

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

HEMOGLOBINA GLICADA (HbA1c) NO DIABETES *MELLITUS*  
GESTACIONAL

TESE DE DOUTORADO

PAULA BREITENBACH RENZ

PORTO ALEGRE, JANEIRO DE 2018.

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

ENDOCRINOLOGIA

HEMOGLOBINA GLICADA (HbA<sub>1c</sub>) NO DIABETES MELLITUS  
GESTACIONAL

PAULA BREITENBACH RENZ

ORIENTADOR: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>JOÍZA LINS CAMARGO

TESE DE DOUTORADO APRESENTADA  
AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS MÉDICAS: ENDOCRINOLOGIA  
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO  
GRANDE DO SUL (UFRGS) COMO  
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO  
DO TÍTULO DE DOUTOR EM  
ENDOCRINOLOGIA

PORTO ALEGRE, JANEIRO DE 2018.

### CIP - Catalogação na Publicação

Breitenbach Renz, Paula  
Hemoglobina Glicada (HbA1c) no Diabetes Mellitus  
Gestacional / Paula Breitenbach Renz. -- 2018.  
118 f.  
Orientadora: Joíza Lins Camargo.

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

1. Diabetes Mellitus Gestacional. 2. Hemoglobina  
Glicada. 3. HbA1c. 4. Diagnóstico. 5. Eventos  
adversos na gestação. I. Lins Camargo, Joíza, orient.  
II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

“A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo de busca.”

Paulo Freire

## AGRADECIMENTOS

A todos agradeço as contribuições adicionadas a esta caminhada.

Em especial a minha orientadora Prof<sup>a</sup> Joíza Lins Camargo, que com sua paciência e dedicação me conduziu ao longo do percurso. Muito obrigada pelas experiências compartilhadas!

A Prof<sup>a</sup> Angela Reichelt, pela ajuda e troca de ideias para que conseguíssemos alcançar melhores resultados.

A Vânia Hirakata, pelo olhar crítico e estatístico.

Aos alunos de iniciação científica, Mayana, Lethícia e Camila, que me auxiliaram na pesquisa.

Aos meus colegas e amigos Ana Laura Pimentel, Fernando Chume, Gabriela Cavagnolli, João Telló e Priscila Freitas, que me ajudaram ao longo do curso.

A minha família por todo incentivo recebido ao longo do caminho.

## LISTA DE ABREVIATURAS PARA A INTRODUÇÃO

ADA - *American Diabetes Association*

DM - *Diabetes mellitus*

DMG - *Diabetes mellitus gestacional*

DM1 - *Diabetes mellitus tipo 1*

DM 2 - *Diabetes mellitus tipo 2*

EBDG - *Estudo Brasileiro de Diabetes Gestacional*

ECDCDM - *Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*

FPG - *Fast plasma glucose*

GJ - *Glicemia de jejum*

G1h - *Glicemia após 1 hora*

G2h - *Glicemia após 2 horas*

HbA1c – *Hemoglobina glicada*

IADPSG - *International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups*

NIH - *National Institutes of Health*

OMS - *Organização Mundial da Saúde*

SBD - Sociedade Brasileira de Diabetes

TOTG - Teste Oral de Tolerância à Glicose.

## RESUMO

De acordo com a Associação Americana de Diabetes (ADA), o Diabetes Melitus Gestacional (DMG) é definido como “Diabetes diagnosticado no segundo ou terceiro trimestre de gestação, tendo sido excluída a possibilidade de diabetes tipo 1 (DM1) ou tipo 2 (DM2)”. Devido ao elevado número de mulheres com DM2 não diagnosticado, é recomendável o rastreamento já na primeira visita pré-natal, utilizando critério diagnóstico padrão. A prevalência do diabetes na gravidez vem aumentando no mundo, a maioria DMG, mas também DM2 e DM1. Essa prevalência varia de acordo com a população estudada e o critério diagnóstico utilizado. Dentro dos riscos trazidos pela presença do diabetes não controlado na gestação estão o aborto espontâneo, anomalias fetais, pré-eclâmpsia, morte fetal, macrossomia, hipoglicemia neonatal, hiperbilirrubinemia neonatal entre outros. Além de prevenir os possíveis eventos adversos materno-fetais o diagnóstico de DMG na prática clínica também é importante devido ao risco para a mãe de apresentar diabetes no futuro.

Desde 1980, a OMS preconizava o uso do teste oral de tolerância à glicose (TOTG) após sobrecarga de 75g de glicose para o diagnóstico de DMG, utilizando os pontos de glicemia de jejum (GJ) e de glicemia 2 horas (G2h) após sobrecarga. Em 2010, a *International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG) recomendou que o critério diagnóstico para o DMG fosse baseado no estudo *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes* (HAPO), foram propostos então, novos pontos de corte para a GJ, glicemia de 1h (G1h) e G2h. Outro teste utilizado para o diagnóstico do diabetes *mellitus* (DM) desde 2010 é a hemoglobina glicada (HbA1c), também utilizada desde os anos 80 como uma ferramenta de avaliação do controle glicêmico em pacientes com DM. Em uma recente metanálise,



o teste HbA1c mostrou-se um teste acurado para a detecção de DMG em mulheres chinesas, indicando uma excelente acurácia do teste para diagnosticar DMG.

Com o objetivo de avaliar o uso do teste de HbA1c como teste diagnóstico e como teste preditor de complicações materno-fetais, realizamos um estudo em uma coorte de mulheres grávidas atendidas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Estudos mostram que a terapia para restabelecer os níveis de ferro nos pacientes pode levar à diminuição nos níveis de HbA1c, por isso avaliamos a possível interferência da suplementação de ferro durante a gestação nos níveis de HbA1c. Essa suplementação demonstrou não afetar os níveis de HbA1c e não ter impacto clínico na interpretação final dos resultados na ausência de anemia ou presença de anemia leve em nosso estudo. Quando realizamos uma revisão sistemática da literatura com metanálise, incluindo oito estudos, para avaliar a utilização da HbA1c no diagnóstico do DMG, nossos resultados mostraram que a partir do ponto de corte de HbA1c 5,8% tem-se especificidade suficiente para o diagnóstico do DMG. Quando avaliamos a associação da HbA1c, utilizado como teste diagnóstico para DMG, com desfechos materno-fetais, encontramos um aumento significativo na ocorrência de hipertensão gestacional relacionada com o aumento nos níveis de HbA1c.

## ABSTRACT

According to the American Diabetes Association (ADA), Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is defined as "Diabetes diagnosed in the second or third trimester of pregnancy, excluding the possibility of type 1 diabetes (DM1) or type 2 (DM2)". Due to the high number of women with undiagnosed DM2, screening at the first prenatal visit using standard diagnostic criteria is recommended. The prevalence of diabetes in pregnancy has been increasing in the world, mostly GDM, but also DM2 and DM1. This prevalence varies according to the population studied and the diagnostic criteria used. Among the risks brought by the presence of uncontrolled diabetes during pregnancy are spontaneous abortion, fetal anomalies, preeclampsia, fetal death, macrosomia, neonatal hypoglycemia, neonatal hyperbilirubinemia, among others. In addition to preventing potential maternal-fetal adverse events, the diagnosis of GDM in clinical practice is also important because of the risk for the mother to present diabetes in the future.

Since 1980, the WHO has recommended the use of the oral glucose tolerance test (OGTT) after overloading 75g of glucose for the GDM diagnosis, using fasting glucose (GJ) and glycemia 2 hours (G2h) after overload . In 2010, the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) recommended that the diagnostic criteria for GDM be based on the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes (HAPO) study, new cut-off points were then proposed for FPG, 1h (G1h) and G2h. Another test used for the diagnosis of diabetes mellitus (DM) since 2010 is glycated hemoglobin (HbA1c), has been used since the 1980s as a tool to assess glycemic control in patients with DM. In a recent meta-analysis, the HbA1c test proved to be an accurate test for the detection of GDM in Chinese women, indicating an excellent accuracy of the test to GDM diagnose.

In order to evaluate the use of the HbA1c test as a diagnostic test and as a predictor of maternal-fetal complications, a study was carried out in a cohort of pregnant women attending the Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA). Studies have shown that therapy to restore iron levels in patients may lead to a decrease in HbA1c levels, so we evaluated the possible interference of iron supplementation during pregnancy in HbA1c levels. This supplementation was found not to affect HbA1c levels and had no clinical impact on the final interpretation of the results in the absence of anemia or presence of mild anemia in our study. When we performed a systematic literature review with meta-analysis, including eight studies, to evaluate the use of HbA1c in the diagnosis of GDM, our results showed that from the cut-off point of HbA1c 5.8%, there is enough specificity for the diagnosis of GDM. When we evaluated the association of HbA1c, used as a diagnostic test for GDM, with maternal-fetal outcomes, we found a significant increase in the occurrence of gestational hypertension related to the increase in HbA1c levels.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
Definição de Diabetes mellitus gestacional (DMG).....	14
Prevalência.....	14
Fatores de risco.....	15
Importância clínica .....	17
Diagnóstico.....	18
Glicemia de jejum e Teste Oral de Tolerância à Glicose .....	18
Novos marcadores.....	21
- Hemoglobina Glicada (HbA1c).....	21
- Albumina Glicada (AG).....	23
2. REFERÊNCIAS.....	25
3. JUSTIFICATIVA.....	32
4. OBJETIVOS.....	33
5. ARTIGO I.....	34
6. ARTIGO II.....	59
7. ARTIGO III.....	96
8. CONCLUSÕES.....	116

## FORMATO DA TESE DE DOUTORADO

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

1. Artigo original referente ao efeito do tratamento com ferro nos níveis de HbA1c durante a gravidez.

“Effect of Iron Supplementation on HbA1c Levels in Pregnant Women with and without Anemia”

2. Artigo original referente à revisão sistemática com meta-análise de estudos de acurácia diagnóstica da HbA1c no DMG.

“Diagnostic accuracy of glycated hemoglobin (HbA1c) for gestational diabetes mellitus (GDM): a systematic review and meta-analysis”

3. Artigo original referente a estudo longitudinal sobre a associação dos níveis de HbA1c na gravidez e os desfechos adversos materno-fetais.

