



Revista de nefrología, diálisis y trasplante

ISSN: 0326-3428

ISSN: 2346-8548

asodial@linea.com.ar

Asociación Regional de Diálisis y Trasplantes Renales de
Capital Federal y Provincia de Buenos Aires
Argentina

Cercado, Alicia G.; Álvarez Conde, Graciela B.; Guadalupe Vargas,
Mariana E.; Pazmiño Gómez, Betty J.; Veron, Dolores; Vera Lorenti, Fanny
E.; Rodas Neira, Edgar I.; Fariño, Enrique; Fernández Veron, Maitén;
Cevallos, Vicenta; Villegas, Guillermo; Arrizurieta, Elvira; Veron, Delma

Hemoglobina A1c, diabetes mellitus, nefropatía diabética y enfermedad renal crónica

Revista de nefrología, diálisis y trasplante, vol. 37, núm. 04, 2017, Octubre-, pp. 225-242
Asociación Regional de Diálisis y Trasplantes Renales de Capital Federal y Provincia de Buenos Aires
Argentina

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=564262130023>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

UDEM  redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

ARTÍCULO DE REVISIÓN

HEMOGLOBINA A1c, DIABETES MELLITUS, NEFROPATÍA DIABÉTICA Y ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

HEMOGLOBIN A1c, DIABETES MELLITUS, DIABETIC NEPHROPATHY AND CHRONIC KIDNEY DISEASE

Alicia G. Cercado¹, Graciela B. Álvarez Conde¹, Mariana E. Guadalupe Vargas¹, Betty J. Pazmiño Gómez¹, Dolores Veron², Fanny E. Vera Lorenti¹, Edgar I. Rodas Neira³, Enrique Fariño¹, Maitén Fernández Veron⁴, Vicenta Cevallos⁵, Guillermo Villegas⁶, Elvira Arrizurieta⁷, Delma Veron¹

1) Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Milagro, Milagro, Ecuador

2) Facultad de Ciencias Sociales, Escuela de Trabajo Social, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

3) Laboratorio Clínico y Microbiológico Pazmiño, Milagro, Ecuador

4) Facultad de Arquitectura, Diseño y Urbanismo, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

5) Laboratorio Interlab, Guayaquil, Ecuador

6) Albert Einstein College of Medicine, Department of Urology, Yeshiva University, Nueva York, Estados Unidos

7) Servicio de Nefrología Experimental, Instituto Dr. Alfredo Lanari, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Rev Nefrol Dial Traspl. 2017; 37 (4): 225-42

RESUMEN

La diabetes mellitus (DBT), la nefropatía diabética (ND) y la enfermedad renal crónica (ERC) son enfermedades prevalentes en nuestra región, Sudamérica. Los niveles de hemoglobina A1c (HbA1c) han sido relacionados al desarrollo y a la evolución de la ND. Hace dos décadas había gran variabilidad en los resultados, los países líderes en investigación científica organizaron programas de estandarización de la HbA1c, logrando mejorar la calidad y la confiabilidad de los resultados. Los objetivos de este trabajo fueron describir el problema DBT, ND y ERC en Sudamérica y en su contexto analizar metodológicamente la HbA1c. Para esto, revisamos el impacto de estas enfermedades en nuestra región, contemplando aspectos básicos de la HbA1c y algunas situaciones que producen interferencias como la carbamilación de la hemoglobina, modificación post-traducciona asociada a la uremia. También nos enfocamos en técnicas estadísticas universalmente utiliza-

das para la evaluación de ensayos como: linealidad, concordancia y precisión. Adicionalmente, incluimos un análisis de los métodos disponibles y de los precios de cada determinación de HbA1c en diez países de Sudamérica.

Para prevenir, diagnosticar y tratar la DBT, la ND y la ERC es indispensable contar con herramientas de última generación, disponibles para todas las personas. En nuestra región el acceso a ensayos, equipos y laboratorios enmarcados en programas de estandarización de la HbA1c, internacionalmente aceptados, es una tarea pendiente. Millones de individuos de las generaciones presentes y futuras de Sudamérica padecerán DBT, ND y ERC, necesitamos llevar la voz de la ciencia a esas personas con el “hacer” cotidiano.

PALABRAS CLAVE: HbA1c; diabetes mellitus; nefropatía diabética; enfermedad renal crónica; Argentina; Ecuador; América del Sur;

métodos; concordancia; precisión; costos

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM), diabetic nephropathy (DN) and chronic kidney disease (CKD) are prevalent diseases in our region, South America. The levels of hemoglobin A1c (HbA1c) have been related to the development and progression of the DN. Two decades ago there was great variability in the results; the leading countries in scientific research then organized programs of HbA1c standardization, which improved the quality and reliability of the findings. The objectives of this study were to describe the problem of DM, DN and CKD in South America and to analyze HbA1c methodologically in this context. Thus, the impact of these diseases in our region was reviewed, contemplating basic aspects of HbA1c and some situations that produce interferences such as carbamylation of hemoglobin, the post-translational modification associated with uremia. We also focused on statistical techniques universally used for the evaluation of assays such as linearity, concordance and precision. Additionally, we included an analysis of the existing methods and the prices of each HbA1c determination in ten countries in South America.

To prevent, diagnose and treat DM, DN and CKD, it is essential to have state-of-the-art tools available to all people. In our region, access to trials, equipment and laboratories within HbA1c standardization programs, internationally accepted, is a pending task. Millions of individuals from the present and future generations of South America will suffer from DM, DN and CKD, so we need to take the voice of science to these people through the daily "doing".

KEYWORDS: HbA1c; diabetes mellitus; diabetic nephropathy; chronic kidney disease; Argentina; Ecuador; South America; methods; agreement; precision; budgets

Diabetes mellitus, nefropatía diabética y

enfermedad renal crónica

En los últimos 35 años el número de personas afectadas por la diabetes mellitus (DBT) se ha incrementado, principalmente en los países de bajos y medianos ingresos.⁽¹⁾ En Sudamérica y en América Central se ha reportado en el año 2015 que 29.6 millones de personas eran portadoras de DBT, y el 39% no estarían diagnosticadas.⁽²⁻³⁾ La prevalencia estimada de DBT en los países de Sudamérica fue: en Argentina, Perú y Uruguay <7%; en Bolivia entre el 7% y 8%; en Ecuador, Colombia y Paraguay entre el 9 y 10%; en Venezuela >12%; y en Chile y Brasil entre el 10 y 12%, siendo Brasil el país con mayor número de personas afectadas de nuestra región.⁽³⁾ Se describió que la DBT no sólo es una causa importante de mortalidad, también en las últimas décadas ha sido una de las principales causas de años vividos con discapacidad en los adultos del mundo.⁽¹⁻⁴⁾

Una de las complicaciones más devastadoras de la DBT es la nefropatía diabética (ND), complicación microvascular que afecta a ambos riñones.⁽⁵⁾ Del 30% al 50% de las personas con DBT puede desarrollar ND, y un tercio de ellas puede evolucionar a estadios avanzados de la enfermedad.⁽⁵⁻⁷⁾ Lesiones muy graves, progresando silenciosamente, constituyen la principal causa de enfermedad renal crónica (ERC).⁽⁵⁻¹⁷⁾ En la mayoría de los países de Sudamérica la DBT ha sido la principal causa de ERC terminal (ERCT), existiendo entre los países una gran disparidad en el acceso a diálisis.⁽⁸⁻¹³⁾ Adicionalmente, ha sido reportado que la ERC es también una causa importante de mortalidad, especialmente en los países de medianos y bajos ingresos, donde la DBT es prevalente.⁽¹³⁻¹⁵⁾ Entre los adultos del mundo, ha sido reportada una prevalencia de ERC del 10% al 15%, y millones mueren por falta de diálisis o de trasplante renal.^(5,6,8-9,11,13,16) Del total de las personas que requieren tratamientos sustitutos de la función renal, se ha estimado que solamente dos millones (10 %) acceden a estos tratamientos y la mayoría de ellos reside en Estados Unidos, Japón, Alemania, Brasil e Italia, países

que representan el 12% de la población mundial.⁽¹⁷⁾ Estos hechos son impactantes y dan cuenta de la imperiosa necesidad de prevención de la DBT, de la ND y de la ERC.⁽¹⁷⁾

Sin bien solamente un porcentaje de las personas con diagnóstico de DBT desarrolla ND, los nefrólogos en la práctica clínica vemos el resultado de las insuficientes medidas de prevención primaria y secundaria, desplegadas en nuestra población.⁽¹⁸⁾ El diagnóstico tardío de la DBT y de la ND, el insuficiente control metabólico sumado a la hipertensión arterial, dislipidemia, sobrepeso-obesidad, han sido factores relacionados a la progresión de la enfermedad.^(5-6,17) Es más, hay estudios que han demostrado en autopsias lesiones histológicas renales patognomónicas de ND sin haber sido previamente diagnosticadas, aun en los países desarrollados del planeta.⁽¹⁹⁻²⁰⁾

La fisiopatogenia de la ND es compleja, intervienen numerosos factores de manera enredada y difícil de comprender, pero la glucosa juega un rol clave en el desarrollo y en la progresión de la ND.^(5,21-31)

Las siguientes evidencias muestran la importancia de la hiperglucemia en la ND:

1.- Relevantes estudios han demostrado que menores niveles de hemoglobina A1c (HbA1c) estaban relacionados a menor riesgo de ND, en la DBT tipo 1 y 2.⁽²¹⁻²⁷⁾ En la DBT tipo 1, disminuciones de la HbA1c de 1.9% han sido asociadas al 76% y al 39% de disminución del riesgo de desarrollar retinopatía y microalbuminuria respectivamente.⁽²²⁾ En la DBT tipo 2, reducciones de la HbA1c de 1% han sido relacionadas a una disminución del 37% de las complicaciones microvasculares y del 43% de las complicaciones macrovasculares.⁽²⁷⁾

2.- Menores niveles de glucemia han logrado revertir la hiperfiltración y las lesiones histológicas de ND temprana, como el engrosamiento de la membrana basal glomerular.⁽²⁸⁾

3.- Lesiones de ND avanzada, como la glomeruloesclerosis nodular, y la proteinuria masiva, han sido revertidas por el intensivo tratamiento de la hiperglucemia y por el trasplante

pancreático.⁽²⁹⁻³⁰⁾

4.- El tratamiento de la DBT tipo 2 con cirugías bariátricas ha mejorado el control de la glucemia y de la función renal.⁽³¹⁾

5.- La empagliflozina, un inhibidor del cotransportador sodio glucosa 2 del túbulo contorneado proximal, incrementando la glucosuria, mejoran el control de la hiperglucemia en la DBT tipo 2.⁽³²⁻³³⁾ Wanner y col.

