos são oxidados para obtenção de energia; no tecido adiposo, eles são reesterificados e armazenados como triacilgliceróis (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Os ácidos graxos controlam a seleção do substrato oxidativo no músculo esquelético de acordo com aquele que estiver em maior quantidade: a disponibilidade de ácidos graxos promove oxidação de gordura e inibição da oxidação de glicose e vice-versa (HABER et al., 2001; PETERSEN; SHULMAN, 2018). Esse controle torna eficiente oxidação da glicose no estado alimentado e dos ácidos graxos no estado de jejum (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

### 2.1.2 Patofisiologia do Diabetes *mellitus* tipo 2

Mudanças sutis na dinâmica da secreção de insulina podem gerar efeitos críticos na sua ação ou na sua efetividade (MAHLER; ADLER, 1999; CHATTERJEE; SCOBIE, 2002; KAKU, 2010). No DM2, os mecanismos de regulação falham e, como consequência, aparecem os dois principais defeitos patológicos: secreção de insulina prejudicada (devido à disfunção das células  $\beta$  pancreáticas) e defeito na sua ação (devido à resistência à insulina) (OZOUGWU et al., 2013).

A insulina plasmática requer oscilações de 5 a 10 minutos para sinalização hormonal. No diabetes tipo 2, a regularidade das oscilações desaparece, levando a uma regulação negativa do receptor da insulina e intolerância à glicose (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

A resistência à insulina é compensada pelo aumento de sua secreção pelas células  $\beta$  (MAHLER; ADLER, 1999; CHATTERJEE; SCOBIE, 2002). Assim, o DM2 desenvolve-se assintomaticamente ao longo de anos (HOLT et al., 2017). A patofisiologia é caracterizada pela resistência periférica à insulina, desregulação da produção de glicose pelo fígado e diminuição progressiva da função das células  $\beta$ , podendo levá-las à exaustão. Consequentemente, a hiperglicemia de jejum aparece (MAHLER; ADLER, 1999; CHATTERJEE; SCOBIE, 2002). Pacientes com diabetes

manifesta (obesos ou magros) produzem insulina em quantidades menores (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

Como a hiperglicemia, a elevação de ácidos graxos livres também prejudica a função das células  $\beta$ , inibindo a secreção de insulina (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002). Logo, o prejuízo na secreção de insulina é progressivo e envolve glicose e lipotoxicidade. Com a progressão da doença, ocorre disfunção das células  $\beta$  e perda do controle a longo prazo da glicemia. Enquanto os pacientes em estágios iniciais da doença apresentam aumento da glicemia pós-prandial - decorrente da diminuição da secreção da insulina na fase inicial e, também, do aumento da resistência a ela - o progresso da disfunção das células  $\beta$  pancreáticas causa elevação permanente da glicemia (KAKU, 2010). Isso ocorre porque no curso da doença, a segunda fase da resposta à insulina também fica prejudicada (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002) e o nível de insulina declina, indicando que ocorre diminuição da secreção de insulina (OZOUGWU et al., 2013).

A fase pré-sintomática, detectada pela glicemia de jejum alterada e pela intolerância à sobrecarga de glicose, pode perdurar por 10 a 12 anos (HOLT et al., 2017). Apesar de nem todos esses indivíduos evoluírem para DM2, a prevalência de diabetes neste grupo é maior do que na população em geral (HOLT et al., 2017).

A estimulação crônica das células  $\beta$  resulta em aumento na síntese do polipeptídeo amiloide (IAPP - *Islet Amyloid Polypeptide*), que participa da patogênese do DM2. Ele é cossecretado com a insulina e sua produção se dá paralelamente à da pró-insulina. O IAPP pode formar agregados e fibrilas insolúveis, levando à deposição de placas amiloides que desencadeiam resposta inflamatória, recrutando macrófagos e levando as células  $\beta$  à apoptose. O mecanismo pelo qual o IAPP gera dano às células  $\beta$  não é completamente conhecido (HOLT et al., 2017).

A placa amiloide substitui, progressivamente, a massa das células  $\beta$ . Pacientes com depósito amiloide extenso geralmente requerem insulina, pois a deposição amiloide prejudica a função das ilhotas podendo, portanto, ser importante no declínio de secreção de insulina nos estágios posteriores da doença (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

A deposição amiloide já foi encontrada em outras condições hipersecretoras, como obesidade não-diabética e insulinoma, com nenhum impacto negativo aparente na função das células  $\beta$ . Uma possibilidade de explicação para este paradoxo é que

o efeito negativo possa exigir a concomitante glicolipototoxicidade, que pode prejudicar a conectividade entre as células das ilhotas, possivelmente pela regulação negativa de conexina 36 (as células das ilhotas são interconectadas por junções *gap* acopladas via conexina 36, moléculas de adesão e integrinas) (HOLT et al., 2017).

Em consonância com esta hipótese está a observação das placas amiloides em mais e 90% das pessoas com DM2, sendo que o grau de deposição correlaciona-se com a duração e severidade da doença (HOLT et al., 2017).

#### 2.1.2.1 Resistência à insulina

A resistência à insulina é uma condição na qual a insulina não exerce seus efeitos biológicos em concentrações efetivas, como o faz em indivíduos normais (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002; KAKU, 2010). O prejuízo de sua ação é maior no fígado e nos músculos e desenvolve-se antes do início da doença (KAKU, 2010).

Ela ocorre por defeitos no receptor (decréscimo da expressão de INSR na superfície das células) ou devido a prejuízo na transdução de sinal (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Muitos fatores contribuem para a resistência à insulina, dentre eles destacam-se fatores genéticos (transmitida como traço poligênico), obesidade, idade avançada, inatividade física, aumento de dietas hipercalóricas e de baixo teor de fibras (OZOUGWU et al., 2013). Causas adquiridas incluem má-nutrição *in útero* e na primeira infância, gestação, drogas e atividade física insuficiente (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

A resistência à insulina no fígado afeta o metabolismo de todos os macronutrientes (PETERSEN; SHULMAN, 2018). Ela acarreta aumento da produção hepática de glicose e diminuição da síntese de glicogênio (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

No músculo esquelético, a resistência à insulina se deve a defeitos no receptor INSR, PI3K e atividade de AKT, prejudicando a cascata de fosforilação (PETERSEN; SHULMAN, 2018). Ocorre inibição da captação de glicose, devido à diminuição da translocação dos receptores GLUT4, bem como da utilização da glicose e da produção de glicogênio (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

Nos adipócitos, por sua vez, a resistência à insulina se dá pela falha na supressão da lipólise. Como consequência, aumentam os níveis plasmáticos de

ácidos graxos e glicerol, que serão utilizados para a síntese de triglicerídeos no fígado (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002). O aumento de ácidos graxos no plasma é, portanto, preditor da incidência de DM2 (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

#### 2.1.2.2 A obesidade

A obesidade é caracterizada pela expansão do tecido adiposo, por meio de hiperplasia e hipertrofia, que levam a estresse homeostático devido ao aumento de morte dos adipócitos e hipóxia tecidual. Os sinais quimiotáticos gerados podem estimular o sistema imune, recrutando macrófagos e células T (HOLT et al., 2017; PETERSEN; SHULMAN, 2018). Para compensar a diminuição da pressão de oxigênio ocorre aumento da produção de fatores pró-angiogênicos pelo tecido adiposo, tais como VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor* - fator de crescimento endotelial vascular) (HOLT et al., 2017).

Os macrófagos do tecido adiposo formam estruturas semelhantes a uma coroa em torno dos adipócitos mortos e secretam citocinas inflamatórias, tais como  $TNF\alpha$  (Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$ ) e  $IL1\beta$  (Interleucina 1 $\beta$ ), com efeitos autócrinos, parácrinos e endócrinos, que promovem resistência à insulina (PETERSEN; SHULMAN, 2018). Tem-se, assim, o passo inicial para a aterosclerose (HOLT et al., 2017).

Células Natural Killer (NK) residentes no tecido adiposo visceral, que detectam o estresse no tecido adiposo, também promovem a ativação de macrófagos por meio de Interferon $\gamma$  ou  $TNF\alpha$  (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

O  $TNF\alpha$  é uma citocina que reduz a expressão e atividade da lipoproteína-lipase. Além disso, inibe a captação de glicose por causar prejuízos na sinalização da insulina (estimula a fosforilação do IRS1 no resíduo 307 de serina, que inibe a transdução do sinal aos demais elementos da via), levando à supressão da expressão de GLUT4 (HOLT et al., 2017; ALZAMIL, 2020). Ademais, ele ativa a via NF $\kappa$ B (fator nuclear  $\kappa$ B), no tecido adiposo, que leva ao aumento da expressão de proteínas pró-inflamatórias, como IL6, IL8 e MCP1 (proteína quimiotática 1 dos monócitos).  $TNF\alpha$  e IL6 afetam o tempo de vida e a função das células  $\beta$  (HOLT et al., 2017).

O  $TNF\alpha$  também reduz a expressão de adiponectinas (proteínas abundantemente expressas nos adipócitos, que exercem ações antidiabéticas e anti-ateroscleróticas) (HOLT et al., 2017).

Muitas outras células imunes contribuem para a inflamação no tecido adiposo. As primeiras células que infiltram no tecido adiposo após ingestão de alimentos ricos em gordura são os neutrófilos, que exercem papel-chave no recrutamento e ativação de macrófagos (PETERSEN; SHULMAN, 2018).

A leptina (proteína liberada pelos adipócitos, que regula o peso corporal pela inibição do apetite, por meio do aumento do metabolismo) também está aumentada na obesidade e tem papel essencial no recrutamento de macrófagos ao tecido adiposo (HOLT et al., 2017; ALZAMIL, 2020). A ativação de receptores de leptina nas células  $\beta$  inibe a secreção de insulina, afeta a proliferação, apoptose e tamanho das células  $\beta$  (HOLT et al., 2017).

Por outro lado, as adipocinas (substâncias bioativas derivadas de adipócitos, como a adiponectina) melhoram a resistência à insulina (KAKU, 2010). A adiponectina é uma proteína secretada pelos adipócitos que circula em oligômeros de alto peso molecular em concentrações de 5-10 $\mu$ g/mL. Suas concentrações são baixas em obesos, portanto, são usadas como marcador de disfunção do tecido adiposo. Elevações agudas da adiponectina plasmática (>100 $\mu$ g/mL) reduzem a produção de glicose hepática (HOLT et al., 2017).

O tecido adiposo visceral apresenta maior acúmulo de linfócitos e macrófagos, indicando maior atividade pró-inflamatória. Possui mais vasos sanguíneos e densidade nervosa, apresentando, portanto, atividade metabólica maior que os adipócitos subcutâneos. Dessa forma, a gordura abdominal (obesidade central) predispõe risco aumentado para o desenvolvimento de DM2 e outras complicações metabólicas e cardiovasculares (HOLT et al., 2017).

O tecido adiposo visceral drena à veia porta; assim, o fígado é diretamente exposto aos ácidos graxos livres liberados pelo acúmulo de gordura, promovendo resistência à insulina no fígado (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002; HOLT et al., 2017).

A obesidade central é, em parte, herdada, mas também está associada ao sedentarismo. Genes relacionados à obesidade incluem os que codificam enzimas metabólicas que podem levar à resistência à insulina no músculo esquelético (glicogênio sintase) (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002). A inatividade física é acompanhada de diminuição da massa muscular, induz resistência à insulina e está intimamente associada a pacientes de maior idade (KAKU, 2010). Outros fatores incluem: baixo peso ao nascer decorrente de desnutrição proteica e deficiências em

aminoácidos específicos tróficos para a célula  $\beta$ , levando à diminuição do número ou da função das células  $\beta$  em estágios críticos do desenvolvimento (CHATTERJEE; SCOBIE, 2002).

A maioria dos pacientes com DM2 que tem resistência à insulina é obeso. Ainda, a resistência à insulina é encontrada em hipertensos, pacientes com hiperlipidemia e doença coronária isquêmica (doenças encontradas em associação ao diabetes) (MAHLER; ADLER, 1999).

Sobrepeso e obesidade representam, assim, os mais importantes fatores de risco modificáveis para DM2 (HOLT et al., 2017). A dieta é importante na prevenção e no tratamento de todos os estágios da doença (MAHLER; ADLER, 1999). A perda de peso em indivíduos obesos pela restrição da ingesta calórica é seguida de rápida melhora nos distúrbios do metabolismo, tanto da inflamação crônica, quanto da resistência à insulina (HOLT et al., 2017). Portanto, a redução de peso é importante na terapia (figura 4) (MAHLER; ADLER, 1999).

FIGURA 4 - ESTRATÉGIAS DE MANEJO DO DIABETES TIPO 2: PREVENÇÃO DO INÍCIO OU NOS PRIMEIROS ESTÁGIOS DA DOENÇA



FONTE: Adaptado de KAKU (2010).

Os exercícios têm papel na prevenção do início do DM2, bem como no controle da glicemia, devido ao aumento da sensibilidade à insulina. O decréscimo da gordura intra-abdominal, o aumento da sensibilidade à insulina dos transportadores de glicose GLUT4 nos músculos, o aumento do fluxo sanguíneo aos tecidos sensíveis à insulina e a redução de ácidos graxos livres parecem ser os mecanismos pelos quais o exercício restaura a sensibilidade à insulina. Além disso, trazem outros benefícios, como: diminuição da pressão sanguínea e dos triglicerídeos séricos, melhora da performance do miocárdio e aumento do HDL-colesterol (MAHLER; ADLER, 1999).

O aumento do acúmulo de gordura está associado também ao estresse oxidativo sistêmico. Há produção seletiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) no tecido adiposo, acompanhado do aumento da expressão de NADPH-oxidase e decréscimo da expressão de enzimas antioxidantes (HOLT et al., 2017).

Estudos sugerem que diante de dietas em excesso, ricas em lipídeos, os miócitos tornam-se metabolicamente inflexíveis, aumentando a utilização desses nutrientes. Porém, como a demanda por ATP celular não aumenta de acordo com a oferta de substrato, a taxa de utilização de lipídeos é limitada e insuficiente para prevenir deposição deles nos miócitos. Em paralelo, o aumento relativo de oxidação de ácidos graxos livres aumenta a produção de ROS, que causam danos à mitocôndria (PETERSEN; SHULMAN, 2018)

## 2.2 COMPLICAÇÕES DO DIABETES

No decorrer dos anos, a glicose sanguínea persistentemente elevada torna-se tóxica ao organismo, pois promove o desenvolvimento de lesões orgânicas extensas e irreversíveis em tecidos que expressam o transportador GLUT1 (rins, olhos e nervos), levando às complicações microvasculares do diabetes, a saber: retinopatia, nefropatia e neuropatia. Os vasos sanguíneos e a coagulação sanguínea também são afetados. Esses danos são causados devido a hiperosmolaridade, glicação de proteínas e aumento do sorbitol dentro das células (PIMAZONI NETTO et al., 2009).

A relação direta entre esses riscos de complicações e o controle glicêmico, indicados pelos valores da HbA1c, foram demonstrados, conclusivamente, pelo DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*), que analisou pacientes com DM1 e pelo UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*), que avaliou indivíduos com DM2 (PIMAZONI NETTO et al., 2009; GILLERY, 2013; DING et al., 2018).

Os efeitos da glicação da hemoglobina tornam-se significativos a partir de dosagens de HbA1c entre 8% e 10% (SHERWANI et al., 2016).

As complicações agudas compreendem hiperglicemia e hipoglicemia (glicose plasmática <50mg/dL). Esta é mais frequente quando do uso de sulfonilureias e insulina, durante mudanças no padrão de dieta, aumento da atividade física, abuso de bebidas alcoólicas e erros na dosagem da insulina aplicada (PARANÁ, 2018; SBD, 2021).

Na hiperglicemia pode ocorrer cetoacidose (que é uma complicação grave e potencialmente letal, desencadeada por situações de estresse e mau controle glicêmico) ou síndrome hiperosmolar não cetótica (estado de hiperglicemia grave, desidratação e alteração do estado mental, que é potencialmente letal e desencadeada pelas mesmas intercorrências da cetoacidose). Os principais sintomas são polidipsia, poliúria, nictúria, visão turva, perda de peso, náusea, vômito, astenia, hiperventilação e alterações sensoras. O manejo das crises hiperglicêmicas exige serviços de maior complexidade, como unidades de pronto atendimento ou hospitalares aplicadas (PARANÁ, 2018; SBD, 2021).

O estudo DCCT, conduzido com diabéticos tipo 1, demonstrou que a manutenção de dosagens de glicose sanguínea perto dos valores normais, com insulino-terapia, reduz a incidência e severidade de complicações crônicas. De outro lado, o UKPDS demonstrou que a melhora no controle glicêmico pode reduzir o risco do desenvolvimento de complicações crônicas nos diabéticos tipo 2 (EIK FILHO et al., 2016).

Dentre as complicações crônicas, destacam-se macroangiopatia, microangiopatia, doença renal, neuropatia e pé diabético (PARANÁ, 2018; SBD, 2021).

Os distúrbios microvasculares resultam em retinopatia, nefropatia e neuropatia; já os macrovasculares, em infarto agudo do miocárdio (SBD, 2021). O diabetes contribui, também, para agravos, direta ou indiretamente, nos sistemas musculoesquelético e digestório, na função cognitiva, na saúde mental e está associado a diversos tipos de câncer (SBD, 2021).

Pacientes com diabetes, quando comparados a indivíduos saudáveis, têm maior prevalência de doença coronariana e maior tendência a infarto e isquemia do miocárdio (SYMONIDES et al., 2019).



Em condições normais, o aumento moderado do VG (Volume Globular ou hematócrito) e da viscosidade sanguínea levam à produção de óxido nítrico pelas células endoteliais, induzindo vasodilatação. Porém, essa resposta compensatória é reduzida quando há disfunção das células endoteliais, da homeostase glicêmica ou resistência à insulina. Na presença de baixa biodisponibilidade de óxido nítrico, o aumento da viscosidade sanguínea leva à redução do fluxo de sangue (MARINI et al., 2017) com consequente redução na distribuição da insulina e da glicose aos tecidos periféricos (incluindo músculo esquelético), gerando elevação da glicemia e da insulina, resistência à insulina e, até mesmo, o diabetes (IRACE et al., 2014; MARINI et al., 2017).

A hiperinsulinemia, devido à resistência à insulina, pode causar vasoconstrição por ativação das vias simpáticas, levando à hemoconcentração e aumento da viscosidade sanguínea. Ainda, a hiperinsulinemia compensatória pode diminuir a fluidez de membrana dos eritrócitos, causando distúrbios na microcirculação (MARINI et al., 2017). Estudos já relacionaram a resistência à insulina com o aumento da agregação eritrocitária (MARINI et al., 2017).

É possível que hiperglicemia crônica possa, também, levar à hiperagregação e prejuízo na deformabilidade dos eritrócitos, mudando a carga da hemoglobina, de proteínas de membrana e séricas, incluindo fibrinogênio e globulinas (IRACE et al., 2014; MARINI et al., 2017).

Marini et al. (2017) encontraram níveis de fibrinogênio aumentado em pacientes com dosagens de HbA1c compatíveis com pré-diabetes, comparados aos controles. O fibrinogênio aumentado pode ser indicador de inflamação sistêmica e, também, de aumento da viscosidade do sangue (MARINI et al., 2017).

### 2.3 DIAGNÓSTICO DO DIABETES

Os critérios de diagnóstico são semelhantes para diabetes tipo 1 e 2 (quadro 1). Porém, no primeiro caso, a sintomatologia é mais evidente ao exame clínico (SBD, 2021).

Esses exames refletem diferentes aspectos da homeostase glicêmica. A glicemia em jejum é um marcador do metabolismo da glicose do momento, o TOTG 2h é indicador da resposta a uma sobrecarga glicêmica e a HbA1c é marcadora da média ponderada da glicose sanguínea dos últimos 2 a 3 meses. Como consequência,

há discordância entre os grupos de pacientes identificados por estes biomarcadores (MARINI et al., 2017; DING et al., 2018). Estudos de Menke, Rust e Cowi (2018) mostraram que o uso dos diferentes biomarcadores recomendados pela ADA identifica subgrupos de diabéticos.

QUADRO 1 - CRITÉRIOS LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DE NORMOGLICEMIA, PRÉ-DIABETES E DM, ADOTADOS PELA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES

Glicemia em mg/dL	Glicose em jejum	Glicose 2 horas após sobrecarga com 75g de	Glicose ao acaso	HbA1c (%)	Observações
Normoglicemia	<100	<140	–	<5,7	–
<b>Pré-diabetes (risco aumentado para DM)</b>	≥100 e <126 (Glicemia em jejum alterada)	≥140 e <200 (Intolerância oral à glicose)	–	≥5,7 e <6,5	Positividade de qualquer dos parâmetros confirma diagnóstico de pré-diabetes
<b>Diabetes estabelecido</b>	≥126	≥200	≥200 (com sintomas inequívocos de hiperglicemia)	≥6,5	Positividade de qualquer dos parâmetros confirma diagnóstico de DM. Na ausência de sintomas de hiperglicemia é necessário confirmar o diagnóstico pela repetição dos testes

FONTE: Modificado de (SBD, 2021). HbA1c: hemoglobina glicada; DM: diabetes *mellitus*.

Também é possível que um indivíduo seja diagnosticado como diabético por um método e, pelo outro, não. Assim, geralmente, faz-se necessária a confirmação do diagnóstico pela repetição dos exames alterados em segunda amostra de sangue, na ausência de sintomas inequívocos de hiperglicemia (JIA, 2016; SBD, 2021).

Pacientes com sintomas clássicos de hiperglicemia - poliúria, polidipsia, polifagia e emagrecimento - devem ser submetidos à dosagem de glicemia ao acaso e independente do jejum, não havendo necessidade de confirmação por meio de segunda dosagem, caso se verifique glicemia aleatória ≥200mg/dL (SBD, 2021).

Enquanto não houver um teste superior, Campbell, Pepper e Shipman (2019) sugerem todas as modalidades de testes disponíveis para diagnóstico. Cada um possui seus pontos fortes, baseado na fisiologia de cada tipo de diabetes, sendo melhor em situações específicas: HbA1c para DM2, teste oral de tolerância à glicose (mais sensível) para diabetes gestacional e glicose em jejum para DM1.

Apesar de o TOTG 2h já ter sido considerado padrão-ouro no diagnóstico, ele não é muito utilizado na prática clínica por ser mais caro e demorado. O aumento na concentração da glicose pós-prandial é considerado mais sensível porque, geralmente, aparece antes do aumento da glicemia em jejum (MENKE; RUST; COWIE, 2018).

O defeito na primeira fase de liberação da insulina resulta na supressão inadequada da produção hepática de glicose e contribui para o aumento excessivo da glicemia em resposta à glicose oral. A combinação de defeitos na segunda fase da secreção de insulina e resistência periférica a ela geram menor eficiência da utilização da glicose. Como resultado, após ingestão de glicose, a concentração plasmática de glicose continua aumentando após os 60 minutos iniciais e permanece nos 120 minutos. A perda da primeira fase de liberação da insulina não contribui somente para o prejuízo do metabolismo da glicose hepática, mas também é um preditor do desenvolvimento de DM2 (HOLT et al., 2017).

Menke, Rust e Cowie (2018) verificaram que 6,9% dos pacientes categorizados como pré-diabéticos pelos biomarcadores mais utilizados na prática clínica (HbA1c e glicemia em jejum) seriam considerados diabéticos pelo critério de TOTG 2h ( $\geq 200$ mg/dL) e tinham altas dosagens de triglicerídeos e hipertensão.

Ao analisarem a população com dosagem de glicemia em jejum  $< 100$ mg/dL e HbA1c  $< 5,7\%$ , os autores verificaram que 8,2% tinham TOTG 2h acima do valor de corte para pré-diabetes, triglicerídeos mais elevados e baixo HDL-colesterol quando comparados aos com TOTG 2h abaixo do valor de corte para pré-diabetes (MENKE; RUST; COWIE, 2018).

A ADA (*American Diabetes Association*) recomendou a utilização de valores de HbA1c  $\geq 6,5\%$  como diagnóstico para diabetes (DING et al., 2018), baseando-se em estudos que associaram as dosagens de HbA1c à incidência de retinopatia, uma das principais complicações da doença (ZHANG et al., 2010). Além disso, devido à facilidade técnica, muitos estudos têm mostrado que as dosagens de HbA1c podem identificar pacientes diabéticos de uma comunidade que, possivelmente, ficariam sem diagnóstico (JIA, 2016).

Franco et al. (2019) encontraram concordância substancial entre as dosagens de glicemia em jejum e HbA1c utilizados para diagnóstico de diabetes (Kappa = 0,689), porém pobre (Kappa = 0,188) para valores indicativos de pré-diabetes.

## 2.4 PRÉ-DIABETES

O pré-diabetes é caracterizado por uma condição de disglucemia, em que a concentração de glicose encontra-se acima dos valores de referência, mas abaixo dos valores diagnósticos de DM (glicemia em jejum alterada ou tolerância à glicose prejudicada). Há resistência à insulina que, na ausência de medidas de combate aos fatores de risco modificáveis, pode evoluir ao diabetes ou doenças cardiovasculares (MARINI et al., 2017; SBD, 2021; ADA, 2022).

Modificações na dieta, exercícios e a utilização de medicamentos podem diminuir o risco e a progressão para diabetes (MAHLER; ADLER, 1999).

Na maioria dos casos, é detectado por exames laboratoriais (glicemia em jejum, TOTG 2h e HbA1c) (SRIVANICHAKORN et al., 2017), já que a doença pode ser assintomática, por anos, ou oligossintomática (em grande parte dos casos). Assim, fica claro a importância do rastreamento, na presença de fatores de risco (SBD, 2021).

A HbA1c apresenta vantagens tanto no estabelecimento do pré-diabetes quanto na avaliação de risco para diabetes, já que tem baixo coeficiente de variação individual, boa estabilidade pré-analítica e não requer jejum prévio para realização do exame (MARINI et al., 2017; SRIVANICHAKORN et al., 2017). Dessa maneira, pode ser facilmente utilizada na prática clínica e em estudos epidemiológicos (SRIVANICHAKORN et al., 2017). Ademais, estudos já demonstraram forte associação entre a HbA1c e o desenvolvimento de diabetes (MARINI et al., 2017).

Conforme revisão sistemática feita por Zhang et al. (2010), o risco de incidência de diabetes aumenta acentuadamente entre pacientes com dosagens de  $5,0\% \leq \text{HbA1c} \leq 6,5\%$ . Valores de  $5,0\% \leq \text{HbA1c} \leq 5,5\%$  foram associados a um aumento de 2 vezes no risco de desenvolvimento de diabetes, relativamente aos indivíduos com  $\text{HbA1c} \leq 5,0\%$ . Dosagens de  $5,5\% < \text{HbA1c} \leq 6,0\%$  indicaram aumento substancial, de 5 vezes, no risco de diabetes em relação às de  $\text{HbA1c} \leq 5,0\%$ . Pacientes com  $6,0\% < \text{HbA1c} \leq 6,5\%$  apresentaram um aumento de 20 vezes no risco de incidência de diabetes, quando comparados aos que tiveram  $\text{HbA1c} \leq 5,0\%$ .

Baseados nas dosagens de HbA1c, Zhang et al. (2010) categorizaram o risco de diabetes no futuro (incidência de diabetes em 5 anos), como consta na tabela 1.

Para Khan et al. (2014), pacientes que apresentaram dosagens de  $6,0\% < \text{HbA1c} < 6,5\%$  foram associados a risco de 25%-50% de incidência de diabetes em 5 anos. Conforme os autores, a dosagem de glicemia em jejum, apenas, não é

suficiente para diagnosticar, aproximadamente, metade dos pacientes com disglucemia (KHAN et al., 2014).

TABELA 1 - RISCO DE DIABETES NO FUTURO COM BASE NA HbA1C

HbA1c (%)	Incidência de diabetes em 5 anos
$5,0\% \leq \text{HbA1c} \leq 5,5\%$	<5 a 9%
$5,5\% < \text{HbA1c} < 6,0\%$	9 a 25%
$6,0\% \leq \text{HbA1c} < 6,5\%$	25 a 50%

FONTE: Adaptado de (ZHANG et al., 2010).

