Glucohemoglobina A1c, del 7 al 53

José Escribano Serrano[1], Alfredo Michán Doña[2]
En representación del Grupo de Investigación GERVA
[1] *Unidad de Gestión Clínica San Roque. Campo de Gibraltar. Cádiz*
[2] *Medicina Interna, Hospital de Jerez de la Frontera. Departamento de Medicina, Facultad de Medicina de Cádiz. Cádiz*

INTRODUCCIÓN

Estamos viviendo unos años con un extraordinario acúmulo de conocimiento en el campo de la diabetes mellitus (DM). A lo largo de esta última década, se ha publicado una auténtica avalancha de ensayos clínicos, recomendaciones, consensos, algoritmos, estándares de cuidados y guías de práctica clínica de esta enfermedad. Sin embargo, en todos ellos se puede encontrar un denominador común, un parámetro básico en la gestión de la DM, válido a la vez para adultos, ancianos o adolescentes, válido para todos los tipos de DM y fundamental para muy diversas funciones. Dicho parámetro es la glucohemoglobina A1c (HbA1c o A1c).

En efecto, no solo es la protagonista de los objetivos terapéuticos o el parámetro-guía de los algoritmos del tratamiento normoglucemiante, sino que, además, se utiliza como evaluador de la calidad prestada al paciente con DM, como estimador de la efectividad de los fármacos normoglucemiantes o como predictor del riesgo de la aparición o del agravamiento de las complicaciones específicas de la DM. Ítem más, desde hace poco tiempo, como un criterio diagnóstico más de la DM tipo 2.

Así, desde que el recientemente fallecido profesor Samuel Rahbar (1929-2012) y su equipo la descubrieron, allá por el lejano 1969, hasta hoy, la HbA1c se ha convertido en el *gold standard* del universo diabetológico y en la compañera fiel de todos los profesionales que orbitan por el mismo.

Sin embargo, a pesar de ser una herramienta de uso cotidiano, sus bondades y sus limitaciones no son bien conocidas e incluso han sido poco descritas fuera de las revistas más especializadas. No obstante, algo parece estar cambiando en este sentido, ya que, a raíz de su incorporación como un criterio diagnóstico, se han prodigado las revisiones sobre la HbA1c.

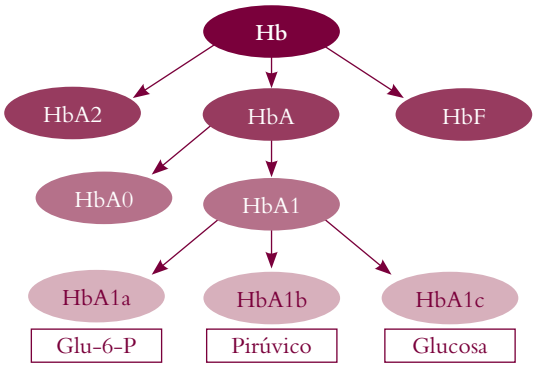
Aprovechando este año de efemérides en su ya larga vida, el objetivo de este escrito es aumentar el conocimiento de todas las características que hacen de la HbA1c una herramienta imprescindible. Para ello, en primer lugar se describirá la correcta identificación de la HbA1c y su formación. A continuación, se abordará cómo debe nombrarse o expresarse, de qué informa exactamente y en qué situaciones se debe tener un especial cuidado en su interpretación.

Identificación de la A1c

En las personas adultas y en condiciones normales, la hemoglobina (Hb) está constituida por diversas fracciones, distintas según la composición de sus cadenas. La HbA ($\alpha 2\beta 2$) es el principal componente de la Hb en la vida posnatal, ya que representa más del 96 % de la Hb total, seguida por la HbA2 ($\alpha 2\delta 2$), que significa entre un 2,5-3,5 % del total, y la HbF ($\alpha 2\gamma 2$), que constituye menos del 1 %. Dichas fracciones pueden sufrir, además, modificaciones estructurales provocadas por la unión de distintas partículas a sus aminoácidos terminales; en el caso de adosarse un azúcar, daría lugar a las glucohemoglobinas (figura 1).