Recientemente demostraron que la empagliflozina puede incidir en la progresión de la ND, la adición de esta droga al tratamiento estándar de la DBT tipo 2, estuvo asociada a menor incidencia y a menor progresión de ND en adultos con alto riesgo cardiovascular.⁽³³⁾

Por lo tanto, todas estas evidencias en su conjunto muestran que la glucosa juega un rol clave en la ND y que el mantenimiento de niveles de glucemia controlados inciden en el desarrollo y en la evolución de la ND.

Los objetivos del presente trabajo fueron revisar el problema DBT, ND y ERC en Sudamérica, y en su contexto analizar metodológicamente la HbA1c. A continuación contemplaremos algunos aspectos básicos de la HbA1c y ciertas situaciones que producen interferencias en los resultados como la carbamilación de la hemoglobina (Hb), una modificación de las proteínas secundaria a la uremia. Nos enfocaremos en ciertas técnicas estadísticas, universalmente utilizadas para la comparación de métodos de laboratorio y con un ejemplo práctico analizaremos la linealidad, la concordancia y la precisión. Adicionalmente incluiremos un análisis de los métodos disponibles y de los costos de la HbA1c en diez países de Sudamérica.

Hemoglobina A1c

La HbA1c muestra los niveles de glucosa a lo largo del tiempo.⁽³⁴⁻⁴²⁾ La determinación de la HbA1c ha sido recomendada para el seguimiento y el diagnóstico de la DBT, mayores niveles de HbA1c han sido relacionados a mayor desarrollo y evolución de la ND.^(21-27,34-42) Los hidratos de carbono pueden unirse a las proteínas

en el interior de las células, la glucosa se une a la Hb dentro del glóbulo rojo, manteniéndose establemente relacionadas durante toda la vida del eritrocito.^(42,44-54) Los niveles de HbA1c muestran los niveles de glucemia de los 120 días previos a la extracción de la sangre, pero este resultado ha sido más influenciado por la glucemia del mes previo a la extracción de sangre.⁽⁴²⁾ Aproximadamente el 50% del valor de HbA1c representaría los 30 días previos, el 40% entre los 31 y 90 días anteriores y el 10% mostraría la glucosa a la que los eritrocitos estuvieron expuestos entre los 91 y 120 días antes de la extracción de la muestra.⁽⁴²⁾

En los adultos, normalmente el 97.0% de la Hb está compuesta por la Hb del adulto (HbA), el resto por HbA2 (2.5%) y Hb fetal (0.5%).^(42,49-52) La HbA según su desplazamiento electroforético puede separarse en HbA0 (no glicada, 94 %), y HbA glicada (6%): HbA1a, HbA1b y HbA1c (5%).^(42,49-52) Entonces, la HbA1c es la más abundante, está fuertemente relacionada a los niveles de glucemia y su magnitud es determinada por la edad de los eritrocitos y por la DBT.⁽⁴⁸⁾ La glicación de la HbA es una modificación post-traducciona que ocurre lentamente en el glóbulo rojo durante toda su vida,⁽⁵⁰⁾ por lo tanto, la concentración de HbA1c dependerá de los niveles de glucemia y de la vida media de los eritrocitos. En los adultos normales el recambio de glóbulos rojos es constante, por lo tanto la HbA1c depende esencialmente de la glucemia.^(42,48-52) La glucosa se une de manera reversible y no enzimática a Valinas de la fracción A1c, del extremo amino terminal de la cadena beta de la HbA, posteriormente ocurre un reordenamiento de Amadori y se convierte en una reacción estable,⁽⁵⁰⁻⁵³⁾ entonces, la HbA1c es la Hb irreversiblemente glicada en uno o ambos residuos amino terminales de las Valinas de la cadena beta de la HbA.⁽⁵³⁾

Las sociedades internacionales de expertos basadas en estudios realizados en países líderes en investigación científica, han recomendado un valor límite de corte para el diagnóstico de DBT de 6.5%, conjuntamente con la utilización

de métodos, equipos y laboratorios certificados internacionalmente.⁽³⁴⁻⁴²⁾ Si bien existen diferentes posiciones respecto al nivel de HbA1c óptimo para el mantenimiento de la DBT, fue recomendado el establecimiento de metas individualizadas, realizando en cada persona un balance de los beneficios del control glucémico con sus potenciales riesgos.⁽³⁵⁻³⁸⁾ La Fundación Nacional del Riñón de Estados Unidos (National Kidney Foundation, USA) ha recomendado en las guías de manejo de personas con DBT y ERC, niveles de HbA1c <7% durante el seguimiento de la DBT, a fin de disminuir las complicaciones microvasculares, excepto en aquellos con riesgo de hipoglucemia, o severamente enfermos.⁽⁴³⁻⁴⁴⁾ Valores de HbA1c entre 5.7% y 6.4% han sido sugeridos para el diagnóstico de pre-diabetes, una condición donde existen mayores riesgos de desarrollar DBT.⁽³⁵⁻³⁸⁾

Notablemente, desde fines del siglo pasado ha sido demostrado que la HbA1c se correlaciona mejor y positivamente con los valores de glucemia promedio que con la glucemia en ayunas.⁽²²⁻⁵⁴⁾ Nathan y col. en el año 2008, publicaron los resultados de un estudio prospectivo, multicéntrico e intercontinental diseñado para definir la relación matemática entre HbA1c y la glucosa promedio estimada.

Ellos han corroborado que la glucosa promedio estimada (GPE) calculada de las glucemias obtenidas mediante monitorización continua y auto monitorización diaria de la glucosa capilar, se correlaciona de manera lineal y positiva con la HbA1c (R^2 0.84, $P < 0.0001$).⁽⁵⁴⁾ Los autores han propuesto una ecuación para calcular la GPE.⁽⁵⁴⁾ En la **Tabla 1** representamos los valores de HbA1c (expresados en % y en mmol/mol) y la GPE (mg/dl) correspondiente a cada valor de HbA1c en normales (<5.7%), de pre-diabetes (5.7% a 6.4%) y de DBT ($\geq 6.5\%$).⁽⁵⁴⁾ En la página web del Programa Nacional de Estandarización de la Glicohemoglobina de Estados Unidos (National Glycohemoglobin Standardization Program, NGSP) se encuentra a disposición una calculadora de uso libre y gratuito para realizar esta conversión (<http://www.ngsp.org/convert1.asp>).

Tabla 1. Relación entre HbA1c y la glucemia promedio estimada

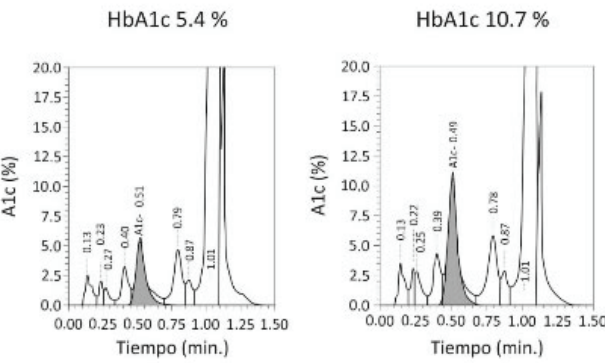
HbA1c (%)	HbA1c (mmol/mol)	GPE mg/dl
4.5	26	82
5	31	97
5.5	37	111
5.7	39	117
6	42	126
6.5	48	140
7	53	154
7.5	58	169
8	64	183
8.5	69	197
9	75	212
9.5	80	226
10	86	240
10.	91	255
11	97	269
11.5	102	283
12	108	298
12.5	113	312
13	119	326
13.5	124	341
14	130	355

La HbA1c es expresada en porcentaje (NGSP) y en milimoles por mol (IFCC, segunda columna). En color rojo están pintados los valores de HbA1c en rangos de DBT. La tercera columna muestra la glucemia promedio estimada (GPE) según la ecuación: $GPE: (mg/dl) = [(28.7 \times HbA1c) - 46.7]$.⁽⁵⁴⁾

Hay numerosos métodos disponibles para medir la HbA1c como la cromatografía líquida de alta resolución (High Performance Liquid Chromatography, HPLC), la electroforesis capilar y la cromatografía de afinidad.^(42,45-46) La HPLC por intercambio iónico ha sido considerada una técnica de referencia para la determinación de la HbA1c en los laboratorios clínicos, tiene la ventaja de poder detectar las principales variantes de

la Hb.⁽⁴²⁾ En la **Figura 1** mostramos dos curvas cromatográficas correspondientes a valores de HbA1c normales (HbA1c 5.4%) y patológicos (HbA1c 10.7%), estas imágenes han sido tomadas de informes de resultados emitidos por un equipo de HPLC de intercambio iónico.