## 2.5 HEMOGLOBINA GLICADA - FRAÇÃO A1C (HbA1C)

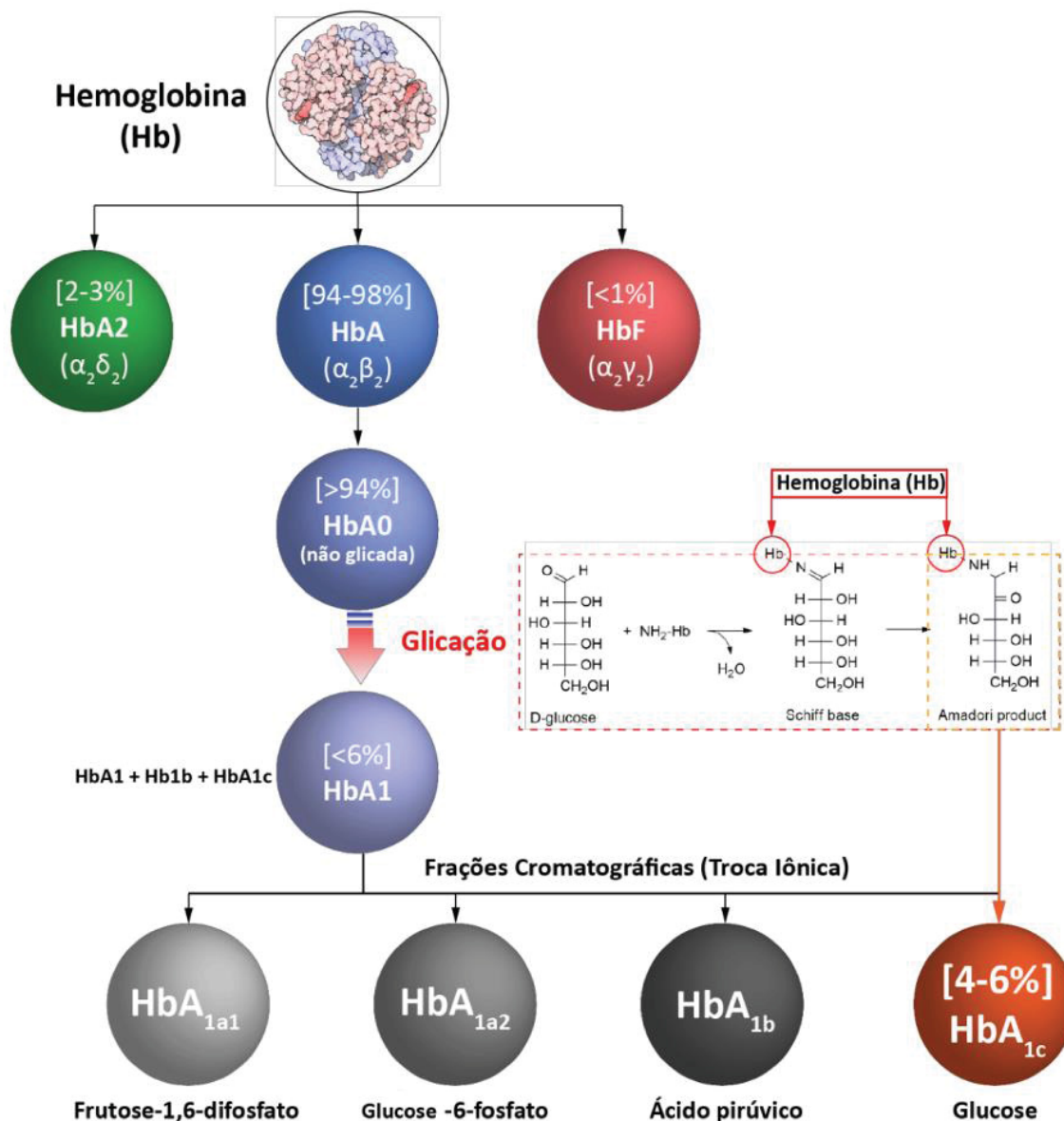
A hemoglobina normal de adultos consiste de 95 a 98% de HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ), 2 a 3% de HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) e menos de 1% de HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) (BARRETT; SAMINATHAN; CHOOLANI, 2017; GUO et al., 2019) (figura 5). Sua forma nativa é a hemoglobina A (HbA), que consiste em 2 cadeias  $\alpha$  (cada uma com 141 aminoácidos) e 2 cadeias  $\beta$  (cada uma com 146 aminoácidos) (SCHNEDL et al., 2001). Noventa e quatro por cento dela corresponde à fração principal, não-glicada, denominada HbA0. Os outros 6% são formados pela fração glicada (HbA1 total) (LENTERS-WESTRA et al., 2013; DING et al., 2018), que apresenta carga líquida positiva menor, devido à adição de glicose e outros carboidratos (BRY; CHEN; SACKS, 2001; PIMAZONI NETTO et al., 2009).

Estão identificados subtipos de HbA1 cromatograficamente distintos (PIMAZONI NETTO et al., 2009; GUO et al., 2019). Em 1955, Kunkel e Wallenius determinaram a ocorrência desses componentes menores da hemoglobina normal de adultos durante a utilização de cromatografia por troca iônica e o desenvolvimento de métodos para detecção de hemoglobinas variantes (KUNKEL; WALLENIUS, 1955; WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009; DING et al., 2018).

Estudos mais detalhados mostraram cinco subfrações, que foram denominadas HbA1a, HbA1b, HbA1c, HbA1d e HbA1e, conforme a ordem em que eram eluídas. Como elas tinham um tempo de retenção menor que a principal fração - a fração A0 (A zero) - foram denominadas hemoglobinas rápidas (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009; GILLERY, 2013). Em 1969, Rahbar e associados demonstraram que elas se apresentavam elevadas nos eritrócitos de pacientes diabéticos. Poucos

anos depois, em 1971, Trivelli e colaboradores sugeriram a relação entre as hemoglobinas rápidas, a glicose sanguínea e as complicações a longo prazo dos pacientes diabéticos (LENTERS-WESTRA et al., 2013).

FIGURA 5 - FORMAÇÃO DA HEMOGLOBINA A1C



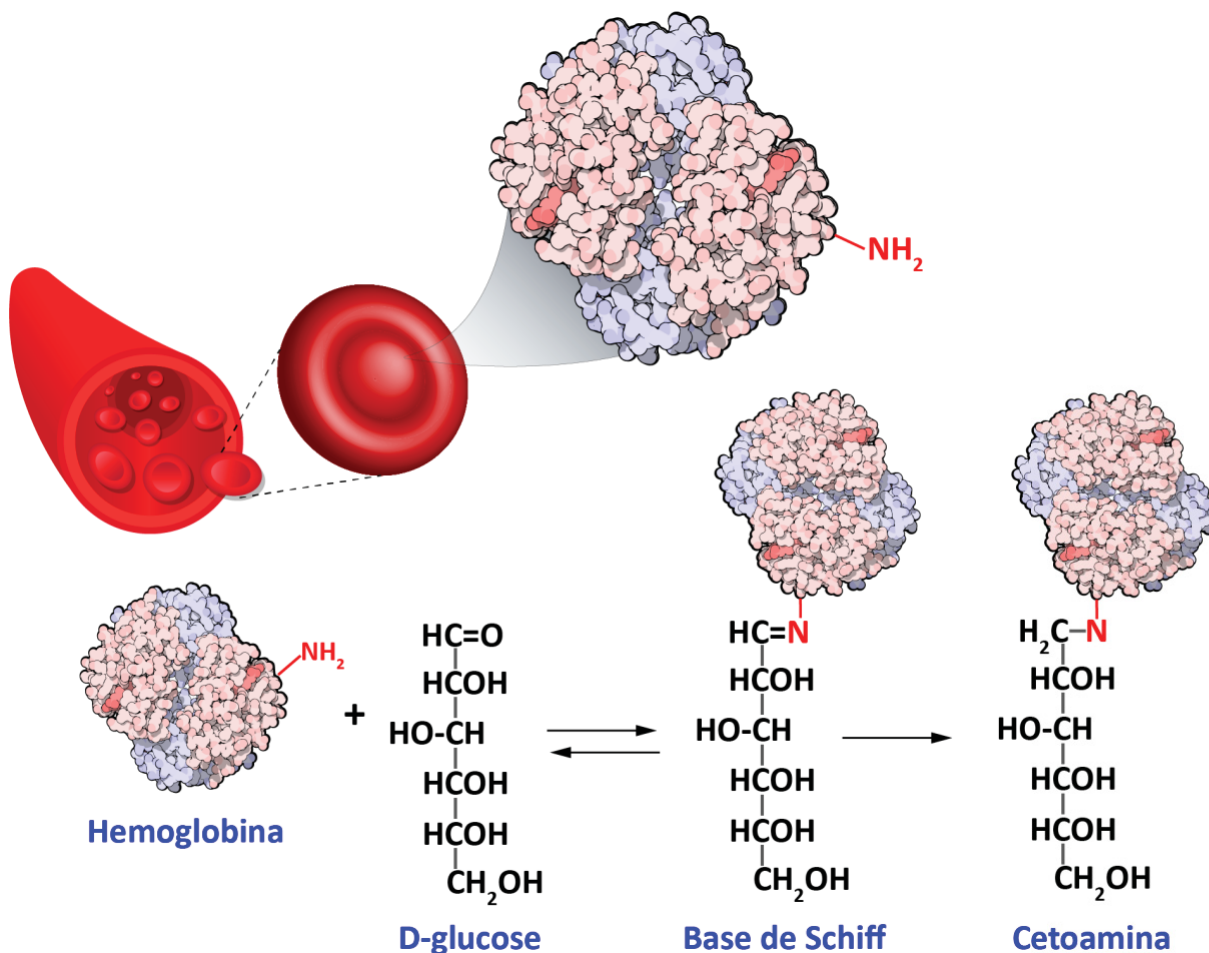
As hemoglobinas circulantes no adulto são representadas pela HbA2, HbF, sendo a fração majoritária a HbA. A glicação não enzimática da Hb ocorre principalmente no resíduo de valina da porção N-terminal da cadeia  $\beta$ . A glicação ocorre com intermediários da via glicolítica (HbA1a1; HbA1a2 e HbA1b) e com a glicose. A principal fração glicada é representada pela ligação da glicose à hemoglobina, sendo caracterizada cromatograficamente (troca iônica) e identificada em ensaios diagnósticos como a fração A1c (HbA1c).

FONTE: Adaptado com modificações de KOVAL; KAŠIČKA; COTTET (2011).

A subfração HbA1c, também chamada de hemoglobina glicada, corresponde à hemoglobina A, irreversivelmente glicada em um ou mais resíduos amino-terminais de valina das cadeias  $\beta$ . Esta definição foi dada pelo IFCC (*International Federation*

of Clinical Chemistry) (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009; GUPTA; JAIN; CHAUHAN, 2017; DIMEGLIO et al., 2018). A adição desse resíduo de açúcar ocorre em duas etapas (WILBURN et al., 2017) (figura 6).

FIGURA 6 - MECANISMO DE FORMAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA



FONTE: Adaptado com modificações de LENTERS-WESTRA et al. (2013). A valina N-terminal da cadeia  $\beta$  reage com a glicose, formando uma aldimina (base de Schiff ou HbA1c lábil). Esta passa por um rearranjo de Amadori, formando a cetoamina estável (HbA1c).

Na primeira delas, uma reação reversível entre um grupo aldeído livre da glicose (ou outro açúcar) e um grupo amino livre não-protonado de uma hemoglobina formam uma aldimina, que é uma base de Schiff, também chamada de HbA1c lábil, instável ou pré-A1c (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009; WILBURN et al., 2017).

Na segunda etapa, por meio de uma reação não-enzimática, lenta e irreversível, a base de Schiff passa por um rearranjo de Amadori, formando uma cetoamina estável, a HbA1c (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009; LENTERS-WESTRA et al., 2013; WILBURN et al., 2017).

Essa reação também ocorre em, aproximadamente, outros dez sítios da hemoglobina A, tanto nas cadeias  $\alpha$  quanto nas cadeias  $\beta$ , formando diferentes glicohemoglobinas (GHb) (WEYKAMP JOHN; MOSCA, 2009). Os sítios de maior glicação são, em ordem de prevalência,  $\beta$ -Val-1,  $\beta$ -Lys-66 e  $\alpha$ -Lys-61 (SHERWANI et al., 2016). A HbA1c corresponde a mais de 60% do total e é a menor subfração glicada da hemoglobina (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

A glicose não é a única molécula que reage com a hemoglobina; numa reação análoga, a ureia forma a hemoglobina carbamilada. *In vivo*, a ureia se dissocia, espontaneamente, formando amônia e cianato. A protonação deste gera ácido isociânico, que reage com  $\alpha$  e  $\beta$  amino-grupos, formando carbamil (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

A valina N-terminal da cadeia  $\beta$  da hemoglobina é, particularmente, reativa ao ácido isociânico; assim, a reação entre eles leva à formação de hemoglobina-carbamilada estável, que pode mimetizar uma hemoglobina glicada física e quimicamente, já que ambas possuem pontos isoelétricos similares. Deste modo, a carbamil-hemoglobina pode levar a determinações imprecisas de HbA1c, principalmente quando os métodos de separação são baseados na diferença de carga entre elas (BRY; CHEN; SACKS, 2001).

Segundo Bry, Chen e Sacks (2001), a co-eluição da carbamil hemoglobina A com a HbA1c produz valores de HbA1c falsamente elevados, podendo chegar a variações de 0,02% a 1,1% no equipamento Diamat, da Bio-Rad, conforme estudos realizados *in vivo* (BRY; CHEN; SACKS, 2001). Pacientes urêmicos podem ter concentrações de hemoglobina-carbamilada equivalentes a 3% do total de hemoglobina (BRY; CHEN; SACKS, 2001).

Já *in vitro*, uma grande carbamilação da hemoglobina, em torno de 5,4%, produz aumento da HbA1c por vários métodos baseados em troca iônica, incluindo o Variant, da Bio-Rad (BRY; CHEN; SACKS, 2001). O manual do equipamento Variant II indica que a hemoglobina carbamilada em concentrações de até 4% não interferem nas dosagens de HbA1c (BIO-RAD, 2012).

A hemoglobina também pode ser acetilada, *in vivo*, por uma mutação incomum na região N-terminal da cadeia  $\beta$ -globina. Estudos conduzidos com exposição *in vitro* da hemoglobina normal à aspirina não demonstraram a produção de hemoglobina acetilada. Além disso, nenhum efeito *in vivo* tem sido detectado em



pacientes expostos, cronicamente, a 1g ou menos de aspirina, por dia (BRY; CHEN; SACKS, 2001). Bry, Chen e Sacks (2001) destacam que somente altas doses de aspirina (1500mg) podem gerar resultados falsamente elevados de HbA1c. Portanto, não são clinicamente significantes (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

O processo de glicação estende-se, também, a outras proteínas do organismo (especialmente as de longo tempo de vida, como o colágeno), contribuindo para a geração de produtos avançados de glicação (AGEs - *Advanced Glycation End products*), principalmente por processos oxidativos (glicoxidação). Esses AGEs desempenham papel importante no aumento do risco de complicações crônicas do diabetes *mellitus* (PIMAZONI NETTO et al., 2009; GILLERY, 2013). Um exemplo é a glicação da albumina - que gera albumina glicada - considerada também marcador de controle glicêmico, uma vez que não é alterada pelo tempo de vida das hemácias, como a HbA1c. Porém, a albumina glicada sofre interferência de proteinúria maciça, doença intestinal depletadora de proteínas e tratamento por diálise peritoneal. Portanto, a albumina glicada é especialmente indicada em pacientes submetidos à hemodiálise, apesar de ainda não ter suas dosagens ideais bem estabelecidas. Ela reflete a média da glicemia das últimas duas a três semanas (PIMAZONI NETTO et al., 2009; HASHIMOTO; KOGA, 2015).

A formação da HbA1c faz parte do ciclo fisiológico normal (DING et al., 2018). A glicose penetra nos eritrócitos por meio dos canais GLUT1 (que são constitutivamente ativos), numa taxa proporcional à sua concentração extracelular. Assim, a hemoglobina fica, praticamente, exposta às mesmas concentrações da glicose plasmática (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

Desse modo, a quantidade de HbA sujeita à glicação é diretamente proporcional à glicemia sanguínea e ao tempo em que as hemácias permanecem na circulação (NASIR; THEVARAJAH; YEAN, 2010; WILBURN et al., 2017). Portanto, o conteúdo de hemoglobina glicada é maior nas hemácias mais velhas do que nas mais jovens (GILLERY, 2013). As hemoglobinas de hemácias jovens são, também, glicadas mais lentamente que as demais (WILBURN et al., 2017).

O longo tempo de vida dos eritrócitos (em média, 120 dias) permite o uso da HbA1c como indicador do controle glicêmico dos últimos dois a três meses (FREEMAN, 2014; WILBURN et al., 2017; KRHAČ; LOVRENČIĆ, 2019; LITTLE; ROHLFING; SACKS, 2019), bem como do manejo do tratamento de pacientes com diabetes *mellitus* (especialmente do tipo 2) e do risco de complicações (WILBURN et

al., 2017). A HbA1c é livre de flutuações diurnas e não é afetada pela ingestão de alimentos ou por exercícios físicos realizados imediatamente antes da realização do exame (SACKS, 2003).

Nesse intervalo de 120 dias, a glicemia recente é a que mais influencia no valor da HbA1c (GUPTA; JAIN; CHAUHAN, 2017; DING et al., 2018). Modelos teóricos e estudos clínicos sugerem que um paciente em controle estável apresentará 50% de sua HbA1c formada no mês precedente ao exame, 25% no mês anterior a este e os 25% remanescentes no terceiro ou quarto mês anteriores ao exame (figura 7) (SBD, 2020).

FIGURA 7 - IMPACTO DAS GLICEMIAS RECENTES E ANTIGAS SOBRE AS DOSAGENS DE HbA1c

Impacto das glicemias mais recentes e mais antigas sobre as dosagens de HbA1c		
1 mês antes	2 meses antes	3-4 meses antes
50%	25%	25%
↑ Data da coleta		

FONTE: Adaptado de (SBD, 2020).

Portanto, a HbA1c é um marcador biológico importante da homeostase glicêmica (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019) e deve ser dosada, regularmente, em todos os pacientes com diabetes *mellitus*. Primeiramente, para indicar o grau de controle glicêmico; depois, a cada três meses para acompanhamento de mudanças no plano terapêutico ou para pacientes que não estejam atingindo os objetivos recomendados com o tratamento vigente (FREEMAN, 2014; DIMEGLIO et al., 2018). Pacientes com glicemia estável devem dosar a HbA1c, pelo menos, duas vezes ao ano (FREEMAN, 2014; ADA, 2022).

Fica claro assim que, mais do que qualquer outro analito, a HbA1c é um parâmetro longitudinal, já que os resultados de um paciente são monitorados por anos ou, talvez, décadas, e devem ser a base para mudanças da terapia. Assim, requerer resultados altamente reprodutíveis por longos períodos de tempo e interpretáveis, com correlação clínica ao DCCT e às Organizações de Diabetes. Isso implica padronização de ensaios para HbA1c (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

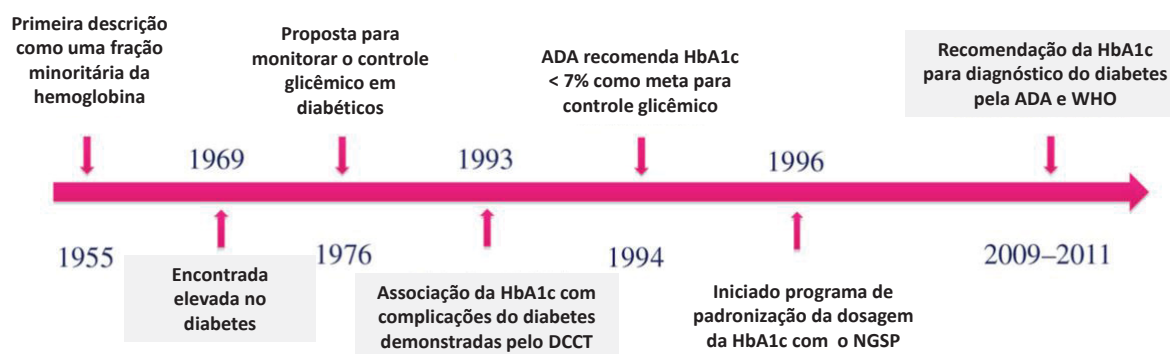
Ademais, os testes devem ser convenientes ao paciente, de modo que fiquem prontamente disponíveis para a consulta médica e não gerem novas visitas ao laboratório (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

Com o objetivo de estabelecer esse padrão para os resultados de HbA1c e reduzir a variação entre eles, o NGSP (*National Glycohemoglobin Standardization Program*), entidade certificadora de métodos laboratoriais, promoveu a padronização das determinações de HbA1c em relação ao método de HPLC, já que foi o utilizado pelo DCCT para a validação das metas de HbA1c (LITTLE; ROBERTS, 2009; JIA, 2016).

Portanto, recomenda-se que os laboratórios clínicos utilizem, preferencialmente, os métodos certificados pelo NGSP, com rastreabilidade de desempenho analítico ao método utilizado pelo DCCT (GILLERY, 2013) e também participem de programas de ensaio de proficiência, implementados por entidades oficiais de patologia clínica e medicina laboratorial (PIMAZONI NETTO et al., 2009).

A figura 8 mostra linha do tempo da HbA1c desde a sua descoberta até a sua utilização no diagnóstico do diabetes.

FIGURA 8 - LINHA DE TEMPO DA HEMOGLOBINA A1C: DA DESCOBERTA AO DIAGNÓSTICO DO DIABETES



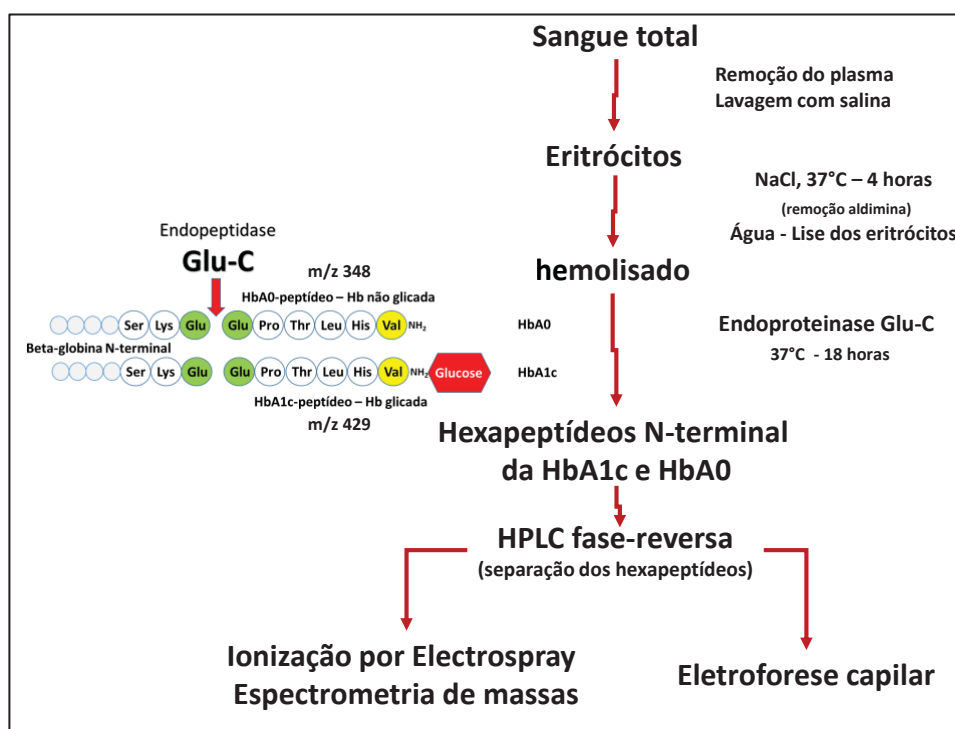
ADA: American Diabetes Association (Associação Americana de Diabetes); DCCT: Diabetes Control and Complications Trial; NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program (Programa de Padronização da Glicohemoglobina); WHO: World Health Organization (Organização Mundial da Saúde - OMS).

FONTE: DING et al. (2018).

Em 1995, a IFCC padronizou o método para determinação da HbA1c, que consiste na clivagem da HbA1c por uma endopeptidase, seguida da separação e quantificação dos hexapeptídeos N-terminais glicosilados e não glicosilados por HPLC e espectrometria de massa ou eletroforese capilar, respectivamente (figura 9). Os

calibradores utilizados consistem em misturas de HbA0 e HbA1c altamente purificadas. Portanto, devido a sua elevada especificidade, os valores obtidos pela IFCC são inferiores em 1,5 - 2% em relação ao método de HPLC utilizado pelo DCCT (GUIMARÃES; BASTOS; CARVALHEIRO, 2006).

FIGURA 9 - PADRONIZAÇÃO DO ENSAIO DA HbA1c PROPOSTO PELA IFCC



A International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) coordenou os esforços para a padronização do ensaio de hemoglobina glicada. Ao hemolisado livre de aldimina (pré-A1c), a adição da endoproteínase Glu-C cliva resíduos de aminoácidos de ácido glutâmico (Glu) sequenciais da cadeia beta-globina, porção N-terminal, gerando dois hexapeptídeos, um sem glucose ligada (Hb0) e outro com a glucose (HbA1c). Os hexapeptídeos são separados por HPLC de fase reversa e identificados por espectrometria de massas acoplada a ionização por electrospray ou por eletroforese capilar. FONTE: WEYKAMP; JOHN; MOSCA (2009).

O NGSP recomenda a expressão dos resultados da HbA1c como proporção em relação à hemoglobina total (%HbA1c). Já a IFCC recomenda em milimols de HbA1c por mol de hemoglobina total (mmol/mol). A conversão entre as unidades IFCC/NGSP pode ser realizada de acordo com a seguinte expressão matemática (DING et al., 2018):

$$\text{NGSP}_{\text{HbA1c}\%} = (0,09148 \times \text{IFCC}_{\text{HbA1cmmol/mol}}) + 2,152$$

Segundo Lenters-Westra et al. (2013), o coeficiente de variação biológica da HbA1c para pessoas normais é de, aproximadamente, 1,8 a 1,9%. Para Pimazoni

Netto et al. (2009), a variação intraindividual da HbA1c é de 3,4%. Porém, em diabéticos, esses valores podem ser maiores, devido a flutuações do estado glicêmico.

A variabilidade intraindividual da glicemia em jejum é de 12 a 15% e, para o teste oral de tolerância à glicose (TOTG 2h), de 16,6% (JIA, 2016).

Já a variação biológica interindividual da HbA1c é considerável (JIA, 2016), de 5,1% (PIMAZONI NETTO et al., 2009). Sugere-se que, entre indivíduos não-diabéticos, em torno de apenas um terço da variação da HbA1c pode ser explicada pela glicemia. Outros fatores, tais como hormônios sexuais, genética e constituição do tecido adiposo visceral podem contribuir para a variação entre os indivíduos (JIA, 2016).

Os valores de HbA1c são estáveis após a coleta e não são afetados por mudanças de curto prazo nos hábitos de vida (JIA, 2016). Por outro lado, amostras coletadas em fluoreto para dosagens de glicemia, estocadas à temperatura ambiente por 1 a 4 horas, podem ter redução dos valores da glicose de 0,2 a 0,6 mmol/L/h (JIA, 2016).

Os valores de referência para a HbA1c variam de 4 a 6%. Dosagens acima de 7% estão associados ao risco progressivamente maior de complicações crônicas (FREEMAN, 2014). Por isso, a Associação Americana de Diabetes (ADA) recomendou que a meta do tratamento primário de adultos com DM1 ou DM2 deve ser de HbA1c<7%, a ser dosada a cada 6 meses, pelo menos (ADA, 2022).

A Sociedade Brasileira de Diabetes estabeleceu uma meta mais rígida - HbA1c<6,5% ou 47 mmol/mol - para caracterização de um bom controle glicêmico. No entanto, DiMeglio et al. (2018) ressaltam que essa meta é apropriada apenas se for alcançada sem episódios de hipoglicemia, prejuízos na qualidade de vida ou no cuidado com a saúde.

O quadro 2 mostra a classificação do controle metabólico, dado pela HbA1c, segundo a SBD (2020). Ressalta-se que há necessidade de individualização das metas para valores menos rígidos conforme a idade do paciente, sua motivação, grau de aderência ao tratamento, de autoconhecimento e autocuidado (PARANÁ, 2018).