En efecto, la glucohemoglobina se forma por un proceso denominado glucación. Dicho proceso consiste en la unión

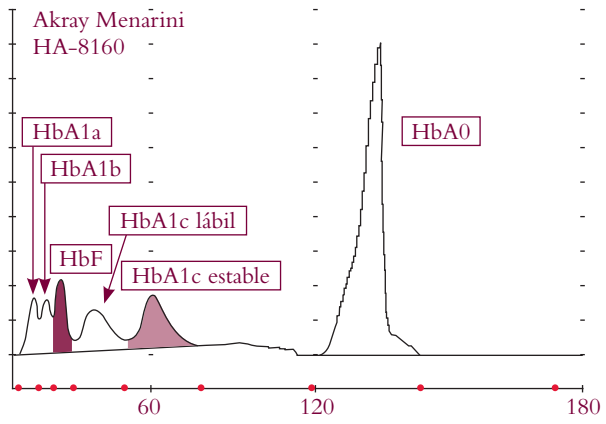
Figura 1. Representación gráfica de las distintas fracciones de la hemoglobina. La HbA1 es la fracción total de hemoglobina glucada, la HbA0 la fracción no glucada y la HbA1c es la subfracción específicamente unida a la glucosa



no enzimática de un monosacárido a los grupos amino de las proteínas que forman las cadenas de la Hb. Esta reacción, conocida desde hace muchos años, recibe el nombre de reacción de Maillard. La glucación se produce en el interior del hematíe, al ser la pared de este entera y libremente permeable a las moléculas de monosacáridos.

La unión da lugar a la fracción glucada de la HbA que se ha denominado HbA1. A su vez, puede ser descompuesta en distintas subfracciones: HbA1a1, HbA1a2, HbA1b y HbA1c, dependiendo del azúcar unido al terminal proteínico (fructosa 1-6 difosfato, glucosa 6 fosfato, piruvato y glucosa, respectivamente) (figura 2).

Figura 2. Cromatograma de una muestra de hemoglobina normal, obtenido mediante HPLC (*high perfomance liquid cromatografic*) con el analizador Menarini HA-8160 (HPLC ARKRAY Inc., Japón)



Así pues, se puede definir la HbA1c como la fracción de la HbA formada por la adición estable de la glucosa al NH-terminal del aminoácido valina de la cadena beta de la HbA, siendo por tanto su denominación química N-1-deoxyfructosyl-beta-Hb.

¿CÓMO SE FORMA?

La glucación de la Hb es un proceso con unas características muy singulares, cuyo conocimiento resulta imprescindible, ya que posteriormente tendrán una gran importancia en la determinación, medida e interpretación clínica de la HbA1c.

Variantes del proceso de glucación

Por definición, la HbA1c se forma por la unión de la glucosa al terminal N del aminoácido valina de la cadena beta. Sin embargo, por un lado, otros monosacáridos pueden unirse también a ese mismo lugar de la cadena beta y, por otro, la misma glucosa puede unirse a otros puntos de la cadena proteínica, como, por ejemplo, a los terminales épsilon del aminoácido lisina.

La capacidad de discriminación con la que los distintos métodos de determinación de la HbA1c pueden diferenciar alguna de estas anomalías origina distintos valores «artefactados o no». Por ello, el método desarrollado por la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), basado en la espectrometría de masas, es mucho más sensible, ya que obvia estos compuestos y da lugar a valores aproximadamente dos puntos porcentuales por debajo del método clásico del Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), que a su vez da medidas diferentes a las del método japonés.

La glucación es un proceso continuo

El estimar de forma abstracta que la vida del hematíe dura aproximadamente 120 días no es más que un «supuesto» estadístico para intentar explicar académicamente algo que sucede de forma continuada. Lo que realmente existe es un proceso incesante de nacimiento y destrucción de los glóbulos rojos. Todos los días se producen alrededor de un 1 % de nuevos hematíes (reticulocitos) y se destruyen en una cantidad similar. Y obviamente no todos llegan a alcanzar el máximo de su vida estimada.

La glucación es un proceso no enzimático

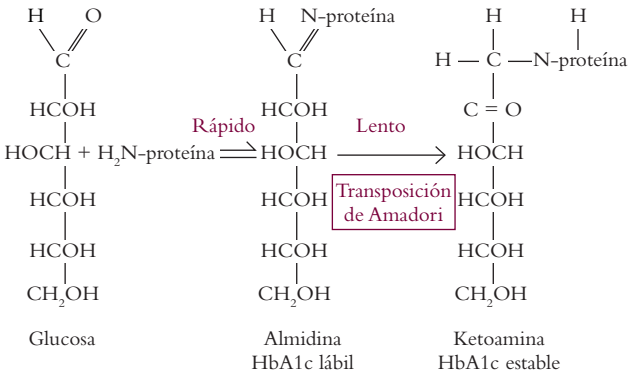
La glucosilación enzimática de las proteínas es un proceso intracelular, mitocondrial, con múltiples funciones en la vida humana y que se encuentra bajo un control genético estricto. Por el contrario, las proteínas pueden condensarse con distintos azúcares para formar una diversidad de componentes mediante la reacción de Maillard. A este fenómeno se le ha llamado glucación para establecer una diferencia con la glucosilación enzimática.