Figura 1. Curvas cromatográficas de HbA1c en rangos normales y patológicos



Los picos pintados de amarillo representan la HbA1c

Los inmunoensayos y los métodos enzimáticos han sido fundados en las diferencias estructurales de la proteína,^(42,45-46) siendo los más utilizados en los laboratorios de los países desarrollados, mientras que entre el 20% y el 40% de los laboratorios usaron HPLC.^(39,46,55) Algunos equipos que miden la HbA1c mediante inmunoensayo pueden ser usados también en los lugares de atención a las personas.^(42,45-46) Las ventajas de esos dispositivos son: simplicidad en el manejo, diseño de los equipos y materiales, facilidad y velocidad en la obtención de los resultados.⁽⁴²⁾ Los expertos han recomendado esta tecnología como un recurso ideal debido a la facilidad para obtener los resultados rápidamente (7 minutos) en el lugar de la consulta.⁽⁴⁵⁾ El uso de estos recursos en los consultorios médicos ha permitido tomar decisiones rápidamente y mejorar el control metabólico de la DBT.⁽⁵⁶⁻⁵⁷⁾ Sin embargo, su utilización no ha sido recomendada cuando se emplea la HbA1c como diagnóstico de DBT⁽³⁴⁻³⁸⁾ debido a la variabilidad de los resultados relacionada al uso de equipos en lugares no enmarcados en controles de calidad

y a su manejo por personas desconectadas de los laboratorios clínicos.⁽⁴²⁻⁴⁶⁾

Las sociedades científicas de varias regiones del mundo han recomendado la estandarización de los métodos para cuantificar la HbA1c, estas recomendaciones han sido especificadas en las guías de diagnóstico y de seguimiento de la DBT y de la ND.^(34-38,42,45-46) Científicos de países desarrollados han organizado programas nacionales e internacionales de estandarización de la HbA1c, se han vinculado con los fabricantes de equipos, han certificado los métodos, los equipos y los laboratorios clínicos, como así también han trabajado en la armonización de ensayos y resultados, estableciendo ecuaciones maestras en Estados Unidos, Europa y Asia.^(34-42,45-47,53,55-60)

En Estados Unidos el objetivo del NGSP ha sido normalizar los resultados de los ensayos de la HbA1c, y establecer la relación entre los niveles de HbA1c y los riesgos de la DBT, en el contexto de los estudios nacionales de control de la DBT y de sus complicaciones, y del estudio prospectivo de DBT del Reino Unido.^(22-23,34-42,58) El programa internacional de estandarización de la HbA1c en Europa, organizado por la International Federation of Clinical, Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), ha logrado importantes progresos en cuanto a la calidad, la precisión y la confiabilidad de los ensayos en los laboratorios clínicos.^(39-42, 45-47,55,59)

El grupo de trabajo para la estandarización de la HbA1c de la IFCC, ha desarrollado estándares y métodos de referencia utilizados globalmente.^(39-41,45-47,54-55,58-60) Consecuentemente, NGSP y IFCC representan roles complementarios en el proceso de estandarización de HbA1c, ambos han sentado bases sólidas para establecer la exactitud y la fiabilidad de los métodos de determinación de la HbA1c para cualquier persona, de cualquier lugar del mundo que concurra a laboratorios clínicos, certificados por estos programas.^(39,41-42,45,55)

En nuestra región no contamos con programas nacionales para la estandarización de HbA1c que hayan sido aceptados internacionalmente. En Sudamérica solo 4 países tienen

laboratorios, ensayos y equipos certificados por los programas internacionales existentes. El número de laboratorios certificados por NGSP, en el último año, en países de Sudamérica fue: 22 en Colombia, 2 en Brasil, 1 en Chile y 2 en Argentina (Laboratorio Hidalgo y Centralab, ambos localizados en la ciudad de Buenos Aires), asimismo la red IFCC Network Laboratories ha aprobado un laboratorio en San Pablo (Brasil).

Considerando los millones de individuos existentes con DBT y ND en nuestra región, la mayoría de ellos no accede a esta calidad de servicios, por lo tanto, considerar la HbA1c para el diagnóstico y el control de la DBT es un desafío. El trabajo realizado sobre HbA1c en los últimos 24 años, ha logrado la optimización de los ensayos y nos ha permitido conocer los márgenes óptimos de precisión y concordancia según el paso del tiempo.^(39-42,45-47,55,58-60) En nuestra región es importante mejorar la calidad de los servicios en los laboratorios clínicos y disponer de tecnología adecuada que ayude a tomar decisiones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas individualizadas.

Consideraciones metodológicas

Confiar en las herramientas para el diagnóstico, el monitoreo y el tratamiento de la DBT es clave. Las diferencias de las HbA1c necesitan reflejar eventos biológicos que ocurren en las personas, no los errores metodológicos.⁽⁶¹⁻⁶³⁾ Cambios biológicos como la hiperglucemia inducida por la falta de respuesta al tratamiento con hipoglucemiantes orales, o el mejor control de la hiperglucemia producido por el incremento de la dosis de insulina, modifican la concentración sistémica de HbA1c. Modificaciones de la HbA1c de 0.5% han sido consideradas relevantes para la valoración de los efectos terapéuticos, y diferencias de 0.9% de la HbA1c han implicado una reducción significativa del riesgo de ND,^(21-22,27,41-42,45-46) por lo tanto, la validación de los ensayos de la HbA1c es importante para disponer de resultados confiables y reproducibles considerando el uso previsto.⁽⁶³⁻⁶⁵⁾

Todas las determinaciones bioquímicas implican un cierto grado de error, sin embargo existen parámetros de referencia determinados por los expertos que no son estáticos, pueden variar en el tiempo.⁽⁶²⁾ A continuación describiremos tres técnicas útiles para evaluación de los métodos, ellas han sido utilizadas globalmente en la comparación de ensayos de HbA1c; reseñaremos de manera aplicada la linealidad, el sesgo (bias) y el coeficiente de variación (CV); haremos la comparación de dos métodos y mostraremos ejemplos de errores metodológicos sistemáticos. Estas técnicas pueden ser realizadas de manera sencilla y ayudan a comprender cómo la correlación, la concordancia, y la precisión pueden indicarnos el nivel de confiabilidad de los ensayos usados en la práctica clínica.⁽⁶¹⁻⁶³⁾

Correlación y concordancia

Para comparar dos ensayos de HbA1c, utilizaremos como ejemplo de análisis los resultados de la HbA1c medida por dos métodos en 52 muestras de sangre fresca. Las muestras pertenecían a personas adultas con y sin DBT analizadas en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Estatal de Milagro (Ecuador), durante el período agosto de 2014 a diciembre de 2015. Este es un análisis de comparación de métodos en muestras de sangre. Nuestro estudio se encuentra enmarcado en un proyecto de investigación prospectivo, observacional y de corte transversal de la ND. El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Luis Vernaza, Junta de Beneficencia de Guayaquil (Ecuador) y fue registrado en el Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos (National Institute of Health, NIH), NCT02237352 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02237352>).

Los criterios de inclusión a nuestro estudio de la ND a nivel poblacional son: adultos entre 21 y 70 años de edad, capaces de firmar el consentimiento informado, personas con y sin diagnóstico de DM, no hospitalizados, sin estar sufriendo enfermedades agudas, domiciliadas en el lugar de contacto por al menos 6 meses

previos al estudio. Criterios de exclusión: sujetos con enfermedades agudas, residentes temporales en el domicilio de contacto, menores de 21 años y mayores de 70 años de edad.

La sangre extraída mediante una punción venosa periférica fue colectada en tubos con ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA). En la totalidad de las muestras fue medida la HbA1c por dos métodos, HPLC (Variant II Turbo, BioRad) usado como método de referencia (MR) y un método evaluado (ME), inmunoensayo (DCA-Vantage, Siemens). El ME que hemos utilizado para este ejemplo de comparación de métodos, pertenece a la tecnología empleada también en los consultorios, cada cartucho (1 por determinación), es cargado con 1 microlitro de sangre entera, luego es colocado manualmente en el equipo, los resultados de la HbA1c son emitidos por la maquina a los 7 minutos de cargada la muestra y los valores son expresados en porcentajes. Para este ejemplo, todas las muestras han sido procesadas en un laboratorio, dentro de las 48 hs. siguientes a la extracción de sangre, por un mismo operador entrenado y con experiencia en la realización de cada uno de los ensayos. Los equipos han sido calibrados previamente y los estándares provistos por los fabricantes de los dispositivos. El 50% de las muestras tenía valores de HbA1c en el rango de DBT según HPLC ($\geq 6.5\%$). Luego de disponer de los resultados de la HbA1c de las 52 muestras, analizamos linealidad, correlación y concordancia. En dos muestras adicionales, determinamos la HbA1c cinco veces en cada muestra y calculamos el CV para cada método.