Para DiMeglio et al. (2018), as recomendações para crianças, adolescentes e adultos jovens ( $\leq 25$  anos) que têm acesso ao sistema de saúde são de HbA1c<7,0% (<53mmol/mol). Metas superiores (7,5% ou <58mmol/mol) são apropriados para pacientes com incapacidade de lidar com sintomas de hipoglicemia, com histórico de

hipoglicemia severa, que não têm acesso à insulina ou que são “*high glycaters*” (indivíduos cujas dosagens de glicose média estimada superestimam a média glicêmica, conforme alvos estabelecidos) (COHEN, 2007; CHALEW; HEMPE; MCCARTER, 2009).

QUADRO 2 - METAS PARA O CONTROLE GLICÊMICO COM BIOMARCADORES LABORATORIAIS - SBD 2020

Parâmetros	Diabéticos DM1 e DM2	Crianças	Idosos Saudáveis	Idosos Comprometidos
HbA1c (%)	<7,0	<7,0	<7,5	<8,5
Glicemia de jejum e Glicemia pré-prandial (mg/dL)	80-130	80-130	80-130	90-150
Glicemia 2 horas pós-prandial (mg/dL)	<180	<180	<180	<180

Idosos comprometidos: maior risco de hipoglicemia, com longo tempo de DM2 e com menor expectativa de vida, múltiplas comorbidades crônicas, comprometimento funcional leve a moderado e comprometimento cognitivo moderado.

FONTE: Adaptado de SBD (2020).

A HbA1c, no entanto, não retorna ao normal imediatamente após a regularização da glicose sanguínea. São necessárias, aproximadamente, de oito a dez semanas para que ela seja normalizada. Isso significa que somente após dois meses do início ou modificação da terapia a HbA1c deverá ser analisada novamente (PIMAZONI NETTO et al., 2009).

Esses alvos terapêuticos, baseados nas dosagens de HbA1c, foram determinados conforme os ensaios do DCCT/UKPDS. Por isso, são recomendados por muitas organizações mundiais de diabetes (PIMAZONI NETTO et al., 2009).

Em 2010, as diretrizes da Sociedade Americana de Diabetes (ADA) sugeriram HbA1c  $\geq 6,5\%$  (48mmol/mol) como valor de corte para o diagnóstico de diabetes. Esta recomendação também foi adotada pela Organização Mundial de Saúde e pela Federação Internacional de Diabetes (IDF - *International Diabetes Federation*) (JIA, 2016).

Um ponto importante a se considerar, segundo Weykamp, John e Mosca (2009) e Ding et al. (2018), é que a HbA1c não é um analito isolado, ela é formada em quantidades relativas ao total da concentração de hemoglobina. Conseqüentemente, para compensar as variações intra e interindividuais na concentração da hemoglobina total, a HbA1c deve ser expressa como uma razão HbA1c/Hb total (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

Para se conseguir coeficiente de variação analítico intralaboratorial menor que 2% e interlaboratorial menor que 3,5%, os laboratórios devem utilizar, pelo menos,

dois níveis de controle, com diferentes valores-alvo, no início e fim da rotina (JIA, 2016; BOZKAYA et al., 2018). As proximidades dos controles interno e externo de qualidade ao valor alvo determinam a precisão e exatidão dos testes, respectivamente (BOZKAYA et al., 2018).

Ricós et al. (2020) produziram metanálise analisando os coeficientes de variação analítico ( $CV_a$ ) e biológico ( $CV_i$  intraindividual e  $CV_g$  interindividual) dos biomarcadores associados ao diagnóstico e controle do diabetes apresentados na tabela 2. Os autores reportaram que os valores estimados são menores quando comparados a trabalhos anteriores devido ao aprimoramento metodológico da dosagem de HbA1c capturada pelo estudo.

O coeficiente de variação analítico ( $CV_a$ ) apresentado na tabela 2 para a glicemia foi obtido da média dos valores observados para o controle de qualidade (nível normal, 70-90mg/dL) do Laboratório Municipal de Curitiba (LMC), por período superior a seis meses, que oscilou entre 1,7-2,1%. O  $CV_a$  para a determinação da HbA1c ( $CV_a = 1,6\%$ ) foi obtido também do LMC para o controle de qualidade normal (5,4-6,3%) e encontra respaldo na literatura, como descrito em Rollborn et al. (2019), que descreve para a mesma concentração  $CV_a$  de 0,9 a 1,9%.

TABELA 2 - COEFICIENTES DE VARIAÇÃO ANALÍTICA E BIOLÓGICA (INTRAINDIVIDUAL E INTERINDIVIDUAL) DA HBA1C E DA GLICOSE EM JEJUM

Parâmetros	$CV_a$ %	$CV_i$ % (95%IC)	$CV_g$ % (95%IC)
HbA1c	1,6	1,2 (0,3-2,5)	5,4 (3,3-7,3)
Glicose em jejum	2,0	5,0 (4,1-12)	8,1 (2,7-10,8)

$CV_a$ : coeficiente de variação analítico (entre corridas) para glicemia obtido da média do controle de qualidade nível normal (70-90 mg/dL) do Laboratório Municipal de Curitiba (LMC). Para HbA1c, valores médios do controle de qualidade normal (5,4-6,3%) com HPLC (troca iônica, BioRad) similar ao descrito por Rollborn et al. (2019).

$CV_i$ : coeficiente de variação biológico intraindividual obtido da metanálise de RICÓS et al. (2020)

$CV_g$ : coeficiente de variação biológico interindividual obtido da metanálise de RICÓS et al. (2020)

95% CI: intervalo de confiança de 95%.

FONTE: Adaptado de RICÓS et al. (2020).

Do ponto de vista analítico, a diferença entre duas medidas sequenciais de HbA1c depende do coeficiente de variação biológico ( $CV_i$  - variação biológica intraindividual ou *within-person biological variation*), obtido da literatura, e da variação analítica ( $CV_a$  - *Analytical coeficiente of variation*) do método laboratorial, estabelecido com controles de qualidade internos. Essas duas fontes de variação podem ser combinadas em um RCV (*Reference Change Value* - valor referencial de mudança),

definido como uma diferença crítica entre duas dosagens consecutivas de HbA1c que representam uma diferença estatisticamente significativa no estado clínico do paciente, com probabilidade de 95%, conforme a fórmula apresentada a seguir (LENTERS-WESTRA et al., 2013; RICÓS et al., 2020):

$$\text{RCV (\%)} \text{ bidirecional} = \sqrt{2} \times 1,96 \sqrt{[(CV_a)^2 + (CV_i)^2]}$$

$$\text{RCV (\%)} \text{ unidirecional} = \sqrt{2} \times 1,65 \sqrt{[(CV_a)^2 + (CV_i)^2]}$$

RCV: reference change values (%), com 95% de confiança

(2)<sup>1/2</sup>: comparações de 2 resultados

1,96: estatística Z para 95% bidirecional; 1,65: estatística Z para 95% unidirecional

CV<sub>a</sub>: coeficiente de variação analítico

CV<sub>i</sub>: coeficiente de variação biológico intraindividual

Tendo como diferença estatisticamente significativa de 5mmol/mol (0,5% DCCT) numa concentração de HbA1c de 53mmol/mol (7% DCCT) como alvo para a dosagem de HbA1c, é possível calcular o valor ideal de CV<sub>a</sub>. Lenters-Westra et al. (2013) assumindo a média de CV<sub>i</sub> seja de 1,8%, então o valor máximo permitido para o CV<sub>a</sub> será de 2,9% (IFCC) e 1,9% (DCCT) (LENTERS-WESTRA et al., 2013).

Portanto, a liberdade de erro é crítica, uma vez que existem pontos de corte fixos para o diagnóstico do diabetes e para o controle glicêmico (LENTERS-WESTRA et al., 2013).

Em indivíduos saudáveis, o CV<sub>i</sub> médio foi estimado, aproximadamente, 1,8 a 1,9% (DCCT). Porém, em diabéticos, o CV<sub>i</sub> pode ser muito maior (LENTERS-WESTRA et al., 2013). No estudo de Trapé et al. (2000), com pacientes DM2, de 46 a 77 anos, o coeficiente de variação biológico encontrado foi de 7,9% para pacientes com bom controle glicêmico, 5,4% para os de controle aceitável e 3,9% para os de controle glicêmico ruim.

A generalização de valores de HbA1c para critério diagnóstico de diabetes é controversa, uma vez que há influência de fatores como idade, etnia, sexo (JIA, 2016; WU et al., 2017; DING et al., 2018), diferenças genéticas, tempo de vida dos eritrócitos e taxa de glicação (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009; LIM et al., 2018).

Pesquisa realizada na Carolina do Sul (EUA) com indivíduos não-diabéticos mostrou que a HbA1c de homens e mulheres negras foi 0,3% e 0,4% maior, respectivamente, à de homens e mulheres brancas (JIA, 2016). Alguns estudos



encontraram HbA1c maior em não-hispânicos e mexicanos negros, quando comparados aos brancos (JIA, 2016).

Portanto, diferenças raciais podem impactar nos critérios diagnóstico baseados nas dosagens de HbA1c: resultados falso-positivos são mais comuns em negros e, falso-negativos, em brancos (JIA, 2016).

A etnia afeta as dosagens de HbA1c independente da glicose sanguínea média, por mecanismo ainda desconhecido (CAVAGNOLLI et al., 2017; CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019). As diferenças podem se dar, parcialmente, devido à combinação de fatores ligados aos parâmetros eritrocitários e às taxas de glicação (WILSON et al., 2011; JIA, 2016). Portanto, Jia (2016) sugere que essas diferenças étnicas demonstram a necessidade de diferentes pontos de corte para as dosagens de HbA1c no diagnóstico do diabetes, em diferentes populações.

Estudos com populações étnicas diferentes demonstraram que americanos africanos, indianos americanos, hispânicos e asiáticos têm valores de HbA1c 0,4% maiores que não-hispânicos brancos com glicemia similar. Eles sugerem que esses indivíduos teriam maior chance de serem diagnosticados como diabéticos pelos critérios utilizados atualmente (PUNTHAKEE; GOLDENBERG; KATZ, 2018).

A associação entre etnia asiática e raça negra com maiores concentrações de HbA1c e frutamina, em comparação com indivíduos não-asiáticos e brancos, também foram citadas por JIA (2016). Portanto, alguns autores sugerem valores de corte de HbA1c de 6,1% para indianos, japoneses e coreanos, e 6,2% a 6,3% para chineses. Ou seja, valores menores para a população asiática em comparação à população branca (JIA, 2016).

De outro lado, Campbell, Pepper e Shipman (2019) sugerem que diferenças étnicas não devem ser consideradas durante o diagnóstico ou monitoramento do diabetes por meio da HbA1c, pois ainda não há estudos que comprovem impactos clínicos significantes. Porém, os autores frisam que é importante o conhecimento sobre o pequeno risco de se realizar tratamento em excesso ou se diagnosticar erroneamente pacientes não-caucasianos como diabéticos (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

A diferença entre a HbA1c prevista e a dosada tem sido chamada de lacuna de glicação (*glycation gap*), baseado na variação genética e/ou no tempo de vida das hemácias, que levam a diferentes taxas de glicação (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019). Como exemplo, num estudo com crianças e adolescentes com

DM1, 29% apresentaram HbA1c estatisticamente diferente (maior ou menor) da prevista pela glicemia. Esses achados sugerem que a glicemia e a HbA1c não são, necessariamente, medidas intercambiáveis (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

Diante deste cenário, Jia (2016) ressalta que cada país deve realizar estudos para determinar seus valores de corte para HbA1c, conforme suas especificidades étnicas e raciais. O autor destaca, ainda, que a escolha do método de dosagem de HbA1c como diagnóstico depende, além das particularidades locais, de custo, disponibilidade de equipamentos, características da população e de um sistema de garantia da qualidade.

O uso da HbA1c ao invés da glicemia em jejum altera a estimativa da prevalência de diabetes em grupos de diferentes raças e etnias (JIA, 2016). Discrepâncias podem chegar a 64,5% em brancos, 44% em africanos americanos e 41% em hispânicos (diagnosticados como diabéticos pela glicemia em jejum, mas não pela dosagem de HbA1c) (JIA, 2016).

### 2.5.1 Principais métodos disponíveis para dosagem de HbA1c

Como uma mudança de apenas 0,5% (5,5 mmol/mol) entre duas dosagens consecutivas de HbA1c pode ser clinicamente significativa a ponto de levar o clínico a considerar uma mudança na terapia do paciente (LENTERS-WESTRA et al., 2013; BOZKAYA et al., 2018), é crucial que suas dosagens sejam precisas. Além disso, os médicos precisam estar certos de que uma variação nos resultados, comparados aos resultados prévios, é indicativa de sucesso ou falha no tratamento, não devido à variação analítica (BOZKAYA et al., 2018).

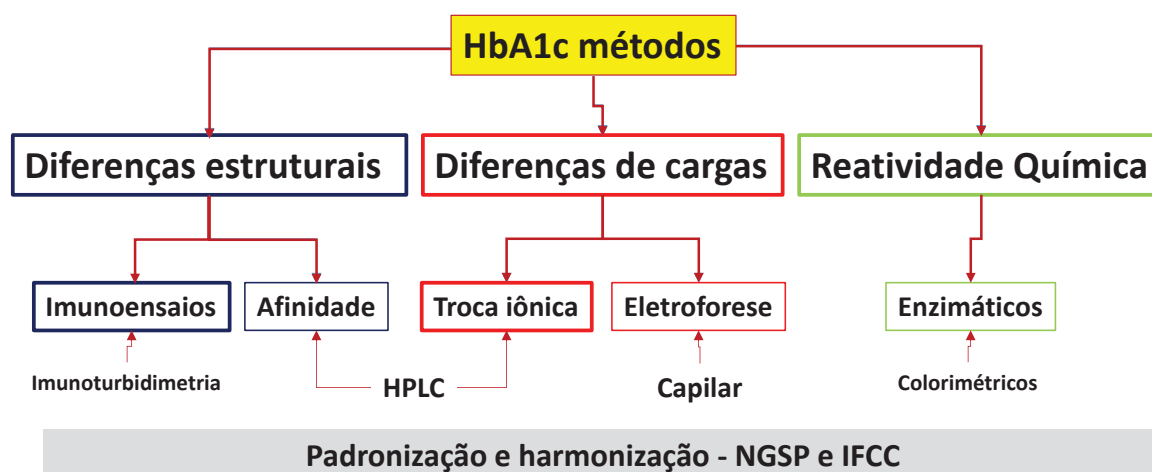
Portanto, Trapé et al. (2000) ressaltam que a significância estatística entre as dosagens consecutivas de HbA1c devem ser avaliadas.

A HbA1c pode ser dosada por mais de trinta métodos (SCHNEDL et al., 2005; LENTERS-WESTRA et al., 2013; GUO et al., 2019), que medem frações de hemoglobinas glicadas (GHb) distintas, gerando diferenças nos resultados (SCHNEDL et al., 2000).

Dentre eles, estão os que se baseiam na diferença de carga iônica (HPLC por troca iônica, eletroforese, focalização isoeétrica e microcromatografia em minicolunas contendo resina de troca iônica), nas características estruturais (HPLC por afinidade,

utilizando derivados do ácido borônico ou imunoensaio turbidimétrico), na reatividade química (colorimetria, com formação do 5-hidroxiacetilfurfural) (SCHNEDL et al., 2005) e na atividade enzimática (figura 10) (PIMAZONI NETTO et al., 2009; GUO et al., 2019).

FIGURA 10 - PRINCIPAIS PRINCÍPIOS METODOLÓGICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DA HbA1C PARA O LABORATÓRIO CLÍNICO



FONTE: Adaptado de RIFAI, N.; HORVATH, A. R.; WITTEWER (2018).

A eletroforese permite a separação e identificação das hemoglobinas devido a diferenças entre suas cargas líquidas. A migração das frações em diferentes velocidades, em um campo elétrico, gera bandas, que podem ser comparadas a padrões conhecidos. A eletroforese qualitativa em pH alcalino (pH 8,6), realizada em acetato de celulose, separa as hemoglobinas normais (HbA, HbF e HbA2) das variantes mais comuns (HbS e HbC). Apesar de ser um teste simples, rápido e de baixo custo, apresenta limitações, pois não permite a separação das hemoglobinas variantes que migram concomitantemente à HbS (HbD, HbG e Hb Lepore) e à HbC (HbE e HbO-Arab) (BRASIL, 2016). Desta forma, utiliza-se, em associação, a eletroforese em pH ácido, no ágar-fosfato. Neste sistema, as HbD, HbE e HbG têm mobilidades idênticas à HbA, enquanto a HbO-Arab migra entre as HbA e HbS. Além disso, as HbS e HbC se separam da HbA. Desse modo, a associação desses dois métodos permite a identificação definitiva das HbS, HbC, HbE e HbO-Arab (BRASIL, 2016).

A focalização isoelétrica tem maior capacidade de resolução que a eletroforese em acetato de celulose. Ela tem sido aplicada, também, para triagem e diagnóstico

das hemoglobinopatias, embora seja um método mais trabalhoso e demorado. Consiste na utilização de um suporte com gradiente de pH, que permite a separação das frações hemoglobínicas por meio de seus pontos isoelétricos, por diferenças de 0,001 unidades de pH. As hemoglobinopatias são mais bem caracterizadas entre o pH 6,0 a 8,0. Este método tem a vantagem de separar a HbD da HbS e a HbC das HbE e HbO-Arab (BRASIL, 2016).

A separação pela cromatografia por afinidade consiste na ligação covalente de grupos *cis*-diol da glicose presente nas hemoglobinas glicadas a uma matriz (resina), na qual estão imobilizadas moléculas de ácido *m*-aminofenilborônico. Desta forma, é realizada a dosagem da hemoglobina glicada total, incluindo HbA1c e hemoglobinas glicadas em outros sítios (LITTLE; ROBERTS, 2009; LENTERS-WESTRA et al., 2013). As hemoglobinas não-glicadas são eluídas primeiramente, já que não se ligam à matriz. Posteriormente, com a mudança dos tampões, as hemoglobinas glicadas são eluídas. O cromatograma mostra, assim, dois picos, o das hemoglobinas glicadas e o das não-glicadas (LENTERS-WESTRA et al., 2013). Estes métodos têm demonstrado menor interferência quando as hemoglobinas variantes estão presentes (REYNOLDS et al., 2004; LITTLE; ROBERTS, 2009).

Segundo Jia (2016), o método de afinidade ao boronato pode ser útil nos casos em que as hemoglobinas variantes estão presentes. Porém, quando as formas glicadas das hemoglobinas não-A não são reconhecidas pelos anticorpos com a mesma afinidade que a hemoglobina A glicada, os resultados podem não ser confiáveis (BEHAN; STOREY; LEE, 2009). Apesar de não permitir a visualização de outras formas de hemoglobina, apresenta menor custo em relação à cromatografia de troca iônica (SBD, 2021).

Os imunoenaios são baseados no reconhecimento específico da HbA1c por anticorpos que reconhecem a estrutura N-terminal dos primeiros 4 a 10 aminoácidos da cadeia  $\beta$ -globina glicada (LITTLE; ROBERTS, 2009). Existem desde ensaios de imunoturbidimetria até os métodos de inibição da aglutinação em látex, que utilizam anticorpos monoclonais (LITTLE; ROBERTS, 2009). O maior desafio dos testes imunoquímicos está em atingir coeficientes de variação analíticos abaixo de 2% (como no HPLC), necessários para diagnóstico de diabetes (JIA, 2016).

Como as hemoglobinas variantes de maior prevalência na população apresentam mutações em sítios distantes da porção N-terminal da cadeia  $\beta$ -globina, estas não interferem nos ensaios imunoturbidimétricos. Além disso, os ensaios

imunológicos possuem baixo custo e podem ser realizados em analisadores automatizados que processam outros ensaios laboratoriais, dispensando, portanto, equipamentos dedicados (SBD, 2021).

A HbF em quantidade superior a 20% interfere nos imunoensaios pois, como não possui cadeias  $\beta$ , está menos sujeita à glicação (LENTERS-WESTRA et al., 2013) e, portanto, não é reconhecida pelos anticorpos. Assim, gera resultados de HbA1c falsamente baixos (BEHAN; STOREY; LEE, 2009).

Os ensaios enzimáticos disponíveis medem a HbA1c utilizando uma enzima que cliva, especificamente, sua valina N-terminal (LITTLE; ROBERTS, 2009).

O HPLC separa a HbA1c das demais com base nas diferentes cargas entre elas. Em 1980, foram desenvolvidos métodos de automação que utilizam o HPLC com alto nível de performance. Eles são eficientes, padronizados a nível nacional e não sofrem interferência de bases de Schiff ou hemoglobinas carbamyladas. As limitações se devem à capacidade (as amostras são analisadas uma a uma em instrumento com capacidade para 100 amostras), a problemas ocasionais com hemoglobinas variantes (apesar de resolvido para as mais frequentes) e a não se tratar de um analisador multipropósito (o instrumento trabalha isolado dos demais) (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

Em geral, a vantagem do HPLC por troca iônica (ou catiônica) é o baixo coeficiente de variação analítico (menor que 2%), sendo que os equipamentos mais modernos podem apresentar valores menores que 1%. Essas técnicas mostram-se, portanto, superiores às demais no monitoramento dos pacientes (LENTERS-WESTRA et al., 2013). Trata-se de uma tecnologia com poder quantitativo, específica, de alta reprodutibilidade, resolução e rápido tempo de ensaio devido à automação (KHERA et al., 2015).

#### 2.5.1.1 Princípio do Método de HPLC

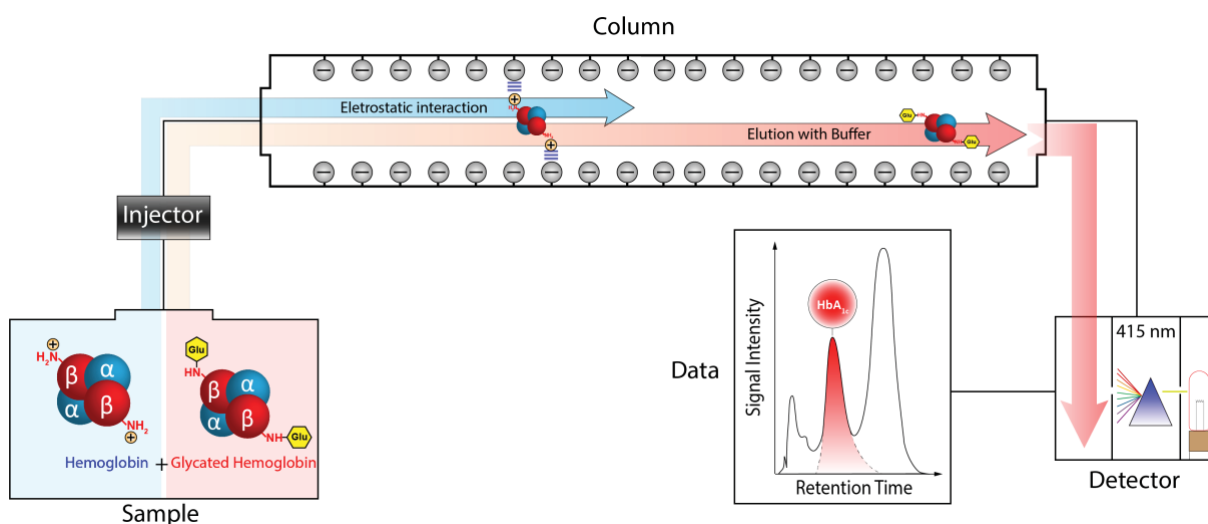
Como as hemoglobinas HbA0 e HbA1c têm diferenças sutis em seus pontos isoelétricos, sob determinadas situações analíticas, adquirem cargas elétricas diferentes. Portanto, podem ser separadas por cromatografia de troca iônica, eletroforese, eletroforese capilar e focalização isoelétrica (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

Esses métodos podem sofrer interferência dos demais membros da família da hemoglobina (base de Schiff, hemoglobina carbamylada e hemoglobinas variantes), que podem gerar inespecificidade analítica (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009).

O equipamento Variant II Turbo utiliza o princípio da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por troca iônica para separação e quantificação de diferentes frações das hemoglobinas humanas em sangue total. O sistema é composto por dois módulos: a estação de amostragem (VSS - *Variant II Sampling Station*) e a estação cromatográfica (VCS - *Variant II Chromatographic Station*) (BIO-RAD, 2012; PANT et al., 2015).

As amostras são automaticamente homogeneizadas na estação de amostragem, diluídas com um hemolisante específico (*wash buffer*) e introduzidas no sistema. Na estação cromatográfica, duas bombas injetam soluções tampão (*buffer A* e *buffer B*) com gradiente crescente de força iônica para a coluna cromatográfica. As amostras são carregadas pelos tampões até a coluna, onde as hemoglobinas são separadas de acordo com suas interações de maior ou menor afinidade com o material da coluna (figura 11) (JOUTOVSKY; HADZI-NESIC; NARDI, 2004; BIO-RAD, 2012; PANT et al., 2015).

FIGURA 11 - PRINCÍPIO DA QUANTIFICAÇÃO DA HbA1C UTILIZANDO HPLC POR TROCA IÔNICA



As hemoglobinas (Hb) glicada e não-glicada apresentam cargas elétricas diferentes em tampão apropriado. A amostra injetada em coluna catiônica (carga negativa) favorece maior interação com a Hb não-glicada comparado à Hb glicada, uma vez que a ligação da glicose reduz sua carga líquida positiva. O tampão injetado sob pressão com gradiente de força iônica promove a separação das diferentes populações de Hb. As diferentes frações são detectadas por espectrofotometria a 415nm e os tempos de retenção na coluna caracterizam os tipos de Hb. Sistemas de HPLC dedicados são otimizados para identificar a HbA1c com excelente acurácia e reprodutibilidade, em tempo reduzido. FONTE: RIFAI, N.; HORVATH, A. R.; WITWER (2018).

Após serem eluídas, as diferentes frações da hemoglobina separadas atravessam uma célula de fluxo do fotômetro (detector), e suas absorvâncias são medidas, primeiramente, em 415nm. Um filtro adicional, em 690nm, reduz a absorvância do ruído de fundo (*background*). Os dados das absorvâncias são transmitidos do detector para o *software* CDM (*Clinical Data Management*), que integra os dados brutos coletados de cada análise, gerando um cromatograma em tempo real de cada amostra (figura 11) (PANT et al., 2015; BIO-RAD, 2012). O espectrofotômetro mede a concentração de hemoglobina em cada fração coletada, que é quantificada pelo cálculo da área sob a curva de cada pico (JOUTOVSKY; HADZI-NESIC; NARDI, 2004; PANT et al., 2015).

Desta forma, para cada amostra é gerado um cromatograma, que mostra todas as frações eluídas, seus tempos de retenção, as áreas dos picos e os valores percentuais das frações. Para ajudar na interpretação dos resultados, cada pico tem sua janela definida pelo tempo de retenção característico (tempo, em minutos, decorrido entre a injeção da amostra ao ponto máximo de eluição de cada fração de hemoglobina, seja ela normal ou alguma variante) (figura 12) (BRY; CHEN; SACKS, 2001).

FIGURA 12 - EXEMPLOS DE CROMATOGRAMAS NA AUSÊNCIA (A) E NA PRESENÇA (B) DE HEMOGLOBINAS VARIANTES, OBTIDOS A PARTIR DE SISTEMA DE HPLC COM COLUNA DE TROCA IÔNICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA HbA1c

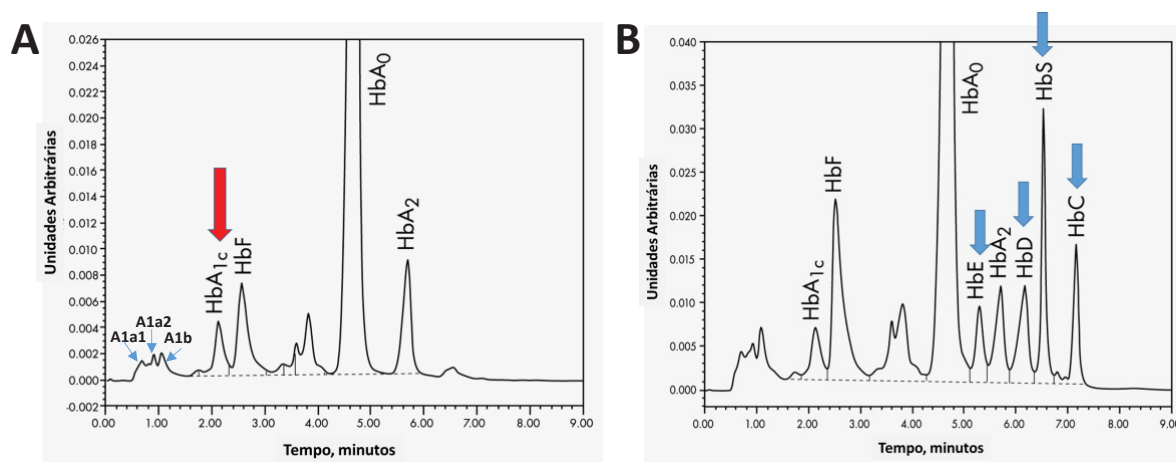


Figura 11A. Cromatograma de sangue “normal” sem hemoglobinas variantes, com destaque (flecha) para a identificação do pico da HbA1c e demais Hb identificadas segundo seus tempos de retenção. Identificadas as HbF (Fetal), HbA2 e HbA0 (fração não glicada).