La glucación es un proceso lento

La reacción de Maillard consta de dos fases. En una primera fase, el grupo aldehído de la glucosa reacciona con el grupo amino de la Hb, dando lugar, de forma reversible, a una base de Schiff; dicho componente se denomina HbA1c lábil o HbA1c almidina. En una segunda fase, con una tasa de reacción mucho más lenta, se produce la transposición de Amadori, modificándose la estructura del complejo almidina

para producir, de forma irreversible, un complejo ketoamina, llamado HbA1c estable o HbA1c ketoamina. Este complejo estable es el que se determina habitualmente (figura 3).

Figura 3. Reacción de glucación de las proteínas, también llamada reacción de Maillard, con sus dos fases: a la izquierda, la rápida, con la condensación de la glucosa para formar el complejo almidina (HbA1c lábil), y a la derecha, la fase lenta y estable, que mediante la transposición de Amadori da lugar al complejo ketoamina (HbA1c estable)



La glucación es un proceso irreversible

Como se acaba de explicar, la formación de la HbA1c ketoamina es un proceso irreversible y, por lo tanto, su desaparición solo ocurre cuando el hematíe es destruido.

¿CÓMO DEBE SER DENOMINADA?

La definición química de la HbA1c es N-1-deoxyfructosyl-beta-Hb, por lo que en algún momento se propugnó el denominarla DOF-Hb, sin que este término haya tenido muchos partidarios. Las más recientes directrices de la American Diabetes Assotiation (ADA) recomiendan referirse al efecto de la glucación sobre la Hb con los términos *glycated hemoglobin o glycohemoglobin A1c,* que en castellano equivaldrían a Hb glucada, o al menos a su anglicismo «glicada», y a HbA1c. Se descarta el uso habitual del término «glucosilada» («*glycosilated*»), ya que este vocablo corresponde al tipo de reacción química enzimática.

El acrónimo «HbA1c» también es una representación internacionalmente aceptada para reportar resultados. Las denominaciones «Test A1c» o «A1c» son las actualmente recomendadas por la ADA para facilitar la comunicación con los pacientes. Cuando se asiste a reuniones internacionales, se aprecia que la denominación más extendida en el mundo anglosajón, quizás por su brevedad, es «A1c».

¿CÓMO DEBE SER EXPRESADA?

La HbA1c se ha informado generalmente en forma de porcentaje (%) sobre la cantidad total de Hb. Estos valores empleados en el National Glucohaemoglobin Standarization Program (NGSP/DCCT) son y han sido los más utilizados en todo el mundo. Por el contrario, los resultados según el nuevo método de la IFCC se deben expresar por el Sistema Internacional en mmol/mol de Hb. Un valor de A1c del 7 % (DCCT/NGSP) se corresponde a 53 mmol/mol IFCC, de ahí el título de esta revisión. La conversión no puede realizarse simplemente multiplicando o dividiendo, ya que la correlación se obtiene a través de una ecuación de regresión lineal entre los valores NGSP e IFCC. Se requiere una ecuación maestra (NGSP = 0,0915 [IFCC] + 2,15) o de su inversa (IFCC = 10,93 [NGSP] – 23,50). Sin embargo, existe un sencillo método para un cálculo rápido. Si al valor de la HbA1c en porcentaje se le resta un 2, nos da el valor de la decena en mmol/mol, y si a esta se le resta otra vez 2, nos dará el valor de la unidad. Por ejemplo, a 8 % (8 – 2 = 6 y 6 – 2 = 4) le equivalen 64 moles/mol.