“Glycated hemoglobin (HbA1c) in pregnancy and adverse maternal-fetal outcomes”

## 1- INTRODUÇÃO

### **Definição de DMG**

O Diabetes *mellitus* gestacional (DMG) durante muitos anos foi definido como “a hiperglicemia que é detectada pela primeira vez na gravidez, não excluindo a hiperglicemia pré-existente, podendo persistir após o parto” (ECDCDM 1997). Porém, de acordo com a Associação Americana de Diabetes (ADA) define-se como “Diabetes diagnosticado no segundo ou terceiro trimestre de gestação, tendo sido excluída a possibilidade de diabetes *mellitus* tipo1 (DM1) ou tipo2 (DM2)” (ADA 2017). Similar ao DM2, o DMG está associado tanto à resistência à insulina, quanto à diminuição da função das células beta-pancreáticas (Kuhl 2001).

Devido ao elevado número de mulheres com DM2 não diagnosticado, é recomendável o rastreamento já na primeira visita pré-natal, utilizando critério diagnóstico padrão (**Figura 1**), caso positivo essa gestante será diagnosticada com diabetes pré-gestacional (DM2 ou, raramente DM1) (ADA 2017, SBD 2013/2014).

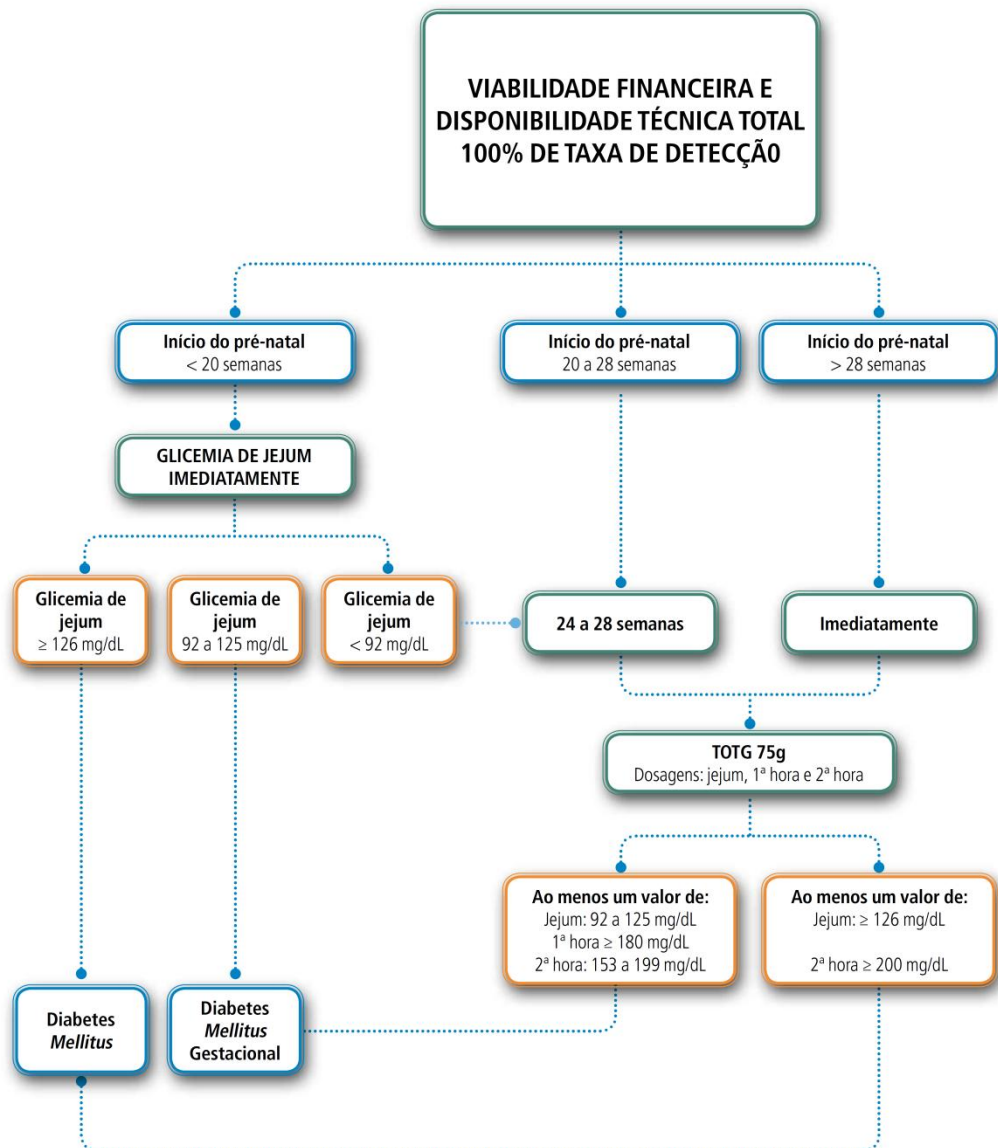
### **Prevalência de DMG**

A prevalência do diabetes na gravidez vem aumentando no mundo, a maioria DMG, mas também DM2 e DM1 (ADA 2017). Essa prevalência varia de acordo com a população estudada e o critério diagnóstico utilizado, podendo aproximar-se de 18% das gestações quando utilizado o critério diagnóstico proposto pela *International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG) (Metzger 2010, ADA 2011). No Brasil, de acordo com dados do Estudo Brasileiro de Diabetes Gestacional (EBDG) aproximadamente 7,6% das gestações são

complicadas pela hiperglicemia gestacional (Schmidt 2000). Na Finlândia, 8,9% de DMG de acordo com o critério da ADA em 2009; na Áustria um estudo de coorte entre 2001 e 2004 identificou uma prevalência de DMG de 27,6%, de acordo com critérios da OMS então empregados; e na Itália, dados entre 1999 e 2003, identificaram uma prevalência de 7% de DMG, de acordo com critérios da ADA (Buckley 2012). Além disso, a prevalência do DMG ao redor do mundo vem aumentando juntamente com a prevalência da obesidade e do DM2, e da tendência ao adiamento da maternidade por parte das mulheres no mercado de trabalho (ADA 2012).

### **Fatores de risco**

Os fatores de risco para DMG são: idade materna avançada, sobrepeso, obesidade ou ganho excessivo de peso na gravidez atual, deposição central excessiva de gordura corporal, história familiar de diabetes em parentes de primeiro grau, crescimento fetal excessivo, polidrâmnio, hipertensão ou pré-eclâmpsia na gravidez atual, antecedentes obstétricos de abortamentos de repetição, malformações, morte fetal ou neonatal, macrossomia ou DMG, síndrome de ovários policísticos e baixa estatura (menos de 1,5 m) (SBD 2017).



**Figura 1.** Rastreamento de DMG de acordo com a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS 2017) em regiões em situação de viabilidade financeira e disponibilidade técnica total. Teste Oral de tolerância à glicose - TOTG.



## **Importância clínica**

Dentro dos riscos trazidos pela presença do diabetes não controlado na gestação estão o aborto espontâneo, anomalias fetais, pré-eclâmpsia, morte fetal, macrossomia, hipoglicemia neonatal, hiperbilirrubinemia neonatal entre outros (ADA 2017). Leng J et al., concluiu que o aumento da prevalência de DMG também se deu devido ao aumento de sobrepeso e idade das gestantes, além de relatar o risco elevado dessas gestantes desenvolverem DM2 e doenças cardiovasculares no futuro, mesmo negatizando o diagnóstico no período pós-parto (Leng 2015). Isso pode estar relacionado ao déficit de secreção de insulina ou aumento na secreção desse hormônio. Também há evidências de maior risco de desenvolvimento de DM2 e obesidade nos filhos de mães com DMG (Boney 2005). Do ponto de vista obstétrico, há desfechos como doença hipertensiva, polihidramnio, parto prematuro, hipoglicemia, distócia de ombro, morte fetal e aumento no número de cesáreas devido a macrossomia (peso maior a 4Kg) (Metzger 2007).

O DMG traz riscos para a mãe e recém-nascido, mas nem todos os resultados são de importância clínica, porém em 2008, o estudo HAPO - *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes* que acompanhou aproximadamente 23mil mulheres com o objetivo de relacionar a hiperglicemia materna a eventos perinatais adversos, demonstrou que conforme aumenta o período gestacional, aumenta a ocorrência de eventos adversos, mesmo com intervalos antes considerados normais para gravidez, levando a uma reconsideração cuidadosa dos critérios diagnósticos para essa doença (Metzger 2008).

Além de prevenir os possíveis eventos adversos materno-fetais, o diagnóstico de DMG na prática clínica também é importante devido ao risco para a mãe de

apresentar diabetes no futuro (Yang 2002), mesmo com o desaparecimento da condição no período pós-parto.

## **Diagnóstico**

- **Curva glicêmica e glicemia de jejum**

Há cinco décadas, O`Sullivan and Mahan propuseram um critério para diagnóstico de DMG, esses critérios foram adaptados para identificar gestantes em risco de desfechos adversos pré-natais (O'Sullivan 1964, O'Sullivan 1973).

Desde 1980, a OMS preconizava o uso do teste oral de tolerância à glicose (TOTG) após sobrecarga de 75g de glicose para o diagnóstico de DMG, utilizando os pontos de glicemia de jejum (GJ) e de glicemia 2 horas (G2h) após sobrecarga com os mesmos pontos de corte utilizados para diagnóstico de diabetes e tolerância diminuída à glicose na ausência de gravidez, inicialmente 140mg/dL e, após 1999, 126 mg/dL para a GJ, e 140 mg/dL para a G2h após sobrecarga de 75g de glicose (WHO 1999).

Na década de 90, foi realizado o Estudo Brasileiro de Diabetes Gestacional (EBDG), com cerca de seis mil gestantes (Schmidt 2001). Em 2002, de acordo com as recomendações da segunda reunião do Grupo de Trabalho em Diabetes e Gravidez, sugeriu-se o rastreamento universal do DMG, realizando-se teste de GJ a partir da 20ª semana de gestação como teste de rastreamento (sendo o ponto de corte de 85 mg/dL considerado positivo para rastreamento) com realização do TOTG com 75 g de glicose, tendo como critério diagnóstico do DMG a GJ  $\geq 110$  mg/dL ou G2h  $\geq 140$  mg/dL (Reichelt 2002).