Figura 11B. Cromatograma de sangue na presença de hemoglobinas variantes HbE, HbD, HbS e HbC, identificadas conforme seus tempos de retenção.

FONTE: <https://chromsystems.com/en/hemoglobin-variants-hplc-15330.html>

Cada hemoglobina tem seu tempo de retenção característico (JOUTOVSKY; HADZI-NESIC; NARDI, 2004; PANT et al., 2015). Se um pico eluir em um tempo de retenção não-definido, ele é definido como “desconhecido” (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2015).

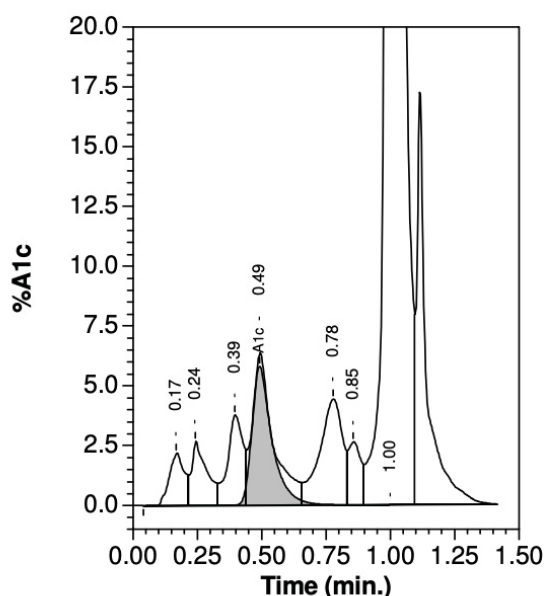
Entre as injeções de amostras, a agulha é lavada com solução de lavagem (*wash*) para minimizar o carreamento e contaminação cruzada. O pico da HbA1c aparece sombreado no cromatograma (figura 13).

FIGURA 13 – EXEMPLO DE HPLC-CROMATOGRAMA PARA QUANTIFICAÇÃO DA HbA1C EM AMOSTRA DE INDIVÍDUO SAUDÁVEL

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1a	---	1.3	0.168	22886
A1b	---	1.7	0.241	28152
LA1c	---	2.2	0.395	37891
A1c	5.8	---	0.491	81565
P3	---	4.1	0.776	70338
P4	---	1.3	0.854	22461
Ao	---	84.5	1.001	1432019

Total Area: 1,695,311

**HbA1c (NGSP) = 5.8 %**



Cromatograma e resultados calculados observados com sistema de HPLC BioRad Variant II dedicado à quantificação da hemoglobina glicada A1c (HbA1c) utilizando coluna de troca iônica. A parte superior ao cromatograma mostra os picos identificados, as suas respectivas áreas (%) ajustadas, com os tempos de retenção em minutos e as áreas dos picos em unidades arbitrárias (dados brutos).

O cromatograma destaca o pico da HbA1c com os tempos de retenção e o resultado calculado (5,8%), em ensaio padronizado pelo *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP).

FONTE: BIO-RAD (2012).



O equipamento Variant II Turbo separa a Hemoglobina A em hemoglobinas glicadas (HbA1) e hemoglobinas não-glicadas (HbA0). Ele separa também a Hemoglobina Fetal (HbF) e gera os picos P2, P3 (picos de degradação). Quando as hemoglobinas S, C, D ou E estão presentes, picos adicionais são gerados como “*variant window*” (WILD; STEPHENS, 1997).

Para as dosagens de HbA1c, o paciente não precisa estar em jejum, entretanto, resultados mais acurados são obtidos em amostras isentas de turbidez decorrentes da hipertrigliceridemia. Por esta razão, é recomendada a coleta de sangue, pelo menos, duas horas após a ingestão de alimentos (PIMAZONI NETTO et al., 2009).

A estabilidade da amostra, em geral, é de uma semana sob refrigeração (2 a 8°C) (SBD, 2021).

## 2.5.2 Principais interferentes na dosagem de HbA1c

A quantificação da HbA1c está sujeita a múltiplos interferentes. O quadro 3 resume os principais interferentes e mecanismos associados.

### 2.5.2.1 Tempo de vida das hemácias

Qualquer fator que altere o tempo de vida das hemácias impactará na distribuição entre eritrócitos mais jovens e senis. Conseqüentemente, afetará as dosagens de HbA1c (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

Algumas condições clínicas que levam ao aumento da destruição de hemácias podem gerar resultados falsamente baixos de HbA1c, uma vez que ao encurtarem o tempo de vida das hemácias, destroem eritrócitos maduros (GUO et al., 2019) e alteram a quantidade de hemoglobinas glicadas acumuladas (FREEMAN, 2014; WILBURN et al., 2017). Dentre elas estão: hemólise, anemia hemolítica, malária crônica e perda aguda de sangue (SACKS, 2003). Além disso, transfusão recente (SACKS, 2003) e diálise renal (devido à anemia e/ou administração de eritropoietina) podem ser causa de dosagens mais baixas de HbA1c (DING et al., 2018).

Vale ressaltar que os eritrócitos incorporam a glicose durante todo seu tempo de vida; logo, mudanças agudas terão menos influência nas dosagens da HbA1c. A utilidade das HbA1c no diagnóstico de diabetes fica, assim, prejudicada, quando

realizada no início de casos de diabetes tipo 1, diabetes gestacional ou em pacientes com dano pancreático agudo (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

QUADRO 3 - FATORES ESPECÍFICOS DO PACIENTE QUE AFETAM A CONCENTRAÇÃO DA HbA1c

<b>Aumento da HbA1c</b>	<b>Possível mecanismo</b>
Anemia por deficiências de ferro, folato ou vitamina B <sub>12</sub>	Redução do <i>turnover</i> dos eritrócitos e/ou alteração da velocidade de glicação
Hipertrigliceridemia (>1750mg/dL) ou hiperbilirrubinemia (>20mg/dL) severas	Possível interferência metodológica
Esplenectomia	Tempo de vida ampliado dos eritrócitos
Uremia	Formação de carbanil-1-hemoglobina
Ingestão crônica de álcool	Formação de acetaldeído-HbA1c
Deficiência de vitamina D	Mecanismo não esclarecido
Hipotireoidismo manifesto	Mecanismo não esclarecido. Possível redução do <i>turnover</i> dos eritrócitos
<b>Redução da HbA1c</b>	<b>Possível mecanismo</b>
Esplenomegalia, doença hepática (cirrose, hepatite crônica, doença alcoólica do fígado), Hemoglobinopatias (talassemia maior), Anemia aplásica	Redução no tempo de vida dos eritrócitos
Malária crônica	Aumento da destruição dos eritrócitos
Perda sanguínea aguda e crônica	Aumento da fração de eritrócitos jovens
Tratamento das deficiências de ferro e vitamina B <sub>12</sub>	Aumento de eritrócitos jovens na circulação (reticulocitose)
Vitamina E	Reduz a velocidade de glicação. Doses de 600 - 1200mg/dia podem reduzir a glicação.
Dapsona, ribavirina, antirretrovirais análogos a nucleosídeos, sulfasalazina, interferon-alfa, trimetoprin/sulfametoxazol	Causam hemólise e reduzem o tempo de vida dos eritrócitos
Elevada altitude, uso de eritropoietina	Aumento da produção de eritrócitos
<b>Aumento ou Redução da HbA1c</b>	<b>Possível mecanismo</b>
Transfusão sanguínea ou administração de papa de hemácias	Aumento HbA1c: aumento da glicose no meio de estocagem Redução HbA1c: efeito dilucional
Vitamina C	Aumento HbA1c: interferência metodológica (eletroforese) Redução HbA1c: na cromatografia devido a competição inibitória da glicação da Hb (não observado em doses farmacológicas)
Hemoglobinas variantes	Depende da variante e da metodologia. Heterozigotos usualmente não interferem; HbF causa superestimativa da HbA1c; HbS e HbC causam subestimativa dependendo da metodologia
Genética	Diferentes velocidades de glicação da Hb ( <i>low and high glycaters</i> )
Uso crônico de aspirina (ácido acetilsalicílico)	Aumento HbA1c: interferência em alguns métodos (doses elevadas) Redução HbA1c: reduz a velocidade da glicação da Hb

FONTE: Adaptado com modificações de ADA (2022).

Por outro lado, a HbA1c pode ficar falsamente elevada após uma esplenectomia (AMIN MOHSIN; PAUL; DEVENDRA, 2015) ou em pacientes com policitemia, devido ao tempo maior de sobrevivência das hemácias (BIO-RAD, 2012).

Há relatos na literatura de que o tempo de vida das hemácias pode ser reduzido pela hiperglicemia e por mudanças associadas à idade, tais como alterações no sistema hematopoiético, que comprometem a produção de eritrócitos. Assim, podem influenciar nas dosagens de HbA1c (MASUCH et al., 2019).

#### 2.5.2.2 Anemia

Anemia por deficiência de ferro, vitamina B12 ou folato podem resultar em valores elevados de HbA1c, devido à redução da eritropoiese (PIMAZONI NETTO et al., 2009), alterações na estrutura da hemoglobina ou na glicação da cadeia globina (DING et al., 2018; GUO et al., 2019).

A deficiência de ferro reduz a atividade de enzimas antioxidantes; portanto, promove a reação de espécies reativas de oxigênio com a hemoglobina - peroxidação. A consequente alteração da estrutura da hemoglobina acelera a sua glicação (GUO et al., 2019).

Segundo Campbell, Pepper e Shipman (2019), a suplementação com ferro pode levar a uma regulação positiva da hematopoiese. Consequentemente, a HbA1c diminui na proporção em que os eritrócitos jovens aumentam. Portanto, os autores alertam para que se tenha cuidado, durante o diagnóstico de diabetes, com indivíduos que apresentem dosagem de hemoglobina menor que 10 ou maior que 17 g/dL, e que estejam em terapia de reposição de ferro, pelo menos, até que os índices hematimétricos estabilizem-se (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

A suplementação com folato pode levar à redução da homocisteína, causando aumento da resistência à insulina, sugerindo efeitos glicêmicos e não-glicêmicos na dosagem da HbA1c (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

#### 2.5.2.3 Hemoglobinas variantes

As hemoglobinopatias podem afetar as dosagens de HbA1c por 3 mecanismos: influenciando na ligação da glicose à hemoglobina, alterando o pico

cromatográfico ou alterando o tempo de vida das hemácias (LORENZO-MEDINA et al., 2014).

O primeiro deles ocorre porque as hemoglobinas variantes reagem com a glicose de maneira semelhante à hemoglobina A, mas com cinéticas de glicação distintas (GILLERY, 2013; CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019; GUO et al., 2019). As modificações estruturais podem limitar o número de grupos amino disponíveis para se ligarem à glicose (GUO et al., 2019). Além disso, as propriedades eletroquímicas de ambas as formas, variantes glicadas e não-glicadas, são diferentes (WEYKAMP; JOHN; MOSCA, 2009). A Hb Görwihl, por exemplo, decorrente de uma mutação assintomática, é glicada de forma lenta, resultando em HbA1c significativamente menor que o esperado de acordo com a glicemia do paciente (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

O segundo caso decorre da co-eluição de muitas variantes e suas derivadas glicadas com a HbA0 e/ou com a HbA1c durante a cromatografia, acarretando falhas na resolução dos picos (LORENZO-MEDINA et al., 2014). Assim, a falta de separação entre elas gera resultados anômalos de HbA1c (NASIR; THEVARAJAH; YEAN, 2010; LORENZO-MEDINA et al., 2014), que podem ser falsamente aumentados ou diminuídos, dependendo do método utilizado e da hemoglobinopatia em questão (LORENZO-MEDINA et al., 2014).

Essas inconsistências podem ser consequência, também, de alterações nos tampões utilizados, nas colunas, temperatura, pressão, taxa de fluxo ou tempo programado de análise. Ademais, o algoritmo utilizado para o cálculo da HbA1c pode levar a resultados errôneos se ele não for capaz de reconhecer a presença de picos anormais e não gerar alertas (*flags*) (BRY; CHEN; SACKS, 2001).

Segundo Reynolds et al (2004), os métodos cromatográficos e de imunoensaio mais modernos não são afetados pelas variantes heterozigotas mais comuns (HbAS, HbAC e HbAE) ou geram alertas (*flags*) que indicam a presença de uma variante.

Conforme o manual do Variant II Turbo, nenhuma interferência significativa foi observada nas dosagens de HbA1c de pacientes com: HbS $\leq$ 67%; HbC $\leq$ 72%; HbD $\leq$ 55% e HbE $\leq$ 41% (BIO-RAD, 2012).

A substituição de um aminoácido neutro por um resíduo positivamente carregado na cadeia  $\beta$  de muitas hemoglobinas variantes diminui o tempo de retenção

das frações variantes não-glicadas, causando a co-eluição destas com a HbA1c. Assim, são gerados valores superestimados de HbA1c, que podem chegar a 54%, em alguns pacientes. Dentre os exemplos mais comuns estão: Hb Raleigh ( $\beta 1\text{Val}\rightarrow\text{Ala}$ ), HbGraz ( $\beta 2\text{His}\rightarrow\text{Leu}$ ), Hb Sherwood Forest ( $\beta 104\text{Arg}\rightarrow\text{Thr}$ ), Hb South Florida ( $\beta 1\text{Val}\rightarrow\text{Met}$ ) e Hb Niigata ( $\beta\text{N-Methionyl}1(\text{NA})\text{Val}\rightarrow\text{Leu}$ ) (BRY; CHEN; SACKS, 2001).

A presença de Hb Hope, Hb Niigata e Hb Okayama, que possuem tempos de retenção similares aos da HbA1c, no Variant II (Bio-Rad), levam a resultados marcadamente elevados de HbA1c, que variam de 30 a 45% (HIGGINS; RIDLEY, 2005).

Quando as hemoglobinas variantes co-eluem com a HbA1c e as variantes não-glicadas são separadas da HbA, ocorre uma determinação superestimada de HbA1c, pois a variante glicada é incorporada ao pico de HbA1c, enquanto o denominador permanece apenas com a área sob a curva do pico da HbA nativa, conforme a fórmula a seguir (BRY; CHEN; SACKS, 2001; SAW et al., 2013):

$$\% \text{HbA1c} = 100 \times \frac{\text{HbA1c}}{\text{HbA} + \text{HbA1c}}$$

Surchi e Rea (2017) mostraram, por meio de um caso clínico, uma hemoglobina variante - Hb Wayne - que, apesar de não produzir sintomas clínicos, interfere nas dosagens de HbA1c, quando utilizado o HPLC (Bio-Rad D100). Na cadeia  $\alpha$  da Hb Wayne, bem como de algumas outras variantes, três aminoácidos são substituídos por oito, causando mudança na carga da molécula de hemoglobina. Assim, durante a cromatografia, mesmo sem sofrer glicação, ela mimetiza a HbA1c, gerando um pico que se sobrepõe ao da HbA1c, aumentando falsamente os resultados da HbA1c. Utilizando outro método, o de afinidade ao boronato, no qual o ácido m-aminofenilborônico reage especificamente com a glicose ligada à hemoglobina, os autores não verificaram a interferência da variante em questão nos resultados da HbA1c (SURCHI; REA, 2017).

Quando a variante co-elui com a HbA e as variantes-glicadas são separadas da HbA1c, são gerados valores falsamente baixos de HbA1c (BRY; CHEN; SACKS, 2001; SAW et al., 2013). Exemplos incluem: HbD, HbG Philadelphia, HbJ Baltimore e HbO Padova no sistema da Bio-Rad e Hb Sherwood Forest e HbO Padova, no Hitachi

L-9100. No Tosoh A1c 2.2+, a HbE e a HbJ Baltimore geram essas interferências, mas a HbD e a HbG Philadelphia não (BRY; CHEN; SACKS, 2001).

Levando-se em conta que o Variant II Turbo 2.0 não inclui no cálculo da HbA1c a área sob a curva de nenhum pico identificado na janela “*variant window*”, a porcentagem de HbA pode ser subestimada, resultando em resultados falsamente elevados de HbA1c (WILBURN et al., 2017).

A inspeção minuciosa do cromatograma gerado pelo HPLC do analisador Variant II (Bio-Rad) pode revelar a presença de hemoglobinas variantes tanto pela presença de picos anormais, quanto pela concentração exageradamente alta de HbA1c (HIGGINS; RIDLEY, 2005).

Segundo Bry, Chen e Sacks (2001), alguns estudos encontraram HbA1c superestimada em pacientes com HbS, no equipamento Diamat (Bio-Rad), especialmente em dosagens baixas de HbA1c. Assim, nestes casos, a HbA1c pode não refletir de forma fidedigna o controle glicêmico, já que o tempo de vida das hemácias é menor, comparado ao dos pacientes normais (HIGGINS; RIDLEY, 2005).

Outras hemoglobinas variantes que interferem no método de HPLC (Variant II) são: HbG Couthata (gera diminuição dos valores de HbA1c), Hb Queens e Hb Bologna-St.Orsola (geram valores superestimados de HbA1c) (SAW et al., 2013).

Para indivíduos diabéticos, com hemoglobinas variantes, a escolha do método de dosagem de HbA1c pode, portanto, resultar em valores incorretamente altos ou baixos, tanto pela modalidade do teste, quanto pela redução do tempo de vida as hemácias (WILBURN et al., 2017).

Campbell, Pepper e Shipman (2019) e Wilburn et al. (2017) ressaltam que, devido à variações analíticas, pré-analíticas e à grande quantidade de hemoglobinas variantes descritas, cada laboratório deve avaliar seus métodos analíticos quanto ao potencial e natureza dos interferentes. A complexidade aumenta, particularmente, quando as hemoglobinopatias são assintomáticas e não-diagnosticadas.

Deve-se suspeitar de uma hemoglobinopatia quando os resultados de HbA1c forem maiores que 15%, menores que o limite mínimo do intervalo de referência, quando eles diferirem substancialmente dos demais índices de controle metabólico (SACKS, 2003; REEVE et al., 2015), não forem condizentes com a clínica do paciente e quando picos adicionais aparecerem no cromatograma (BRY; CHEN; SACKS, 2001). Nessas circunstâncias, a amostra deve ser analisada por outro método, que seja menos propenso a essa interferência (SCHNEDL et al., 2001; SACKS, 2003).

Os laboratórios clínicos devem, assim, providenciar estratégias alternativas para monitoramento do controle glicêmico de pacientes que apresentem hemoglobinas variantes, altas porcentagens de HbF ou anemia (SACKS, 2003; THOMAS et al., 2007; CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

Manley, Round e Smith (2006) destacam que, em pacientes heterozigotos para hemoglobinopatias, é importante inserir no laudo da dosagem de HbA1c comentários que ressaltem que os resultados devem ser interpretados com cautela, pois podem não ser comparáveis aos dados presentes nos protocolos clínicos disponíveis.

Strickland et al (2018) mostraram que os métodos baseados em HPLC não são confiáveis para detecção de hemoglobinas variantes raras, como Hb Roanne, Hb La Desirade e Hb Nouakchott. Elas são clinicamente silenciosas e associadas, apenas, à anemia leve, mas podem interferir analiticamente nas dosagens da HbA1c, levando a resultados errôneos se associadas a taxas baixas de glicação ou tempo de vida das hemácias diminuído (STRICKLAND et al., 2018).

Deve-se levar em consideração que uma variação de 1% na HbA1c reflete uma mudança de 29mg/dL (1,4 a 1,9mmol/L) na concentração de glicose média sanguínea (BEHAN; STOREY; LEE, 2009; NASIR; THEVARAJAH; YEAN, 2010). Sendo assim, medidas falsamente altas ou baixas de HbA1c, causadas pela presença de hemoglobinas variantes, podem levar a um tratamento do diabetes sub ou superestimado (NASIR; THEVARAJAH; YEAN, 2010; DING et al., 2018).

#### 2.5.2.4 Outros interferentes

A base de Schiff, que é a fração lábil da HbA1c, pode representar importante interferente na dosagem de HbA1c por alguns métodos (PIMAZONI NETTO et al., 2009), porém, no Variant II Turbo ela não é interferente em concentrações de até 6% (BIO-RAD, 2012).

A insuficiência renal pode elevar a HbA1c por meio da hemoglobina carbamylada (SBD, 2021). Portanto, ela não deve ser utilizada no diagnóstico de DM2 em estágios finais de falência renal. Nestes casos, deve-se preferir a glicemia em jejum como marcador (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

O fígado desempenha papel central no metabolismo da glicose. A cirrose hepática promove decréscimo da síntese proteica. Desse modo, a HbA1c não é um

marcador confiável do controle glicêmico em pacientes diabéticos com doença hepática crônica (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

A presença de grandes quantidades de vitaminas C ( $\geq 50\text{mg/mL}$ ) e E podem induzir resultados falsamente diminuídos de HbA1c, por inibirem a glicação da hemoglobina (PIMAZONI NETTO et al., 2009; CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019). Porém, essa dosagem de vitamina C é significativamente maior da que é possível se atingir com uma superdosagem pela via oral ( $< 0,4\text{mg/mL}$ ); portanto, mais estudos são necessários para se comprovar o efeito da vitamina E nas dosagens de HbA1c (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019).

## 2.6 DESCOBERTA DE CONHECIMENTO EM BANCO DE DADOS

Os grandes volumes de dados (do inglês *Big Data*) são complexos e podem ajudar na resolução de problemas e na tomada de decisões importantes. Relacionar, combinar e tratar os dados corretamente pode ser o caminho para redução de custos, tomada de decisões mais assertivas, identificação de falhas e problemas. A análise de dados consiste em encontrar padrões para monitorá-los e, sempre que houver alguma alteração, tomar a decisão certa (FAF, 2020).

A ferramenta KDD (Descoberta de Conhecimento em Banco de Dados, do inglês: *Knowledge Discovery Database*) é uma técnica computacional que pode auxiliar na análise automatizada de dados e extração de informações relevantes a partir de grandes bases de dados (SASS et al., 2014).

Ela é multidisciplinar, pois envolve áreas como estatística e inteligência computacional, e é composta de três etapas: pré-processamento, mineração e pós-processamento (LUIZ; MARTINS, 2015).

No pré-processamento, a seleção de dados identifica nas bases existentes as informações relevantes para serem utilizadas ao longo do processo do KDD. A limpeza dos dados cuida do tratamento dos dados selecionados, com remoção de ruídos, inconsistências e codificação para que sejam disponibilizados no formato adequado para entrada dos algoritmos utilizados nas etapas seguintes. O enriquecimento visa obter o máximo de informações que possam ser agregadas aos dados e registros já existentes (SASS et al., 2014; LUIZ; MARTINS, 2015).



A etapa de mineração dos dados, a principal no processo KDD, define as técnicas e algoritmos que serão utilizados, fazendo uso de redes neurais, algoritmos, modelos estatísticos e probabilísticos (LUIZ; MARTINS, 2015).

Por fim, o pós-processamento cuida do tratamento do conhecimento conquistado, elaborando e organizando os dados por meio de simplificação em gráficos, diagramas e demais tipos de visualização de dados (LUIZ; MARTINS, 2015). A informação extraída é analisada para verificação de sua relevância (SASS et al., 2014).

A descoberta de conhecimento auxilia as organizações no momento da tomada de decisão, uma vez que disponibiliza os dados de forma que seja possível avaliar os problemas e buscar novas soluções, além de auxiliar no desenvolvimento de previsões para projetos futuros (LUIZ; MARTINS, 2015).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 AMOSTRA

Registros não-identificados (para preservar o anonimato dos pacientes), obtidos do sistema de informação laboratorial (*LIS - Laboratory Information System*) do Laboratório Municipal de Curitiba, um laboratório terciário público vinculado à Prefeitura Municipal de Curitiba, Estado do Paraná, Sul do Brasil, constituíram a base de dados para este projeto de pesquisa.

Os registros, em número superior a 1.000.000, foram capturados, após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 68027317.7.0000.0102) e representam o período de janeiro de 2016 a novembro de 2019. Dados de 2020 foram apenas utilizados para a análise global do número de solicitações de HbA1c. Não foi possível obter informações clínicas associadas aos registros laboratoriais devido a estas informações não estarem atreladas ao banco de dados utilizado. Foram selecionadas as informações dos biomarcadores (com o conectivo “OU”) que seguem:

- a) dados antropométricos: idade e gênero;
- b) Dosagens séricas/plasmáticas: perfil lipídico (colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicérides), ureia, creatinina, glicemia de jejum, curva glicêmica (jejum, 1-hora e 2-horas após 75g de glicose oral), ferro e ferritina;
- c) Sangue total: hemoglobina glicada (HbA1c), hemograma (contagem de eritrócitos, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina).

Para o projeto desta dissertação, um subgrupo foi gerado com registros que apresentavam como critério de inclusão:

- Registros do mesmo paciente que compartilhavam informações da glicemia de jejum, hemoglobina glicada (HbA1c) e dados antropométricos.

Foram introduzidos, na sequência, os critérios de exclusão, com a remoção de registros que apresentavam:

- $HbA1c \leq 4,0\%$  e  $HbA1c \geq 19,0\%$ , que representam os limites de detecção analítica e possíveis *outliers*;
- Perfis cromatográficos para HbA1c anormais (presença de Hb variantes ou outras alterações); e
- glicemia em jejum  $\leq 40\text{mg/dL}$ .

Finalmente, foram removidos os registros duplicados e as homônias, configurando registros que pertencem a um único indivíduo. No software R, foi utilizado o seguinte *script*:

`unique(Banco_de_dados_Mestrado$NOME)`, onde “Banco\_de\_dados\_Mestrado” corresponde à planilha de trabalho e “NOME”, à variável de interesse.

Esta base de dados, com tamanho amostral de 122.852 registros, foi a utilizada nas análises propostas referentes à HbA1c.

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Quantificação da hemoglobina glicada (HbA1c)

Sangue total coletado com EDTA<sub>2</sub> (*Ethylenediamine Tetraacetic Acid - Vacutainer® BD-Becton Dickinson*). A HbA1c foi quantificada utilizando cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com coluna de troca iônica, no equipamento automatizado Variant II Turbo - *BioRad Laboratories*, utilizando reagentes, insumos, padrões e calibradores fornecidos pelo mesmo fabricante.

### 3.2.2 Quantificação da glicemia

Plasma obtido com coleta em tubo de vácuo contendo fluoreto-EDTA (BD Vacutainer® NaF-Na<sub>2</sub>EDTA) foi utilizado na determinação da glicemia, realizada no sistema automatizado Advia chemistry xpt system (*Siemens Healthcare Diagnósticos Ltda*), com reagentes, calibradores e padrões fornecidos pelo fabricante.

### 3.2.3 Hemoglobina total e hemograma

Sangue total coletado com EDTA (BD-Vacutainer® com EDTA K<sub>2</sub>), sendo que o eritrograma foi analisado no sistema automatizado Advia 2120 (*Siemens Healthcare Diagnósticos Ltda*), com reagentes, calibradores e padrões fornecidos pelo fabricante).

### 3.2.4 Análises da variação analítica e biológica para HbA1c e glicemia de jejum

O coeficiente de variação analítico interensaio ( $CV_a$ ),  $CV=(\text{desvio padrão}/\text{média})\times 100$ , foi calculado com a média do controle de qualidade “nível normal” (5,4-6,3%) das determinações de HbA1c por período superior a 6 meses, sendo  $CV_a\%=1,6\%$  (tabela 3). Para a glicemia de jejum, o  $CV_a$  também foi calculado da média dos valores observados para o controle de qualidade “nível normal” (70-90mg/dL) pelo mesmo período, sendo de  $CV_a\%=2,0\%$  (1,7-2,1%) (tabela 3).