Con el resultado de las HbA1c de las 52 muestras construimos un diagrama de dispersión y calculamos el coeficiente de correlación (r) de Pearson (CCP). **Figura 2** (diagrama izquierdo)

La correlación es una técnica estadística mediante la cual evaluamos la relación entre dos variables cuantitativas, determinando cuán fuerte es esa relación mediante el valor de r . El valor de r puede ir entre -1 y +1, los valores cercanos a 1 indican una fuerte correlación entre las dos variables. En la **Figura 2** (diagrama

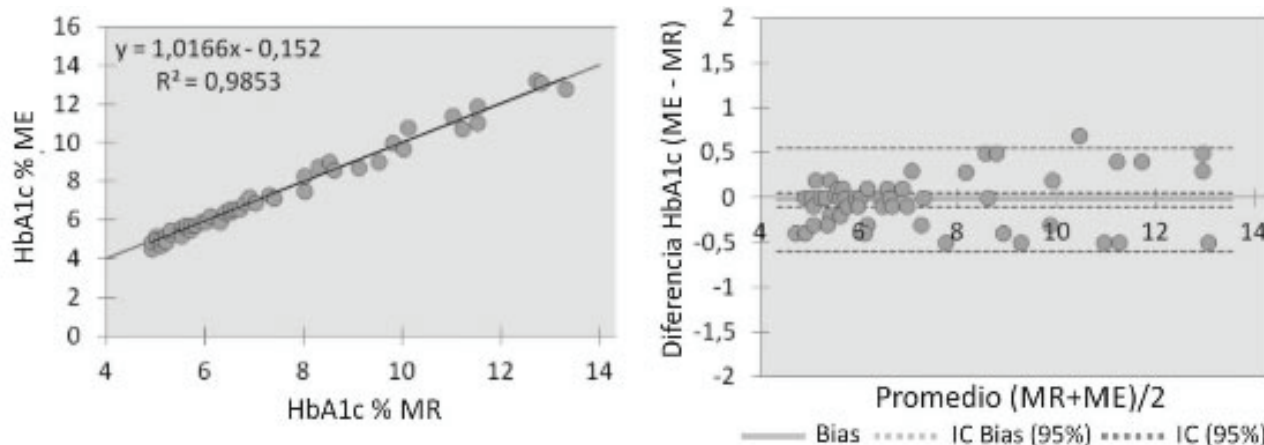
izquierdo), observamos los valores de HbA1c cuantificados por los dos métodos, MR en el eje de las abscisas (x), ME en el eje de las ordenadas (y). Construimos un diagrama de dispersión y calculamos el CCP (Excel, Office 2016), incluimos la línea de tendencia, datos de la ecuación de la recta ($Y = a + (b \cdot x)$, a: ordenada al origen, b: tendencia) y el valor de r^2 . En la **Figura 2** (diagrama izquierdo) observamos que la mayoría de los puntos se ubicaron próximos a la línea de tendencia y que el r^2 fue de 0.983, ($P < 0.0001$), indicando que la relación de la HbA1c medida por ambos métodos ha sido fuerte, lineal, positiva y significativa. El test de significancia muestra que los dos métodos estuvieron relacionados, si bien esto es obvio, porque elegimos dos métodos diseñados para medir HbA1c.⁽⁶¹⁻⁶²⁾

En la comparación de dos métodos el estudio de correlación no es suficiente, porque una fuerte correlación no incluye una buena concordancia entre ambos métodos.⁽⁶¹⁻⁶²⁾

La concordancia es el estudio de las diferencias de los valores cuantitativos (HbA1c)

medidos por ambos métodos y fue descripto por Bland y Altman.⁽⁶¹⁾ El análisis y los diagramas de Bland y Altman fueron realizados con el programa XLStat 2014. Para realizar este análisis calculamos el promedio y las diferencias entre los resultados obtenidos por los dos métodos y luego los representamos en la **Figura 2** (diagrama derecho). Para calcular las diferencias hicimos la siguiente resta: HbA1c ME - HbA1c MR, ejemplo de la resta en la muestra 1: 4.5% - 4.9% = -0.4%. Luego calculamos la media de las diferencias de todas las muestras. El valor de la media de las diferencias es el bias o sesgo. El valor del bias calculado de las 52 muestras fue -0.031% y el error estándar (EE) -0.0062%. El rango de los valores de la HbA1c fue entre 4.9% y 13.3% en el MR y entre 4.5% y 13.2 % en el ME. El rango de las diferencias entre ambos métodos fue entre -0.5% y 0.7% (**Figura 2**, diagrama derecho). Adicionalmente calculamos el intervalo de confianza del 95% del bias (IC 95% bias), [-0.113, 0.051] y el IC 95 % de las diferencias, [-0.608, 0.547].

Figura 2. Correlación y concordancia



A la izquierda el diagrama de dispersión muestra la relación entre la HbA1c medida por el MR y el ME. A la derecha el diagrama de Bland y Altman. IC: intervalo de confianza. Las líneas rojas discontinuas representan el IC de las diferencias

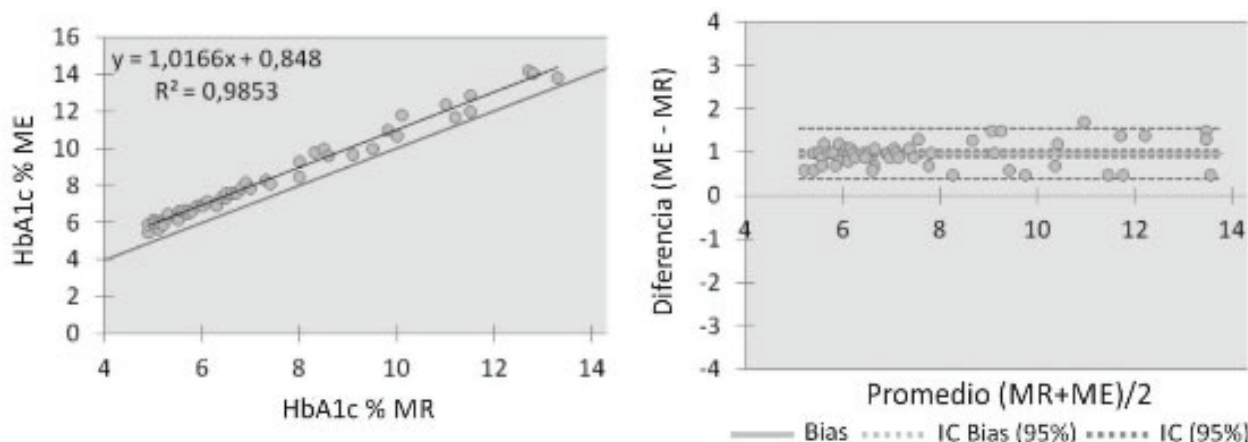
En nuestro ejemplo el bias fue aceptable y los puntos se distribuyeron de manera aleatoria. Valores de bias < 0.24 % fueron considerados óptimos y el 95% de las muestras deberían estar dentro del marco del IC 95% de las diferencias.

^(42,62) El informe 05-2017 del College of American Pathologists (CAP), muestra los resultados de los aproximadamente 3400 laboratorios certificados por NGSP, el bias medio fue de 0.22% en muestras de HbA1c con rangos entre 5.3% y 9.5%.

Una variabilidad sistemática constante o proporcional podría corresponderse con errores pre-analíticos o analíticos, las **Figuras 3 y 4** son ejemplos de errores posibles. En los dos ejemplos la relación fue lineal, la correlación fuerte y el valor de r^2 idéntico al de los datos originales. Sin

embargo, el bias de ambos ejemplos de errores fueron superiores y la distribución de los puntos diferente. En el ejemplo 1 adicionamos una unidad a los valores de la HbA1c obtenidos con el ME. (**Figura 3**)

Figura 3. Ejemplo de Error 1

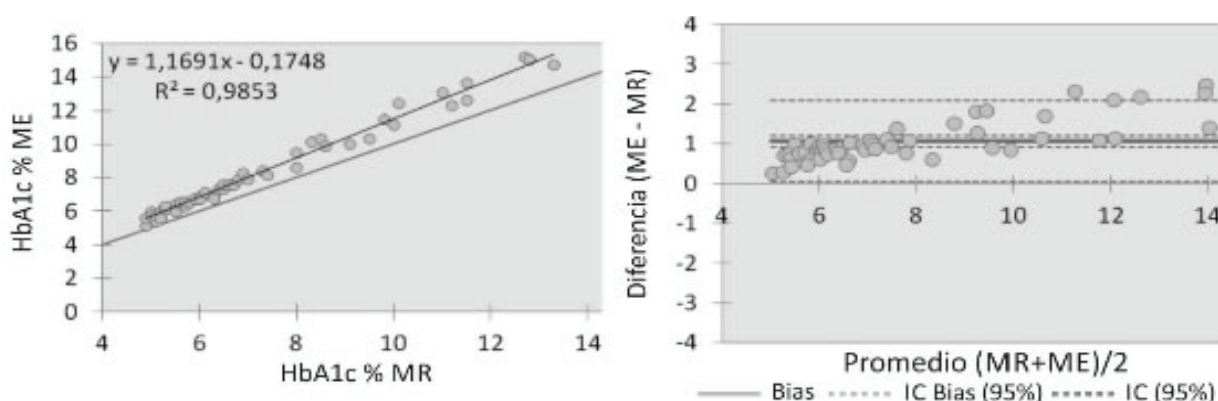


A la izquierda el diagrama de dispersión muestra la relación entre la HbA1c medida por el MR y el ME con un error sistemático. A la derecha el diagrama de Bland y Altman. IC: intervalo de confianza. Las líneas rojas discontinuas muestran el IC de las diferencias

El rango de las diferencias fue entre 0.5% y 1.7%, el bias fue de 0.969% y el EE de 0.198%. En este caso errores analíticos o del cálculo podrían haber causado el error. En el ejemplo 2, incrementamos un 15% los valores de HbA1c del ME (**Figura 4**). El bias también fue elevado 1.097%,

EE 0.147%, el rango de las diferencias fue alto, entre 0.3% y 2.5%, y las diferencias incrementaron a medida que la HbA1c aumentó (**Figura 4**, diagrama derecho). Errores analíticos, como alteraciones de los estándares o del cálculo de los resultados, podrían haber causado este error.