Em 2010, a *International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG) recomendou que o critério diagnóstico para o DMG fosse baseado no estudo HAPO, foram propostos então, novos pontos de corte para o GJ, glicemia de 1h (G1h) e G2h, que são  $\geq 92$  mg/dL,  $\geq 180$  mg/dL e  $\geq 153$  mg/dL, respectivamente. Segundo esses novos critérios, ao menos um valor acima já leva ao diagnóstico de DMG (Metzger 2010). Esse critério foi adotado pela ADA em 2011 e é utilizado até hoje, embora também recomende a abordagem "de duas etapas", de acordo com o *American National Institutes of Health* (NIH 2013). O critério proposto pelo IADPSG também foi endossado pela OMS em 2013 (Metzger 2010, ADA 2011, WHO 2013). Porém esses estudos não são derivados de estudos em mulheres no primeiro trimestre de gestação por isso não se pode utilizá-los para esse fim nesse período gestacional, somente no período do segundo ou terceiro trimestre gestacional (ADA 2017). A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) sugere a utilização dos novos critérios internacionais, pois são os únicos determinados por estudo que demonstra associação entre os valores da glicemia materna e os desfechos perinatais (4). O estudo de Leng J et al em 2015 observou aumento na prevalência de DMG quando utilizado o critério proposto pela IADPSG (Leng 2015). A **Tabela 1** descreve os critérios diagnósticos de acordo com as atuais recomendações da ADA: a curva glicêmica pode ser de uma etapa com 75g de glicose ou de duas etapas com 50g de glicose e posterior com 100g de glicose caso tenha sido positiva para 50g (ADA 2017).

Uma recente revisão sistemática da literatura foi realizada por Farrar et al. em 2017, avaliando os diferentes critérios para o diagnóstico de GDM com o objetivo de identificar os limiares que melhor predizem o aparecimento de eventos adversos maternos e fetais. No entanto, a revisão sistemática revelou que o uso de diferentes

critérios diagnósticos pelos estudos incluídos, os quais são arbitrários e muitas vezes baseados na opinião de especialistas, prejudicou a comparação de um método com outro, portanto os estudos nesta revisão não forneceram evidências suficientes para orientar a prática clínica e a política de saúde em relação à identificação de mulheres com GDM de acordo com um determinado critério diagnóstico (Farrar 2017).

**Tabela 1.** Critério diagnóstico para o DMG proposto pela *American diabetes Association (ADA)*.

TOTG 75g glicose, 24-28 semanas de gestação (sem diagnóstico prévio de diabetes)*		
Glicemia de jejum	≥92 mg/dL (5,1 mmol/L)	
1h	≥180 mg/dL(10,0 mmol/L	
2h	≥153 mg/dL (8,5 mmol/L)	
Sobrecarga de 50g glicose após 1h ≥130,135 ou 140mg/dL, proceder TOTG 100g de glicose**		
	Carpenter/Coustan	NDDG
Glicemia de jejum	95 mg/dL (5,3 mmol/L)	105 mg/dL (5,8 mmol/L)
1h	180 mg/dL (10,0 mmol/L)	190 mg/dL (10,6 mmol/L)
2h	155 mg/dL (8,6 mmol/L)	165 mg/dL (9,2 mmol/L)
3h	140 mg/dL (7,8 mmol/L)	145 mg/dL (8,0 mmol/L)

\*DMG= Ao menos um resultado positivo; \*\*DMG= ao menos dois resultados positivos. National Diabetes Data Group (NDDG).

- **Novos marcadores**

### **Hemoglobina glicada (HbA1c)**

A hemoglobina glicada (HbA1c) foi descoberta em 1958, é utilizada desde os anos 80 como uma ferramenta de avaliação do controle glicêmico em pacientes com DM, sua dosagem passou a ser cada vez mais empregada e aceita pela comunidade científica após 1993, depois de ter sido validada através dos dois estudos clínicos mais importantes sobre a avaliação do impacto do controle glicêmico sobre as complicações crônicas do DM: os estudos DCCT - *Diabetes Control and Complications Trial* (1993) e o UKPDS - *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (1998), em pacientes DM1 e DM2, respectivamente (SBD 2017/2018).

Atualmente, a manutenção do nível de HbA1c ao redor de 7% é considerada como uma das principais metas de controle glicêmico para a maioria dos indivíduos com DM. Os dois estudos mencionados indicaram que as complicações crônicas começam a se desenvolver quando os níveis de HbA1c estão situados permanentemente acima de 7%. Metas terapêuticas mais ou menos rígidas para os valores de HbA1c, podem ser indicadas dependendo da presença de comorbidades e tipo de tratamento antidiabético adotado (SBD 2017/2018).

Em 2010, a ADA incluiu a HbA1c nos critérios para o diagnóstico do DM. O teste HbA1c é sugerido como um dos testes diagnóstico, e o ponto de corte de 6,5% é considerado como critério diagnóstico (ADA 2011). A OMS referendou esta recomendação em 2011 (Hanas 2010). No entanto, a HbA1c detecta uma população diferente de indivíduos, quando comparada com a GJ e TOTG, sugerindo que a

utilização de um conjunto de testes, ao invés de um teste isolado, pode ser uma estratégia mais eficiente para detectar DM (Cavagnoli 2011). Por outro lado, a conveniência para a realização do teste, como a ausência de necessidade de jejum, a menor variabilidade biológica e estabilidade da amostra após coleta podem suplantam esse aspecto (SBD 2017/2018). O diagnóstico de DMG não foi inserido nessas recomendações.

Na gestação, ocorre um aumento do volume sanguíneo total de 40 a 50%, porém o aumento do volume plasmático e da massa eritrocitária não é proporcional, provocando uma hemodiluição e redução dos indicadores hematológicos (hemoglobina e hematócrito), além de tempo de meia-vida dos eritrócitos, diminuído na segunda metade da gestação (Souza 2002). Alguns estudos sugerem que a anemia possa causar uma diminuição nos níveis de HbA1c (O'Connor 2012), porém em recente estudo observamos que isso depende do grau de anemia (Silva 2016). Alguns estudos relataram que a anemia por deficiência de ferro aumenta as concentrações de HbA1c em estados diabéticos e não diabéticos e que a terapia para restabelecer as reservas de ferro leva à diminuição da HbA1c (El-Agouza 2002, Coban 2004). Os níveis de HbA1c são mais baixos em mulheres grávidas quando comparadas a mulheres não grávidas. Devido a estes fatores, valores de referência diferenciados são recomendados na gravidez e sua interpretação deve ser realizada considerando estes fatores (Mosca 2006).

Em uma recente metanálise, a HbA1c mostrou-se um teste acurado para a detecção de DMG em mulheres chinesas, apresentando uma área sob a curva ROC (AUC) de 0,93, indicando uma excelente acurácia do teste para diagnosticar DMG. O ponto de corte de HbA1c  $\geq 6,0\%$  foi utilizado na maioria dos estudos (Tian 2013). Em um estudo realizado por nosso grupo sobre o papel da HbA1c como teste

diagnóstico para DMG mostrou que os níveis de HbA1c em gestantes sem DMG foram significativamente menores que os níveis de HbA1c nas gestantes com DMG, e que 38% dos casos de DMG foram diagnosticados usando o ponto de corte de HbA1c  $\geq 5,8\%$ , este ponto de corte apresentou especificidade suficiente para confirmar o diagnóstico. As gestantes foram então reclassificadas utilizando o ponto de corte de HbA1c  $\geq 5,8\%$ , e foi observado que o grupo com o diagnóstico de DMG pela HbA1c apresentou maior índice de massa corpórea (IMC), maior pressão sanguínea (sistólica e diastólica), maiores valores de glicemia e colesterol, além de apresentarem histórico prévio de DMG e histórico familiar de DM, em relação ao grupo sem o diagnóstico pela HbA1c, indicando que o teste HbA1c pode identificar mulheres que apresentam uma prevalência maior de indicadores de risco para desfechos adversos na gestação (Renz 2015).

### **Albumina glicada (AG)**

A albumina glicada (AG) é um teste laboratorial que tem ganhado destaque como um marcador para o monitoramento glicêmico no DM (Kohzuma 2010, Koga 2010). A AG faz parte das frutossaminas, que são proteínas glicadas, porém, possui a vantagem de não sofrer influência da concentração de outras proteínas séricas, uma vez que é específica às taxas de glicação da albumina (Kohzuma 2002). Ainda, a AG reflete a glicemia de curto prazo, devido ao tempo de meia-vida da albumina, que é de aproximadamente três semanas, e não necessita de jejum para análise. Em comparação à HbA1c, a AG não é afetada pela presença de processos hemolíticos e de hemoglobinas anormais (Kim 2010). Em condições como anemia, gravidez, hiperglicemia pós-prandial e DM sob o uso de insulina, a AG parece ser um melhor marcador glicêmico (Koga 2010) e está especialmente indicada à

pacientes com DM submetidos à hemodiálise (Inaba 2007, Freedman 2010, Sany 2013). Recentes estudos com pacientes DM1 (Nathan 2014) e DM2 (Selvin 2014) têm reportado uma associação da AG com as complicações em longo prazo da doença.