O  $CV_a$  para a determinação da HbA1c ( $CV_a=1,6\%$ ) encontra respaldo na literatura. Rollborn et al. (2019) encontraram, para a mesma concentração, um  $CV_a$  de 0,9 a 1,9%.

Para o coeficiente de variação biológico intraindividual ( $CV_i$ ), que representa a flutuação ao acaso de um analito em torno de um ponto homeostático (FRASER, 2012), foram utilizados os dados da metanálise descritos por Ricós et al. (2020).

O efeito combinado  $CV_a$  e  $CV_i$  foi calculado com  $CV_{\text{total}} = (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$ , como descrito por Braga et al. (2015).

O valor mudança de referência (RCV, *Reference Change Values*), indicador de alteração em um resultado laboratorial, com base nas variabilidades analíticas e biológicas, com probabilidade de 95%, foi calculado como recomendado por Fraser (2012). Resumindo, o RCV foi calculado com a equação:  $RCV = 2^{1/2} \times Z_p \times (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$  (tabela 3). Os valores de “ $Z_p$ ” selecionados foram 1,65 (unidirecional) e 1,96 (bidirecional) para um z-score de 95%, para um valor de probabilidade <5% ( $p<0,05$ ).

TABELA 3 - COEFICIENTES DE VARIAÇÃO ANALÍTICA E BIOLÓGICA (INTRAINDIVIDUAL E INTERINDIVIDUAL) DA HBA1C E DA GLICOSE E PARÂMETROS ASSOCIADOS

Parâmetros	$CV_a$ %	$CV_i$ % (95%IC)	$CV_g$ % (95%IC)	$CV_{\text{total}}$ %	RCV (%)	
					Unidirecional	Bidirecional
HbA1c	1,6	1,2 (0,3-2,5)	5,4 (3,3-7,3)	2	4,6	5,5
Glicose de jejum	2,0	5,0 (4,1-12)	8,1 (2,7-10,8)	5,4	12,5	14,9

$CV_a$ : coeficiente de variação analítico (entre corridas) para glicemia obtido da média do controle de qualidade nível normal (70-90 mg/dL) do Laboratório Municipal de Curitiba (LMC). Para HbA1c, valores médios do controle de qualidade normal (5,4-6,3%) com HPLC (troca iônica, BioRad) similar ao descrito por Rollborn et al. (2019).

$CV_i$ : coeficiente de variação biológico intraindividual obtido da metanálise de RICÓS et al. (2020)

$CV_g$ : coeficiente de variação biológico interindividual obtido da metanálise de RICÓS et al. (2020)

$CV_{\text{total}} = (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$

RCV: reference change values; valor de mudança de referência

RCV unidirecional =  $2^{1/2} \times 1,65 (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$  ou  $RCV = 2,33 (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$

RCV bidirecional =  $2^{1/2} \times 1,96 (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$  ou  $RCV = 2,77 (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$

FONTE: O autor (2021).

### 3.2.5 Intervalo de referência

A estimativa do intervalo de referência (IR) foi realizada com uma subamostra, constituída a partir da amostra principal, utilizando os critérios de restrição descritos a seguir:

#### Remoção de registros com as características:

- HbA1c < 4,0%: associada a alterações na amostra (hemoglobinopatias);
- HbA1c igual ou superior ao menor valor estimado pela RCV unidirecional para o valor de corte de 6,5% (critério diagnóstico para diabetes);
- Glicemia de jejum igual ou superior ao menor valor estimado pela RCV unidirecional para o valor de corte de 126mg/dL (critério diagnóstico para diabetes);
- Glicemia de jejum menor ou igual a 54mg/dL (critério de hipoglicemia severa), associado ao diabetes descontrolado, entre outras causas;
- Hemoglobina total menor ou igual a 10g/dL e igual ou superior a 19g/dL;
- Gênero: Masculino (M) e Feminino (F).

O intervalo de referência foi calculado com o software MedCalc Statistical, utilizando a opção não-paramétrica percentil (*non-parametric percentile method*), como recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) em seu documento “*Defining, Establishing, And Verifying Reference Intervals In The Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition*” (C28-A3). O filtro no programa foi codificado como descrito na sequência:

AND(HA1C<6,2;HA1C>4;GLI<110;GLI>54;HB>10;HB<19;SEXO="x")

### 3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis contínuas, o teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar normalidade. Nenhum dos parâmetros apresentou distribuição normal ( $p < 0,05$ ); portanto, foram mostrados como mediana e intervalo interquartil (25% - 75%). As diferenças entre as variáveis contínuas foram avaliadas pelo teste de U Mann-Whitney. A análise de correlação de Spearman foi utilizada para identificar a relação entre as variáveis.

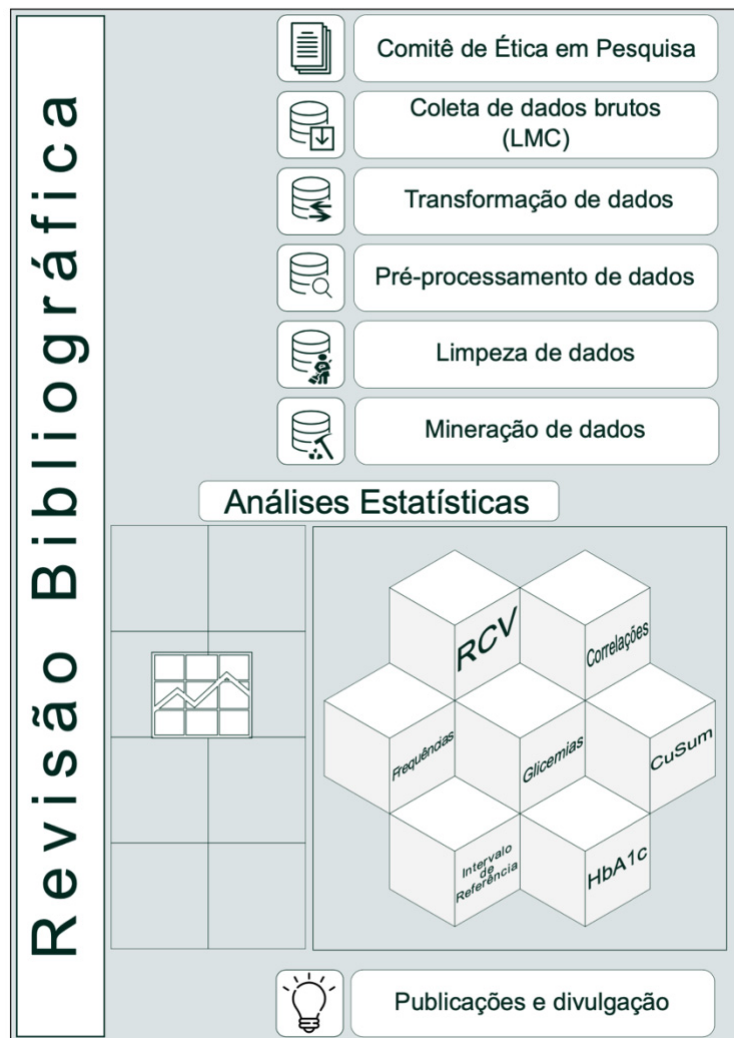
As variáveis discretas foram apresentadas em porcentagem e comparadas com o teste do Chi-quadrado. O intervalo de confiança de 95% (95% IC) foi calculado utilizando o teste para uma proporção.

As análises estatísticas descritivas e demais análises estatísticas foram realizadas com o Software R (R Foundation for Statistical Computing), version 3.6.1 (2019-07-05) -- "Action of the Toes". Copyright (C) 2019. The Platform: x86\_64-apple-darwin15.6.0 (64-bit). Adicionalmente, o software MedCalc Statistical Software version 19.1 (MedCalc Software bv, Ostend, Belgium) foi empregado em algumas análises como os gráficos de CuSum e Controle de Qualidade.

A probabilidade  $<5\%$  ( $p < 0,05$ ) foi considerada significativa em todas as análises.

## 4 FLUXOGRAMA

As principais etapas do trabalho estão descritas no fluxograma a seguir:



NOTA:

A coleta de dados brutos foi realizada pelo sistema de informação laboratorial (*LIS - Laboratory Information System*) do Laboratório Municipal de Curitiba. Para evitar colapso no servidor, a coleta dos dados foi fracionada em períodos de 4 em 4 dias, sendo realizada diariamente. Os dados brutos foram obtidos em forma de texto, sendo os dados separados por “ponto e vírgula”.

A transformação dos dados consistiu na construção de planilhas de trabalho com o programa de linguagem de programação Python (<https://www.python.org/>), utilizando a biblioteca PANDAS (<https://pandas.pydata.org/>).

O pré-processamento foi executado por meio da organização e remoção de dados redundantes e ruídos para harmonizar os textos. Na sequência, os registros foram limpos, em processo que remove dados incompatíveis, inconsistentes e promove a junção de dados oriundos de diferentes arquivos. Este processo foi realizado com as ferramentas *open source* SED (<https://www.gnu.org/software/sed/>) e CAT ([https://www.gnu.org/software/coreutils/manual/html\\_node/cat-invocation.html#cat-invocation](https://www.gnu.org/software/coreutils/manual/html_node/cat-invocation.html#cat-invocation)), bem como expressões regulares ([https://www.gnu.org/software/grep/manual/html\\_node/Regular-Expressions.html](https://www.gnu.org/software/grep/manual/html_node/Regular-Expressions.html)) e a linguagem AWK (<https://www.gnu.org/software/gawk/manual/gawk.html>), sendo todos os elementos citados nativos dos Sistemas Operacionais oriundos do UNIX.

Para a mineração de dados, reconhecimento de padrões e análises estatísticas foi utilizado o software R (<https://www.r-project.org/>). O MedCalc Statística e o Graphpad Prism foram utilizados para algumas análises estatísticas e construção de gráficos.

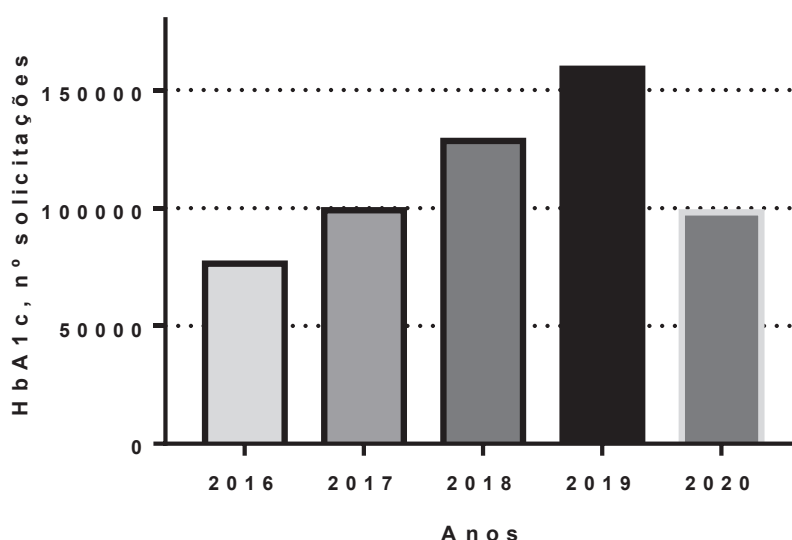
FONTE: O autor (2021).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Laboratório Municipal de Curitiba (LMC) é uma instituição pública terciária, altamente automatizado, com ampla área física, que pertence à Prefeitura Municipal de Curitiba, capital do Estado do Paraná, Sul do Brasil. O LMC possui, além do laboratório central, 111 diferentes centros de coleta de amostras dispersos pela cidade de Curitiba.

Consoante ao crescente aumento do número de casos de diabetes no mundo (SAEEDI et al., 2019) a solicitação da dosagem de hemoglobina glicada (HbA1c) vem crescendo regularmente ano a ano, como mostrado no gráfico 1.

GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DO NÚMERO DE DOSAGENS DE HbA1c REALIZADAS NO LABORATÓRIO MUNICIPAL DE CURITIBA (2016 - 2020)



NOTA: Dados obtidos do Laboratório Municipal de Curitiba, Estado do Paraná, Sul do Brasil. O número de solicitações em 2016 foi de 76.354; 99.034 em 2017; 128.475 em 2018; 159.083 em 2019 e 98.142 em 2020. O ano de 2020 apenas foi considerado para a análise global das solicitações de HbA1c, não fazendo parte das demais análises realizadas.

FONTE: O autor (2021).

No período estudado (2016-2020), um crescimento médio anual do número de solicitações de cerca de 28% foi observado entre 2016 e 2019 (gráfico 1). Uma queda superior a 60% nas solicitações em 2020 foi atribuída às restrições na circulação das pessoas devido à pandemia da COVID-19.

A amostra em estudo foi composta de 122.852 registros laboratoriais, com os critérios de seleção descritos em Materiais e Métodos. A tabela 4 apresenta a



estatística descritiva dos parâmetros laboratoriais, separados por gênero, da amostra em estudo.

TABELA 4 - CARACTERÍSTICAS DOS BIOMARCADORES DE INTERESSE NA AMOSTRA EM ESTUDO

Parâmetros	Masculino	Feminino	p	Total
N	44942	77910	-	122852
Idade (anos)	60 (49-69)	59 (48-69)	<0,001	60 (48-69)
Gênero (%)	36,6	63,4	<0,001*	100
Glicemia em jejum (mg/dL)	102 (89-136)	97 (86-123)	<0,001	99 (87-128)
HbA1c (%)	6,1 (5,5-7,5)	6,0 (5,5-7,1)	<0,001	6,0 (5,5-7,2)
HbA1c (mmol/mol)	43 (37-59)	42 (37-54)		42 (37-55)
Hemoglobina (g/dL)	14,9 (14,0-15,8)	13,6 (12,9-14,3)	<0,001	14,0 (13,1-14,9)
Volume globular (%)	44,8 (42,1-47,3)	41,2 (39-43,3)	<0,001	42,2 (39,7-44,9)
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> /μL)	5 (4,7-5,3)	4,6 (4,4-4,9)	<0,001	4,8 (4,46-5,06)
VCM (fL)	89,7 (86,4-93,1)	89 (85,8-92,1)	<0,001	89,3 (86-92,4)
HCM (pg)	29,9 (28,8-31,1)	29,4 (28,2-30,5)	<0,001	29,6 (28,4-30,7)

NOTA: Os valores são mediana (intervalo interquartil; 25%-75%) ou porcentagem.

HbA1c: hemoglobina glicada fração A1c

Volume globular ou hematócrito

VCM: volume corpuscular médio

HCM: hemoglobina corpuscular média

Probabilidade (p), teste U Mann-Whitney ou \*Teste do Chi-Quadrado

Conversão da unidade da HbA1c - DCCT para IFCC (<https://www.diabetes.co.uk/hba1c-units-converter.html>).

FONTE: O autor (2021).

A amostra estudada (n=122.852) apresentou mediana da idade de 60 anos (48-69), sendo que as mulheres apresentaram 1 ano a menos na mediana (p<0,001), quando comparada a dos homens (tabela 4). Uma idade superior a 50 anos era esperada, uma vez que a seleção da amostra teve como elemento central a dosagem de HbA1c, um biomarcador para diagnóstico e controle do diabetes, patologia que aumenta sua frequência em faixas etárias superiores a 40 anos de idade (SBD, 2020).

Na composição da amostra, as mulheres representaram 1,7 vezes (63,4%/36,6%) o número de homens (tabela 4). O número expressivamente maior de mulheres que buscam os serviços de atenção primária à saúde, comparado ao de homens, está descrito em outros estudos (TRAVASSOS; MARTINS, 2004; GOMES; NASCIMENTO; ARAÚJO, 2007; LEVORATO et al., 2014). Isto se deve a valores culturais e sociais, que levam os homens à enxergarem a doença como sinal de

fragilidade e vulnerabilidade (LEMOS et al., 2017) e a procura pelos serviços de saúde como fraqueza e insegurança. Esses fatores geram, portanto, resistência à adoção de práticas de autocuidado (GOMES; NASCIMENTO; ARAÚJO, 2007; LEMOS et al., 2017).

Estudos de Gomes, Nascimento e Araújo (2007); Teixeira e Cruz (2016) e Lemos et al. (2017) evidenciaram que os homens buscam os serviços de saúde, em geral, em situações emergenciais (dor ou impossibilidade de desempenhar suas funções rotineiras de trabalho). No contexto do diabetes tipo 2, que pode levar anos até manifestar sintomas clínicos (GARBER et al., 2017; SBD, 2020), a demora pela busca dos serviços de saúde pode acarretar diagnóstico tardio de agravos crônicos que poderiam ser controlados ou tratados precocemente (LEVORATO et al., 2014; TEIXEIRA; CRUZ, 2016).

As concentrações dos biomarcadores glicêmicos - glicemia em jejum e hemoglobina glicada (HbA1c) - na amostra total em estudo (tabela 4) apresentaram mediana próxima ou igual ao limite superior do intervalo de referência: glicemia 99mg/dL (IR=70-99mg/dL) e HbA1c 6,0% (IR=4,0%-5,7%). Estes resultados confirmam que a amostra contém expressiva presença de resultados elevados destes biomarcadores, o que era esperado, pois são ensaios para diagnóstico ou controle do diabetes (hiperglicemia).

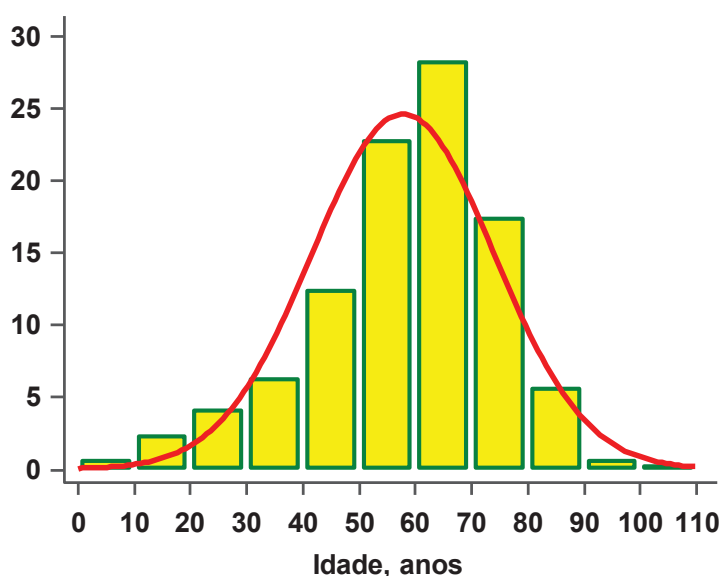
Um elemento interessante observado foi que as mulheres apresentaram as medianas das concentrações dos biomarcadores glicêmicos significativamente menores quando comparadas às dos homens ( $p < 0,001$ ). É possível supor, como apontado em parágrafos acima, que as mulheres têm um cuidado maior, comparado aos homens, com a saúde em geral e, conseqüentemente, com o controle glicêmico.

Os resultados do eritrograma (hemoglobina, volume globular, contagem de eritrócitos, VCM e HCM) estão dentro do intervalo de referência esperado para a amostra em estudo, ajustados por gênero e idade para a população brasileira (ROSENFELD et al., 2019).

Na caracterização da amostra em estudo é interessante analisar que a idade acima de 50 anos (figura 14) representa uma frequência superior a 50% da amostra total, que apresenta ampla variação: de 0,4 (3 meses) a 118 anos. A faixa etária observada é consistente com a seleção da amostra com ênfase na concentração da HbA1c, um biomarcador para diagnóstico e controle glicêmico, sendo conhecido que a frequência do diabetes aumenta com a idade.

Para a população brasileira, Schmidt et al. (2014), utilizando dados compilados de 2008 a 2010, demonstraram que a frequência dos diagnosticados com diabetes na faixa etária de 35-44 anos (3%) mais que duplica aos 45-54 anos (7,4%); novamente dobra aos 55-64 anos (14,3%), atingindo 20,9% (incremento de 1,5%) para 65-74 anos. A distribuição da idade em nossa amostra é compatível com a expressiva ampliação da frequência do diabetes e pré-diabetes na população brasileira.

FIGURA 14 - HISTOGRAMA DA DISTRIBUIÇÃO DA IDADE NA AMOSTRA



Distribuição (histograma) da idade na amostra. Tamanho amostral (n= 122.852). Normalidade rejeitada pelo teste Kolmogorov-Smirnov (D=0,075; p<0,0001). Mediana (intervalo interquartil) = 60 (48-69) anos; média±1-desvio-padrão = 57,7±16,2 anos.

NOTA: A curva sólida (em vermelho) representa a distribuição normal estimada.

FONTE: O autor (2021).

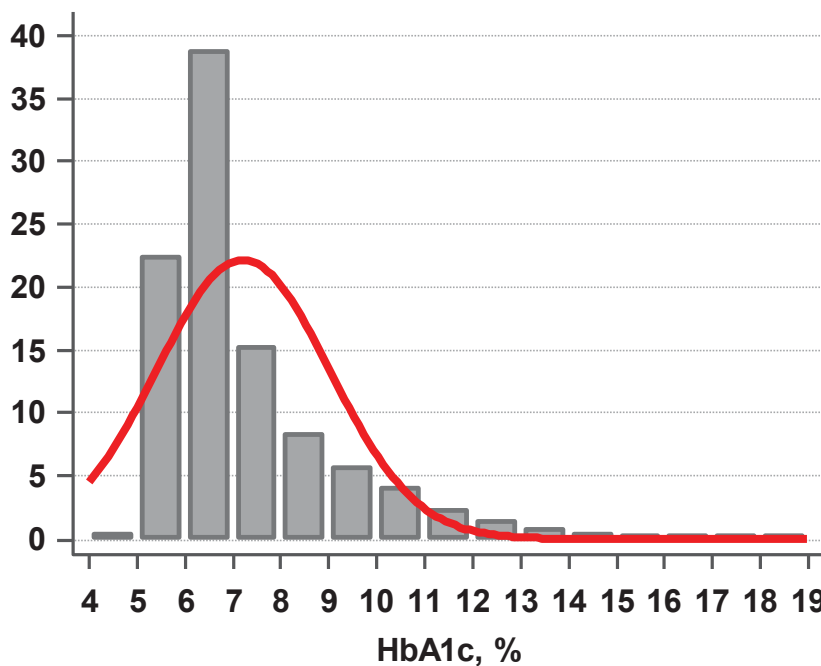
Na sequência, uma série de análises tendo a HbA1c como elemento central foram realizadas, utilizando a amostra em estudo.

### Distribuição da concentração da HbA1c na amostra em estudo

A figura 15 mostra a curva de distribuição de frequência das concentrações da HbA1c na amostra em estudo.

As concentrações de HbA1c entre 5,0% e 7,0% representaram cerca de 60% dos resultados na amostra total (figura 15). A concentração isolada de HbA1c de 5,7% apresentou a maior frequência (5,2% do total).

FIGURA 15 - DISTRIBUIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE HbA1c NA AMOSTRA ESTUDADA



Distribuição (histograma) das concentrações de hemoglobina glicada (HbA1c) entre 4,0% e 19,0%, na amostra. Tamanho amostral ( $n= 122.852$ ). Normalidade rejeitada pelo teste Kolmogorov-Smirnov ( $D=0,1832$ ;  $p<0,0001$ ). Mediana (intervalo interquartil) = 6,0% (5,5%-7,2%); média $\pm$ 1-desvio-padrão) = 6,8% $\pm$ 1,85%.

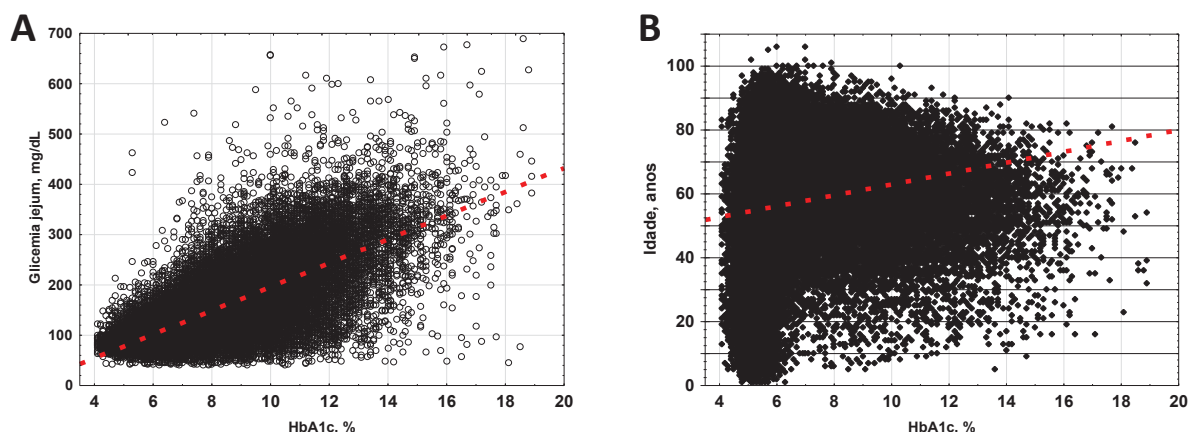
NOTA: A curva sólida (em vermelho) representa a distribuição normal estimada.

FONTE: O autor (2021).

### Análises de correlação

A correlação de Spearman, não paramétrica, foi utilizada para avaliar a relação entre a HbA1c e a glicemia em jejum (figura 16A) e com a idade (figura 16B).

FIGURA 16 - CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE HbA1c E GLICEMIA EM JEJUM (A) E IDADE (B)



NOTA: Coeficiente de correlação ( $r$ ) de Spearman.

A linha pontilhada representa a regressão linear.

Fig. A. Glicemia em jejum =  $23,59 \times \text{HbA1c} - 39,8$  ( $r=0,727$ ,  $p<0,001$ )

Fig. B. Idade =  $1,71 \times \text{HbA1c} + 45,9$  ( $r=0,329$ ,  $p<0,001$ )

FONTE: O autor (2021).

A interpretação do coeficiente de correlação de Spearman ( $r$  ou  $\rho$ ) utilizada foi compilada por Schober e Schwarte (2018), como descrito na sequência (tabela 5).

TABELA 5 - INTERPRETAÇÃO DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO

Coeficiente de correlação ( $r$ ou $\rho$ )	Interpretação da correlação
0,00 – 0,10	Negligenciável
0,10 – 0,39	Fraca
0,40 – 0,69	Moderada
0,70 – 0,89	Forte
0,90 – 1,00	Muito forte

O coeficiente de correlação pode ser positivo ou negativo.

Em destaque, coeficientes de correlação de Spearman moderado a muito forte.

FONTE: Adaptado de SCHOBER; SCHWARTE (2018).

A correlação de Spearman entre HbA1c e glicemia em jejum (figura 16A) foi forte e positiva ( $r=0,727$ ,  $p<0,001$ ). Entretanto, estudos em pacientes com DM2, na Arábia Saudita, mostraram correlação moderada entre esses biomarcadores ( $r=0,659$ ,  $p<0,001$ ) (AHMAD KHAN, 2007). Khan et al. (2014) também encontraram correlação moderada em homens diabéticos, na Arábia Saudita ( $r=0,571$ ,  $p<0,001$ ). Em pacientes não diabéticos, da mesma forma, estudos indicaram correlação significativa moderada entre glicemia de jejum e HbA1c ( $r=0,43$ ,  $p<0,001$ ) (SYMONIDES et al.,

2019). Em revisão realizada por Sherwani et al. (2016), o coeficiente de correlação de Pearson encontrado foi de 0,685,  $p=0,000$ .

Dados da literatura mostram também correlação positiva entre HbA1c e idade. No estudo de Symonides et al. (2019), com pacientes não diabéticos, independente de sexo e glicemia, a correlação foi moderada ( $r=0,55$ ,  $p<0,001$ ). No presente trabalho, a correlação de Spearman entre HbA1c e idade foi fraca e positiva ( $r=0,329$ ,  $p<0,001$ ) (figura 16B).

Segundo Punthakee, Goldenberg e Katz (2018), as concentrações de HbA1c podem se elevar em até 0,1 ponto percentual por década de vida a partir dos 40 anos (DAVIDSON; SCHRIGER, 2010). Masuch et al. (2019) mostraram aumento da HbA1c com a idade, a partir dos 40 anos, em população alemã, caucasiana, tanto em indivíduos saudáveis, quanto em saudáveis analisados conjuntamente com pacientes diabéticos, obesos, com sobrepeso, ou que faziam uso de medicamentos. O aumento foi de 0,153% por década de vida em homens e de 0,191% em mulheres (MASUCH et al., 2019).