Figura 4. Ejemplo de error 2



A la izquierda el diagrama de dispersión muestra la relación entre la HbA1c medida por el MR y el ME con un error sistemático. A la derecha el diagrama de Bland y Altman. IC: intervalo de confianza. Las líneas rojas discontinuas muestran el IC de las diferencias

En resumen, realizar el análisis de linealidad y de concordancia es importante para conocer la fuerza de la correlación, el valor del bias, el tamaño y la ubicación de las diferencias. Éstas son herramientas estadísticas usadas globalmente en la valoración de los métodos. El análisis nos ha permitido observar, por ejemplo, que en las 52 muestras estudiadas los parámetros fueron óptimos, pero achicar el rango de las diferencias sería bueno en el ME, dado que las diferencias encontradas superan los valores considerados relevantes para las decisiones terapéuticas (0.5% a 1.0%).^(42,45-46)

Precisión, coeficiente de variación

La precisión de los ensayos en los laboratorios puede ser medida mediante el CV. Para calcular el CV, en dos muestras que representaron los valores normales y patológicos de la HbA1c, repetimos 5 veces las determinaciones de HbA1c y realizamos el cálculo del CV con la siguiente ecuación: $CV = (\text{desviación estándar}/\text{media}) \times 100$. Los datos de la HbA1c los expresamos en media $\pm$ desviación estándar.

MR: el valor de HbA1c fue $5.5\% \pm 0.08\%$ en la muestra que representó los valores normales y el CV 1.47%. En la muestra que representó los valores patológicos de HbA1c, la HbA1c medida fue $8.1\% \pm 0.13\%$, y el CV 1.61%.

ME: la HbA1c de la muestra con niveles normales fue $5.5\% \pm 0.11\%$ y el CV 1.61%, en la muestra con valores patológicos, la HbA1c fue $8.20\% \pm 0.2\%$ y el CV 2.44%.

Valores de CV inferiores a 2% han sido considerados aceptables en los ensayos de HbA1c, aunque este valor sea más difícil de alcanzar cuando la HbA1c es medida con equipos que se utilizan en los consultorios.^(42,64)

En los ejemplos anteriores observamos que el CV fue mayor al 2% sólo en el ME, cuando la muestra tenía rangos de HbA1c compatibles con DBT; mejorar esos rangos analizando y resolviendo los posibles errores pre-analíticos y/o analíticos es conveniente. Este análisis refleja la precisión del ensayo intra-laboratorio, es beneficioso trabajar con ensayos que tengan CV $>2\%$ en los rangos de diagnóstico de la DBT,

asumiendo que las variaciones de la HbA1c en una misma persona son menores al 2%.⁽⁶⁵⁾

Elegir métodos y laboratorios internacionalmente certificados es importante para tomar decisiones con los pacientes. Certificar métodos y laboratorios, trabajar con estándares de calibración que cumplan criterios de trazabilidad con materiales de referencia internacionales, mantener óptimos niveles de concordancia y precisión, como así también controlar la veracidad de los datos, considerando los cálculos de sensibilidad y especificidad de los métodos, permite a los laboratorios clínicos proveer servicios de calidad de acuerdo a lo que el estado del arte indica.^(63,66)

Interferencias en la determinación de HbA1c

Las interferencias más comunes en los ensayos de HbA1c son: hiperbilirrubinemia, hipertrigliceridemia, leucocitosis, la Hb fetal incrementada, y variantes de la Hb como HbS, HbC, HbD, HbE.^(42,45-46,49,67-68) Todas aquellas condiciones que alteren la vida media del eritrocito también modifican la HbA1c: anemia, hemólisis, sangrado, transfusiones de sangre, esplenectomía, recuperación de una pérdida aguda de sangre, el déficit de hierro en sí mismo, como así también embarazo, raza, edad, ERC, malaria, alcoholismo, VIH, drogas para el tratamiento del VIH y de la DBT.⁽⁶⁸⁻⁷⁶⁾ En personas cuyos resultados revelen valores extremos de HbA1c habría que descartar las principales causas de interferencias de los métodos de HbA1c, y en muestras con valores $>15\%$ debería contemplarse la posibilidad de una variante de la Hb.

Las interferencias de la HbA1c relacionadas a variantes de la Hb constituyen un desafío para el monitoreo de personas con DBT. En general las variantes de la Hb han sido detectadas por HPLC de intercambio iónico, y las variantes comunes de la Hb (HbS, HbC, HbD y HbE) no interfieren la mayoría de los inmunoensayos.⁽⁴²⁾

Las principales variantes de la Hb que han sido descriptas en los países de Latinoamérica son HbS, HbC, HbE, alfa y beta talasemias.⁽⁷⁷⁾ En Ecuador las variantes que han sido reportadas

son HbE, HbC y Hb fetal, la mayoría heterocigotas (asintomáticas).⁽⁷⁷⁻⁷⁹⁾ El porcentaje de variantes de la Hb encontrado en las provincias de Esmeraldas y de Imbabura ha sido elevado, 10.5% al 25.4% de las muestras estudiadas.⁽⁷⁸⁻⁷⁹⁾

Con respecto al origen, han sido reportadas diferencias de la HbA1c en personas de origen hispano en relación a individuos de raza blanca de origen no hispano en la población que reside en Estados Unidos, encontrando mayores niveles de HbA1c en aquellos de origen mexicano, comparado con los blancos de origen no hispano.⁽⁸⁰⁻⁸²⁾ Avilés-Santa y col. han reportado también que los hispanos nacidos en varios países de Centroamérica y en algunos países de Sudamérica, que residían en EEUU, tenían mayores niveles de HbA1c que los individuos blancos no hispanos. Este incremento de la HbA1c fue independiente de la glucemia en personas sin alteraciones de la glucosa, en prediabetes y en DBT no reconocida.⁽⁸²⁾ Mejores estudios son necesarios para determinar si estas diferencias son debido al origen o a factores asociados al país donde viven. No encontramos reportes que aludan a diferencias de la HbA1c clínicamente relevantes entre la población hispana que habita en sus países de origen o en países del mundo desarrollado.

Carbamilación de proteínas

La ERC y la DBT incrementan las modificaciones de las proteínas cambiando su estructura y su función, la carbamilación es una modificación a nivel molecular que altera la Hb de manera post-traducciona. Han sido reportados menores niveles de HbA1c en individuos con ND y ERC comparado a sujetos con DBT sin ND.^(82,84) Además en la ERC factores como la anemia, la eritropoyetina, el déficit de hierro y la acidosis han sido relacionados con alteraciones de la HbA1c.^(68,87-88,90)

Tanto la glucosilación como la carbamilación compiten por el mismo lugar de la HbA, el sector amino terminal de las Valinas de la cadena beta de la Hb.⁽⁸¹⁻⁹⁸⁾ La carbamilación indica la unión no enzimática del ácido isociánico,

formada principalmente por la disociación de la urea a los grupos amino terminales de la Hb.⁽⁸⁷⁾ La carbamilación depende de la concentración de nitrógeno ureico en la sangre (Blood Urea Nitrogen, BUN) y del tiempo al que estuvieron expuestas las proteínas al medio urémico.⁽⁸⁷⁾ Ecuación: $BUN (mg/dl) = Urea (mg/dl) / 2.1428$. En personas con ERC, diálisis y trasplante renal, la exposición prolongada a niveles incrementados de BUN ha incrementado la carbamilación de la Hb.⁽⁸⁹⁻⁹⁰⁾

Hace algunas décadas existían importantes interferencias entre la Hb carbamylada y la HbA1c, los inmunoensayos eran más exactos que HPLC para medir HbA1c.⁽⁹³⁻⁹⁴⁾ Actualmente existen mejores ensayos, la HbA1c medida por HPLC de intercambio iónico, inmunoensayo o electroforesis capilar no es alterada por la carbamilación de la Hb, disipando las interferencias.⁽⁴⁷⁾ Estudios recientes han reportado que en la ERC los niveles de HbA1c medidos con HPLC, electroforesis capilar e inmunoensayo fueron semejantes, independientemente de los niveles de BUN.⁽⁹⁶⁻⁹⁷⁾

La albúmina tiene una vida media más corta que la vida media del eritrocito, y representaría la glucemia de los 15 días anteriores a la extracción de la muestra.^(83,87) Sin bien la albúmina glucosilada ha sido considerada un buen marcador de la glucemia crónica en la ERC,^(84,86) ésta no ha sido usada masivamente en la práctica clínica como la HbA1c.