A AG é formada em um período de aproximadamente 2 a 4 semanas (Koga 2014). Essa característica faz com que a AG seja mais fortemente correlacionada com as medidas contínuas de glicose, por ser mais sensível às rápidas alterações da glicemia, as quais não podem ser eficientemente identificadas somente com uma medida isolada de glicose plasmática (Kim 2010). A AG é também mais adequada para monitorar o início da terapia medicamentosa, tanto no DM1 quanto no DM2, ou até mesmo para controle do ajuste de dose e mudança de medicação, pois os seus níveis diminuem mais rapidamente do que a HbA1c em um tratamento intensivo. Desta forma, a AG pode ser um marcador glicêmico interessante durante o período gestacional, quando as variações glicêmicas ocorrem em poucas semanas e devem ser manejadas de acordo para evitar danos à mãe e ao bebê. Li et al. em 2016 publicou um estudo no qual mostrou associação dos níveis de AG com o peso do neonato ao nascer, sendo que o risco de peso  $\geq 3,5$  Kg ao nascer e macrossomia aumentou significativamente com níveis de AG  $\geq 13.0\%$  em 24-28 semanas e  $\geq 12.0\%$  em 36-38 semanas de gestação (Li 2016). A AG pode ser um marcador alternativo à A1c em muitas ocasiões, embora existam alguns estudos sobre a sua utilidade na detecção do DMG, são necessários mais estudos para verificar o melhor ponto de corte a ser empregado.



## 2. REFERÊNCIAS

American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2011. *Diabetes Care* 2011; 34 Suppl 1:S11-61.

American Diabetes Association. Management of Diabetes in Pregnancy. *Diabetes Care* 2017; 40 (suppl 1): s114-119.

American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* 2017; 40 (suppl 1): s11-24.

Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics* 2005; 115: e290-6.

Buckley BS, Harreiter J, Damm P, Corcoy R, Chico A, Simmons D, et al. Gestational diabetes mellitus in Europe: prevalence, current screening practice and barriers to screening. A review. *Diabet Med.* 2012; 29(7):844-54.

Cavagnolli G, Comerlato J, Comerlato C, Renz PB, Gross JL, Camargo JL HbA(1c) measurement for the diagnosis of diabetes: is it enough? *Diabetic Medicine* 2011; 28: 31-35.

Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on level of hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta Haematol* 2004; 112: 126–128.

Di Cianni G, Seghieri G, Lencioni C, et al. Normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus: What is in between? *Diabetes Care* 2007; 30:1783-1788.

El-Agouza I, Abu Shohla A, Sirdah M. The effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin subtypes: possible consequences for clinical diagnosis, Clin. Lab. Hematol 2002; 24: 285–289.

Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1997; 20:1183–1197.

Farrar D, Duley L, Dowswell T, Lawlor DA. Different strategies for diagnosing gestational diabetes to improve maternal and infant health. Cochrane Database Syst Rev 2017; 23, 8:CD007122.

Freedman BI et al. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A1c concentrations in diabetic subjects on peritoneal and hemodialysis. Perit Dial Int. 2010; 30(1):72-9.

Hanas R, John G. Int Hb ACCC 2010. Consensus Statement on the Worldwide Standardization of the Hemoglobin A1C Measurement. Diabetes Care 2010; 33:1903-1904.

Inaba M et al. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycosylated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. J Am Soc Nephrol. 2007;18: 896–903.

Kim C, Bullard KM, Herman WH, Beckles GL. Association Between Iron Deficiency and A1C Levels Among Adults Without Diabetes in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 –2006. Diabetes Care 2010; 33:780– 5.

Koga M, Murai J, Saito H, Kasayama S. Glycated Albumin and Glycated Hemoglobin Are Influenced Differently by Endogenous Insulin Secretion in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2010; 33(2):270-272.

Koga M, Kasayama S. Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker. *Endocr J* 2010; 57:751–62.

Koga M. Glycated albumin; clinical usefulness. *Clin Chim Acta*. 2014; 433:96104.

Kohzuma T, Usami T, Yamakoshi M, Takahashi M, Imamura S. An enzymatic method for the measurement of glycated albumin in biological samples. *Clin Chim Acta* 2002; 324(1-2):61–71.

Kohzuma T, Koga M. Lucica GA-L glycated albumin assay kit: a new diagnostic test for diabetes mellitus. *Mol Diagn Ther* 2010; 14:49–51.

Kuhl C. Insulin-secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM - implications for diagnosis and management. *Diabetes* 2001; 40: 18-24.

Leng J, Shao P, Zhang C, Tian H, Zhang F, Zhang S et al. Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus and Its Risk Factors in Chinese Pregnant Women: A Prospective Population-Based Study in Tianjin, China. *Plos one* 2015; 10(3):e0121029.

Li HP, Wang FH, Tao MF, Huang YJ, Jia WP. Association between glycemic control and birthweight with glycated albumin in Chinese women with gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Investig* 2016; 7(1):48-55.

Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, et al . Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on

Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. *Diabetes Care* 2007; 30 Suppl 2:S251-60.

Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med.* 2008; 358(19):1991-2002.

Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 2010; 33(3):676-82.

Mosca A, Paleari R, Dalfra MG, et al. Reference intervals for hemoglobin A(1c) in pregnant women: Data from an Italian Multicenter study. *Clinical Chemistry* 2006; 52: 1138-1143.

Nathan DM, McGee P, Steffes MW, Lachin JM; DCCT/EDIC Research Group. Relationship of glycated albumin to blood glucose and HbA1c values and to retinopathy, nephropathy, and cardiovascular outcomes in the DCCT/EDIC study *Diabetes* 2014; 63(1):282-90.

National Institutes of Health. National Institutes of Health consensus development conference statement: diagnosing gestational diabetes mellitus, March 4-6, 2013. *Obstetrics and Gynecology* 2013;122(2 Pt 1):358–69.

O'Sullivan JB, Mahan CM. Criteria For The Oral Glucose Tolerance Test In Pregnancy. *Diabetes* 1964; 13:278-85.

O'Connor COSP, OwensLA, CarmodyL, AvalosG, NestorL, LydonK. Trimester-specific reference intervals for haemoglobin A1c(HbA1c) in pregnancy. *Clin Chem Lab Med* 2012; 5:905–909.

O'Sullivan JB, Charles D, Mahan CM, Dandrow RV. Gestational diabetes and perinatal mortality rate. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 116:901-4.

Reichelt AJ, Oppermann MIR, Schmidt MI. Recomendações do 2º Reunião do Grupo de Trabalho em Diabetes e Gravidez. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2002; 46:574-581.

Renz PB, Cavagnolli G, Weinert LS, Silveiro SP, Camargo JL. HbA1c Test as a Tool in the Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus. *PLoS One* 2015; 10(8):e0135989.

Sany D, Elshahawy Y, Anwar W. Glycated albumin versus glycated hemoglobin as glycemic indicator in hemodialysis patients with diabetes mellitus: variables that influence. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2013; 24(2):260-73.

Schmidt MI, Duncan BB, Reichelt AJ, Branchtein L, Matos MC, Costa e Forti A, et al. Gestational diabetes mellitus diagnosed with a 2-h 75-g oral glucose tolerance test and adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 2001; 24:1151-5.

Schmidt MI, Matos MC, Reichelt AJ, Forti AC, de Lima L, Duncan BB. Prevalence of gestational diabetes mellitus--do the new WHO criteria make a difference? Brazilian Gestational Diabetes Study Group. *Diabet Med* 2000; 17(5):376-80.

Selvin E, Rawlings AM, Grams M, Klein R, Sharrett AR, Steffes M, Coresh J. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the

Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2(4):279-88.

Silva J.F, Pimentel A.L, Camargo J.L. Effect of iron deficiency anemia on HbA1c levels is dependent on the degree of anemia, *Clin. Biochem.* 2016; 49: 117–120.

Sociedade Brasileira de Diabetes (2013/2014) Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 192-197.

Sociedade Brasileira de Diabetes (2017/2018). Posicionamento Oficial SBD, SBPC-ML, SBEM e FENAD: Atualização sobre hemoglobina glicada (a1c) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais.

Souza AI, Filho MB, Ferreira LOC. Alterações hematológicas e Gravidez. In: *Revista Brasileira de Hematologia* 2002, p 29-36.

Tian Q-W, Xuan C, Wang H-W, et al. Diagnostic Accuracy of Glycosylated Hemoglobin in Chinese Patients with Gestational Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis Based on 2,812 Patients and 5,918 Controls. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* 2013; 17: 687-695.

World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. In: *World Health Organization* 1999; 59.

World Health Organization. Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy. 2013.

Yang X, Hsu-Hage B, Zhang H, Yu L, Dong L, Li J, et al. Gestational diabetes mellitus in women of single gravidity in Tianjin City, China. *Diabetes Care* 2002; 25:847-51.

### 3. JUSTIFICATIVA

A detecção cada vez mais precoce de alterações nos graus de glicemia que possam ocorrer durante a gestação só é possível com o rastreamento para DMG durante essa fase, evitando complicações maternas e fetais.

Atualmente, as medidas de glicemia, como GJ ou TOTG, são os testes laboratoriais de escolha para o diagnóstico.

A HbA1c recentemente foi recomendada como critério de primeira escolha para o diagnóstico de DM na ausência de gravidez. Nosso grupo avaliou 262 grávidas, no terceiro trimestre de gestação, através do teste oral de tolerância à glicose (teste de referência) e teste HbA1c, e mostrou que o teste HbA1c possui alta especificidade para o diagnóstico de DMG sendo o primeiro ponto de corte com especificidade (94,9%) suficiente para confirmar o diagnóstico o ponto de HbA1c  $\geq 5,8\%$ , diferente do valor recomendado pelas entidades internacionais na população em geral. O uso da HbA1c na gestação é controverso devido às mudanças fisiológicas características na gestação interferirem nos resultados da HbA1c, tornando sua interpretação difícil. Entretanto este teste laboratorial apresenta menor variação biológica, maior estabilidade pré-analítica e maior reprodutibilidade analítica em relação às medidas de glicemia. Também apresenta maior praticidade na coleta, devido não necessitar de jejum e ingestão de solução de glicose, tornando-se mais confortável e rápido para a detecção de DMG.



#### 4. OBJETIVOS

Avaliar o uso do teste de HbA1c como teste diagnóstico e como teste preditor de complicações materno-fetais, em uma coorte de mulheres grávidas atendidas no ambulatório do HCPA.

##### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a possível interferência da suplementação de ferro durante a gestação nos níveis de HbA1c.
- Realizar revisão sistemática da literatura com metanálise para avaliar a utilização da HbA1c no diagnóstico do DMG.
- Avaliar a associação dos níveis de HbA1c com desfechos materno-fetais.