La aplicación del Consenso Mundial de estandarización de la HbA1c de 2007, con la sucesiva publicación de directrices nacionales, la española desde 2008, recomienda que se implante de forma inmediata el uso simultáneo de las dos expresiones en los resultados de la HbA1c: en porcentaje y en mmol/mol; el porcentaje con una unidad y un decimal y la expresión en mmol con dos unidades sin decimales. La mayoría de la revistas especializadas en DM también han comenzado a aplicar estas directrices (las últimas en hacerlo han sido *Diabetes Care* y *Diabetes*) y requieren a los autores que en sus trabajos la HbA1c sea expresada con ambas unidades.

¿DE QUÉ INFORMA?

De forma clásica, se ha entendido que la HbA1c refleja el promedio de la concentración de glucosa en un período de tiempo previo, estimándose la duración de este entre las 8-12 semanas por ser el tiempo de vida útil del glóbulo rojo. Sin embargo, de acuerdo a todas las cuestiones que ya se han ido desgranando en esta revisión, se puede constatar que esta afirmación no sería del todo correcta, ya que admite un buen número de consideraciones.

Debido a la idiosincrasia ya explicada de la formación, lenta e irreversible, de la «HbA1c estable», se producen dos circunstancias «antagónicas». Por una parte, la HbA1c no es capaz de representar adecuadamente las elevaciones de la glucemia que sean de muy corta duración. Y por otra, la HbA1c tampoco podría reflejar los descensos de la glu-

cemia independientemente de su duración (las tan temidas hipoglucemias). Recordemos que la glucosa, una vez unida a la proteína, ya no puede separarse. Por lo tanto, la HbA1c representa más bien situaciones permanentes con glucemias incrementadas. Lo que podría llamarse un «ambiente hiperglucémico», sin reflejar prácticamente las hipoglucemias e incluso ser «perjudicada» por las hiperglucemias compensadoras si estas son de larga duración. Podría simplificarse esta cuestión con el aforismo: «la HbA1c nos informa del pecado pero no de la penitencia».

Pocos son los estudios que han valorado estas circunstancias de forma fehaciente, pero se pueden encontrar argumentos teóricos y prácticos a su favor. Uno, que la variabilidad glucémica (tomada como la diferencia entre los picos y valles de los valores glucémicos) y la HbA1c no tienen una buena correlación. Posiblemente porque esta no refleje las variaciones de corta duración en la concentración de la glucosa. Y dos, los análisis más recientes de la presencia de hipoglucemias en los estudios de intervención, tanto los grandes como los pequeños, nos indican que, a pesar de que el mayor riesgo de padecer una hipoglucemia aparece cuando se alcanzan niveles más bajos de HbA1c, la mayor frecuencia de aparición de hipoglucemias se produce en los pacientes que tienen niveles más elevados de HbA1c.

Además, la HbA1c refleja de diferente manera los distintos períodos glucémicos que ocurren a lo largo de un día. Los trabajos de Monnier distinguen claramente entre el período glucémico en ayunas y el posprandial. Cada uno de ellos se refleja de una forma distinta en la HbA1c, dependiendo del nivel de HbA1c en el que se encuentre el paciente (figura 4). Diversos autores han avalado estos resultados e incluso han llegado más lejos, demostrando que esta relación podría verse influenciada también por el tipo de fármaco utilizado en el tratamiento del paciente.

Y por supuesto está el tiempo. La HbA1c no refleja de igual manera los niveles de la glucemia en los días más cercanos a su determinación que los de los días más alejados. La vida media de una muestra de la población de hematíes se encuentra entre los 40-60 días. Por lo tanto, se puede suponer que en un mes la HbA1c refleje más del 50 % del cambio total previsto cuando se realiza un cambio terapéutico, y que en el plazo de dos meses se concibe que nos muestre casi el 80 % del cambio esperado. Una explicación de forma gráfica puede resultar más sencilla (figura 5).

No puede tomarse esto del tiempo como una cuestión baladí. En situaciones donde se actúe de una forma drástica y con intensidad, como podría ser el cambio de tratamiento a pauta de insulina bolo-basal cuando un paciente ingresa

Figura 4. Expresión gráfica de la teoría de Louis Monnier et al. (Diabetes Care 2003;26(3):881-5). La influencia de las distintas glucemias es distinta según el nivel de esta. Nos indican que, en cifras más bajas de HbA1c, se encuentra mayoritariamente modificada por las glucemias posprandiales; mientras que, en situaciones con valores más altos de HbA1c, se debe pensar en una mayor afectación por las glucemias en ayunas