Estudios experimentales en modelos animales de DBT tipo 2 con ERC, han cuestionado el uso de la fructuosamina y de la albúmina glucosilada como una alternativa para el monitoreo de la DBT y la ERC.⁽⁹⁸⁾ Fue reportado que la albúmina sérica también es carbamylada en el mismo sitio donde ocurre la glicación, la Lisina 549, siendo superior la carbamilación de la albúmina en pacientes con ERC que en sujetos no urémicos.⁽⁹⁹⁾ Adicionalmente, la albúmina carbamylada en la lisina 549 fue identificada como un factor de riesgo de mortalidad en personas con ERCT.⁽⁹⁹⁾

Por otra parte, así como la homocitrulina, la Hb carbamylada y la albúmina carbamylada

han sido consideradas biomarcadores sistémicos de la carbamilación,⁽¹⁰⁰⁾ y la carbamilación de proteínas ha sido relacionada a mayor mortalidad cardiovascular, a aterosclerosis, a alteraciones del metabolismo de los lípidos, del sistema inmune y a la progresión de la ERC.⁽⁹⁸⁾ En breve, la glucosilación de la Hb y de la albúmina son marcadores de hiperglucemia así como la carbamilación de la Hb y de la albúmina son marcadores de uremia.

Análisis de costos

En cuanto al análisis de costos de la HbA1c, hemos hecho un relevamiento de precios de la HbA1c (agosto de 2017) en laboratorios clínicos de 10 países de América del Sur: Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela. Hemos preguntado el precio total de la HbA1c para personas sin cobertura en salud, y el método de determinación de la HbA1c. Los datos son de al menos 4 laboratorios por país, ubicados en

2 o más ciudades de cada país (n=47). En los 10 países de la región el valor de la HbA1c en dólares (U\$), expresados en media $\pm$ desviación estándar, fue 21.23 ± 10.47 , mediana 18.50, precio mínimo 5.58 y precio máximo 46.78. Los métodos utilizados fueron: HPLC, inmunoensayos, métodos enzimáticos, método de afinidad con boronato y electroforesis capilar. El precio de la HbA1c por HPLC fue de U\$ 22.30 ± 10.66 , mediana U\$ 20.83, precio mínimo y máximo U\$ 5.58 y \$ 43.77 respectivamente. Adicionalmente, el valor de la HbA1c medida por métodos diferentes a HPLC fue de \$ 20.82 ± 10.53 , mediana U\$ 18.19, precio mínimo U\$ 7.33 y precio máximo U\$ 46.78. Estos precios fueron semejantes a los de HPLC (valor de P 0.570, test de Mann Whitney). El costo de la HbA1c discriminado por país se encuentra en la **Tabla 2**, en la última columna especificamos los valores de la HbA1c medidos por HPLC. Los precios de la HbA1c de los 10 países estudiados fueron semejantes (valor de P 0.105, test de Kruskal-Wallis).

Tabla 2. Precio de la HbA1c en los países de Sudamérica

	n	Mínimo (U\$)	Máximo (U\$)	Media (U\$)	DE (U\$)	HPLC (U\$)
Argentina	5	18.61	38.52	27.02	8.95	18.6* - 38.5*
Bolivia	5	10.13	24.00	17.82	5.39	15.9 - 21.7
Brazil	5	5.58	46.78	22.17	16.06	5.6 - 26.9 - 46.8*
Chile	5	7.33	43.77	18.38	15.03	12.0 - 43.8*
Colombia	5	15.00	42.90	24.56	12.31	31.6
Ecuador	5	13.00	18.50	15.91	2.03	15.4
Paraguay	5	8.74	15.96	13.41	2.94	16.0
Peru	4	18.38	27.57	22.04	4.26	23.2
Uruguay	4	19.13	43.86	31.32	13.14	20.8
Venezuela	4	13.50	35.00	21.98	9.27	

Los valores de cada determinación de la HbA1c están en dólares norteamericanos (U\$), Mínimo: menor precio, Máximo: mayor precio. DE: desviación estándar, * laboratorios certificados por NGSP

Los datos presentados indican que la mayoría de las técnicas para medir HbA1c están disponibles en los países de nuestra región, incluida HPLC. Para personas sin cobertura en salud,

el precio de la HbA1c fue elevado, independientemente del nivel de ingresos del país, el monto en dólares de cada determinación fue semejante. Además, encontramos que en la mayoría de los

países de Sudamérica no es más costoso medir la HbA1c por HPLC, un método considerado de referencia, que hacerlo por otros métodos.

El valor de cada equipo para cuantificar HbA1c por inmunoensayo en nuestro laboratorio de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Milagro, Ecuador (DCA-Vantage, Siemens) fue de U\$ 2963.30, y el precio de cada cartucho descartable U\$ 7.7. A estos aparatos los utilizamos en el laboratorio para realizar las determinaciones de HbA1c y de microalbuminuria, en el contexto de los estudios de investigación de la ND que estamos desarrollando en Ecuador (NIH-NCT02237352, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02237352>).

Por otra parte, el costo de certificar por NGSP laboratorios de nivel I (certificación y monitoreo de un método) es de U\$ 5000.0, el análisis de datos trimestrales es de U\$ 1000.0 por aplicación, mientras que para certificar laboratorios de nivel II el costo es de U\$ 3500.0 y para los fabricantes de equipos, U\$ 5000.0.

Estos números representan parte de los montos requeridos para lograr la estandarización internacional de la HbA1c, en laboratorios clínicos y de investigación en los países de nuestra región.

CONCLUSIONES

Numerosas personas padecen en la actualidad DBT y sus terribles complicaciones. Aún no hemos logrado que un enfermo de DBT con o sin ND recupere su salud. Nuestro trabajo abarca prevenir, diagnosticar, tratar las enfermedades y aliviar el sufrimiento humano.

De manera multidisciplinaria hacer “lo mejor” implica actuar según lo que el estado del arte indica. En nuestra región es importante mejorar la calidad de los servicios en los laboratorios clínicos, disponer de tecnología adecuada que ayude a tomar decisiones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas individualizadas. Necesitamos trabajar concentradamente y multidisciplinariamente para hacer de la HbA1c una herramienta confiable y disponible para todas las personas.

Si bien la HbA1c se relacionó con la DBT hace 50 años,⁽¹⁰¹⁻¹⁰³⁾ los ensayos para la HbA1c han sido optimizados en las últimas décadas, gracias a indispensables contribuciones de la comunidad científica, quedando aún trabajo por hacer. Si contamos con resultados de calidad, la utilidad de la HbA1c ha sido demostrada. Para los que formamos parte del sistema de salud conocer detalles metodológicos claves como el bias y el CV, podría incidir en la toma de decisiones sobre los pacientes. Si nosotros no utilizamos nuestra poderosa voz para lograr cambios concretos ahora, en el lugar donde estamos, ¿quién llevará la luz de la ciencia a los millones de individuos que padecen y padecerán estas terribles enfermedades en nuestra región?

Agradecimientos: Agradecemos a las personas, bibliotecas, revistas científicas y entidades que permiten el acceso libre y gratuito del conocimiento científico publicado.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por la Secretaria de Educación Superior Ciencia, Tecnología e Innovación de Ecuador (SENES-CYT), Proyecto Prometeo y la Universidad Estatal de Milagro, Guayas, Ecuador (UNEMI-OCAS-SO-27092013-Nº26 DV2013 – 2014, UNEMI-OCAS-SO-03072014-N8-DV 2014-2015 y UNEMI-OCAS-SO-30052016-N5-DV 2015-2017).