## 5. ARTIGO I

### Effect of Iron Supplementation on HbA1c Levels in Pregnant Women with and without Anemia

Artigo publicado no periódico *Clinica Chimica Acta* em Janeiro de 2018.

Renz PB, Hernandez MK, Camargo JL. Effect of iron supplementation on HbA1c levels in pregnant women with and without anaemia. *Clin Chim Acta*. 2018 Jan, 20; 478:57-61. doi: 10.1016/j.cca.2017.12.028.

**Effect of Iron Supplementation on HbA1c Levels in Pregnant Women with  
and without Anemia**

Short Title: **Iron supplementation and HbA1c in pregnancy**

Paula Breitenbach Renz <sup>1</sup>

Mayana Kieling Hernandez <sup>1</sup>

Joíza Lins Camargo <sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Graduate Program in Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

<sup>2</sup> Endocrinology Department, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

\* Corresponding Author:

Joíza Lins Camargo, PhD

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Rua Ramiro Barcellos, 2350; Prédio 12, 4º andar, Porto Alegre, RS, 90035-903,  
Brazil.

E-mail address: [jcamargo@hcpa.edu.br](mailto:jcamargo@hcpa.edu.br)

## ABSTRACT

**Background:** Iron deficiency anaemia has been associated with higher HbA1c levels. However, during and after iron supplementation there is a decrease in HbA1c results, causing a misinterpretation. Our aim was to analyse the effect of iron supplementation on HbA1c levels in nondiabetic pregnant women with and without anaemia.

**Methods:** Pregnant women in prenatal care, without gestational diabetes (GDM) or previous diabetes mellitus (DM) that performed an oral glucose tolerance test (OGTT) in the third trimester of pregnancy were invited to participate. Clinical and laboratorial analyses were performed, including standardized questionnaire, OGTT, full blood count and HbA1c.

**Results:** A total of 231 pregnant women without DM or GDM were included in the study. According to anaemia and/or iron supplementation, we divided women in: no iron and no anaemia – Group 1 (N=86); no iron and with anaemia – Group 2 (N=29); iron and no anaemia – Group 3 (N=87); iron and anaemia – Group 4 (N=29). There was statistically a significant, although no clinically relevant, difference between HbA1c values in pregnant women in Groups 1 and 4 [ $5.1 \pm 0.4\%$  ( $32 \pm 4.4$  mmol/mol) and  $4.8 \pm 0.3\%$  ( $29 \pm 3.3$  mmol/mol),  $P < 0.01$ ; respectively]. HbA1c values in pregnant women in Groups 1, 2 and 3 were similar, independently of anaemia [ $5.1 \pm 0.4\%$  ( $32 \pm 4.4$  mmol/mol);  $5.0 \pm 0.4\%$  ( $31 \pm 4.4$  mmol/mol) and  $5.0 \pm 0.4\%$  ( $31 \pm 4.4$  mmol/mol);  $p > 0.05$ ; respectively].

**Conclusions:** Iron supplementation during pregnancy does not affect HbA1c levels and has no clinical impact in the final interpretation of results in the absence of anaemia or presence of mild anaemia. Interpreting HbA1c results in pregnant women during iron therapy and with moderate or severe anaemia still requires caution.

## 1. Introduction

Gestational diabetes mellitus (GDM) is a prevalent and potentially serious condition that may lead to adverse outcomes in both mothers and neonates [1]. It is associated with preeclampsia, increased caesarean rates, and macrosomia [2]. The detection and adequate treatment of this condition reduces the risks on the mothers as well on the babies [3,4]. Maternal glucose levels are continuously associated with adverse pregnancy outcomes without apparent threshold level, and the diagnostic and for treating levels of hyperglycaemia have been derived from consensus [2,5,6].

Habitually, the oral glucose tolerance test (OGTT) has been the diagnostic test of choice for diabetes in the general population [7]. The cut-off of HbA1c 6.5% (48 mmol/mol) was established for the diagnosis, and endorsed by the WHO in 2011 [7,8]. However, its use for the diagnosis of GDM has not been recommended yet by any current guidelines [1,7,9]. Recent results from the Hyperglycaemia and Adverse Pregnancy Outcomes (HAPO) study showed that HbA1c measurements, similarly to glycaemia levels, were significantly associated with all adverse outcomes, and higher levels of maternal HbA1c were related to greater frequency of adverse outcomes [10]. In addition, a large cohort study in New Zealand [11] reported that HbA1c  $\geq 5.9\%$  (41mmol/mol) at the first antenatal visit identified all cases of GDM and was associated with twofold risks of congenital anomalies, preeclampsia, shoulder dystocia and a threefold risk of perinatal deaths. In a previous study [12], we evaluated the performance of HbA1c test to detect GDM in comparison to the traditional OGTT, and HbA1c value  $\geq 5.8\%$  (40mmol/mol) showed specificity of 94.9% in diagnosing GDM. Other studies have also highlighted the potential role of HbA1c in the diagnosis and management of GDM [13,14].

However, there are several other factors, besides than glycaemia, which can affect HbA1c results [15-17]. Traditionally, some diseases and pathological states, such as anaemia and haemoglobinopathies are considered potential factors that can significantly alter HbA1c results. Recently, we reported that iron deficiency anaemia (IDA) affects HbA1c results and this effect is dependent on anaemia degree [18]. These changes are statistically significant but they may not be clinically relevant and the presence of slight anaemia is likely to have a minor effect on HbA1c levels. It is also known that HbA1c is influenced by the life span of red blood cells [19]. Some studies reported that IDA increases concentrations of HbA1c in diabetic and nondiabetic states and that the therapy to re-establish iron stores leads to diminished HbA1c [20,21]. Indeed, iron and erythropoietin lead to both statistically and clinically significant fall in HbA1c levels without any change in glycaemic control in diabetic patients with chronic kidney disease [22]. In addition, HbA1c levels are elevated in late pregnancy because of iron deficiency in diabetic and nondiabetic women [23,24] and overestimates glycaemic control due to IDA in pregnant women with diabetes [24].

During pregnancy, haemoglobin concentrations change overtime, to accommodate the increasing maternal blood volume and the iron needs of the foetus [25]. Its concentration declines during the first trimester, reaching its lowest point in the second trimester and starts to rise again in the third trimester [26-28]. Blood dilution related to anaemia is frequently observed during pregnancy. Iron supplementation is generally recommended during pregnancy to meet the iron needs for both mother and baby [29] but it seems to have a small downward effect on HbA1c levels in pregnant nondiabetic women [30].

In this study, we analysed the effect of iron supplementation on HbA1c levels in nondiabetic pregnant women with and without anaemia.

## 1. Subjects and Methods

### 2.1. Study Design

This is a cross-sectional study that was carried out from October 2009 to November 2015 at the Endocrinology Division and Clinical Pathology Department of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

### 2.2. Study Participants

Pregnant women in prenatal care, without previous DM, that performed OGTT test in the third trimester of pregnancy were invited to participate. The study design is depicted in **Figure 1**. All women signed an informed consent form and answered a standardized questionnaire. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG-HCPA), under protocol number 14-0579.

We excluded women with DM or GDM and those with conditions known to interfere with or lead to the misinterpretation of HbA1c results, such as chronic renal disease and/or presence of haemoglobin variants [17].

Anaemia was classified following WHO criteria [31], according to total Hb concentration, as mild anaemia (Hb  $\geq 10$  g/dL and  $< 11$  g/dL); moderate anaemia (Hb  $\geq 7$  g/dL and  $< 10$  g/dL) and severe anaemia (Hb  $< 7$  g/dL).



In Brazil, prophylactic iron supplementation for all pregnant women when they start prenatal visits regardless of gestational age is part of prenatal care. In this way, pregnant women during iron treatment according to the Brazilian Ministry of Health recommendation (65 mg of Iron once a day) for at least 2 months before the recruitment were enrolled in the group with iron supplementation to minimize differences regarding the iron supplementation period and dosage [32].

### 2.3. *Analytical Methods*

After an overnight fast, blood samples were drawn to determine HbA1c levels, blood cell counts and glucose concentrations. A full blood count was performed by flow cytometry and the hematimetric indices mean corpuscular volume (MCV); mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) and red cell distribution width (RDW) were calculated (ABX Pentra DX 120, HORIBA, Kyoto, Japan). HbA1c was determined by a HPLC method (Variant II Turbo HbA1c, BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA). This is a National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) certified method and is aligned with the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) reference method (<http://www.ngsp.org/ifcc.asp>). Analytical inter assay coefficient of variation (CV) in our lab was <3.0%.

The OGTT was performed according to WHO 2013 recommendations [1]. GDM was diagnosed by ADA/WHO 2013 criteria (one out of those three following cut-off points: fasting plasma glycaemia (FPG) 5.1 mmol/L (92 mg/dL), 1 h glycaemia (G1h) 10.0 mmol/L (180 mg/dL) and 2 h glycaemia (G2h) 8.5 mmol/L (153 mg/dL) [7].

#### 2.4. *Statistical Analysis*

Data were expressed as mean and SD for normally distributed variables, and as median (interquartile range) for non-Gaussian variables. The Shapiro–Wilk test was applied to verify the normality of results. One way ANOVA and Mann–Whitney U test were used as appropriate. Differences greater than the total error allowable for HbA1c ( $TE_a = 6\%$ ) were considered clinically relevant [33]. Considering the reference range for non-diabetic pregnant women in the literature [26-28], a power of 80% at a significance level of 5%, a minimum of 23 women in each group would be necessary to detect a relative clinically relevant difference of  $\pm 6\%$  on HbA1c levels (<http://clincalc.com/Stats/SampleSize.aspx>). All data were analysed with IBM SPSS software for Windows, version 19.0 (Statistical Package for Social Sciences—Professional Statistics, IBM Corp, Armonk, USA). A significance level of 5% was adopted.