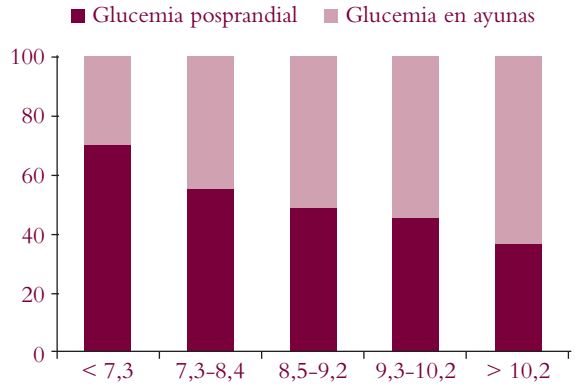
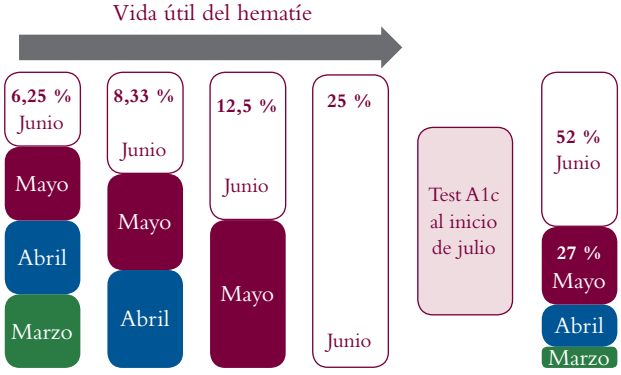


Figura 5. La formación temporal de la HbA1c. Los glóbulos rojos nacidos en el cuarto mes anterior a la determinación se ven influenciados por las glucemias de cuatro meses, los nacidos en el mes menos tres por las de los tres siguientes, y así sucesivamente hasta que los nacidos en los días anteriores a ella solo se verán influenciados por las últimas glucemias. Ello produce que las glucemias del último mes sean las responsables de más de la mitad del valor de la HbA1c (52 %). Y en el caso de contabilizar los dos últimos meses, esa influencia puede alcanzar más de los tres cuartos (78 %) del valor de la HbA1c



en el hospital o si se aplica el esquema terapéutico de *Treat to Target*, los resultados del cambio podrían reflejarse en la HbA1c de forma precoz. Prácticamente la mitad del cambio esperado podría verse al mes y casi la totalidad en un período de dos meses. Y lo contrario, en situaciones donde se realice un cambio terapéutico gradual con titulación de

dosis, como, por ejemplo, cuando se comienza el tratamiento con metformina o con la adición de una insulina basal, posiblemente sea necesario un período más largo de los tres meses que aconsejan los nuevos algoritmos terapéuticos para evaluar el cambio de la HbA1c.

En resumen, la HbA1c nos informa de los niveles de la glucemia más recientes, siempre que estos se hayan mantenido de forma duradera. No puede expresar las hipoglucemias, aunque sí el mayor riesgo de padecerlas, y refleja de distinta manera los períodos hiperglucémicos. Si los niveles están por encima del 8,5 %, indican en mayor medida el período en ayunas; mientras que si se encuentran por debajo de 7,5 %, manifiestan fundamentalmente las glucemias posprandiales.

¿CUÁNDO DEBE USARSE CON PRECAUCIÓN?

Para la inmensa mayoría de pacientes con DM, la HbA1c muestra de una forma fidedigna la imagen de los niveles de glucemia, con las características ya mencionadas, por lo que puede ser ampliamente utilizada como medida del control glucémico. Es más, también para un gran número de pacientes la HbA1c podría ser usada como un criterio diagnóstico añadido.

Pero existen determinadas situaciones en las que la medida de la HbA1c será, cuando menos, poco fiable. En unas puede verse alterada de una forma radical, impidiendo su utilización absolutamente. En otras será preciso corregir el factor antes de utilizarla para cualquiera de sus funciones. De cualquier modo, se plantea un problema no resuelto aún. Si todo el control de la DM gira alrededor de la HbA1c y en un paciente no tiene validez, carecemos de alternativas. De hecho, ni siquiera las principales guías hacen referencia a esta situación.

La edad puede influir en la determinación de la HbA1c. Diversos estudios han venido a cifrar esa diferencia aproximadamente en un 0,5 % entre la década de los cuarenta y la de los setenta, en personas sin DM. Esta influencia parece no tener la entidad suficiente como para modificar los objetivos, y más en la actualidad, donde los objetivos de los pacientes con mayor edad son mucho más laxos; sin embargo, sí se debería tener en cuenta cuando se realice un diagnóstico de DM en personas añosas.