O aumento gradual da HbA1c em indivíduos não diabéticos, independente do sexo e glicemia (KRHAČ; LOVRENČIĆ, 2019), pode ser explicado pelo incremento nas taxas de glicação (CAMPBELL; PEPPER; SHIPMAN, 2019) e na ampliação do tempo de vida das hemácias (MASUCH et al., 2019), que ocorre com o aumento da idade.

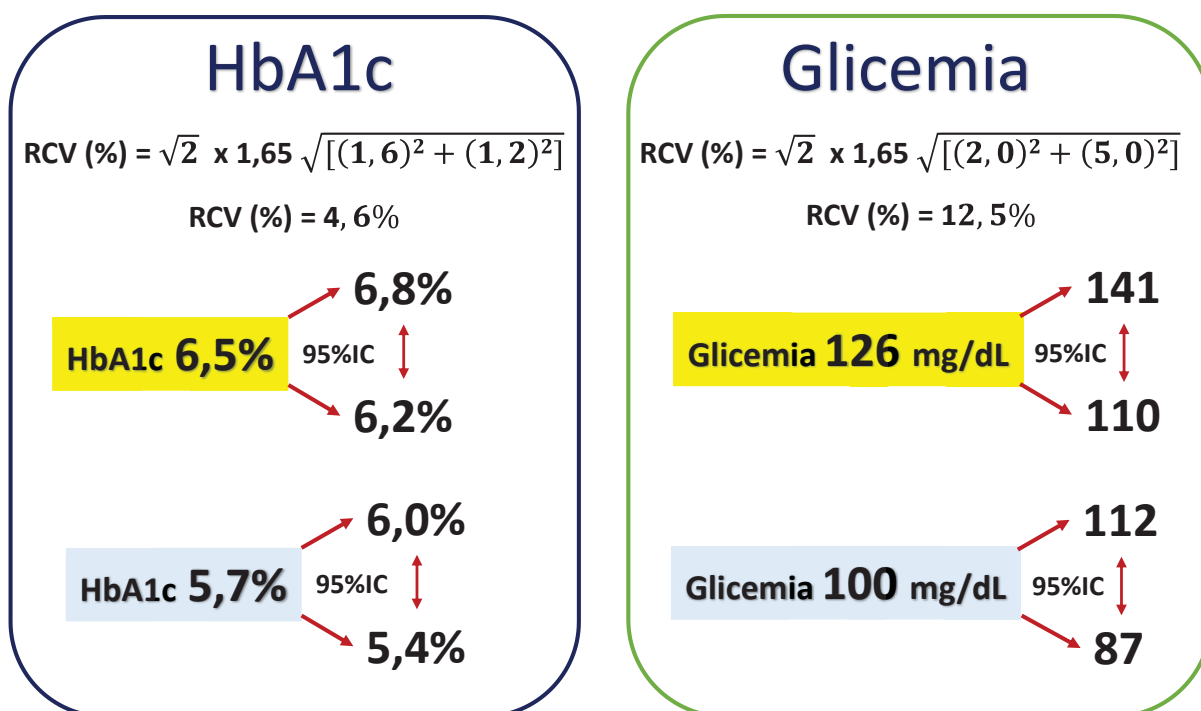
Sob condições fisiológicas normais, a maioria dos indivíduos com mais de 40 anos mantém o número de eritrócitos e a eritropoiese nos limites de referência para saudáveis; porém, sob estresse oxidativo associado à idade, o potencial hematopoiético fica comprometido. Além disso, alterações no sistema imunológico (como a função dos macrófagos do fígado, responsáveis pela remoção de eritrócitos da circulação) também podem estar associados ao aumento da HbA1c com a idade, independente de descontrole metabólico (MASUCH et al., 2019).

### **Aplicações dos valores de mudança de referência (RCV, *Reference Change Values*) aos biomarcadores glicêmicos**

Os conceitos de RCV, que permitem estimar a variação esperada para um analito com base nos coeficientes de variação analítico ( $CV_a$ ) e biológico ( $CV_i$ ), foram aplicados às concentrações de corte relevantes para uso diagnóstico tanto da HbA1c

quanto da glicemia em jejum, conforme descrito em Materiais e Métodos. A opção de utilizar a estatística Z-score unidirecional (1,65, para 95% do intervalo de confiança unidirecional), ao invés de valor de Z-score bidirecional (1,95) é recomendada por Fraser (2012). Esta opção está relacionada ao uso no diagnóstico clínico, em que a relevância é identificar se a variação de um biomarcador é acima ou abaixo do valor de corte, portanto unidirecional. Os resultados são apresentados na Figura 17.

FIGURA 17 - APLICAÇÃO DO RCV (*REFERENCE CHANGE VALUES*) EM CONCENTRAÇÕES DE CORTE RELEVANTES PARA A HbA1c E GLICEMIA DE JEJUM



Foi selecionado o RCV com estatística Z-unidirecional (1,65; para 95% do intervalo de confiança), com os valores de  $CV_a$  e  $CV_i$  descritos em Materiais e Métodos.

Os valores apresentados para HbA1c e glicemia são, respectivamente, pontos de corte para diagnóstico (amarelo) do diabetes (6,5% e 126 mg/dL) e limite superior (azul) do intervalo de referência (5,7 e 100 mg/dL).

Fonte: O autor (2021).

Considerando as estimativas com base no RCV nos critérios de corte para diagnóstico do diabetes da HbA1c ( $\geq 6,5\%$ ) e glicemia de jejum ( $\geq 126\text{mg/dL}$ ), estes valores não seriam diferentes, com 95% de probabilidade, de 6,2% e 110mg/dL, respectivamente (figura 17).

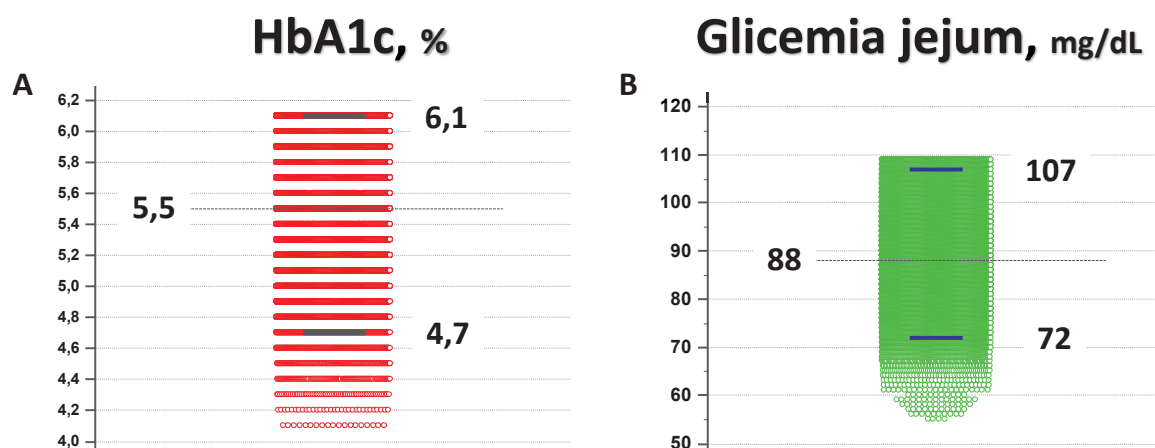
As estimativas baseadas no RCV são passíveis de críticas e representam uma variação estimada para situações que reflitam a média do coeficiente de variação biológico de laboratórios com controle de qualidade eficaz e contínuo (associado à baixo  $CV_a$ ), como descrito por Ricós et al. (2020).

No entanto, o RCV permite uma análise objetiva, com base em probabilidade estatística para estimar e magnificar as diferenças entre resultados de biomarcadores, considerando as principais fontes de variação nos resultados laboratoriais.

### Estimativa do intervalo de referência para os biomarcadores HbA1c e glicemia em jejum na amostra em estudo

Uma subamostra, gerada da amostra principal em estudo, foi construída utilizando os critérios descritos em materiais e métodos. Em síntese, foram removidos da amostra inicial registros com concentrações de HbA1c superiores a 6,2% e glicemia em jejum superiores a 110mg/dL, ambos limites inferiores do RCV para, respectivamente, os valores de corte de 6,5% e 126mg/dL (figura 18).

FIGURA 18 - CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DO INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA OS BIOMARCADORES HBA1C E GLICEMIA EM JEJUM COM O MÉTODO NÃO-PARAMÉTRICO PERCENTUAL



Tamanho amostral (n=50714).

A linha central tracejada representa a mediana e as barras de dispersão representam 2,5% e 97,5% dos valores. Os números em destaque representam a mediana (à esquerda) e os limites do intervalo de referência (à direita) para ambos os biomarcadores.

Para ambos os biomarcadores a distribuição não foi normal (Kolmogorov-Smirnov,  $p < 0,001$ )

FONTE: O autor (2021).

Além disso, foi introduzido como critério de exclusão (Materiais e Métodos: Amostra) concentrações muito alteradas de hemoglobina (<10g/dL e >19g/dL), a fim de minimizar as alterações nas concentrações da HbA1c decorrentes de processos patológicos como anemias e outras alterações eritrocitárias. Desta forma, a amostra



gerada para este estudo representa melhor a HbA1c associada às alterações glicêmicas, apenas.

Segundo Jones e Barker (2008), “o intervalo de referência é a ferramenta mais comum de auxílio à decisão para interpretação de resultados numéricos”. No estudo em tela, a subamostra total (ou quando separada por gênero) não apresentou distribuição normal, sendo aplicado o intervalo de referência compreendido entre 2,5% e 97,5% da curva (contempla 95% dos registros).

O intervalo de referência estimado para a HbA1c 4,7%-6,1% e para a glicemia de jejum 72-107mg/dL são os primeiros, a nosso conhecimento, descritos para a população brasileira da Região Sul do Brasil (tabela 6). As diferenças entre gêneros não apresentam relevância clínica.

TABELA 6 - INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA HBA1C E GLICEMIA EM JEJUM COM A SUBAMOSTRA EM ESTUDO

			Intervalo de referência – 95% confiança		
Biomarcadores	Gênero	n	Mediana	Limite mínimo	Limite máximo
HbA1c (%)	Homem	17202	5,5	4,7	6,1
	Mulher	35714	5,6	4,8	6,2
	Total	50714	5,5	4,7	6,1
Glicemia de jejum (mg/dL)	Homem	17202	89	72	107
	Mulher	35714	87	71	106
	Total	50714	88	72	107

Intervalo de referência para HbA1c e glicemia de jejum na subamostra em estudo, separado por gênero. Método não-paramétrico percentual (2,5% - 97,5%) de acordo com o CLSI (C28-A3).  
 FONTE: O autor (2021).

O desenho experimental proposto para estabelecer o intervalo de referência apresenta limitações. Foram utilizados registros de dados laboratoriais sem informações clínicas dos pacientes e, principalmente, a amostra apresenta viés ao contemplar elevada proporção de indivíduos diabéticos ( $HbA1c \geq 6,5\%$ ), como observado na Figura 15. Estes elementos podem oferecer uma tendência a um intervalo de referência com concentrações de HbA1c mais elevadas.

A abordagem implementada para o intervalo de referência apresenta elementos consistentes, que sobrepujam as limitações apresentadas. Primeiro, os limites impostos na seleção da subamostra (descritos em materiais e métodos), com base no RCV, removem diabéticos recém diagnosticados e diabéticos com controle inadequado da glicemia ( $HbA1c \geq 6,5\%$ ). Segundo, a associação aditiva de resultados

de HbA1c e glicemia de jejum, dentro dos parâmetros de seleção da subamostra, minimiza expressivamente a presença de diabéticos na subamostra. Finalmente, o elevado tamanho amostral ( $n > 50.000$  registros) permite minimizar ou mesmo suprimir a presença de registros dos biomarcadores que não sejam consistentes com a mediana da subamostra e, conseqüentemente, da população em estudo.

Os valores obtidos para o intervalo de referência (tabela 6) foram comparados com resultados para pacientes saudáveis, obtidos em três estudos do nosso grupo de pesquisa (tabela 7). Nos estudos selecionados, os indivíduos do grupo controle não apresentam diabetes estabelecido por ensaios de laboratórios e dados clínicos. Também relevante, os indivíduos destes estudos são todos da mesma região geográfica da subamostra deste estudo.

TABELA 7 - COMPARAÇÃO DO INTERVALO DE REFERÊNCIA COM RESULTADOS PARA INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS PARA HBA1C E GLICEMIA EM JEJUM

Indivíduos saudáveis	Idade	n	HbA1c (%)	Glicemia (mg/dL)	Referência
Adultos	48-60	50714	5,5 (4,7-6,1)	88 (72-107)	Este estudo
Adultos	46-56	291	5,3 (5,1-5,6)	92 (81-104)	(GOBOR et al., Braz. J. Pharm. Sci., v. 57, 2021).
Adultos	40-49	150	5,4 (5,2-5,6)	95 (85-106)	(CAMPOS et al., Genetics and Molecular Research 19 (4): gmr18645, 2020).
Adultos	38,9±12,7	962	5,2 (5,0-5,5)	<b>92±16*</b> <b>(60-124)</b>	(WELTER et al., Clinica Chimica Acta, v. 486, Nov, 2018).
Adolescentes	14,9±1,5	496	5,2 (5,0-5,5)	86,4±9 (68-104)	(WELTER et al., Clinica Chimica Acta, v. 486, Nov, 2018).
Crianças	10-11	169	5,2 (5,1-5,4)	<b>92 ± 11*</b> <b>(70-114)</b>	(CAMPOS et al., Genetics and Molecular Research 19 (4): gmr18645, 2020).
Crianças	9,7±1	580	5,3 (5,0-5,5)	<b>94±12,6*</b> <b>(69-119)</b>	(WELTER et al., Clinica Chimica Acta, v. 486, Nov, 2018).
Gestantes	24±6	305	-	83±7,2 (69-97)	(WELTER et al., Clinica Chimica Acta, v. 486, Nov, 2018).

NOTA: Os valores são HbA1c (%) representados por mediana (intervalo interquartil, 25%-75%) e glicemia de jejum (mg/dL), representado por mediana (intervalo interquartil) ou média±1-desvio padrão.

\*glicemia sem jejum, destacada em negrito

Glicemia: resultados entre parênteses representam a variação das concentrações calculadas pela média ±2-desvios padrões

A HbA1c dos artigos foi quantificada por HPLC ou imunoensaio.

As comparações apresentadas na tabela 7 evidenciam que o intervalo de referência proposto neste estudo é compatível com resultados de pacientes saudáveis para a HbA1c. As medianas observadas (5,2%-5,4%) são próximas à observada no estudo (6,0%). O intervalo de 95% proposto para a referência da HbA1c (4,7%-6,1%)

alberga a dispersão de todos os estudos utilizados na comparação, com pacientes sem diabetes e saudáveis. Estes elementos reforçam a consistência dos dados propostos.

O intervalo de referência para HbA1c (4,1% - 6,2%) encontrado no estudo de Masuch et al. (2019), em população saudável alemã, com idades entre 40 a 59 anos, também corrobora o intervalo proposto no presente trabalho.

Para a glicemia de jejum, as comparações com amostras em jejum apresentam a mesma pertinência descrita para a HbA1c. Nos estudos de comparação, alguns grupos apresentam a glicemia sem jejum proveniente de amostras de banco de sangue e crianças, onde o jejum não é a opção de escolha.

O intervalo de referência para estes biomarcadores tem recebido pouca atenção dos pesquisadores, uma vez que as concentrações de corte para o diagnóstico e risco para o diabetes foram estabelecidas, e estes valores apresentam amplo uso diagnóstico.

A aplicação da ferramenta de mineração de dados é adequada, portanto, para a produção de conhecimento na rede SUS, já que possibilitou a determinação do intervalo de referência (resultados esperados de testes laboratoriais 95% centrais de uma população de referência) (JONES et al., 2019) para HbA1c e glicemia em jejum da população em estudo. Com a utilização de um tamanho amostral expressivo (>50.000 pacientes) é possível minimizar o viés de uma amostra contendo tanto pacientes normais quanto diabéticos com bom controle glicêmico.

Essas informações são importantes para que os clínicos possam interpretar corretamente os resultados laboratoriais e optar por melhores condutas em relação aos pacientes. A aplicação dos intervalos de referência não deve, entretanto, ser confundida com os limites de decisão clínica (relacionados a valores de corte, desfechos ou resposta a mudanças de terapia) (JONES et al., 2019).

### **Frequência da HbA1c na população estudada de acordo com critérios de risco para diabetes**

A frequência da HbA1c, de acordo com diferentes critérios de risco para diabetes, encontra-se na tabela 8. São eles: risco para desenvolvimento de diabetes, conforme a SBD (2021) e a ADA (2022) e risco de diabetes no futuro (em 5 anos), proposto por Zhang et al. (2010) e Robinson e Abdel-Motagally (2011). A tabela 8

apresenta, ainda, a estratificação do controle glicêmico dos pacientes, conforme as dosagens de HbA1c (%).

TABELA 8 - FREQUÊNCIA DA HbA1c NA POPULAÇÃO ESTUDADA DE ACORDO COM DIFERENTES CRITÉRIOS DE RISCO PARA DIABETES

Critério	Risco de diabetes em 5 anos (>18 anos)		Frequência observada na população em estudo [95%CI]			Total (n=122852)
	Zhang et al. (2010)	Robinson e Abdel-Motagally (2011)	Homens (n=44942)	Mulheres (n=77910)	p	
HbA1c (%)						
5,0≤HbA1c≤5,5	<5-9%	4%	(19,4%)	(19,8%)	0,055	(19,7%)
5,5<HbA1c<6,0	9-25%	6%	(18,7%)	(20,6%)	<0,001	(19,9%)
6,0≤HbA1c<6,5	25-50%	9%	(15,3%)	(17,4%)	<0,001	(16,6%)
<b>Intervalo de Referência</b>	<b>Descrição</b>					
<b>HbA1c (%)</b>	4,7≤HbA1≤6,1		(47,9%)	(51,3%)		(50,1%)
	<b>Risco para DM2</b>					
4,0≤HbA1c≤5,7	Baixo risco		(35,6%)	(36,4%)	<0,001	(36,1%)
5,7<HbA1c≤6,4	Pré-diabetes*		(24,7%)	(28,5%)	<0,001	(27,1%)
HbA1c≥6,5%	Diabetes		(39,7%)	(35,1%)	<0,001	(36,8%)
	<b>Controle Glicêmico</b>					
6,5≤HbA1c≤7,0	Bom		(10,2%)	(10,6%)	0,055	(10,6%)
7,0<HbA1c≤8,0	Pobre		(11,3%)	(10,4%)	<0,001	(10,7%)
HbA1c>8,0	Controle inadequado		(21,8%)	(18,1%)	<0,001	(19,5%)
8,0<HbA1c≤9,0	Ruim		(7,8%)	(6,7%)	<0,001	(7,1%)
9,0<HbA1c≤10,0	Péssimo		(5,5%)	(4,5%)	<0,001	(4,9%)
HbA1c>10,0	Péssimo		(8,5%)	(6,9%)	<0,001	(7,5%)

NOTA:

A probabilidade (risco) de desenvolver diabetes tipo 2 em 5 anos propostas por Zhang et al. (2010) e Robinson e Abdel-Motagally (2011) está em destaque.

\*Critérios adotados por: SBD, 2021; ADA, 2022. Os resultados para as variáveis são apresentados como porcentagem (%). Probabilidade (p): teste do Chi-Quadrado, com nível de significância de 0,05. FONTE: O autor (2021).

A frequência de mulheres com dosagens de HbA1c≤5,7%, indicativas de baixo risco para diabetes (SBD, 2021), foi significativamente maior que a de homens (36,4% vs 35,6%, p<0,001), conforme esperado, devido às questões sociais e culturais discutidas anteriormente, que condicionam as mulheres a um melhor autocuidado com a saúde (tabela 8).

A análise mostrou 27,1% dos indivíduos em risco de desenvolverem diabetes, designados como pré-diabéticos (tabela 8) (ZHANG et al., 2010; LEONG et al., 2018;

SYMONIDES et al., 2019), que apresentam diferentes graus de disglucemia (intolerância à glicose), mas não atendem aos critérios de diagnóstico para diabetes (SYMONIDES et al., 2019). Eles apresentam  $5,7\% < \text{HbA1c} \leq 6,4\%$  (JIA, 2016; SRIVANICHAKORN et al., 2017; LEONG et al., 2018; ADA - ADA, 2022) e, apesar de poderem retornar ao estado de normoglicemia, podem progredir ao diabetes tipo 2 e estão em risco de desenvolver, também, doenças cardiovasculares (SRIVANICHAKORN et al., 2017; PUNTHAKEE; GOLDENBERG; KATZ, 2018). Isso ocorre porque as alterações fisiológicas no diabetes já acontecem antes mesmo da elevação da glicemia (ZHENG; LEY; HU, 2017).

Corroborando os dados encontrados, a análise de pacientes atendidos pelo laboratório da Universidade Regional de Blumenau (SC - Sul do Brasil), no ano de 2015, com média de idade de 46 anos, detectou 23% de pré-diabéticos (SOMBRIO et al., 2018). Marini et al. (2017) encontraram, dentre pacientes na Roma (Itália), 32,2% com esse mesmo perfil de dosagens de HbA1c.

A detecção precoce deste grupo de indivíduos deve ser prioritária nos serviços de saúde (PARANÁ, 2018) para que ações preventivas possam ser iniciadas (JIA, 2016; IDF, 2019), uma vez que a incidência de diabetes pode ser reduzida em, pelo menos, 50% com a implementação de políticas de saúde de estímulo a hábitos de vida saudáveis e, em 30%, com intervenções medicamentosas (metformina, por exemplo) (ZHANG et al., 2010; SAEEDI et al., 2019). Mudanças no estilo de vida podem reduzir, também, a velocidade de progressão da doença (JIA, 2016; GARBER et al., 2017; SAEEDI et al., 2019).

Como a seleção dos valores de HbA1c para detecção do pré-diabetes foi baseada nas evidências de que medidas de intervenção, quando aplicadas a este grupo de risco, previnem novos casos e postergam o aparecimento de complicações, Zhang et al. (2010) criaram uma categorização de risco de diabetes no futuro (incidência de diabetes em 5 anos).

Conforme Zhang e colaboradores, o aumento das dosagens de HbA1c de 6,0% para 6,5% foi associado à elevação na incidência de diabetes em 5 anos de 25 a 50% (ZHANG et al., 2010). Já para Robinson e Abdel-Motagally (2011), esse aumento é de 9%. Portanto, a identificação desse grupo de pacientes (16,6%) na presente base de dados (tabela 8) alerta aos gestores de saúde um quantitativo de indivíduos que pode se beneficiar com o desenvolvimento de políticas públicas de intervenções preventivas (ZHANG et al., 2010).

No estudo, o número de registros que apresentaram concentração da HbA1c  $\geq 6,5\%$ , critério para o diagnóstico do diabetes, foi 36,8%, com predominância significativa de homens sobre as mulheres (tabela 8). O desenho experimental não permite estimar a frequência do diabetes na população, uma vez que há, na amostra, um viés explícito de mistura de pacientes com diagnóstico “novo” de diabetes e expressiva porcentagem de pacientes diabéticos que medem a HbA1c para monitoramento do controle glicêmico.

Malta e colaboradores (2019) avaliaram uma amostra populacional de 8541 indivíduos de diferentes regiões brasileiras em 2015-2016 e, utilizando como critério a HbA1c  $\geq 6,5\%$  (medida por HPLC) e/ou uso de medicamentos antidiabéticos, estimaram a prevalência do diabetes na população em 8,4%. A razão entre nossos dados e a prevalência do diabetes proposta pelos autores citados (36,8%/8,4%) é de 4,4. Considerando que ambos os estudos estão lastreados na concentração da HbA1c, apresentamos como hipótese, a ser confirmada em estudos posteriores, que a frequência observada de HbA1c de 36,8% em nosso estudo representa uma parte de diabéticos novos e três partes de diabéticos que realizam seu controle glicêmico.

Em 2018, Cavalcanti et al. (2018) estimaram a prevalência de diabetes da população atendida pela rede SUS do município de Curitiba (a mesma do presente estudo) em 9,1%, utilizando entrevistas, dados antropométricos e exames laboratoriais de 1161 participantes. Considerando apenas os pacientes com idades iguais ou superiores a 60 anos, os autores encontraram prevalência de 28,1% (23,5-32,7, IC 95%), que se aproxima da encontrada no presente estudo, em que a mediana de idade dos pacientes foi de 60 anos (48-69). Esse aumento da frequência de diabetes com o avanço da idade está estabelecido na literatura (SCHMIDT et al., 2014; SBD, 2021).

As complicações relacionadas ao diabetes são diretamente proporcionais às dosagens de HbA1c (KHAN et al., 2014; SHERWANI et al., 2016). Entre diabéticos, o acréscimo de 1% na HbA1c está associado a, aproximadamente, 30% de aumento em todas as causas de mortalidade e 40% de aumento na mortalidade por doença cardiovascular ou isquemia do coração. Por outro lado, a redução de 0,2% do nível de HbA1c pode diminuir a mortalidade em 10% (SHERWANI et al., 2016).

Rezende et al. (2020), em estudo retrospectivo com pacientes com DM2 da Universidade de São Paulo, entre os anos de 2003 e 2007, mostrou que o aumento

de 1 ponto percentual nas concentrações da HbA1c está associado ao aumento de 22% no risco de desfecho combinado de morte, infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral isquêmico.

Neste contexto, a Sociedade Brasileira de Diabetes estabeleceu como meta para caracterização de bom controle glicêmico de adultos concentrações de  $6,5\% \leq \text{HbA1c} \leq 7,0\%$ , que podem ser mais rígidas ( $<6,5\%$ ), desde que seja seguro ao paciente, com baixa frequência de hipoglicemias (SBD, 2020; KRHAČ; LOVRENČIĆ, 2019).

No estudo, 10,6% dos pacientes apresentaram bom controle glicêmico ( $6,5\% \leq \text{HbA1c} \leq 7,0\%$ ) (tabela 8). Números semelhantes foram encontrados em 2015, no mesmo município, em estudo realizado com 566 pacientes DM2 (somente 16% deles estavam controlados) (BRASIL, 2015). Outro trabalho, de Baptista et al. (2015), no mesmo município, encontrou um número significativamente menor de pacientes diabéticos tipo 1 dentro das metas terapêuticas de  $\text{HbA1c} \leq 7,0\%$ , quando comparados aos diabéticos tipo 2 (9,5% vs 33,3%, respectivamente,  $p < 0,01$ ).

Há relatos na literatura de que apenas 10,1% dos pacientes DM2 com sobrepeso ou obesos conseguem manter alvos terapêuticos de  $\text{HbA1c} < 7,0\%$ , além de pressão arterial  $< 130/80 \text{ mmHg}$  e LDL-c  $< 100 \text{ mg/dL}$ . Mesmo dentre os que são acompanhados por endocrinologistas, 22% atingem todos esses alvos (RAPOPORT et al., 2015). Segundo Zheng, Ley e Hu (2017), 39% dos diabéticos em tratamento atingem a meta de HbA1c.

Quando as concentrações de HbA1c são mantidas acima de 7%, mesmo com doses máximas de dois antidiabéticos orais, há risco aumentado de complicações cardiovasculares (EIK FILHO et al., 2016). Por isso, as recomendações para os pacientes incluem hábitos de vida saudáveis (dieta e exercícios) e manutenção da  $\text{HbA1c} < 7,0\%$ , para caracterização de um bom controle glicêmico (LENTERS-WESTRA et al., 2013; SHERWANI et al., 2016).

Concentrações de  $\text{HbA1c} \geq 8,0\%$  já foram associadas a um decréscimo na sobrevida da população geral de diabéticos (SHERWANI et al., 2016). Na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, o risco de mortalidade hospitalar em pacientes com  $\text{HbA1c} \geq 9,3\%$  foi maior (razão de risco 1,74%, com 95% de IC) que dos pacientes que tinham dosagens de HbA1c menores (VIANA et al., 2014).

Estudos já evidenciaram que indivíduos que mantiveram pressão arterial  $>140/90$  mmHg;  $HbA1c > 8,0\%$  e  $LDL-c > 130$  mg/dL por, pelo menos, 50% do período de 3 anos de acompanhamento, tiveram maior incidência de neuropatia e retinopatia, quando comparados aos que mantiveram pressão arterial  $<140/90$  mmHg,  $HbA1c < 8,0\%$  e  $LDL-c < 130$  mg/dL por, pelo menos, 80% do tempo de estudo (RAPOPORT et al., 2015).