Aspectos bioéticos: El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Luis Vernaza, Junta de Beneficencia de Guayaquil (Ecuador) y fue registrado en el Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos (National Institute of Health, NIH): NCT02237352 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02237352>. La población estudiada (adultos entre 21 y 70 años de edad) firmó un consentimiento informado.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no poseer ningún interés comercial o asociativo que presente un conflicto de intereses con el trabajo presentado.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). World-wide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet* 2016;387(10027):1513-30.
- 2) Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103(2):137-49.
- 3) Atlas de la Diabetes de la FID: región Sudamérica y América Central [Internet]. 5ª ed. Bruselas: International Diabetes Federation, 2015. Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html> [consulta: 02/10/2017].
- 4) GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 2017;390(10100): 1211-59.
- 5) Carranza K, Veron D, Cercado A, Bautista N, Pozo W, Tufro A, et al. Cellular and molecular aspects of diabetic nephropathy; the role of VEGF-A. *Nefrologia* 2015;35(2):131-38.
- 6) Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, Chiang JL, de Boer IH, Goldstein-Fuchs J, et al. Diabetic kidney disease: a report from an ADA Consensus Conference. *Diabetes Care.* 2014;37(10):2864-83.
- 7) Gallagher H, Suckling RJ. Diabetic nephropathy - where are we on the journey from pathophysiology to treatment? *Diabetes Obes Metab.* 2016;18(7):641-7.
- 8) Eggers PW. Has the incidence of end-stage renal disease in the USA and other countries stabilized? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011;20(3):241-5.
- 9) Lugon JR, Strogoff de Matos JP. Disparities in end-stage renal disease care in South America. *Clin Nephrol.* 2010;74(Suppl 1):S66-71.
- 10) Rosa-Diez G, González-Bedat M, Pecoits-Filho R, Marinovich S, Fernández S, Lugon J, et al. Renal replacement therapy in Latin American end-stage renal disease. *Clin Kidney J.* 2014;7(4):431-6.
- 11) World Kidney Day 2017, Kidney disease and obesity [Internet]. International Society of Nephrology, Global Operations Center. Disponible en: <http://www.worldkidneyday.org/> [consulta: oct. 2017].
- 12) Cusumano AM, Rosa-Diez GJ, Gonzalez-Bedat MC. Latin American Dialysis and Transplant Registry: Experience and contributions to end-stage renal disease epidemiology. *World J Nephrol.* 2016;5(5):389-97.
- 13) Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet* 2013;382(9888):260-72.
- 14) Couser WG, Remuzzi G, Mendis S, Tonelli M. The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney Int.* 2011;80(12):1258-70.
- 15) Levey AS, Atkins R, Coresh J, Cohen EP, Collins AJ, Eckardt KU, et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: approaches and initiatives - a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int.* 2007;72(3):247-59.
- 16) Brück K, Stel VS, Gambaro G, Hallan S, Völzke H, Ärnlöv J, et al. CKD prevalence varies across the european general population. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(7):2135-47.
- 17) Estados Unidos. National Kidney Foundation. Global facts: about kidney disease [Internet]. Disponible en: <https://www.kidney.org/kidneydisease/global-facts-about-kidney-disease> [consulta: oct. 2017].
- 18) Gallagher H, Methven S, Casula A, Thomas N, Tomson CR, Caskey FJ, et al. A programme to spread eGFR graph surveillance for the early identification, support and treatment of people with progressive chronic kidney disease (ASSIST-CKD): protocol for the stepped wedge implementation and evaluation of an intervention to reduce late presentation for renal replacement therapy. *BMC Nephrol.* 2017;18(1):131.
- 19) Klessens CQ, Woutman TD, Veraar KA, Zandbergen M, Valk EJ, Rotmans JI, et al. An autopsy study suggests that diabetic nephropathy is underdiagnosed. *Kidney Int.* 2016;90(1):149-56.
- 20) Shimizu M, Furuichi K, Toyama T, Kitajima S, Hara A, Kitagawa K, et al. Long-term outcomes of Japanese type 2 diabetic patients with biopsy-proven diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* 2013;36(11):3655-62.
- 21) UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* 1998;352(9131): 837-53.
- 22) Diabetes Control and Complications Trial Research Group, Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P,

- Crofford O, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329(14):977-86.
- 23) ADVANCE Collaborative Group, Patel A, MacMahon S, Chalmers J, Neal B, Billot L, et al. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008;358(24):2560-72.
 - 24) Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R, et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(1):193-203.
 - 25) Duckworth W, Abraira C, Moritz T, Reda D, Emanuele N, Reaven PD, et al. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2009;360(2):129-39.
 - 26) Ismail-Beigi F, Craven T, Banerji MA, Basile J, Calles J, Cohen RM, et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. *Lancet* 2010;376:419-30. Ismail-Beigi F, Craven T, Banerji MA, Basile J, Calles J, Cohen RM, et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. *Lancet.* 2010;376(9739):419-30.
 - 27) Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ.* 2000;321(7258):405-12.
 - 28) Bangstad HJ, Osterby R, Dahl-Jørgensen K, Berg KJ, Hartmann A, Hanssen KF. Improvement of blood glucose control in IDDM patients retards the progression of morphological changes in early diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1994;37(5):483-90.
 - 29) Fioretto P, Mauer SM, Bilous RW, Goetz FC, Sutherland DE, Steffes MW. Effects of pancreas transplantation on glomerular structure in insulin-dependent diabetic patients with their own kidneys. *Lancet.* 1993;342(8881):1193-6.
 - 30) Haraguchi K, Hara S, Ubara Y, Tanaka S, Nukui I, Shimura H, et al. Complete remission of diabetic nephropathy in a type 1 diabetic patient with near-nephrotic range proteinuria and reduced renal function. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009;83:295-99. Haraguchi K, Hara S, Ubara Y, Tanaka S, Nukui I, Shimura H, et al. Complete remission of diabetic nephropathy in a type 1 diabetic patient with near-nephrotic range proteinuria and reduced renal function. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009;83(3):295-9.
 - 31) Iaconelli A, Panunzi S, De Gaetano A, Manco M, Guidone C, Leccesi L, et al. Effects of bilio-pancreatic diversion on diabetic complications: a 10-year follow-up. *Diabetes Care.* 2011;34(3):561-7.
 - 32) Inzucchi SE, Zinman B, Wanner C, Ferrari R, Fitchett D, Hantel S, et al. SGLT-2 inhibitors and cardiovascular risk: proposed pathways and review of ongoing outcome trials. *Diab Vasc Dis Res.* 2015;12(2):90-100.
 - 33) Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, Fitchett D, Von Eynatten M, Mattheus M, et al. Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2016;375(18):323-34.
 - 34) International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(7):1327-34.
 - 35) American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2012;35(Suppl 1):S64-71.
 - 36) WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus: Abbreviated Report of a WHO Consultation [Internet]. Geneva: World Health Organization, 2011. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304267/> [consulta: oct. 2017].
 - 37) American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2014;37(Suppl 1):S81-90.
 - 38) American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2016;39 (Suppl 1):S13-22.
 - 39) Weykamp C, John WG, Mosca A. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c. *J Diabetes Sci Technol.* 2009;3(3):439-45.
 - 40) Consensus Committee. Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement: the American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes,

- International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation. *Diabetes Care*. 2007;30(9):2399-400.
- 41) Little RR, Rohlfing CL, Sacks DB, National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) Steering Committee. Status of hemoglobin A1c measurement and goals for improvement: from chaos to order for improving diabetes care. *Clin Chem*. 2011;57(2):205-14.
 - 42) Lenters-Westra E, Schindhelm RK, Bilo HJ, Slingerland RJ. Haemoglobin A1c: Historical overview and current concepts. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013;99(2): 75-84.
 - 43) National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Diabetes and CKD: 2012 update. *Am J Kidney Dis*. 2012;60(5):850-86.
 - 44) Inker LA, Astor BC, Fox CH, Isakova T, Lash JP, Peralta CA, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD. *Am J Kidney Dis*. 2014;63(5):713-35.
 - 45) Weycamp C. HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. *Ann Lab Med*. 2013;33(6):393-400.
 - 46) Penttilä I, Penttilä K, Holm P, Laitinen H, Ranta P, Törrönen J, et al. Methods, units and quality requirements for the analysis of haemoglobin A1c in diabetes mellitus. *World J Methodol*. 2016;6(2):133-42.
 - 47) Finke A, Kobold U, Hoelzel W, Weycamp C, Jeppsson JO, Miedema K. Preparation of a candidate primary reference material for the international standardisation of HbA1c determinations. *Clin Chem Lab Med*. 1998;36(5):299-308.
 - 48) Fitzgibbons JF, Koler RD, Jones RT. Red cell age-related changes in hemoglobin A1a+b and A1c in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest*. 1976; 58:3892-98.
 - 49) Thom CS, Dickson CF, Gell DA, Weiss MJ. Hemoglobin variants: biochemical properties and clinical correlates. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(3):a011858.
 - 50) Bunn HF, Haney DN, Kamin S, Gabbay KH, Gallop PM. The biosynthesis of human hemoglobin A1c. Slow glycosylation of hemoglobin in vivo. *J Clin Invest*. 1976;57(6):1652-9.
 - 51) Trivelli LA, Ranney HM, Lai HT. Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1971;284(7): 353-57.
 - 52) Shapiro R, McManus MJ, Zalut C, Bunn HF. Sites of nonenzymatic glycosylation of human hemoglobin A. *J Biol Chem*. 1980;255(7):3120-7.
 - 53) Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40(1):78-89.
 - 54) Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, Heine RJ, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care*. 2008;31(8):1473-8.
 - 55) Penttilä IM, Halonen T, Punnonen K, Tiikkainen U. Best use of the recommended IFCC reference method, material and values in HbA1C analyses. *Scand J Clin Lab Invest*. 2005;65(6):453-62.
 - 56) Miller CD, Barnes CS, Phillips LS, Ziemer DC, Gallina DL, Cook CB, et al. Rapid A1c availability improves clinical decision-making in an urban primary care clinic. *Diabetes Care*. 2003;26(4):1158-63.
 - 57) Flood D, Hawkins J, Rohloff P. A Home-Based Type 2 Diabetes Self-Management Intervention in Rural Guatemala. *Prev Chronic Dis*. 2017;14:E14-65.
 - 58) Sacks DB, ADA/EASD/IDF Working Group of the HbA1c Assay. Global harmonization of hemoglobin A1c. *Clin Chem*. 2005;51(4):681-3.
 - 59) Weykamp C, John WG, Mosca A, Hoshino T, Little R, Jeppsson JO, et al. The IFCC Reference Measurement System for HbA1c: a 6-year progress report. *Clin Chem*. 2008;54(2):240-8.
 - 60) Hanas R, John WG; International HbA1c Consensus Committee. 2013 Update on the worldwide standardization of the hemoglobin A1c measurement. *Pediatric Diabetes*. 2014;15(3):e1-2.
 - 61) Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurements. *Lancet* 1986;1(8476):307-10.
 - 62) Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochem Med (Zagreb)*. 2015;25(2):141-51.
 - 63) Mosca A, Lapolla A, Gillery P. Glycemic control in the clinical management of diabetic patients. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(4):753-66.
 - 64) Lenters-Westra E, Slingerland RJ. Six of eight hemoglobin A1c point-of-care instruments do not meet the general accepted analytical performance criteria. *Clin Chem*. 2010;56(1):44-52.
 - 65) Goodall I, Colman PG, Schneider HG, McLean