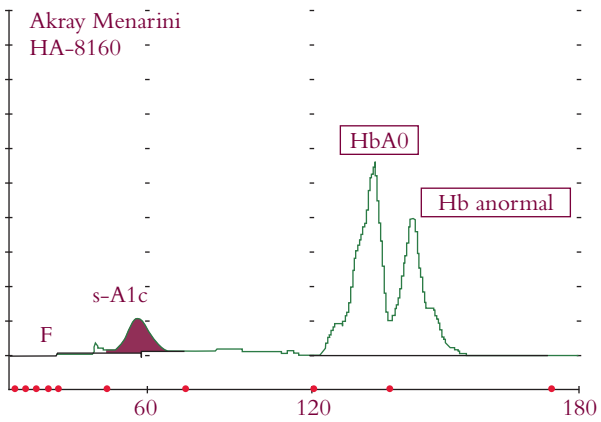
La acumulación de evidencia apoya la hipótesis de que la raza puede influir en la HbA1c. Diversos estudios en pacientes con DM encontraron diferencias significativas en las concentraciones de HbA1c entre varias etnias. Los resultados del NHANES III o del Programa de Prevención de la Diabetes lo afirman y un análisis transversal de dos estudios lo corrobora. Los mexicano-americanos y los negros tenían mayores determinaciones promedio de HbA1c que los blancos. En el estudio The Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC) se midió la HbA1c en sujetos sin antecedentes de DM. Al igual que en los anteriores, los negros tenían unos valores medios de HbA1c un 0,4 % más altos que los blancos, diferencias no relacionadas con el perfil glucémico y que se mantenían incluso después de evaluar la diferencia en la calidad de la atención sanitaria. Sin embargo, tampoco está claro que estos cambios tengan una importancia clínica, ya que la raza no modificó la correlación entre la cuantía de la HbA1c y las complicaciones vasculares. Para más ejemplos, en el Reino Unido, los resultados de la HbA1c de los asiáticos son superiores a los de los sujetos anglosajones. Y al otro lado del mundo, estudiando a los pacientes asiáticos de diversas etnias del extremo oriente, estos tienen valores distintos entre sí.

Dada la multiculturalidad existente en España actualmente, no se pueden obviar estos datos. Más aun teniendo en cuenta los resultados del estudio de Inmigración y Diabetes Mellitus en España (IDIME) o estudio del EAP Raval Sud (RAVAL), realizados dentro de la Red de Grupos de Estudio de la Diabetes en Atención Primaria (redGDPS). Se describe un peor control metabólico, basado en la HbA1c, en los pacientes inmigrantes, a pesar de ser estos más jóvenes y tener menores complicaciones. ¿Habría que plantearse la posibilidad de que estos resultados tengan una relación con la variabilidad étnica de la HbA1c en la población estudiada?

La presencia de una hemoglobinopatía puede afectar a la medición de la HbA1c. Las más frecuentes a nivel internacional son las HbS, HbE, HbC y HbD, añadiéndose la persistencia en el adulto de la HbF. Ningún método de determinación es adecuado para los pacientes homocigotos con estas patologías y, por lo tanto, no es factible el uso de la HbA1c en su control glucémico. Por el contrario, en los pacientes heterocigotos, salvo que tengan afectada la supervivencia de los glóbulos rojos, la posible influencia que puedan tener las variantes de la Hb está más en relación con el método utilizado para su medida. En la página del Programa Americano de Estandarización de la Glucohemoglobina (www.ngsp.org), existe un preciso listado de la relación de cada método de determinación con las hemoglobinopatías que pueden modificarlo, con una bibliografía detallada. Ante valores de HbA1c que no concuerden con los valores de la glucemia, es aconsejable realizar un estudio del cromatograma de la HbA1c y así se podrán encontrar casos como el de la figura 6.

Como ya se ha referido, la interpretación de los resultados de la HbA1c depende en gran manera de que los eritrocitos tengan una duración normal de su vida. Situaciones que presenten un acortamiento en la supervivencia del hematíe, como pudiera ser la anemia hemolítica u otras enfermedades

Figura 6. Cromatograma de una muestra con una hemoglobina anormal, obtenido mediante HPLC (*high perfomance liquid cromatografic*) con el analizador Menarini HA-8160 (HPLC ARKRAY Inc., Japón). En este paciente existía una clara disociación entre los valores glucémicos y el valor de la HbA1c. Se evaluó el cromatograma encontrando el pico anómalo tardío, tras el pico de Hb0. Posteriormente, la muestra se sometió a un estudio más completo, donde se detectó la presencia de una hemoglobinopatía D



que produzcan destrucción de los glóbulos rojos, tienden a una disminución sustancial de la HbA1c. Del mismo modo, escenarios como las pérdidas agudas de sangre o las transfusiones sanguíneas también generan valores de HbA1c falsamente bajos. El argumento es que se produce un aumento de la fracción de eritrocitos jóvenes. Aquí se podrían añadir otras situaciones mucho menos estudiadas pero frecuentes, como la apnea del sueño.

Los individuos con anemia por deficiencia de hierro tienen aumentadas las concentraciones de HbA1c. Dicha anemia por deficiencia puede conducir a un aumento inapropiado de la HbA1c de 11-16 mmol/mol (1-1,5 %), que cae después de tratamiento con hierro. También parece influir en la HbA1c de las personas que no tienen DM, posiblemente no tan marcadamente, pero lo suficiente para que pueda llevar a un diagnóstico equivocado. Un consejo adecuado sería corregir la anemia previamente al establecimiento del diagnóstico.

Poco, muy poco, se ha estudiado el efecto de otros tipos de anemias sobre la HbA1c, a pesar de que pueden ser más frecuentes que la ferropénica o la hemolítica en pacientes con DM. Así, resulta difícil encontrar referencia sobre el efecto de la anemia de trastornos crónicos o de la producida por déficit de vitamina B12. Como norma general, aquellas anemias que acorten la vida de los hematíes disminuirán la HbA1c y aquellas que la aumenten, en general las carenciales, aumentarán los valores de HbA1c. Resulta atractiva la hipótesis de que la cantidad de Hb que se encuentre dentro del glóbulo rojo, medida por la Hb corpuscular media, pueda ser un modificante de los valores de HbA1c. Tendría esta hipótesis una relación directa con los dos factores directamente relacionados con el proceso de la glucación: las concentraciones de glucosa y de Hb dentro del hematíe.

Por último, cabe hacer una mención especial sobre los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), por demás frecuentemente unida a la DM. La ERC se asocia a anemia, pero a una anemia de etiología multifactorial; se mezcla la ferropenia con el déficit de eritropoyetina, con la presencia posible de síndrome nefrótico y con la utilización de algunos fármacos como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. Esta anemia, en muchos casos, será tratada con eritropoyetina (que aumenta el número de hematíes jóvenes) y, además, habría que añadirle la presencia de contaminantes de Hb carbamilada. Todos estos condicionantes hacen que la HbA1c deba ser interpretada con mucha precaución en situaciones de ERC, en mayor grado cuanto más avanzada esté.

BIBLIOGRAFÍA

1. Henrichs HR. HbA1c, glycated haemoglobin and diabetes mellitus. Bremen: UNI-MED SCIENCE; 2009.
2. Sacks DB. Hemoglobin A1c in diabetes: panacea or pointless? Diabetes 2013;62(1):41-3.
3. Sacks DB. Measurement of hemoglobin A1c: a new twist on the path to harmony. Diabetes Care 2012;35(12):2674-80.
4. Cohen RM, Sacks DB. Comparing multiple measures of glycemia: how to transition from biomarker to diagnostic test? Clin Chem 2012;58(12):1615-7.
5. Sacks DB. Measuring and reporting hemoglobin A1c. Clin Biochem 2012;45:1046-7.
6. Hare MJ, Shaw JE, Zimmet PZ. Current controversies in the use of A1c. J Intern Med 2012;271(3):227-36.
7. Higgins T. HbA1c, analyte of increasing importance. Clin Biochem 2012;45(13-14):1038-45.
8. Gillery P. A history of HbA1c through Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Clin Chem Lab Med 2013;51(1):65-74.
9. Lenters-Westra E, Schindhelm RK, Bilo HJ, Slingerland RJ. Haemoglobin A1c: Historical overview and current concepts. Diabetes Res Clin Pract 2012 Nov 20. [Epub ahead of print]
10. Little RR, Rohlfing CL. The long and winding road to optimal HbA1c measurement. Clin Chim Acta 2013;418:63-71.