A frequência de pacientes com controle glicêmico inadequado ( $HbA1c > 8,0\%$ ) no presente trabalho (19,5%) foi quase o dobro daqueles com bom controle (10,6%). O número de homens foi significativamente superior ao de mulheres ( $p < 0,001$ ) para todas as faixas de  $HbA1c$  avaliadas (tabela 8). Como já salientado anteriormente, a literatura mostra que o controle glicêmico e a adesão às práticas de autocuidado podem ser influenciados por fatores culturais e, também, econômicos, sociodemográficos (idade, sexo) e escolaridade. Alguns deles interferem na compreensão dos usuários acerca da importância de sua participação ativa no manejo diário de sua condição crônica (MACEDO et al., 2017; ADA, 2022).

Nesse contexto, tanto Duarte et al. (2019) quanto Bener et al. (2012) sugerem que abordagens de cuidado, prevenção e tratamento específicas, de acordo com o sexo do paciente, podem ser adotadas. Entretanto, para Campbell, Pepper e Shipman (2019), as evidências sobre a relação entre o gênero e a  $HbA1c$  são limitadas; portanto, este parâmetro não deve ser considerado durante o diagnóstico ou monitoramento do DM.

Números semelhantes foram encontrados por Souza et al. (2014), no município de São Paulo (SP - Brasil): 22,5% de pacientes DM2, com idade  $\geq 60$  anos, de uma clínica geriátrica, apresentaram controle glicêmico inadequado ( $HbA1c > 8,0\%$ ). Em média, os pacientes tinham diabetes há 10 anos, 31,8% faziam uso de insulina e a  $HbA1c$  média era de 7,2% (SOUZA et al., 2014).

Já na cidade de Maringá (PR - Brasil), em 2016, estudo conduzido por Eik Filho et al. (2016), com diabéticos tipo 2 entre 18 e 80 anos, na atenção primária à saúde, com mediana de  $HbA1c$  de 7,75% (6,95-10,1), encontrou 50% dos pacientes com  $7,0 < HbA1c < 10,1\%$  e, 25%, com  $HbA1c \geq 10,1\%$ .

Na Nigéria (África), Anioke et al. (2019) encontraram realidade ainda mais alarmante: 83,3% dos pacientes DM2, em tratamento, estavam fora da meta terapêutica ( $HbA1c \geq 7,0\%$ ).



Por outro lado, em Recife (PE - Brasil), Borba et al. (2019) encontraram, dentre idosos diabéticos ( $\geq 60$  anos), 76,7% com controle glicêmico adequado ( $HbA1c < 7,0\%$ ), sendo que 50,5% deles tinham diabetes há menos de 10 anos e 51% apresentavam excesso de peso.

Pesquisadores ressaltam que as metas terapêuticas devem, contudo, ser individualizadas conforme a duração do diabetes, idade ou expectativa de vida, doenças cardiovasculares, outras comorbidades, risco de hipoglicemia e fatores psicossociais (GARBER et al., 2017; GUPTA; JAIN; CHAUHAN, 2017). Masuch et al. (2019) salientam que, especialmente em idosos, a hipoglicemia devido a alvos terapêuticos de  $HbA1c$  inadequados merece atenção porque, com o avanço da idade, as respostas biológicas à hipoglicemia dos sistemas hepático, neurológico, endócrino, cardíaco e renal tendem a ficar comprometidas, mesmo em adultos não diabéticos. Em se tratando de idosos diabéticos, esse comprometimento pode ser exacerbado e ter consequências severas.

A análise do banco de dados deixou evidente que, assim como em outras cidades do Brasil, mesmo havendo iniciativas governamentais instituídas na atenção primária à saúde, opções terapêuticas disponíveis e exames laboratoriais na rede pública de saúde, tanto para diagnóstico, quanto para controle do diabetes, existe ainda número considerável de pacientes fora das metas terapêuticas (BRASIL, 2015; EIK FILHO et al., 2016).

Como o diabetes requer cuidados de automonitoramento e regimes farmacológicos cada vez mais complexos ao longo do tempo (SOUZA et al., 2014), a colaboração do paciente é essencial (RAPOPORT et al., 2015; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2020).

Nesse contexto, verifica-se a importância da educação em saúde, visando o empoderamento e promoção do autocuidado, para viabilizar mudanças de comportamento para controle da doença (EIK FILHO et al., 2016; DOS SANTOS et al., 2017; MACEDO et al., 2017; BORBA et al., 2019). Já foi observado redução estatisticamente significativa do valor de  $HbA1c$  de 8,3% (5,7-13,1) para 7,4% (5,2-11,9),  $p < 0,001$ , após intervenção educativa de equipes de estratégia em saúde da família visando autocuidado, adesão e empoderamento de diabéticos tipo 2 no município de Divinópolis (MG - Brasil) (MACEDO et al., 2017).

Educação em grupo e visitas domiciliares trouxeram resultados positivos em relação ao autocuidado de pacientes diabéticos (socialização, troca de experiências

e construção do conhecimento). Quando baseadas em empoderamento e diálogo essas estratégias são consideradas efetivas na promoção e prevenção de complicações (DOS SANTOS et al., 2017).

A ADA (2022) também destacou, recentemente, que a interprofissionalidade nas equipes de cuidado são mais adequadas no manejo de pacientes com condições crônicas complexas, como o diabetes.

### **Proposta de novos indicadores ao Sistema Único de Saúde para monitoramento da evolução da frequência do diabetes e do controle glicêmico na população em estudo**

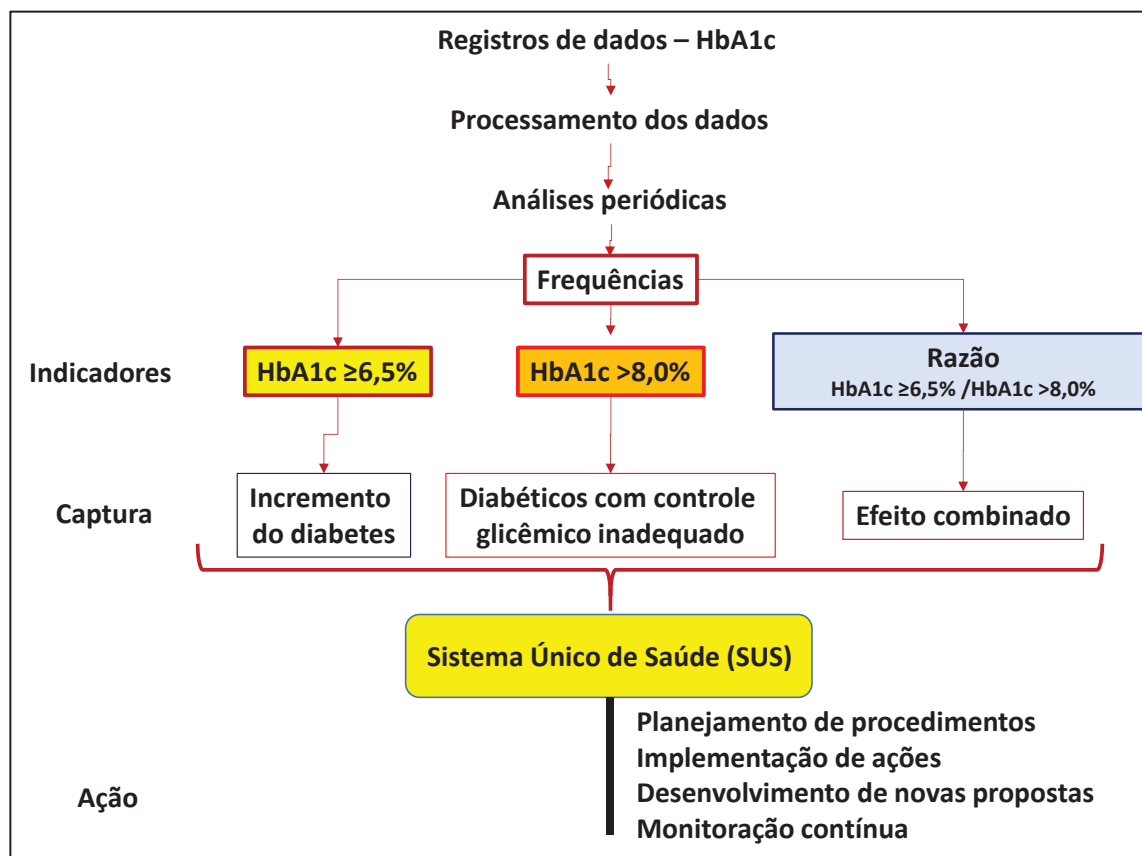
O processo de vigilância em saúde pública pode ser comparado, segundo Sanches (2000), ao processo de produção industrial, já que ambos são contínuos no tempo. Assim, por analogia, quando há estabilidade na condição de saúde de uma população, entende-se que ela está sob controle (SANCHES, 2000).

No caso do diabetes, propomos a utilização de indicadores para monitorar a evolução do processo patológico no sistema de saúde público.

Como apresentado anteriormente, diferentes medidas de promoção e autocuidado com a saúde podem reduzir o número de diabéticos, postergar a manifestação da doença e, principalmente, nos diabéticos, melhorar o controle glicêmico, que está associado a severidade das complicações (ver item 2.2; complicações do diabetes). Programas de Saúde Pública têm o dever ético ao cidadão na proposição destas políticas e, de forma adicional, buscar a redução e otimização dos elevados custos associados ao diabetes (SBD, 2021).

Propomos três indicadores e metas de evolução favorável, com base na HbA1c, para monitorar a evolução do diabetes e o controle glicêmico no Sistema de Saúde em estudo. A figura 19 sumariza a proposta.

FIGURA 19 - FLUXOGRAMA DA PROPOSTA PARA GERAÇÃO DE INDICADORES PARA O DIABETES



FONTE: O autor (2021).

Os registros capturados da concentração da HbA1c foram processados para remover homonímia e duplicidade, caracterizando um registro por indivíduo, como descrito em “Materiais e Métodos” para as demais análises deste trabalho. As frequências para os anos de 2020 e 2021 não foram utilizadas por terem sido afetadas pelo processo pandêmico da COVID-19.

Os indicadores propostos são:

- 1) frequências observadas anuais de  $HbA1c \geq 6,5\%$ , entre 2016-2019, na busca de indicador para novos casos de diabetes combinados com pacientes diabéticos confirmados;
- 2) frequências observadas anuais de  $HbA1c > 8,0\%$ , entre 2016-2019, na busca de indicador para diabéticos com controle glicêmico inadequado; e
- 3) razão entre os dois indicadores anteriores ( $HbA1c \geq 6,5\%$  /  $HbA1c > 8,0\%$ ), que tem potencial para capturar variações entre os indicadores anteriormente descritos.

Os dados observados para os indicadores propostos estão apresentados na tabela 9.

TABELA 9 - DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS E FREQUÊNCIAS CUMULATIVAS (CUSUM) PARA INDICADORES DE EVOLUÇÃO DO DIABETES PARA OS ANOS 2016-2019

Ano	Frequências (%) de HbA1c				Razão HbA1c $\geq$ 6,5% / HbA1c $>$ 8,0%	
	HbA1c $\geq$ 6,5%	CuSum	HbA1c $>$ 8,0%	CuSum	Razão	CuSum
2016	40,3	40,3	19,5	19,5	2,07	2,067
2017	37,1	77,4	18,8	38,3	1,97	4,037
2018	36,2	113,6	17,0	55,3	2,12	6,157
2019	37,4	151,0	17,4	72,7	2,14	8,297
	Média = 37,7	$\Delta$ /ano = 7,1	Média = 18,2	$\Delta$ /ano = 0,96	Média = 2,07	$\Delta$ /ano = 0,09
	DP = 1,77 CV = 4,7%		DP = 1,17 CV = 6,4%		DP = 0,076 CV = 3,7%	

CuSum: soma das frequências observadas com início no ano de 2016.

Razão: quociente das frequências da HbA1c $\geq$ 6,5% e HbA1c $>$ 8,0%.

DP: 1-desvio padrão

CV: coeficiente de variação, (DP/média)x100

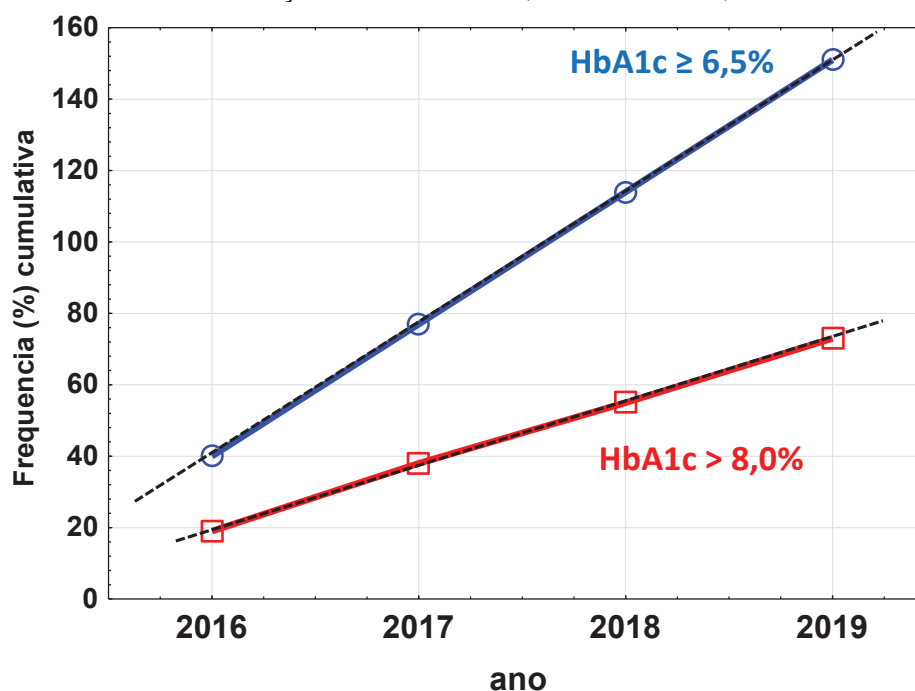
$\Delta$ /ano: variação média ano a ano (três medidas)

FONTE: O autor (2021).

As análises gráficas utilizadas para controle de qualidade, como as somas cumulativas (CUSUM - “*Cumulative Sum Control Charts*”), podem evidenciar possíveis alterações bruscas nos valores de médias de novos casos de uma doença, por exemplo, para dar suporte na decisão se elas ocorreram por mera chance ao acaso ou não, dando elementos para uma possível intervenção em saúde pública (SANCHES, 2000; ZANINI et al., 2016) de modo simples, eficiente e com baixo custo (ZANINI et al., 2016). As frequências cumulativas para os indicadores propostos estão apresentadas nas figuras 20 e 21.

A análise do CUSUM para os indicadores propostos mostrou, no período de análise, estabilidade na evolução para todos, evidenciando que estas frequências são muito similares ano a ano, mantendo uma evolução próxima à linear (figuras 20 e 21).

FIGURA 20 - EVOLUÇÃO DAS FREQUÊNCIAS CUMULATIVAS, POR ANO, PARA CONCENTRAÇÕES DE HbA1c $\geq$ 6,5% E HbA1c $>$ 8,0%

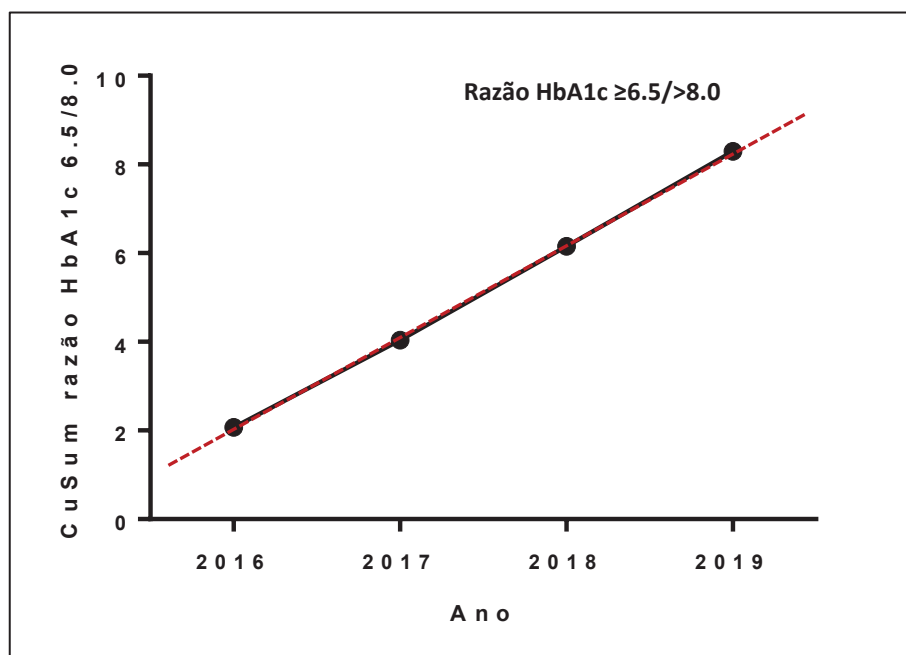


NOTA: Os pontos representam as frequências observadas por ano (tabela 9; CuSum).

A linha tracejada em preto é a reta de regressão.

FONTE: O autor (2021).

FIGURA 21 - FREQUÊNCIAS CUMULATIVAS DA RAZÃO ANUAL ENTRE HbA1c $\geq$ 6,5% E HbA1c $>$ 8,0%



NOTA: Os pontos são os valores observados e descritos na tabela 9.

A linha tracejada em vermelho é a reta de regressão.

FONTE: O autor (2021).

O monitoramento da frequência de pacientes diabéticos, retratada pelos indicadores propostos, realizada por meio de métodos gráficos de controle de somas cumulativas pode, assim, ser utilizado pelos gestores públicos como indicadores para planejamento estratégico de políticas públicas, compra de insumos, medicamentos, equipamentos e testes laboratoriais.

Como apresentado na tabela 8, dos pacientes avaliados no presente estudo, 12,4% têm dosagens de HbA1c indicativas da necessidade de administração de insulina (péssimo controle glicêmico; HbA1c>9,0%), que é fornecida pela rede SUS de forma gratuita. A insulina necessita refrigeração para sua estocagem de longo tempo, o que aumenta a complexidade na logística e distribuição deste insumo. O indicador proposto (frequência de HbA1c>8,0%) pode ser um elemento relevante no planejamento para os gestores do SUS.

Rodrigues e colaboradores (2020) também evidenciaram a contribuição dos gráficos de controle CUSUM na identificação precoce de descontroles no processo de vigilância em saúde em casos de surto de bactérias multirresistentes, em Unidade de Terapia Intensiva, tendo como benefício a adoção de medidas de intervenção tanto corretivas quanto preventivas.

Na sequência, considerando que a evolução dos marcadores propostos é estável no período analisado, avaliamos a utilização de gráficos de controle de qualidade para monitorar a evolução favorável e desfavorável do diabetes e suas complicações na amostra em estudo.

Os gráficos de Shewhart, que compreendem a evolução da média, 1-desvio padrão, 2-desvios padrões e 3-desvios padrões, foram analisados para os indicadores propostos (figuras 22 A, B e C).

Os gráficos de controle de qualidade, como proposto por Shewart, indicam que um sistema estável está sob controle quando os valores oscilam entre a média e mais ou menos 2-desvios padrões ( $X \pm 2\text{-DP}$ ). Desta forma, frequências acima ou abaixo de 2-DP estão fora de 95% dos dados esperados. A simplicidade desses gráficos permite sua ampla utilização nos processos de vigilância, controle de infecções, epidemiologia hospitalar e detecção de epidemias (ZANINI et al., 2016).

FIGURA 22 - GRÁFICOS DE SHEWHART PARA OS INDICADORES EM ESTUDO

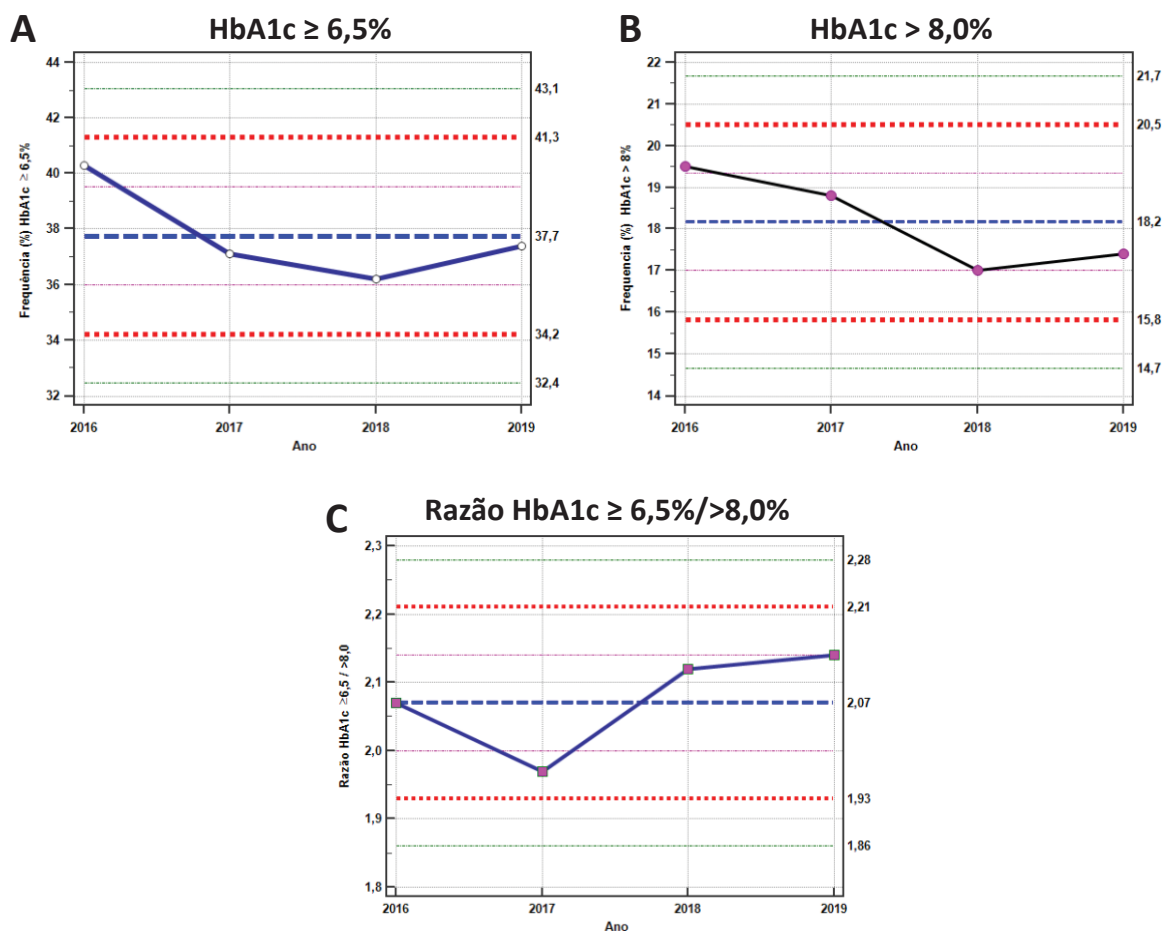


Figura A: indicador HbA1c ≥ 6,5%

Figura B: indicador HbA1c > 8,0%

Figura C: indicador razão HbA1c ≥ 6,5% / HbA1c > 8,0%

NOTA: A linha central em azul caracteriza a média.

As linhas em rosa 1-desvio padrão.

As linhas em vermelho (tracejadas com destaque) 2-desvios padrões.

E as linhas em verde 3-desvios padrões.

FONTE: O autor (2021).

Utilizando os dados observados nos gráficos, propomos, para a população em estudo, indicadores que podem monitorar a evolução do diabetes (tabela 10).

Portanto, no contexto da população estudada, atendida pelo Laboratório Municipal de Curitiba, os indicadores propostos na tabela 10 e figura 22 têm potencial para serem aplicados no campo e fornecerem orientações, com base em evidência, para monitorar se as tratativas públicas na orientação dos diabéticos e na logística para tratamento e diagnóstico (aquisição de insumos diagnósticos) são eficazes. A metodologia para gerar os indicadores tem custo muito reduzido e os profissionais de saúde, com treinamento adequado e rápido, têm expertise para desenvolver e aplicar esta proposta em quaisquer unidades de saúde que desejarem.

TABELA 10 - CRITÉRIOS PARA IDENTIFICAR A EVOLUÇÃO DO DIABETES POR MEIO DE INDICADORES BASEADOS NA HbA1c, NA POPULAÇÃO EM ESTUDO

		Frequências anuais da HbA1c (%)	
Indicadores Frequência anual	Objetivos	Melhora do quadro (abaixo de 2-DP)	Agravamento do quadro (acima de 2-DP)
HbA1c $\geq$ 6,5%	Diabéticos novos e estabelecidos	34,2%	41,3%
HbA1c $>$ 8,0%	Diabéticos com controle glicêmico inadequado	15,8%	20,5%
Razão HbA1c $\geq$ 6,5% / HbA1c $>$ 8,0%	Capturar variação entre os dois indicadores	1,93	2,21

Dados compilados das figuras 22 (A, B e C).

Em destaque, frequências indicadoras de melhora nos indicadores propostos a serem utilizadas como metas favoráveis, com base em evidência.

FONTE: O autor (2021).

Também é relevante utilizar os indicadores propostos na proposição de medidas para redução do diabetes e melhoria do controle glicêmico, como metas a serem atingidas, nesta população. A monitoração contínua dos indicadores propostos pode fornecer informações relevantes e consistentes na elaboração destas políticas públicas e auxiliar na otimização dos recursos destinados a esta área.

É importante ressaltar que as metas propostas para os indicadores são aplicáveis à população em estudo, apenas. Outras populações necessitam análises com as bases apresentadas para identificar suas especificidades.

Finalmente, cabe realçar que a escolha dos indicadores propostos impede de validação de campo e eventuais ajustes. A escolha das análises de CuSum e gráficos de Shewhart foi realizada, também, considerando que os laboratórios clínicos estão afeitos e utilizam estas ferramentas estatísticas; conseqüentemente, a implantação desta proposta independe de análises complexas e treinamentos prolongados na equipe gestora.

A busca contínua do monitoramento do diabetes e suas complicações, através de indicadores com base em evidência, é essencial para melhorar a qualidade de vida dos pacientes e otimizar a gestão da Saúde Pública no Brasil.



## 6 CONCLUSÕES

- Um crescimento médio anual do número de solicitações de HbA1c de cerca de 28%, entre 2016 e 2019, foi identificado em laboratório terciário que atende o SUS. Em 2020, uma queda superior a 60% nas solicitações foi atribuída às restrições na circulação das pessoas decorrente da pandemia da COVID-19;
- A HbA1c apresentou correlação forte com a glicemia de jejum ( $r=0,727$ ;  $p<0,001$ ) e fraca com a idade ( $r=0,329$ ;  $p<0,001$ );
- A estimativa do RCV (*reference change values*) para a HbA1c, empregando z-score 1,65 (unidirecional),  $CV_a=1,6\%$  e  $CV_i=1,2\%$ , foi de 4,6%, propondo que concentrações de HbA1c de 6,2% não diferem do critério de corte diagnóstico para diabetes ( $HbA1c\geq 6,5\%$ ), com 95% de confiança;
- O estabelecimento de uma subamostra ( $n=50.714$ ), com remoção de concentrações de HbA1c e glicemia de jejum alteradas, permitiu estimar o intervalo de referência da HbA1c para a população em estudo entre 4,7% e 6,1%, com mediana de 5,5%;
- Na amostra em estudo, as frequências da HbA1c para categorias de “baixo risco” ( $\leq 5,7\%$ ), “pré-diabetes” ( $>5,7\%$  a  $\leq 6,4\%$ ) e “diabetes” ( $\geq 6,5\%$ ) foram, respectivamente, 36,1%; 27,1% e 36,8%;
- Concentrações de  $HbA1c>8,0\%$ , identificando controle glicêmico inadequado, foram verificadas em 19,5% da amostra e indivíduos com controle glicêmico de alto risco ( $HbA1c>9,0\%$ ) representaram 12,4%, ambos com frequências em homens significativamente ( $p<0,001$ ) superiores às de mulheres;
- As frequências observadas de  $HbA1c\geq 6,5\%$ ;  $HbA1c>8,0\%$  e da razão  $HbA1c\geq 6,5\%/HbA1c>8,0\%$  apresentaram aumento constante entre os anos de 2016 a 2019, com variações anuais, respectivamente, de 7,1; 0,96 e 0,09;

- Aplicando as frequências de  $HbA1c \geq 6,5\%$ ,  $HbA1c > 8,0\%$  e da razão  $HbA1c \geq 6,5\% / HbA1c > 8,0\%$ , como indicadores para monitorar a evolução do diabetes e do controle glicêmico, na população em estudo, com 95% de probabilidade, frequências anuais de  $HbA1c \geq 6,5\%$  menores que 34,2%,  $HbA1c > 8\%$  menores que 15,8% e razão  $HbA1c \geq 6,5\% / HbA1c > 8,0\%$  menores que 1,93 são indicadores de melhora no quadro do diabetes e do controle glicêmico no ambiente estudado;
- Os indicadores  $HbA1c \geq 6,5\%$ ,  $HbA1c > 8,0\%$  e razão  $HbA1c \geq 6,5\% / HbA1c > 8,0\%$  propostos têm potencial para contribuir com os gestores do Sistema Único de Saúde no monitoramento do diabetes e no planejamento e otimização das ações para minimizar os efeitos deste processo patológico no sistema de saúde.