### 3. Results

A total of 231 pregnant women without DM or GDM were included in the study. All of them were in the third trimester of gestation (gestational age =  $27 \pm 4.4$  weeks) with ages between 18 and 46 years. Of those, 115 were without iron supplementation (no iron) and 116 were during iron supplementation (iron). Anaemia was present in 29 pregnant women with iron supplementation and in 29 women without iron supplementation. According to the presence of anaemia and/or iron supplementation, they were divided into 4 groups: no iron and no anaemia – Group 1; no iron and with anaemia – Group 2; iron and no anaemia – Group 3; iron and anaemia – Group 4.

**Table 1** depicts the clinical and laboratory characteristics of all patients. There was no statistic difference in body mass index (BMI), FPG, and G1h e G2h between groups. As expected, total haemoglobin (Hb) and haematocrit were statistically different between women with and without anaemia, independently of iron supplementation [12.1 g/dL ( $\pm 0.8$ ); 10.3 g/dL ( $\pm 0.5$ ); 11.9 g/dL ( $\pm 0.7$ ); 10.1 g/dL ( $\pm 0.6$ ) for Hb and 35.8% ( $\pm 2.2$ ); 31.2% ( $\pm 1.6$ ); 35.3% ( $\pm 1.9$ ); 30.1 ( $\pm 1.9$ ) for haematocrit, in groups 1, 2, 3, and 4 respectively]. There was no difference in MCV and MCHC values among groups. Women with anaemia and iron supplementation showed higher values for RDW than women without anaemia.

There were statistically significant differences between HbA1c values in pregnant women without iron supplementation and without anaemia and the HbA1c values from pregnant women during iron supplementation and with anaemia [ $5.1 \pm 0.4\%$  ( $32 \pm 4.4$  mmol/mol) and  $4.8 \pm 0.3\%$  ( $29 \pm 3.3$  mmol/mol),  $P < 0.01$ ; for group 1 and 4, respectively]. HbA1c values in pregnant women during iron supplementation but without anaemia were similar to those in pregnant women without iron

supplementation, independently of the presence of anaemia [ $5.1 \pm 0.4\%$  ( $32 \pm 4.4$  mmol/mol);  $5.0 \pm 0.4\%$  ( $31 \pm 4.4$  mmol/mol) and  $5.0 \pm 0.4\%$  ( $31 \pm 4.4$  mmol/mol);  $p > 0.05$ ; for groups 1, 2, and 3 respectively].

HbA1c values for all groups were shown in **Figure 2**.

**Table 1** Clinical and laboratory characteristics of all pregnant women participating in this study.

	No Iron Supplementation		Iron Supplementation	
	Without anaemia Group 1	With anaemia Group 2	Without anaemia Group 3	With anaemia Group 4
<b>N</b>	86	29	87	29
<b>Age (years)</b>	28 (±6.8)	29 (±6.4)	28 (±6.3)	29 (±5.7)
<b>Gestational age (weeks)</b>	26.3 (±5.2)	27.3 (±4.1)	27.1 (±4.1)	26.1 (±3.3)
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	29.7 (±6.3)	29.4 (±5.2)	28.5 (±5.2)	28.2 (±5.0)
<b>Haematocrit (%)</b>	35.8 (±2.2) <sup>a</sup>	31.2 (±1.6) <sup>a,b</sup>	35.3 (±1.9) <sup>b</sup>	30.1 (±1.9) <sup>a,b</sup>
<b>Hb (g/dL)</b>	12.1 (±0.8) <sup>a</sup>	10.3 (±0.5) <sup>a,b</sup>	11.9 (±0.7) <sup>b</sup>	10.1 (±0.6) <sup>a,b</sup>
<b>MCV (fL)</b>	89.2 (±4.4)	87.1 (±4.5)	88.5 (±5.7)	90.7 (±7.5)
<b>MCHC (g/dL)</b>	33.8 (±1.1)	33.1 (±1.2)	33.8 (±1.0)	33.5 (±1.0)
<b>RDW (%)</b>	13.6 (±0.9) <sup>a</sup>	13.8 (±1.4)	13.6 (±0.9) <sup>b</sup>	14.5 (±1.9) <sup>a,b</sup>
<b>FPG (mg/dL)</b>	79.8 (±5.3)	80.8 (±5.1)	79.1 (±6.0)	77.7 (±6.8)
<b>G1h (mg/dL)</b>	118.7 (±23.6)	109.4 (±22.8)	124.3 (±26.9)	114.2 (±31.5)
<b>G2h (mg/dL)</b>	110.4 (±22.7)	105.0 (±16.6)	107.6 (±20.6)	103.8 (±22.8)
<b>HbA1c (%)</b>	5.1 (±0.4) <sup>a</sup>	5.0 (±0.4)	5.0 (±0.4)	4.8 (±0.3) <sup>a</sup>
<b>(mmol/mol)</b>	32 (±4.4) <sup>a</sup>	31 (±4.4)	31 (±4.4)	29 (±3.3) <sup>a</sup>

Same letter within a row indicates difference between groups ( $P < 0.05$ , by One-way ANOVA). BMI - body Mass index; Hb - haemoglobin; MCV - mean corpuscular volume; MCHC - mean corpuscular haemoglobin concentration; RDW - red cell distribution width; FPG - fasting plasma glucose; G1h - glucose 1h after OGTT; G2h - glucose 2h after OGTT.

#### 4. Discussion

This study investigated the effect of iron supplementation on HbA1c levels in pregnant women without diabetes, with and without anaemia. Our results showed a small fall in HbA1c levels in pregnant women during iron supplementation and with anaemia when compared to pregnant women without iron supplementation and without anaemia. Although significant, this difference is not clinically relevant. We also observed that pregnant women without iron supplementation, showed similar HbA1c values independently of the presence of anaemia.

The increasing effect of iron deficiency on HbA1c values and the fall in its levels after treatment with iron in individuals with and without diabetes were already reported [19-24,34]. Also, some studies related absence of association of HbA1c level with ferritin, vitamin B12, and folic acid in elderly nondiabetic subjects [35] or a small, clinically irrelevant, decrease HbA1c values in adults [15,18] supporting the idea that HbA1c levels are independent of anaemia or nutritional factors associated with anaemia.

However, data of these effects on HbA1c levels during the pregnancy are scarce. In fact, HbA1c levels are lower in pregnant women than in the general population [12,26-28]. During pregnancy, HbA1c decreased in the second trimester and increased in the third trimester. This effect is attributed either to the physiological changes during pregnancy and/or the involvement of iron-deficiency anaemia [23,24,28]. In our study, pregnant women without DM or DMG showed HbA1c values between 4.2% and 5.9%, similar to those reported in earlier studies and lower than the values observed in the general population [12,26-28].

In fact, traditionally, pregnancy is considered an inherent limitation to the use of HbA1c, aside from other factors, such as anaemia, uraemia and presence of variant haemoglobin that may falsely increase, or decrease HbA1c levels independent of glycaemia [7,15]. Its use is not recommended to diagnose GDM by any guidelines, however, it is recommended to rule out pre-existent type 2 DM in the first trimester of gestation [1,7,9].

In addition, throughout pregnancy, women need iron to meet their own desirable iron levels as well as those of the developing baby. Iron supplementation has been the preferred intervention to improve iron stores and prevent anaemia among pregnant women, and it is associated with a reduced risk of anaemia and iron deficiency during pregnancy [36]. Up to date, only one study analysed the effect of iron supplementation on HbA1c levels in pregnant women and showed no effect on HbA1c values after 3 months of iron-supplementation [30].

Our study, in a cross-sectional design, showed that pregnant women during iron supplementation and without anaemia presented HbA1c values similar to those of women without iron supplementation and without anaemia. In addition, our results are in agreement with previous observations by our group that iron deficiency anaemia and/or iron deficiency has a minor effect on HbA1c levels in the general population [15] and this effect is dependent of degree of anaemia [18]. It is important to point out that the pregnant women who took part in our study presented only mild anaemia with haemoglobin levels around 10 g/dL [31] which contributed to absence of effect on HbA1c values in anaemic women without iron supplementation and to a small decline on HbA1c values in anaemic women during iron supplementation.

Iron supplementation during the pregnancy may not be a limitation to the use of HbA1c in the diagnosis of GDM or DM. It might also not be a limiting factor during the monitoring of these conditions through all pregnancy period. However, clinicians should be aware that HbA1c values are different in pregnant women.

#### 4.1. *Strengths/Weakness*

This research has several strengths. One high point of this study is that we analysed the effect of iron supplementation on HbA1c levels during pregnancy in women with and without anaemia in the absence of DM or GDM to minimize as much as possible the HbA1c variability. Also, all conditions that may affect and mask HbA1c results were excluded. Moreover, HbA1c was measured by a method worldwide commonly used, standardized and traceable to IFCC and NGSP, respectively. In addition, a post-hoc analysis indicated that our study has 80% power to detect an effect size of 0.18 absolute HbA1c units (<http://www.sample-size.net/means-effect-size/>), a difference much lower than the TEa for HbA1c. This study also presents some weaknesses. We were not able to measure blood iron metabolism indexes such as ferritin, transferrin and iron binding capacity. However, these parameters are of limited usefulness during pregnancy, as their concentrations may be altered even in the absence of iron deficiency [31]. Because of the small sample size in the anaemia groups was not possible to stratify the data by the degree of anaemia, however the majority of patients presented mild anaemia, as reported early by our group [18] mild anaemia has a minor, and not clinically relevant, effect on HbA1c levels. Furthermore, the cross-sectional design of this study does not allow us to investigate causality. Finally, it should be mentioned that this study was performed in a group of pregnant women without DM or GDM and the degree of



these variations may be or may not be clinically relevant in the presence of hyperglycaemia.

#### *4.2. Conclusions*

Our results indicate that iron supplementation during pregnancy does not affect the results of HbA1c and does not have a clinical impact in the final interpretation of the results in the absence of anaemia or presence of mild anaemia. Interpreting HbA1c results in pregnant women during iron therapy and with moderate or severe anaemia still requires caution.