- M, Barker G. Desirable performance standards for HbA1c analysis-precision, accuracy and standardization: consensus statement of the Australian Association of Clinical Biochemists (AACB), the Australian Diabetes Society (ADS), the Royal College of Pathologists of Australia (RCPA), Endocrine Society of Australia (ESA), and the Australian Diabetes Educators Association (ADEA). *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(8):1083-97.
- 66) Unger G, Ruiz G, Milano P, Benozzi SF, Pennacchiotti GL. Evaluación del desempeño analítico de tres métodos de cuantificación de hemoglobina A1c. *Acta Bioquím Clin Latinoam.* 2014;48 (2):183-9.
- 67) Weykamp CW, Mosca A, Gillery P, Panteghini M. The analytical goals for hemoglobin A(1c) measurement in IFCC units and National Glycohemoglobin Standardization Program Units are different. *Clin Chem.* 2011;57(8):1204-6.
- 68) Lapolla A, Mosca A, Fedele D. The general use of glycated haemoglobin for the diagnosis of diabetes and other categories of glucose intolerance: still a long way to go. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011;21(7):467-75.
- 69) Mongia SK, Little RR, Rohlfing CL, Hanson S, Roberts RF, Owen WE, et al. Effects of hemoglobin C and S traits on the results of 14 commercial glycated hemoglobin assays. *Am J Clin Pathol.* 2008;130(1):136-40.
- 70) Puukka R, Puukka M. Effect of hemoglobin F on measurements of hemoglobin A1c with physicians' office analyzers. *Clin Chem.* 1994;40(2):342-3.
- 71) Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JJ, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care.* 1995;18(6):896-909.
- 72) English E, Idris I, Smith G, Dhatariya K, Kilpatrick ES, John WG. The effect of anaemia and abnormalities of erythrocyte indices on HbA1c analysis: a systematic review. *Diabetologia.* 2015;58(7):1409-21.
- 73) Tarim O, Küçükerdoğan A, Günay U, Eralp O, Ercan I. Effects of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Int.* 1999;41(4):357-62.
- 74) Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta Haematol.* 2004;112(3):126-8.
- 75) Hashimoto K, Noguchi S, Morimoto Y, Hamada S, Wasada K, Imai S, et al. A1C but not serum glycated albumin is elevated in late pregnancy owing to iron deficiency. *Diabetes Care.* 2008;31(10):1945-8.
- 76) Penttilä I, Penttilä K, Holm P, Laitinen H, Rauramaa R. Hemoglobin A1c reported in units and diagnostic cut-offs in relation to the international recommendations. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(9):e215-7.
- 77) Guevara A, Chico M, Calvopiña M, Guderian RH. Hemoglobinopatías en comunidades de raza negra de los ríos Cayapas y Onzoles, cantón Eloy Alfaro, provincia de Esmeraldas, Ecuador. *Biomédica.* 1998;18(2):122-8.
- 78) Domínguez Y, Zurita C, Calvopiña D, Villacís J, Mora M. Prevalence of common hemoglobin variants in an afro-descendent Ecuadorian population. *BMC Res Notes.* 2013;6:132.
- 79) Jara NO, Guevara Espinoza A, Guderian RH. [Abnormal hemoglobins in Negroid Ecuadorian populations]. *Sangre (Barc).* 1989;34(1):10-3.
- 80) Saaddine JB, Fagot-Campagna A, Rolka D, Narayan KM, Geiss L, Eberhardt M, et al. Distribution of HbA(1c) levels for children and young adults in the U.S.: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care.* 2002;25(8):1326-30.
- 81) Menke A, Rust KF, Savage PJ, Cowie CC. Hemoglobin A1c, fasting plasma glucose, and 2-hour plasma glucose distributions in U.S. population subgroups: NHANES 2005-2010. *Ann Epidemiol.* 2014 Feb;24(2):83-9.
- 82) Avilés-Santa ML, Hsu LL, Arredondo M, Menke A, Werner E, Thyagarajan B, et al. Differences in Hemoglobin A1c Between Hispanics/Latinos and Non-Hispanic Whites: An Analysis of the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos and the 2007-2012 National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care.* 2016;39(6):1010-7.
- 83) Szymezak J, Lavalard E, Martin M, Leroy N, Gillery P. Carbamylated hemoglobin remains a critical issue in HbA1c measurements. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(5):612-3.
- 84) Peacock TP, Shihabi ZK, Bleyer AJ, Dolbare EL, Byers JR, Knovich MA, et al. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A(1c) levels in diabetic subjects on hemodialysis. *Kidney Int.* 2008;73(9):1062-8.
- 85) Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T, et al. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia

- and erythropoietin injection. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(3):896-903.
- 86) Freedman BI, Shenoy RN, Planer JA, Clay KD, Shihabi ZK, Burkart JM, et al. Comparison of glyca-
ted albumin and hemoglobin A1c concentrations in
diabetic subjects on peritoneal and hemodialysis. *Perit
Dial Int.* 2010;30(1):72-9.
 - 87) Freedman BI, Shihabi ZK, Andries L, Cardona CY,
Peacock TP, Byers JR, et al. Relationship between assays
of glycemia in diabetic subjects with advanced chronic
kidney disease. *Am J Nephrol.* 2010;31(5):375-9.
 - 88) Stim J, Shaykh M, Anwar F, Ansari A, Arruda JA, Dunea
G. Factors determining hemoglobin carbamylation in
renal failure. *Kidney Int.* 1995;48(5):1605-10.
 - 89) Smith WG, Holden M, Benton M, Brown CB.
Glycosylated and carbamylated haemoglobin in urae-
mia. *Nephrol Dial Transplant.* 1989;4(2):96-100.
 - 90) Smith WG, Holden M, Benton M, Brown CB.
Carbamylated haemoglobin in chronic renal failure.
Clin Chim Acta. 1988;178(3):297-303.
 - 91) Li Q, Ju Y, Jin T, Pang B, Deng J, Du T et al. Haemo-
globin A1c measurement in patients with chronic
kidney disease. *Clin Biochem.* 2014;47(6):481-4.
 - 92) Balion CM, Draisey TF, Thibert RJ. Carbamylated
hemoglobin and carbamylated plasma protein in hemo-
dialyzed patients. *Kidney Int.* 1998;53(2):488-95.
 - 93) Jaisson S, Pietrement C, Gillery P. Carbamylation-
derived products: bioactive compounds and potential
biomarkers in chronic renal failure and atherosclerosis.
Clin Chem. 2011;57(11):1499-505.
 - 94) Weykamp CW, Penders TJ, Siebelder CW, Muskiet
FA, Van der Slik W. Interference of carbamylated and
acetylated hemoglobins in assays of glycohemoglobin by
HPLC, electrophoresis, affinity chromatography, and
enzyme immunoassay. *Clin Chem.* 1993;39(1):138-42.
 - 95) Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FA, Van der Slik
W. Influence of hemoglobin variants and derivatives
on glycohemoglobin determinations, as investigated
by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem.*
1993;39(8):1717-23.
 - 96) Flückiger R, Harmon W, Meier W, Loo S, Gabbay
KH. Hemoglobin carbamylation in uremia. *N Engl J
Med.* 1981;304(14):823-7.
 - 97) Dolscheid-Pommerich RC, Kirchner S, Weigel C,
Eichhorn L, Conrad R, Stoffel-Wagner B, et al. Impact
of carbamylation on three different methods, HPLC,
capillary electrophoresis and TINIA of measuring
HbA1c levels in patients with kidney disease. *Diabetes
Res Clin Pract.* 2015;108(1):15-22.
 - 98) Nicolas C, Jaisson S, Gorisse L, Tessier FJ, Niquet-
Léridon C, Jacolot P, et al. Carbamylation is a
competitor of glycation for protein modification
in vivo. *Diabetes Metab.* 2017 Jul 6. pii: S1262-
3636(17)30104-0 [en prensa].
 - 99) Berg AH, Drechsler C, Wenger J, Buccafusca R, Hod
T, Kalim S, et al. Carbamylation of serum albumin
as a risk factor for mortality in patients with kidney
failure. *Sci Transl Med.* 2013;5(175):175ra29.
 - 100) Delanghe S, Delanghe JR, Speeckaert R, Van Biesen
W, Speeckaert MM. Mechanisms and consequences of
carbamoxylation. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13(9):580-93.
 - 101) Rahbar S. An abnormal haemoglobin in red cells of
diabetes. *Clin Chim Acta.* 1968;22(2):296-8.
 - 102) Rahbar S, Blumenfeld O, Ranney HM. Studies of
an unusual hemoglobin in patients with diabetes melli-
tus. *Biochem Biophys Res Commun.* 1969;36(5):838-43.
 - 103) Rahbar S. The discovery of glycated hemoglobin: a
major event in the study of nonenzymatic chemistry in
biological systems. *Ann NY Acad Sci.* 2005;1043:9-19.

Recibido en su forma original: 2 de octubre de 2017

En su forma corregida: 6 de noviembre de 2017

Aceptación final: 12 de noviembre de 2017

Dra. Delma Veron

Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Milagro,
Milagro, Ecuador

e-mail: delveron@gmail.com