## 7 PERSPECTIVAS FUTURAS

A análise do banco de dados demonstrou que a extração de conhecimento do biomarcador HbA1c permitiu identificar elementos que auxiliam no suporte à decisão e planejamento de políticas públicas voltadas tanto à população diabética com controle metabólico inadequado, quanto àquela em risco de desenvolver diabetes, da rede SUS.

Propomos o acompanhamento do padrão dos biomarcadores glicêmicos na população estudada, por meio da análise de dados longitudinal e do gráfico CUSUM. Estas estratégias podem fornecer embasamento para o aprimoramento de políticas públicas de saúde voltadas aos pacientes com controle glicêmico inadequado e em risco de desenvolverem diabetes.

Além disso, sugerimos o desenvolvimento de um sistema automático de captura dos resultados de HbA1c do banco de dados laboratorial. A atualização dos indicadores propostos em tempo real está em fase de desenho experimental.

Propomos, adicionalmente, desenvolver estudos com novo desenho experimental, incluindo redes neurais e clusterização, para identificar possíveis novos indicadores no contexto do presente projeto, ampliando os biomarcadores em estudo com a inclusão da glicemia e, eventualmente, outros, identificados pelas análises propostas.

Por fim, estimular estudos que comparem ações dos gestores públicos para minimizar efeitos do diabetes na população, com os indicadores propostos, selecionando propostas de maior efetividade.

## REFERÊNCIAS

- ADA - AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes care**, 2018. .
- ADA - AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care**, 2021a. .
- ADA - AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Introduction : Standards of Medical Care in Diabetes.**, 2021b. .
- ADA - AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care**, 2021c. .
- ADA - AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care**, 2022. .
- AHMAD KHAN, H. Clinical significance of HbA1c as a marker of circulating lipids in male and female type 2 diabetic patients. **Acta Diabetologica**, v. 44, n. 4, p. 193–200, 2007.
- ALZAMIL, H. Elevated Serum TNF-  $\alpha$  Is Related to Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus and Is Associated with Glycemic Control and Insulin Resistance. **Journal of Obesity**, v. 2020, p. 1–5, 2020.
- AMIN MOHSIN, Z.; PAUL, A.; DEVENDRA, S. Pitfalls of using HbA1c in the diagnosis and monitoring of diabetes. **London Journal of Primary Care**, v. 7, n. 4, p. 66–69, 2015.
- ANIOKE, I. C. et al. Predictors of poor glycemic control in adult with type 2 diabetes in South-Eastern Nigeria. **African Health Sciences**, v. 19, n. 4, p. 2819–2828, 2019.
- BAPTISTA, D. R. et al. Proportion of Brazilian diabetes patients that achieve treatment goals: implications for better quality of care. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, p. 1–9, 2015.
- BARRETT, A. N.; SAMINATHAN, R.; CHOOLANI, M. Thalassaemia screening and confirmation of carriers in parents. **Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 39, p. 27–40, 2017.
- BEHAN, K. J.; STOREY, N. M.; LEE, H. K. Reporting variant hemoglobins discovered during hemoglobin A1c analysis - Common practices in clinical laboratories. **Clinica Chimica Acta**, v. 406, p. 124–128, 2009.
- BENER, A. et al. Does good clinical practice at the primary care improve the outcome care for diabetic patients ? Gender differences. **Primary Care Diabetes**, v. 6, n. 4, p. 285–292, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pcd.2012.04.007>>.
- BEZERRA, C. B. et al. Clinical and epidemiological differences in diabetes: A cross-sectional study of the Brazilian population compared with the French GERODIAB cohort. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 159, p. 107945, jan. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168822719312355>>.
- BIO-RAD. **Variant II Turbo HbA1c Kit 2.0: instruction manual**, 2012. .
- BORBA, A. K. de O. T. et al. Conhecimento sobre o diabetes e atitude para o autocuidado de idosos na atenção primária à saúde. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 24, n. 1, p. 125–136, 2019.
- BOSI, P. L. et al. Prevalência de diabetes melito e tolerância à glicose diminuída na população urbana de 30 a 79 anos da cidade de São Carlos, São Paulo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, n. Dm, p. 726–732, 2009.
- BOZKAYA, G. et al. Evaluation of analytical performance of Variant II Turbo HbA1c analyzer according to sigma metrics. **Journal of Medical Biochemistry**, v. 37, p. 1–13, 2018.
- BRAGA, F. et al. Biological variability of glycated hemoglobin. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, p. 1606–1610, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2010.07.030>>.
- BRAGA, F. et al. A new robust statistical model for interpretation of differences in serial test results from an individual. v. 53, n. 5, p. 815–822, 2015.
- BRASIL, M. da S. **Manual de Condutas Básicas Na Doença Falciforme**. 1. ed. [s.l.: s.n.]
- BRASIL, M. da S. **Pesquisa Nacional De Saúde: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2014.
- BRASIL, M. da S. **Cuidado farmacêutico na atenção básica. Caderno 4: Resultados do projeto de implantação do cuidado farmacêutico no município de Curitiba**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.
- BRASIL, M. da S. **Orientações para o Diagnóstico e Tratamento das Talassemias Beta**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
- BRASIL, M. da S. **Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico** (M. da S. Brasil, Ed.) Brasília, 2017. .
- BRY, L.; CHEN, P. C.; SACKS, D. B. Effects of Hemoglobin Variants and Chemically Modified Derivatives on Assays for Glycohemoglobin. **Clinical Chemistry**, v. 47, p. 153–163, 2001.

- CAMPBELL, L.; PEPPER, T.; SHIPMAN, K. HbA1c: A review of non-glycaemic variables. **Journal of Clinical Pathology**, v. 72, n. 1, p. 12–19, 2019.
- CAMPOS, L. P. et al. The IL18 rs1946518 and PTPN22 rs2476601 polymorphisms are not associated with adult- and childhood-onset type 1 diabetes mellitus. **Genetics and Molecular Research**, v. 19, n. 4, p. 1–11, 2020.
- CAVAGNOLLI, G. et al. Effect of ethnicity on HbA1c levels in individuals without diabetes: Systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, p. 1–14, 2017.
- CAVALCANTI, A. M. et al. Noncommunicable diseases and their common risk factors in Curitiba, Brazil: results of a cross-sectional, population-based study. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v. 42, p. 1–10, 2018.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Hemoglobinopathies: Current Practices for Screening, Confirmation and Follow-up**. Silver Spring: APHL, 2015.
- CHALEW, S. A.; HEMPE, J. M.; MCCARTER, R. Clinically Significant Disagreement between Mean Blood Glucose in Two Populations: Implications for Diabetes Management. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 3, n. 5, p. 1128–1135, 2009.
- CHATTERJEE, M.; SCOBIE, I. The pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Practical Diabetes International**, v. 19, n. 8, p. 255–257, 2002.
- COHEN, R. M. A1C: Does one size fit all? **Diabetes Care**, v. 30, n. 10, p. 2756–2758, 2007.
- CURITIBA, P. M. de. **CURITIBA**. Curitiba, 2021. . Disponível em: <<https://www.curitiba.pr.gov.br/conteudo/perfil-da-cidade-de-curitiba/174>>.
- DAVIDSON, M. B.; SCHRIGER, D. L. Effect of age and race/ethnicity on HbA1c levels in people without known diabetes mellitus: Implications for the diagnosis of diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 87, n. 3, p. 415–421, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2009.12.013>>.
- DE LADE, C. G. et al. Effects of different exercise programs and minimal detectable changes in hemoglobin A1c in patients with type 2 diabetes. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2016.
- DIMEGLIO, L. A. et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Glycemic control targets and glucose monitoring for children, adolescents, and young adults with diabetes. **Pediatric Diabetes**, v. 19, p. 105–114, 2018.
- DING, L. et al. Hemoglobin A1c and diagnosis of diabetes. **Journal of Diabetes**, v. 10, n. 5, p. 365–372, 2018.
- DOS SANTOS, J. C. et al. Comparison of education group strategies and home visits in type 2 diabetes mellitus : clinical trial. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 25, p. 1–11, 2017.
- DUARTE, F. G. et al. Sex differences and correlates of poor glycaemic control in type 2 diabetes: A cross-sectional study in Brazil and Venezuela. **BMJ Open**, v. 9, n. 3, p. 1–8, 2019.
- EIK FILHO, W. et al. Evaluation, intervention, and follow-up of patients with diabetes in a primary health care setting in Brazil: the importance of a specialized mobile consultancy. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2016.
- FAF, A. D. C. E. M. **Afinal, seria big data o novo petróleo??**, 2020. . Disponível em: <<https://www.faculadedefuturo.edu.br/2020/01/07/afinal-seria-o-big-data-o-novo-petroleo/>>.
- FRANCO, L. F. et al. Glicemia de jejum de pacientes da rede pública de saúde na região sul de São Paulo : correlação com hemoglobina glicada e níveis lipídicos. v. 22, p. 1–13, 2019.
- FRASER, C. G. Reference change values. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 50, n. 5, p. 807–812, 2012.
- FREEMAN, V. S. Glucose and hemoglobin A1c. **Lab Medicine**, v. 45, n. 1, p. e21–e24, 2014.
- GARBER, A. J. et al. Consensus Statement By the American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology on the Comprehensive Type 2 Diabetes Management Algorithm - 2017 Executive Summary. **Endocrine practice**, v. 23, n. 2, p. 207–238, 2017.
- GILLERY, P. A history of HbA 1c through Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 51, n. 1, p. 65–74, 2013.
- GOBOR, L. C. et al. Evaluation of 1,5-anhydroglucitol as a biomarker for type 2 diabetes mellitus in patients without overt nephropathy. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, p. 1–7, 2021.
- GOMES, R.; NASCIMENTO, E. F. do; ARAÚJO, F. C. de. Por que os homens buscam menos os serviços de saúde do que as mulheres ? As explicações de homens com baixa escolaridade e homens com ensino superior. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 3, p. 565–574, 2007.
- GUIMARÃES, J.; BASTOS, M.; CARVALHEIRO, M. Hemoglobina Glicada (A1c): Métodos de Doseamento Calibração IFCC/DCCT. Considerações. **Revista Portuguesa de Diabetes**, v. 4, n. 4, p. 24–26, 2006.

- GUO, W. et al. Increased levels of glycated hemoglobin A1c and iron deficiency anemia: A review. **Medical Science Monitor**, v. 25, p. 8371–8378, 2019.
- GUPTA, S.; JAIN, U.; CHAUHAN, N. Laboratory Diagnosis of HbA1c: A Review. **Journal of Nanomedicine Research**, v. 5, n. 4, p. 1–10, 2017.
- HABER, E. P. et al. Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, n. 3, p. 219–227, 2001.
- HASHIMOTO, K.; KOGA, M. Indicators of glycemic control in patients with gestational diabetes mellitus and pregnant women with diabetes mellitus. **World Journal of Diabetes**, v. 6, n. 8, p. 1045–1056, 2015.
- HIGGINS, T. N.; RIDLEY, B. Tentative identification of hemoglobin variants in the Bio-Rad VARIANT II HbA1c method. **Clinical Biochemistry**, v. 38, p. 272–277, 2005.
- HOLT, R. I. G. et al. **Textbook of diabetes**. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?id=I92qDQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?id=I92qDQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)>.
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Advocacy guide to the IDF Diabetes Atlas**. 1.
- IRACE, C. et al. Blood Viscosity in Subjects With Normoglycemia and Prediabetes. **Diabetes Care**, v. 37, n. February, p. 488–492, 2014.
- JIA, W. Standardising HbA1c-based diabetes diagnosis: Opportunities and challenges. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 16, n. 3, p. 1–13, 2016.
- JONES, G.; BARKER, A. Reference intervals, etc. **Clin Biochem Rev**, v. 29, n. August 2008, p. 93–97, 2008.
- JONES, G. R. D. et al. Indirect methods for reference interval determination - Review and recommendations. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 57, n. 1, p. 20–29, 2019.
- JOUTOVSKY, A.; HADZI-NESIC, J.; NARDI, M. A. HPLC Retention Time as a Diagnostic Tool for Hemoglobin Variants and Hemoglobinopathies: A Study of 60 000 samples in a Clinical Diagnostic Laboratory. **Clinical Chemistry**, v. 50, n. 10, p. 1736–1747, 2004.
- JÚNIOR, A. J. da S. Adipocinas: a relação endócrina entre obesidade e diabetes tipo II. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 11, n. 12, p. 135–144, 2017.
- KAKU, K. Pathophysiology of type 2 diabetes and its treatment policy. **JMAJ**, v. 53, n. 1, p. 41–46, 2010.
- KHAN, H. A. et al. Evaluation of HbA1c criteria for diagnosis of diabetes mellitus: A retrospective study of 12785 type 2 Saudi male patients. **Endocrine Research**, v. 39, n. 2, p. 62–66, 2014.
- KHERA, R. et al. HPLC in Characterization of Hemoglobin Profile in Thalassemia Syndromes and Hemoglobinopathies: A Clinicohematological Correlation. **Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion**, v. 31, n. 1, p. 110–115, 2015.
- KOVAL, D.; KAŠIČKA, V.; COTTET, H. Analysis of glycated hemoglobin A1c by capillary electrophoresis and capillary isoelectric focusing. **Analytical Biochemistry**, v. 413, n. 1, p. 8–15, 2011.
- KRHAČ, M.; LOVRENČIĆ, M. V. Update on biomarkers of glycemic control. **World Journal of Diabetes**, v. 10, n. 1, p. 1–15, 2019.
- KUNKEL, H. G.; WALLENIUS, G. New hemoglobin in normal adult blood. **Science**, v. 122, p. 288, 1955.
- LEMOS, A. P. et al. Saúde do homem: os motivos da procura dos homens pelos serviços de saúde. **Revista de Enfermagem UFPE On Line**, v. 11, n. 11, p. 4546–4553, 2017.
- LENTERS-WESTRA, E. et al. Haemoglobin A1c: Historical overview and current concepts. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 99, p. 75–84, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2012.10.007>>.
- LEONG, A. et al. Prediction of type 2 diabetes by hemoglobin A1c in two community-based cohorts. **Diabetes Care**, v. 41, n. 1, p. 60–68, 2018.
- LEVORATO, C. D. et al. Fatores associados à procura por serviços de saúde numa perspectiva relacional de gênero. **Ciencias & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 4, p. 1263–1274, 2014.
- LIM, W. Y. et al. Screening for diabetes with HbA1c: Test performance of HbA1c compared to fasting plasma glucose among Chinese, Malay and Indian community residents in Singapore. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-29998-z>>.
- LITTLE, R. R.; ROBERTS, W. L. A Review of Variant Hemoglobins Interfering with Hemoglobin A1c Measurement. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 3, n. 3, p. 446–451, 2009.
- LITTLE, R. R.; ROHLFING, C.; SACKS, D. B. The NGSP: Over 20 Years of Improving HbA1c Measurement. **Clinical Chemistry**, v. 65, n. 7, p. 839–848, 2019.
- LORENZO-MEDINA, M. et al. Effects of Hemoglobin Variants on Hemoglobin A1c Values Measured Using a High-Performance Liquid Chromatography Method. **Journal of Diabetes Science and**

**Technology**, v. 8, n. 6, p. 1168–1176, 2014.

LUIZ, A. R. J. C.; MARTINS, D. M. S. O Uso da Descoberta de Conhecimento em Banco de Dados Para Extração e Análise de Informação: Estudo de Caso. **Open Journal Systems**, v. 2, n. 2, p. 1–16, 2015. Disponível em: <<https://seer.cesjf.br/index.php/cesi/article/view/507/399>>.

MACEDO, M. M. L. et al. Adesão e empoderamento de usuários com diabetes mellitus para práticas de autocuidado: ensaio clínico randomizado \*. p. 1–8, 2017.

MAHLER, R. J.; ADLER, M. L. Clinical review 102: Type 2 diabetes mellitus: Update on diagnosis, pathophysiology, and treatment. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 84, n. 4, p. 1165–1171, 1999.

MALTA, D. C. et al. Prevalence of diabetes mellitus as determined by glycated hemoglobin in the Brazilian adult population, national health survey. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, p. 1–13, 2019.

MALTA, D. C.; SILVA JR, J. B. da. O Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil e a definição das metas globais para o enfrentamento dessas doenças até 2025: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 22, n. 1, p. 151–164, 2013.

MANLEY, S. E.; ROUND, R. A.; SMITH, J. M. Calibration of HbA1c and its measurement in the presence of variant haemoglobins: report on questionnaire to manufacturers. **Ann Clin Biochem**, v. 43, p. 135–145, 2006.

MARINI, M. A. et al. Hemorheological alterations in adults with prediabetes identified by hemoglobin A1c levels. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 27, n. 7, p. 601–608, 2017.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2017.04.001>>.

MASUCH, A. et al. Preventing misdiagnosis of diabetes in the elderly: Age-dependent HbA1c reference intervals derived from two population-based study cohorts. **BMC Endocrine Disorders**, v. 19, n. 20, p. 1–10, 2019.

MENKE, A.; RUST, K. F.; COWIE, C. C. Diabetes based on 2-h plasma glucose among those classified as having prediabetes based on fasting plasma glucose or A1c. **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 15, n. 1, p. 46–54, 2018.

NASIR, N. M.; THEVARAJAH, M.; YEAN, C. Y. Hemoglobin variants detected by hemoglobin A1c (HbA1c) analysis and the effects on HbA1c measurements. **Int J Diabetes Dev Ctries**, v. 30, n. 2, p. 86–90, 2010.

OZOUGWU, J. C. et al. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. **Journal of Physiology and Pathophysiology**, v. 4, n. 4, p. 46–57, 2013.

PANT, L. et al. Retracted: Detection of Abnormal Hemoglobin Variants by HPLC Method: Common Problems with Suggested Solutions. **International Scholarly Research Notices**, v. 2015, p. 1–10, 2015.

PARANÁ, S. de E. da S. do P. **Linha Guia de Diabetes mellitus**. 2. ed. [s.l.: s.n.]

PETERSEN, M. C.; SHULMAN, G. I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance.

**Physiological Reviews**, v. 98, p. 2133–2223, 2018.

PIMAZONI NETTO, A. et al. Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 45, n. 1, p. 31–48, 2009.

PRÉCOMA, D. B. et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia - 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 4, p. 787–891, 2019.

PUNTHAKEE, Z.; GOLDENBERG, R.; KATZ, P. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 42, p. 10–15, 2018.

RAPOPORT, M. et al. Achievement of partial combined control of major diabetes targets in primary care correlates with development of chronic complications in T2DM patients - A real life data. **Primary Care Diabetes**, v. 9, n. 6, p. 412–417, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pcd.2015.05.001>>.

REEVE, J. et al. Incidental detection of haemoglobin (Hb) variants during high performance liquid chromatography (HPLC) analysis of HbA1c: is it time for a standardised approach to reporting? **Irish Journal of Medical Science**, v. 184, p. 353–355, 2015.

REIS, A. F.; VELHO, G. Bases Genéticas do Diabetes Mellitus Tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 4, p. 426–432, 2002.

REYNOLDS, T. M. et al. The number of unexpected HbA1c variants may be a greater problem in routine practice than is generally realized. **Diabetic Medicine**, v. 21, n. 9, p. 1041–1044, 2004.

REZENDE, P. C. et al. Association of Longitudinal Values of Glycated Hemoglobin with Cardiovascular Events in Patients with Type 2 Diabetes and Multivessel Coronary Artery Disease. **JAMA Network Open**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2020.

- RICÓS, C. et al. Critical appraisal and meta-analysis of biological variation studies on glycosylated albumin, glucose and HbA1c. **Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio**, v. 1, n. 3, p. 1–6, 2020.
- RIFAI, N.; HORVATH, A. R.; WITTEWER, C. T. **Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics**. 8. ed. [s.l.: s.n.]
- RIPARI, C. **Por que os dados são considerados o novo petróleo?**, 2019. Disponível em: <<https://administradores.com.br/noticias/por-que-dados-sao-considerados-o-novo-petroleo>>.
- ROBINSON, C. A.; ABDEL-MOTAGALLY, M. Comment on: Zhang et al. A1C Level and Future Risk of Diabetes: A Systematic Review. **Diabetes Care**, v. 34, p. e20, 2011.
- RODRIGUES, I. P.; TURNES, O.; CASTRO, A. F. de. Contribuição do gráfico de controle de somas acumuladas na assistência e segurança do paciente com base no monitoramento da incidência de bactérias multirresistentes em uma unidade de terapia intensiva. **Brasilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 4, p. 10543–10558, 2020.
- ROLLBORN, N. et al. Good Agreement Between Hba1c Analyzed Using Capillary Electrophoresis, HPLC, Immunological and Enzymatic Methods. **Journal of Diabetes, Metabolism and its Complications**, p. 1–7, 2019.
- ROSENFELD, L. G. et al. Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista brasileira de Epidemiologia**, v. 22, n. Suppl 2, p. 1–13, 2019.
- SACKS, D. B. Hemoglobin Variants and Hemoglobin A1c Analysis: Problem Solved? **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 1245–1247, 2003.
- SAEEDI, P. et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>>.
- SANCHES, O. Princípios básicos de procedimentos estatísticos aplicados na análise de dados de vigilância em saúde pública: uma revisão. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, n. 2, p. 317–333, 2000.
- SASS, S. R. R. et al. Aplicação de técnicas de descoberta de conhecimento em banco de dados cadastrais para auxiliar no processo de tomada de decisão. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 66, n. 6, p. 1215–1230, 2014.
- SAW, S. et al. Identification of hemoglobin variants in samples received for glycated hemoglobin testing. **Clinica Chimica Acta**, v. 415, p. 173–175, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.10.043>>.
- SBD - SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. São Paulo Editora Clannad, , 2017. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>>.
- SBD - SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Posicionamento Oficial SBD 2/2020 - Tratamento da Hiperglicemia no Diabetes tipo 2.**, 2020. Disponível em: <<https://profissional.diabetes.org.br/diretrizes-e-posicionamentos/>>.
- SBD - SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020**. (Clannad Editora Científica, Ed.), 2021. .
- SCHMIDT, M. I. et al. High prevalence of diabetes and intermediate hyperglycemia - The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2014.
- SCHNEDL, W. J. et al. Evaluation of HbA(1c) determination methods in patients with hemoglobinopathies. **Diabetes Care**, v. 23, n. 3, p. 339–344, 2000.
- SCHNEDL, W. J. et al. Hemoglobin variants and determination of glycated hemoglobin (HbA1c). **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 17, p. 94–98, 2001.
- SCHNEDL, W. J. et al. Silent hemoglobin variants and determination of HbA1c with the high-resolution program of the HPLC HA-8160 hemoglobin analyzer. **Clinical Biochemistry**, v. 38, p. 88–91, 2005.
- SCHOBER, P.; SCHWARTE, L. A. Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation. **Anesthesia and Analgesia**, v. 30, p. 1–6, 2018.
- SHERWANI, S. I. et al. Significance of HbA1c test in diagnosis and prognosis of diabetic patients. **Biomarker Insights**, v. 11, p. 95–104, 2016.
- SOMBRI, J. et al. Prevalence of high-risk individuals for diabetes attended by the Laboratory of Clinical Analyzes of the Blumenau Regional University Foundation. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 50, n. 1, p. 27–32, 2018.
- SOMMER, I. et al. Socioeconomic inequalities in non-communicable diseases and their risk factors: An overview of systematic reviews. **BMC Public Health**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015. Disponível em:



- <<http://dx.doi.org/10.1186/s12889-015-2227-y>>.
- SOUZA, J. G. et al. Functional health literacy and glycaemic control in older adults with type 2 diabetes: A cross-sectional study. **BMJ Open**, v. 4, n. 2, p. 1–8, 2014.
- SRIVANICHAKORN, W. et al. Fasting plasma glucose and variation in cardiometabolic risk factors in people with high-risk HbA1c-defined prediabetes: A cross-sectional multiethnic study. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 134, p. 183–190, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.10.017>>.
- STRICKLAND, S. W. et al. Recognition of rare hemoglobin variants by hemoglobin A1c measurement procedures. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, v. 476, p. 67–74, jan. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898117304552>>. Acesso em: 24 jun. 2019.
- SURCHI, H.; REA, R. A case of haemoglobinopathy and elevated HbA1c. **Practical Diabetes**, v. 34, n. 1, p. 28–29, 2017. Disponível em: <<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L614359924%0Ahttp://dx.doi.org/10.1002/pdi.2074>>.
- SYMONIDES, B. et al. Age is the main determinant of glycated hemoglobin levels in a general Polish population without diabetes: The NATPOL 2011 Study. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 28, n. 5, p. 659–664, 2019.
- TEIXEIRA, D. B. S.; CRUZ, S. P. L. Atenção à saúde do homem: análise da sua resistência na procura dos serviços de saúde. **Revista Cubana de Enfermería**, v. 32, n. 4, p. 1–12, 2016.
- THOMAS, L. B. et al. Screening for Hemoglobinopathies During Routine Hemoglobin A1c Testing Using the Tosoh G7 Glycohemoglobin Analyzer. **Annals of Clinical and Laboratory Science**, v. 37, n. 3, p. 251–255, 2007.
- TRAPÉ, J. et al. Reference change value for HbA1C in patients with type 2 diabetes mellitus. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 38, n. 12, p. 1283–1287, 2000.
- TRAVASSOS, C.; MARTINS, M. Uma revisão sobre os conceitos de acesso e utilização de serviços de saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. d, p. 190–198, 2004.
- VIANA, M. V. et al. Contrasting effects of preexisting hyperglycemia and higher body size on hospital mortality in critically ill patients: A prospective cohort study. **BMC Endocrine Disorders**, v. 14, p. 1–7, 2014.
- WELTER, M. et al. Reference intervals for serum 1,5-anhydroglucitol in children, adolescents, adults, and pregnant women. **Clinica Chimica Acta**, v. 486, n. June, p. 54–58, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.07.018>>.
- WEYKAMP, C.; JOHN, W. G.; MOSCA, A. A Review of the Challenge in Measuring Hemoglobin A1c.pdf. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 3, n. 3, p. 439–445, 2009.
- WILBURN, C. R. et al. The Prevalence and Role of Hemoglobin Variants in Biometric Screening of a Multiethnic Population: One Large Health System's Experience. **American journal of clinical pathology**, v. 147, p. 589–595, 2017.
- WILD, B. J.; STEPHENS, A. D. The use of automated HPLC to detect and quantitate haemoglobins. **Clin. Lab. Haem.**, v. 19, p. 171–176, 1997.
- WILSON, D. M. et al. **Persistence of individual variations in glycated hemoglobin: Analysis of data from the Juvenile Diabetes Research Foundation continuous glucose monitoring randomized trial** **Diabetes Care**. [s.l: s.n.].
- WU, L. et al. Effect of age on the diagnostic efficiency of HbA1c for diabetes in a Chinese middle-aged and elderly population: The Shanghai Changfeng Study. **PLoS ONE**, v. 12, n. 9, p. 1–12, 2017.
- ZANINI, R. R. et al. A Utilização dos Gráficos de Controle para Acompanhamento de Processos de Vigilância. **Revista Espacios**, v. 37, p. 1–23, 2016.
- ZHANG, X. et al. A1C level and future risk of diabetes: A systematic review. **Diabetes Care**, v. 33, n. 7, p. 1665–1673, 2010.
- ZHENG, Y.; LEY, S. H.; HU, F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 14, p. 88–98, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>>.