#### **Funding**

The authors acknowledge the financial support from the Research Incentive Fund from the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA, GPPG 140579). PBR was recipient of a scholarship from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) and MHK received an duringgraduate scholarship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

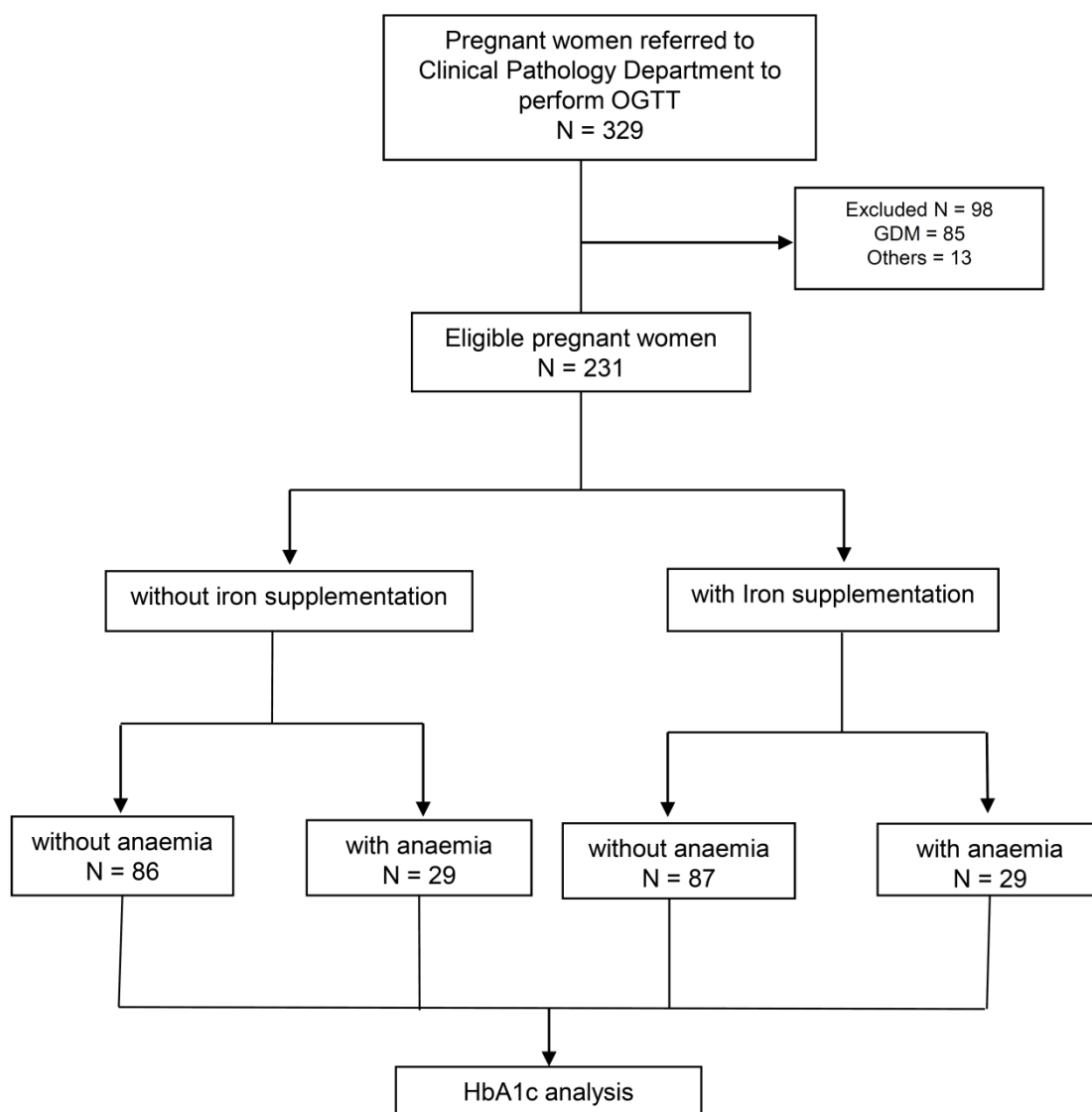
#### **Contribution Statement**

Research idea and study design: PBR and JLC; data acquisition: PBR and MHK; data analysis/interpretation: PBR and JLC; statistical analysis: PBR and JLC; wrote the manuscript: PBR and JCL. JLC takes responsibility that this study has been

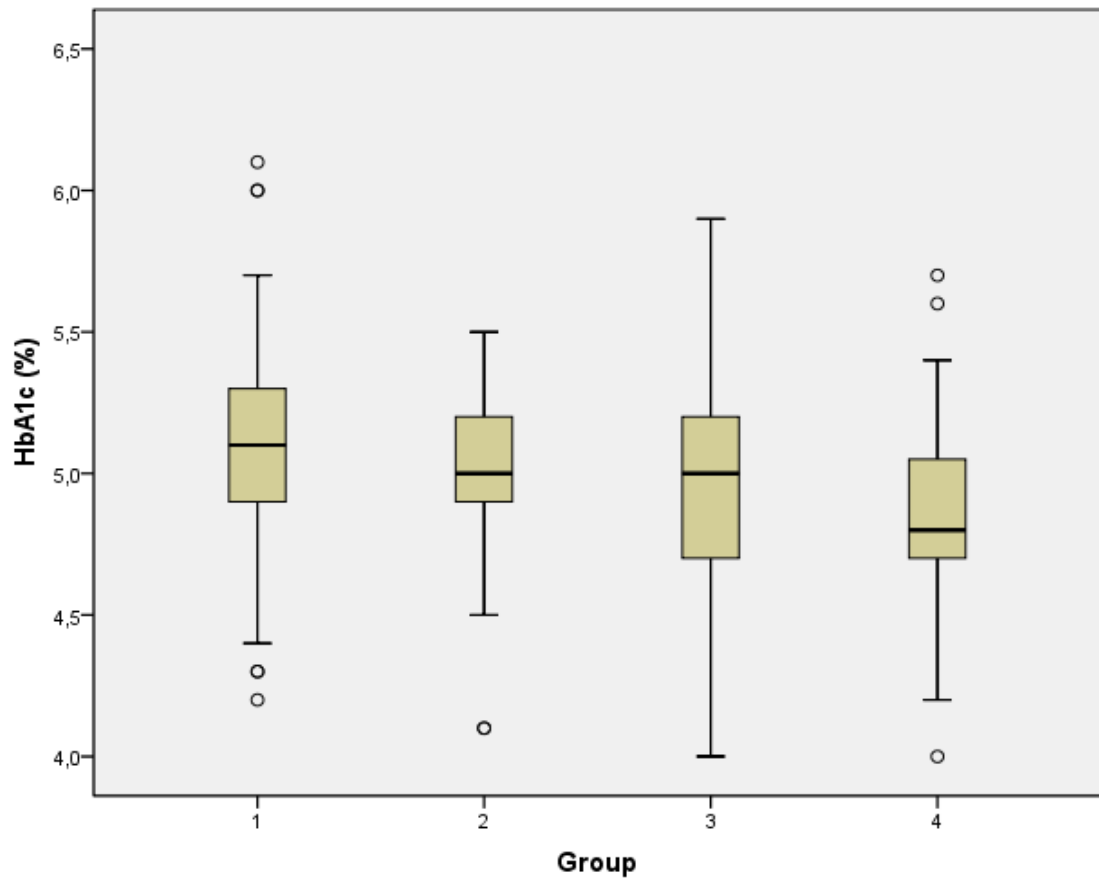
reported honestly, accurately, and transparently; that no important aspects of the study have been omitted.

### **Disclosure Statement**

The authors declare no conflicts of interest to this work.



**Figure 1 – Study design.**



**Figure 2** – Distribution of HbA1c values in pregnant women without iron supplementation and without anaemia (1); pregnant women without iron supplementation and with anaemia (2); pregnant women with iron supplementation and without anaemia (3); and pregnant women with iron supplementation and with anaemia (4). Each box shows the median, quartiles, and extreme values within group, one-way ANOVA used to compare groups.

## References

1. World Health Organization. Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycemia First Detected in Pregnancy. WHO Guidelines 2013. Available at:  
[http://www.who.int/diabetes/publications/Hyperglycaemia\\_In\\_Pregnancy/en/index.html](http://www.who.int/diabetes/publications/Hyperglycaemia_In_Pregnancy/en/index.html). Accessed: 1 Aug 2017.
2. Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008; 358:1991–2002.
3. Falavigna M, Schmidt MI, Trujillo J, Alves LF, Wendland ER, Torloni MR et al. Effectiveness of gestational diabetes treatment: a systematic review with quality of evidence assessment. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 98:396–405.
4. Hartling L, Dryden DM, Guthrie A, Muise M, Vandermeer B, Donovan L. Benefits and harms of treating gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force and the National Institutes of Health Office of Medical Applications of Research. *Ann Intern Med* 2013; 159:123–129.
5. Moses RG, Cefalu WT. Considerations in the management of gestational diabetes mellitus: "You are what your mother ate!" *Diabetes Care*. 2016; 39:13-5.
6. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG). International Association of Diabetes and Pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 2010; 33:676-82.

7. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2017; 40:Suppl1:S11–S24.
8. World Health Organization. Use of glycated hemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus. Abbreviated report of a WHO consultation 2011. Available at:  
[http://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis\\_diabetes2011/en/index.htm](http://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2011/en/index.htm)  
I. Accessed: 1 Aug 2017.
9. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Diabetes in pregnancy: management from preconception to the postnatal period. NICE guideline NG3, 2015. Available at:  
<https://www.nice.org.uk/guidance/ng3>. Accessed: 1 Aug 2017.
10. Lowe LP, Metzger BE, Dyer AR, Lowe J, McCance DR, Lappin TR et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes (HAPO) study associations of maternal HbA1c and glucose with pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 2012; 35:574–580.
11. Hughes RC, Moore MP, Gullam JE, Mohamed K, Rowan J. An early pregnancy HbA1c  $\geq 5.9\%$  (41 mmol/mol) is optimal for detecting diabetes and identifies women at increased risk of adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 2014; 37:2953-59.
12. Renz PB, Cavagnoli G, Weinert LS, Silveiro SP, Camargo JL. HbA1c test as a tool in the diagnosis of gestational diabetes mellitus. *PLoS One* 2015 Aug 20; 10(8):e0135989.
13. Balaji V, Madhuri BS, Ashalatha S, Sheela S, Suresh S, Seshiah V. A1c in gestational diabetes mellitus in Asian Indian women. *Diabetes Care* 2007; 30:1865-67.

14. Rajput R, Yogesh Y, Rajput M, Nanda S. Utility of HbA1c for diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 98:104–107.
15. Cavagnolli G, Pimentel AL, Freitas PA, Gross JL, Camargo JL. Factors affecting A1C in non-diabetic individuals: Review and meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2015; 445:107-14.
16. Cavagnolli G, Pimentel AL, Freitas PA, Gross JL, Camargo JL. Effect of ethnicity on HbA1c levels in individuals without diabetes: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2017 Feb 13;12:e0171315.
17. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2011; 57:593-98.
18. Silva JF, Pimentel AL, Camargo JL. Effect of iron deficiency anemia on HbA1c levels is dependent on the degree of anemia. *Clin Biochem* 2016; 49:117-20.
19. Koga M, Morita S, Saito H, Mukai M, Kasayama S. Association of erythrocyte indices with glycated haemoglobin in pre-menopausal women. *Diabet Med* 2007; 24:843-847.
20. El-Agouza I, Abu Shohla A, Sirdah M. The effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin subtypes: possible consequences for clinical diagnosis. *Clin Lab Hematol* 2002; 24:285–89.
21. Coban E, Ozdogen M, Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on level of hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta Haematologica* 2004; 112:126-28.
22. Ng JM, Cooke M, Bhandari S, Atkin SL, Kilpatrick ES. The effect of iron and erythropoietin treatment on the A1c of patients with diabetes and chronic kidney disease. *Diabetes Care* 2010; 33:2310-13.

23. 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: 1945-48.
24. Hashimoto K, Osugi T, Noguchi S, Morimoto Y, Wasada K, Imai S, et al. A1C but not serum glycated albumin is elevated because of iron deficiency in late pregnancy in diabetic women. *Diabetes Care* 2010, 33:509–11.
25. World Health Organization. Preventing and controlling anemia through primary health care: a guide for health administrators and program managers. Geneva, WHO, 1989. Available at:  
[http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/anaemia\\_iron\\_deficiency/9241542497.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/anaemia_iron_deficiency/9241542497.pdf). Accessed: 1 Aug 2017.
26. Mosca A, Paleari R, Dalfrà MG, Di Cianni G, Cuccuru I, Pellegrini G, et al. Reference intervals for hemoglobin A1c in pregnant women: data from an Italian multicenter study. *Clin Chem* 2006; 52:1138–43.
27. O'Connor C, O'Shea PM, Owens LA, Carmody L, Avalos G, Nestor L, et al. Trimester-specific reference intervals for haemoglobin A1c (HbA1c) in pregnancy. *Clin Chem Lab Med* 2011; 50:905-09.
28. Hiramatsu Y, Shimizu I, Omori Y, Nakabayashi M, JGA (Japan Glycated Albumin) Study Group. Determination of reference intervals of glycated albumin and hemoglobin A1c in healthy pregnant Japanese women and analysis of their time courses and influencing factors during pregnancy. *Endocr J* 2012; 59:145–51.
29. Shrimpton R, Huffman SL, Zehner ER, Darnton-Hill I, Dalmiya N. Multiple micronutrient supplementation during pregnancy in developing-country



- settings: policy and program implications of the results of a meta-analysis. Food Nutr Bull 2009; 30 (4) Suppl:S556-73.
30. Rafat T, Rabbani TK, Ahmad J, Ansari MA. Influence of iron metabolism indices on HbA1c in non-diabetic pregnant women with and without iron-deficiency anemia: effect of iron supplementation. Diabetes Metab Syndr 2012; 6(2):102-05.
31. World Health Organization. Vitamin and Mineral Nutrition Information System, WHO, Geneva, 2011 (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1) <http://www.who.int/vmnis/indicators>. Accessed in Oct 2017.
32. Brazil. Ministry of Health. National Program for Iron Supplementation: manual of general conducts / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_suplementacao\\_ferro\\_condutas\\_gerais.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_suplementacao_ferro_condutas_gerais.pdf). Accessed in Oct 2017
33. National Glycohemoglobin Standardization Program. NGSP Criteria for Certification. Available from: <http://www.ngsp.org/news.asp>. Accessed 13 October, 2017.
34. Madhu SV, Raj A, Gupta S, Giri S, Rusia U. Effect of iron deficiency anemia and iron supplementation on HbA1c levels - Implications for diagnosis of prediabetes and diabetes mellitus in Asian Indians. Clin Chim Acta. 2017; 468:225-29.
35. Grossman A, Gafter-Gvili A, Schmilovitz-Weiss H, Koren-Morag N, Beloosesky Y, Weiss A. Association of glycated hemoglobin with hemoglobin levels in elderly nondiabetic subjects. Eur J Intern Med 2016; 36:32-35.

36. Pena-Rosas JP, De-Regil LM, Garcia-Casal MN, Dowswell T. Daily oral iron supplementation during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2015 22:CD004736.

## 6. ARTIGO II

Diagnostic accuracy of glycated hemoglobin (HbA1c) for gestational diabetes mellitus (GDM): a systematic review and meta-analysis

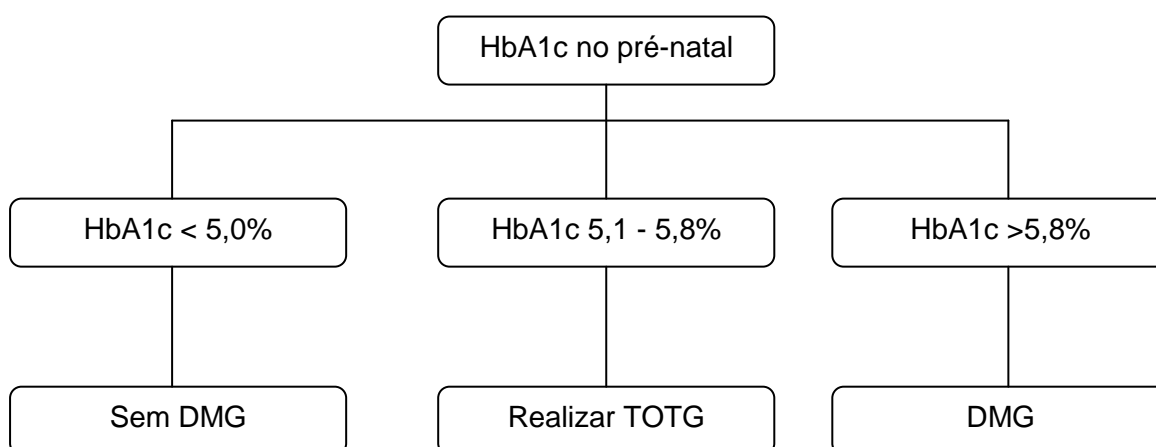
## 7. ARTIGO III

Glycated hemoglobin (HbA1c) in pregnancy and adverse maternal-fetal outcomes

## 8. CONCLUSÕES

Esta tese teve como uns dos objetivos avaliar a possível interferência da suplementação de ferro durante a gestação nos níveis de HbA1c. Os resultados desse estudo demonstraram que a suplementação de ferro durante a gravidez não afeta os níveis de HbA1c e não tem impacto clínico na interpretação final dos resultados na ausência de anemia ou presença de anemia leve, no entanto, em mulheres com anemia moderada ou grave em suplementação de ferro esse teste pode sofrer alteração, concordando com outros estudos que demonstraram que os valores de HbA1c dependem dos níveis de anemia do paciente.

Também tivemos como objetivo avaliar a utilização da HbA1c no diagnóstico do DMG através de uma revisão sistemática e metanálise dos estudos disponíveis na literatura. Nossos resultados da metanálise mostraram que a partir do ponto de corte de HbA1c 5,8% tem-se especificidade suficiente para a confirmação do diagnóstico de DMG. Com base nos dados dessa metanálise propusemos o seguinte algoritmo para o rastreamento dessa doença:



Se aplicássemos o algoritmo proposto, utilizando os dados do estudo de Renz 2015, ao realizarmos a HbA1c no pré-natal nas 262 gestantes teríamos 66 gestantes

sem diagnóstico de DMG (HbA1c < 5,0%) que seguiriam com os cuidados normais do pré-natal, 32 gestantes com DMG (HbA1c >5,8%) que passariam a tratar a doença e apenas 164 gestantes que tiveram resultados de HbA1c entre 5,1 e 5,8% seriam submetidas ao TOTG, uma redução de 37% de gestantes a realizar esse teste. Também é importante ressaltar que a utilização do TOTG como teste de referência no diagnóstico do DMG, especialmente quando utilizados os critérios propostos pela IADPSG, identifica menores graus de hiperglicemia.

Ao avaliarmos a associação da HbA1c, utilizada como teste diagnóstico para DMG, com desfechos materno-fetais, encontramos um aumento significativo na ocorrência de desfechos hipertensivos da gestação relacionada com o aumento nos níveis de HbA1c. Apesar de encontrarmos fortes razões para a utilização da HbA1c no diagnóstico de DMG, são necessários mais estudos para que se consiga aumentar a força estatística para confirmar as associações com alguns desfechos gestacionais.

Além da HbA1c como alternativa ao TOTG, temos a albumina glicada (AG), teste laboratorial que tem ganhado destaque como um marcador para o monitoramento glicêmico no DM. Por não ser afetada pela presença de processos hemolíticos e de Hb anormais, a AG poderia ser utilizada como marcador glicêmico no período gestacional.

Considerando impacto das complicações dessa doença, a dosagem da hemoglobina glicada torna-se um importante procedimento nos laboratórios clínicos. Porém é necessário que os laboratórios clínicos participem ativamente e regularmente de proficiência específica para a hemoglobina glicada e utilizem os métodos certificados

pelo NGSP (*National Glycohemoglobin Standardization Program*) e do estudo do *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT).