

John M. Lachin¹, Saul Genuth², David M. Nathan³, Brandy N. Rutledge¹

¹The Biostatistics Center, George Washington University, Rockville, Maryland

²Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio

³Massachusetts General Hospital | Harvard Medical School, Boston, Massachusetts

Ocena znaczenia indeksu glikacji hemoglobiny jako czynnika predykcyjnego ryzyka wystąpienia mikronaczyniowych powikłań w badaniu *Diabetes Control and Complications Trial*

The hemoglobin glycation index is not an independent predictor of the risk of microvascular complications in the Diabetes Control and Complications Trial

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetes* 2007; 56: 1913–1921

STRESZCZENIE

W badaniu DCCT wykazano, że intensywne leczenie mające na celu poprawę wyrównania glikemii znacząco zmniejszyło ryzyko powikłań cukrzycowych w porównaniu z konwencjonalnym leczeniem. Najistotniejszym wyznacznikiem ryzyka był wywiad dotyczący stężenia glukozy we krwi. Ostatnio McCarter i wsp. (*Diabetes Care* 2004; 27: 1259–1264) przedstawili analizę ogólnie dostępnych danych z DCCT dotyczących indeksu glikacji (HGI), obliczonego jako różnica między obserwowanym stężeniem HbA_{1c} a stężeniem przewidywanym na podstawie wartości glikemii. W tej analizie wykazano, że wartość HGI była znamienym czynnikiem predykcyjnym progresji retinopatii i nefropatii w DCCT, co autorzy uznali za poparcie tezy, że biologiczna skłonność do glikacji,

tak zwana biologiczna wariacja glikacji, jest kolejnym mechanizmem, który odpowiada za ryzyko powstawania powikłań. Jednak w niniejszej pracy skrytykowano te analizy i wnioski, ponieważ z zasad statystyki wynika, że HGI musi być dodatnio skorelowany ze stężeniem HbA_{1c} i dlatego może je zastępować. Autorzy przedstawiają statystyczne własności HGI w celu udokumentowania jego wysokiej korelacji z HbA_{1c}. Następnie powtarzają analizę McCartera i wsp. z użyciem zarówno HGI, jak i HbA_{1c}. W analizie wykazano ostatecznie, że HGI nie jest niezależnym czynnikiem ryzyka powikłań mikronaczyniowych i że stężenie HbA_{1c} całkowicie tłumaczy wpływ indeksu glikacji na to ryzyko. Nie należy używać HGI do oceny ryzyka powikłań ani uzależniać od niego decyzji terapeutycznych.

ABSTRACT

The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) demonstrated that intensive therapy aimed at improved glucose control markedly reduced the risk of diabetes complications compared with conventional therapy. The principal determinant of risk was the history of glycemia. Recently, McCarter et al. (*Diabetes Care* 2004; 27: 1259–1264) have presented analyses of the publicly available DCCT data using

Adres do korespondencji: John M. Lachin
The Biostatistics Center, 6110 Executive Blvd.
Rockville, MD 20852

e-mail: jml@biostat.bsc.gwu.edu

Diabetologia Praktyczna 2007; tom 8, 8–9, 330–340

Copyright © 2007 by American Diabetes Association

Tłumaczenie: lek. Ewa Węgrzynowicz

Wydanie polskie: VM Group, Grupa Via Medica

their hemoglobin glycation index (HGI), which is computed as the difference between the observed HbA_{1c} (A1C) and that predicted from the level of blood glucose. In their analyses, the HGI level was a significant predictor of progression of retinopathy and nephropathy in the DCCT, which the authors claimed to support the hypothesis that the biological propensity for glycation, so-called biological variation in glycation, is another mechanism that determines risk of complications. However, we have criticized these analyses and conclusions because, from statistical principles, the glycation index must be positively correlated with the A1C level and thus may simply be a surrogate for A1C. Herein, we present the statistical properties of the glycation index to document its high correlation with A1C. We then replicate the analyses of McCarter et al. using both the HGI and the A1C together. Analyses show conclusively that the glycation index is not an independent risk factor for microvascular complications and that the effect of the glycation index on risk is wholly explained by the associated level of A1C. The HGI should not be used to estimate risk of complications or to guide therapy.

Wstęp

W badaniu *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) ostatecznie wykazano, że intensywne leczenie, mające na celu utrzymanie glikemii na poziomie możliwie najbardziej zbliżonym do występującego u zdrowych osób, znacząco zmniejszyło częstość oraz progresję retinopatii cukrzycowej, nefropatii i neuropatii w porównaniu z konwencjonalną terapią, w której nie przyjmuje się założeń dotyczących docelowych wartości stężenia glukozy [1]. W późniejszych analizach epidemiologicznych dowiedziono, że głównym czynnikiem ryzyka wystąpienia powikłań w każdej z grup były dotychczasowa kontrola glikemii, której miarą było wyjściowe stężenie HbA_{1c}, czas trwania cukrzycy w momencie włączenia do badania, średnie stężenie HbA_{1c} w okresie obserwacji i długość leczenia w ramach badania [2], przy czym ostatnia zmienna zależała od czasu włączenia do próby. Ponadto powyższe zależności charakteryzowały się równomiernym gradientem ryzyka — obniżenie HbA_{1c} o 10% wiązało się ze zmniejszeniem ryzyka progresji retinopatii o 44%; nie stwierdzono różnic dotyczących zależności między glikemią a wystąpieniem powikłań dla grup intensywnego i konwencjonalnego leczenia, nie odnotowano również odmiennego przebiegu tej zależności dla

wartości przekraczających zakres właściwy dla osób zdrowych [3].

Niedawno McCarter i wsp. [4] przedstawili analizę ogólnie dostępnych danych DCCT, w której sugerowano inny mechanizm rozwoju powikłań, zależny głównie od indywidualnej skłonności do glikacji, wyrażonej za pomocą indeksu glikacji hemoglobiny (HGI, *hemoglobin glycation index*) [5]. Indeks ten zdefiniowano jako różnicę między zmierzonym stężeniem HbA_{1c} a stężeniem, którego się spodziewano na podstawie statystycznej zależności między HbA_{1c} a wartością glikemii. Podstawą była hipoteza, że osoby z wysoką wartością HGI są bardziej podatne na glikację innych białek i makrocząsteczek, co prowadzi do zwiększenia ryzyka rozwoju powikłań mikronaczyniowych, w porównaniu z osobami z przeciętnymi lub niskimi wartościami tego indeksu. Uznano, że biologiczne różnice w skłonności do glikacji hemoglobiny są równie ważne, jeśli nie ważniejsze, od stężenia HbA_{1c}.

Autorzy tej pracy już poprzednio skrytykowali tę analizę i taką interpretację danych DCCT [6], wykazując statystycznie, że HGI należy skorelować z HbA_{1c}. Dlatego można go zastąpić przez HbA_{1c}, a związek między HGI i powikłaniami mikronaczyniowymi można wytłumaczyć przez jego korelację z HbA_{1c}. Poniżej przedstawiono zwięzłe wytłumaczenie statystycznych własności HGI i zaprezentowano dalszą analizę danych DCCT w celu wykazania, że po skorygowaniu względem stężenia HbA_{1c} indeks glikacji nie jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym retinopatii lub neuropatii w badaniu DCCT.

Projekt badania i metody

Projekt i metody badania DCCT dokładnie opisano w innej pracy [1]. Ujmując w skrócie, badana grupa składała się z 1441 chorych na cukrzycę typu 1, z których 711 losowo przydzielono do grupy intensywnego leczenia, nastawionego na osiągnięcie wartości glikemii możliwie najbardziej zbliżonej do prawidłowych. W grupie 730 pacjentów zakwalifikowanych do konwencjonalnego leczenia zamierzano utrzymać dobry stan kliniczny bez wyznaczenia określonej wartości glikemii. Stężenie HbA_{1c}, mierzone raz w miesiącu w grupie intensywnego leczenia, ujawniano chorym i badaczom, natomiast wartości HbA_{1c}, mierzone raz na kwartał w grupie konwencjonalnego leczenia, były utajnione. Do badania włączono 2 kohorty. W kohorcie prewencji pierwotnej było 726 pacjentów chorujących na cukrzycę od 1–5 lat, bez objawów retinopatii, u których wyjściowa szybkość wydalania albuminy (AER, *albumin excre-*

tion rate) wynosiła poniżej 40 mg/24 h. Grupa interwencji wtórnej składała się z 715 pacjentów, chorujących na cukrzycę od 1–15 lat, u których na początku badania stwierdzono łagodną lub umiarkowaną retinopatię i AER poniżej 200 mg/24 h.

Retinopatię oceniano na podstawie fotografii dna oka, wykonywanych co 6 miesięcy i ocenianych centralnie, zgodnie ze skalą badania *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* [7]. Nefropatię oceniano na podstawie pomiaru AER w dobowej analizie moczu przeprowadzanej raz w roku.

Podobnie jak w badaniu McCartera i wsp. [4], progresję retinopatii zdefiniowano jako utrzymującą się progresję o 3 lub więcej stopni od poziomu stwierdzonego na początku badania, potwierdzoną w czasie 2 kolejnych wizyt w odstępie 6 miesięcy. Zaawansowaną mikroalbuminurię (progresja nefropatii) zdefiniowano jako stwierdzenie AER co najmniej 100 mg/24 h u chorych, u których wskaźnik ten wyjściowo wynosił poniżej 100 mg/24 h, lub stwierdzenie AER większej lub równej 300 mg/24 h u osób z kohorty prewencji wtórnej.

Pacjenci z obu grup wykonywali pomiary wartości glikemii samodzielnie; częstość pomiarów była większa w grupie intensywnego leczenia. Wyniki codziennych pomiarów glikemii służyły jedynie optymalizacji jej kontroli; nie zarejestrowano ich w centralnej bazie danych do dalszych analiz. Jednak każdego uczestnika badania poproszono o wykonanie 7-punktowego profilu glikemii zawierającego oznaczenia przed posiłkiem i 90 minut po każdym posiłku oraz przed snem. Krew zbierano do zestawu Profilset, a hemolizaty analizowano w centralnym laboratorium DCCT. Średnie stężenie glukozy (MBG, *mean blood glucose*) obliczano na podstawie profili glikemii.

Podobnie jak w poprzedniej analizie [2], uaktualnione lub bieżące średnie stężenie HbA_{1c} obliczano jako średnią wszystkich kwartalnych pomiarów HbA_{1c} od momentu włączenia do badania, z uwzględnieniem wartości HbA_{1c} oznaczonej podczas bieżącej wizyty. Dla przykładu, uaktualniona średnia wartość dla każdego pacjenta w 12. miesiącu badania jest średnią wartości z miesięcy: 3., 6., 9. i 12.

W niniejszej pracy podjęto próbę powtórzenia analizy McCartera i wsp. [4] tak dokładnie, jak to możliwe, na podstawie opublikowanego opisu ich metody i osobistej korespondencji z autorami. Jednak program i dane użyte przez McCartera i wsp. zostały zagubione (wiadomość od R. McCartera). Dlatego zbiór danych użyty w prezentowanej pracy nie jest identyczny z tym, który analizowali McCarter i wsp. [4].

Indeks glikacji

Wartość HGI obliczono, używając tej samej metody, jaką opisano w pracy McCartera i wsp. [4]. W długookresowym modelu regresji dla wielokrotnych pomiarów [8] wartości HbA_{1c} oznaczone podczas każdej kwartalnej wizyty poddawano regresji w odniesieniu do najbardziej aktualnego MBG, obliczonego na podstawie profilu glikemii (z użyciem zestawu Profilset). Model skorygowano również względem wieku, płci, grupy DCCT, czasu trwania cukrzycy w chwili rozpoczęcia badania, przynależności do grupy interwencji pierwotnej vs. wtórnej i rasy. Przy każdej wizycie obliczano różnicę między stężeniem HbA_{1c} zmierzonym i przewidywanym na podstawie MBG i innych zmiennych niezależnych w modelu regresji, to jest wartości rezydualnej. Takie wartości rezydualne uśredniano podczas wszystkich wizyt dla każdego chorego w celu uzyskania wartości HGI. Pacjenci zostali uszeregowani w zależności od wartości HGI i podzieleni na 3 grupy (niskie, pośrednie, wysokie wartości HGI), zależnie od tercyli dystrybucji wartości HGI. U 1392 z 1441 włączonych chorych oznaczono wartości glikemii z użyciem zestawu Profilset i wykonano fotografie dna oka, ocenione po randomizacji, a u 1390 zmierzono AER.

Modele proporcjonalnego hazardu

W celu oceny wpływu HGI (przynależność do grupy o niskim, pośrednim lub wysokim HGI) na ryzyko progresji retinopatii lub nefropatii po skorygowaniu względem wartości wyjściowych innych zmiennych niezależnych zastosowano model regresji proporcjonalnego hazardu Coxa ze zmiennymi dyskretnymi, zależnymi od czasu. Początkowe modele były identyczne z użytymi przez McCartera i wsp. [4]. Następnie ponownie dostosowano modele, w odniesieniu do zależnego od czasu aktualnego stężenia HbA_{1c} w celu oceny wpływu wartości HGI.

Funkcję skumulowanego hazardu oraz odpowiedającą mu funkcję skumulowanej częstości powikłań określono, używając estymatora funkcji hazardu podstawowego Breslowa [9] i współczynnika obliczonego w modelu proporcjonalnego hazardu, korzystając z programu S-Plus w wersji 7.0 (Insightful, Seattle, WA). Następnie wyznaczono wykres skumulowanej częstości występowania każdego z powikłań, skorygowanej względem innych zmiennych niezależnych. Pozostałe analizy przeprowadzono z zastosowaniem programu SAS 8.2 (SAS Institute, Cary, NC). Przedstawiono statystycznie istotne wyniki dla wartości p mniejszej lub równej 0,05.

Wyniki

Właściwości statystyczne indeksu glikacji

Wartość HGI dla chorego podczas danej wizyty definiuje się [4, 5] jako różnicę między stężeniem HbA_{1c} zmierzonym w czasie wizyty a stężeniem przewidywanym na podstawie MBG (i innych czynników), oszacowanym za pomocą liniowego równania regresji. Średni HGI dla danej osoby oblicza się jako średnią matematyczną indeksów glikacji ze wszystkich wizyt.

Warto rozpatrzyć przykład pojedynczego pacjenta, gdzie H_j oznacza stężenie HbA_{1c} podczas wizyty j tego chorego, a G_j — wartość MBG obliczoną z próbek pobranych w zestawie Profilset, gdzie $j = 1, 2, \dots, J$ oznacza numer kolejnej wizyty pacjenta, który odbył J wizyt. W przypadku, gdy czas obserwacji wynosił 6,5 roku (przeciętnie w tym badaniu), $J = 26$ kwartalnych wizyt. Przewidywane stężenie HbA_{1c} podczas wizyty (h_j) dla zmierzonego stężenia glukozy oblicza się z liniowego równania regresji, z punktem przecięcia prostej a i współczynnikiem kierunkowym prostej b :

$$H_j = a + bG_j \quad [1]$$

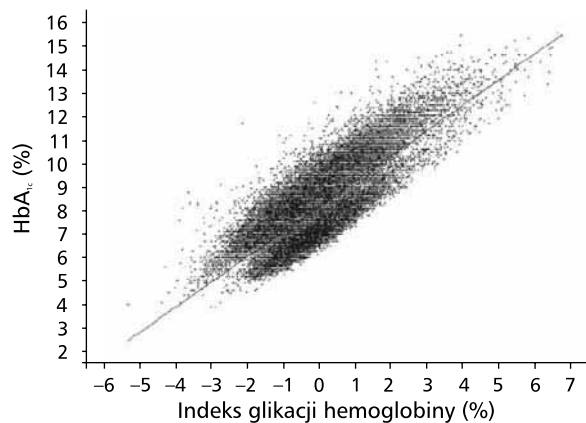
Wartość rezydualną (E_j) obliczono jako różnicę pomiędzy stężeniem HbA_{1c} zmierzonym i przewidzianym z modelu:

$$E_j = H_j - h_j = H_j - a - bG_j \quad [2]$$

A zatem wartość rezydualna dla danej wizyty jest liniową funkcją zarówno zmierzonego podczas tej wizyty stężenia HbA_{1c}, jak i stężenia glukozy.

Wartość HGI podczas wizyty j oblicza się w podobny sposób, ale jako wartość rezydualną z modelu regresji, który zawiera również inne czynniki poza MBG. Na rycinie 1 przedstawiono wykres punktowy zależności HbA_{1c} i HGI podczas wszystkich wizyt wszystkich pacjentów z oszacowaną prostą regresji. Korelacja wynosi 0,77, a współczynnik kierunkowy — 1,08. Jednoprocentowej różnicy wskaźnika HGI u poszczególnych chorych w czasie danej wizyty odpowiada różnica średniej wartości HbA_{1c} w czasie tej wizyty wynosząca 1,08%. Zatem istnieje silna zależność między wartościami HGI i HbA_{1c} przy każdej wizycie.

W analizie Mc Cartera i wsp. [4] wartość HGI dla osoby, która odbyła J wizyt, definiuje się jako średnią wartości HGI (wartości rezydualne) z wszystkich wizyt; w ten sposób uzyskuje się wskaźnik skłonności do glikacji u danego chorego. Jak wynika z równania [2], średnia wartość HGI dla danego pacjenta jest również funkcją średniego stężenia HbA_{1c} ze wszystkich wizyt (M_H) i średniej wartości glikemii (M_G) ze wszystkich wizyt, czyli HGI jest proporcjonalne do $M_H - a - bM_G$. Zatem istnieje silna zależ-



Rycina 1. Wykres punktowy HbA_{1c} vs. HGI dla wszystkich wizyt wszystkich chorych włączonych do badania DCCT z przewidywaną prostą regresji; punkt przecięcia osi Y 8,2; wskaźnik kierunkowy — wzrost HbA_{1c} o 1,08% na jednostkę wzrostu HGI; korelacja 0,77.

ność między średnim HGI a średnim stężeniem HbA_{1c} (M_H); współczynnik korelacji u chorych włączonych do badania DCCT wynosił 0,73.

Dlatego jeżeli chorzy zostaną podzieleni na grupy o wysokiej, pośredniej i niskiej wartości HGI, jak w badaniu McCarera i wsp. [4] oraz Hempe i wsp. [5], również rozkład średniego stężenia HbA_{1c} będzie podobny. Każda zależność między HGI i ryzykiem powikłań może być spowodowana związkiem między ryzykiem wystąpienia powikłań i stężeniem HbA_{1c}, ze względu na korelację między HGI a HbA_{1c}.

W niniejszej pracy autorzy powtórzyli wszystkie analizy przedstawione przez McCartera i wsp. [4], a następnie przeprowadzili dodatkową analizę po statystycznym skorygowaniu względem wartości HbA_{1c}, aby ustalić, czy HGI jest niezależnym czynnikiem ryzyka mikronaczyniowych powikłań w badaniu DCCT, niezwiązanym z HbA_{1c}.

Model regresji z użyciem HGI i HbA_{1c}

Jak wynika z danych przedstawionych w tabeli 1, rozkład poszczególnych parametrów poddanych analizie w badaniu był podobny w obu grupach.

Na rycinie 2 przedstawiono regresję HbA_{1c} w odniesieniu do MBG podczas wszystkich wizyt dla wszystkich chorych włączonych do badania i dla wszystkich osób z grupy niskiego, pośredniego i wysokiego HGI, przedstawioną wcześniej przez McCartera i wsp. [4]. Autorzy tej pracy nanieśli na wykresy poziomą prostą referencyjną w celu wskazania średniego stężenia HbA_{1c} podczas wszystkich wizyt. W tabeli 2 przedstawiono bieżące średnie wartości MBG, HGI i HbA_{1c} w każdej kategorii. Wszystkie 3 parametry były najmniejsze w grupie niskiego

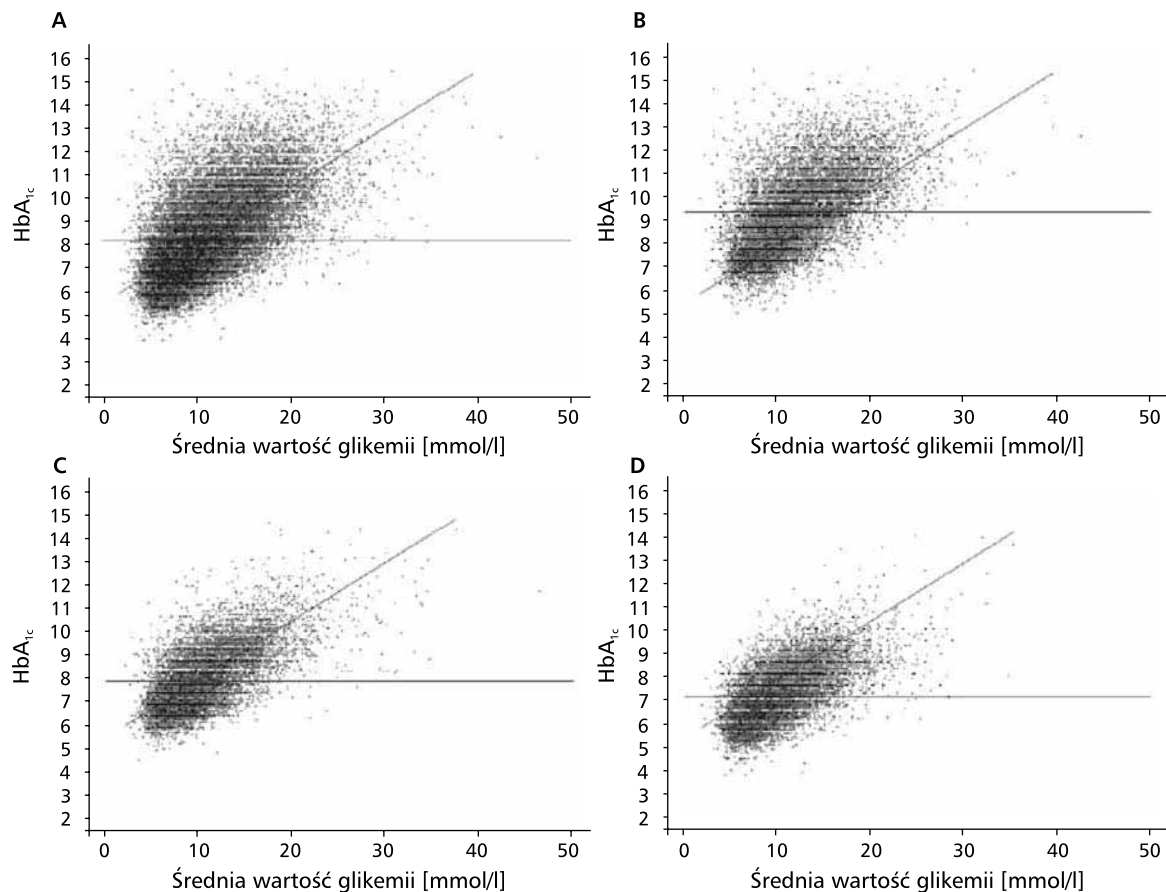
Tabela 1. Wyjściowa charakterystyka grup uczestników badania DCCT

	Terapia konwencjonalna	Terapia intensywna
n	729	710
Kohorta		
wtórna interwencja	377 ± 51,7	348 ± 49,0
pierwotna prewencja	352 ± 48,3	362 ± 51,0
Wiek (lata)	26,5 ± 7,1	27,1 ± 7,1
Rasa (kaukaska)	703 ± 96,4	686 ± 96,6
Płeć (mężczyźni)	394 ± 54,0	365 ± 51,4
Czas trwania cukrzycy typu 1 (lata)	5,7 ± 4,1	6,0 ± 4,2
HbA _{1c} przy kwalifikacji (%)	9,05 ± 1,63	9,08 ± 1,59
Średnie stężenie glukozy na początku badania DCCT [mmol/l]	12,8 ± 4,4	13,0 ± 4,6

HGI, większe w grupie pośredniej i największe w grupie wysokiego HGI. Średnia wartość HbA_{1c} wynosiła 7,25% w grupie niskiego HGI w porównaniu z 7,85%

w grupie umiarkowanego HGI i 9,34% w grupie wysokiego HGI.

Na rycinie 3A przedstawiono skumulowaną częstość występowania retinopatii w grupach wysokiego, pośredniego i niskiego HGI, jak wykazano w pracy McCartera i wsp. [4], nieskorygowaną względem HbA_{1c}. U chorych w grupie wysokiego HGI względne ryzyko jest 5,3-krotnie wyższe niż w grupie niskiego HGI, a u chorych z grupy pośredniego HGI — 2,6-krotnie wyższe niż w grupie niskiego HGI (oba $p < 0,0001$). Całkowity wpływ HGI we wszystkich trzech kategoriach jest wysoce znamieny [$p < 0,0001$ na 2 stopniach swobody (df, *degrees of freedom*)]. Na rycinie 3B przedstawiono skumulowaną częstość występowania retinopatii w każdej z 3 grup po skorygowaniu względem uaktualnionej średniej HbA_{1c}. Po dodaniu grupy HGI do modelu z HbA_{1c} porównanie parami grup wysokiego i niskiego HGI oraz grup pośredniego i niskiego HGI nie wykazało, by względne ryzyko znamienne różniło się od jedności, a całkowity wpływ HGI nie był już znamieny ($p = 0,50$ na 2 df).

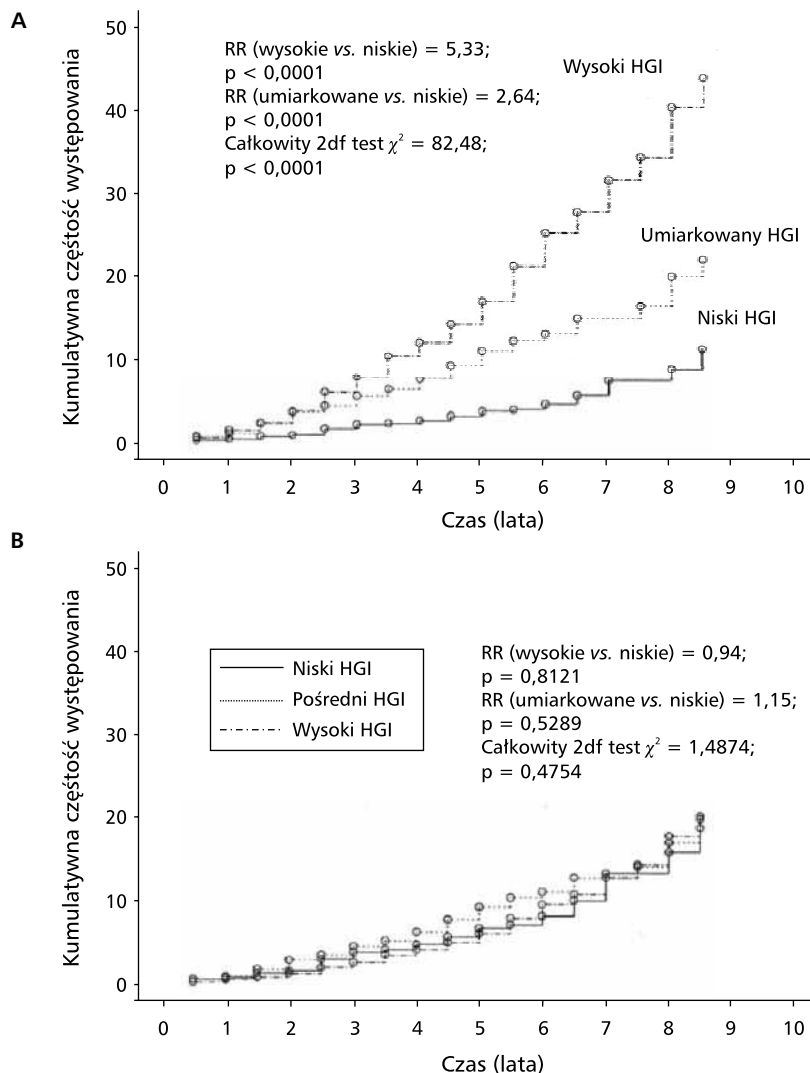


Rycina 2. Wykres punktowy zależności między zmierzonym HbA_{1c} vs. MBG z profilu glikemii podczas wszystkich wizyt w badaniu DCCT. A. Wszyscy uczestnicy badania. B–D. uczestnicy badania z grupy o wysokim, pośrednim i niskim HGI, odpowiednio. Prosta regresji w każdym panelu obliczono metodą regresji HbA_{1c} w odniesieniu do MBG w populacji. Linia pozioma odpowiada średniemu stężeniu HbA_{1c} w każdym panelu.

Tabela 2. Średnie stężenie glukozy (MBG), indeks glikacji (HGI) i HbA_{1c} z wszystkich wizyt w grupach chorych z niskim, pośrednim i wysokim HGI

Grupa HGI	n (osób)	n (obs)	MBG	HGI	HbA _{1c}
Niski (< -0,425)	467	11 338	10,00 (3,75)	-0,91 (0,78)	7,25 (1,17)
Pośredni (-4,25 do 0,249)	470	11 351	10,17 (3,99)	-0,09 (0,75)	7,85 (1,29)
Wysoki (> 0,25)	502	11 350	12,20 (4,68)	0,92 (1,12)	9,34 (1,66)

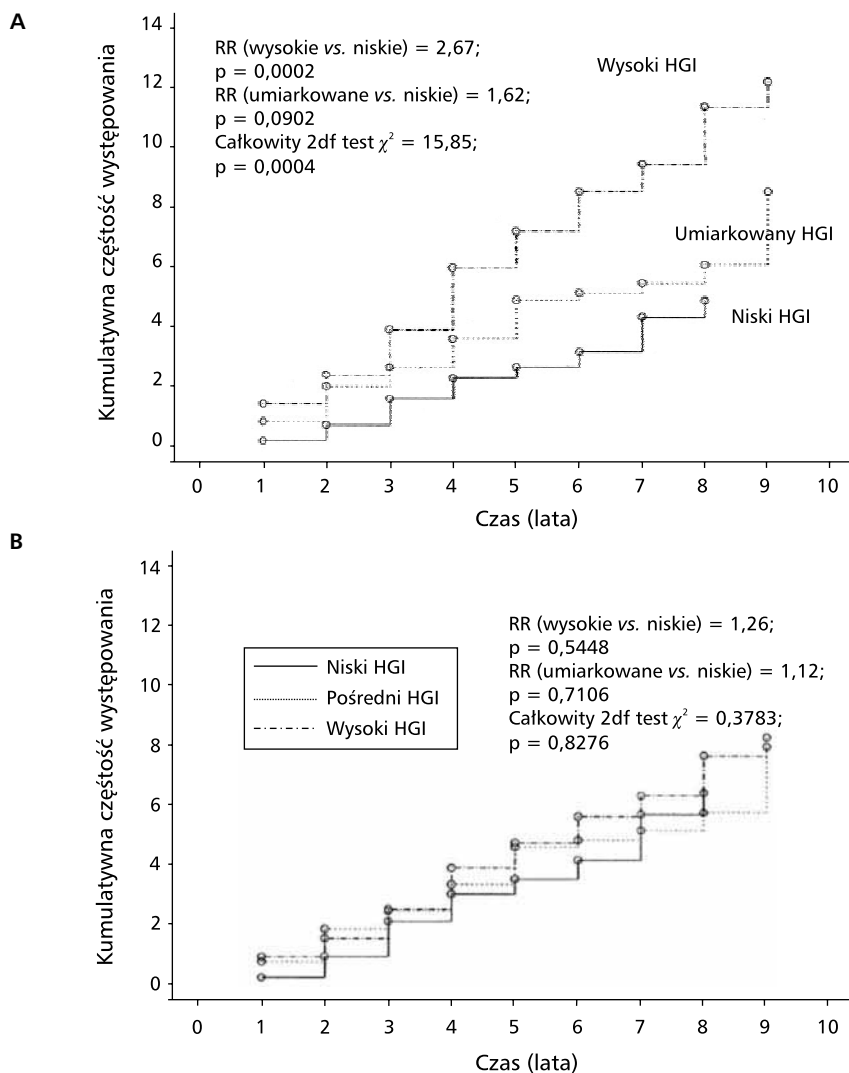
Przedstawiono dane uśrednione (SD, standard deviation); obs (quarterly visit values) — wartości z kwartalnych wizyt



Rycina 3. Skumulowana częstość progresji retinopatii w grupach o wysokim, pośrednim i niskim HGI, uzyskana z modelu regresji proporcjonalnego hazardu Coxa po skorygowaniu względem wieku, czasu trwania cukrzycy, płci, grupy leczenia, kohorty i MBG jako zmiennych objaśniających zależnych od czasu. Skorygowane ryzyko względne (RR, *relative risk*) dla pośredniego vs. niskiego HGI i dla wysokiego vs. niskiego HGI z wartością p i całkowitym 2df testu Walda, χ^2 i wartości p ; **A.** dane nieskorygowane względem HbA_{1c}; **B.** dane skorygowane względem przygodnego HbA_{1c} i zależnego od czasu bieżącego uaktualnionego stężenia HbA_{1c}

Na rycinie 4A przedstawiono skumulowaną częstość wystąpienia nefropatii (zaawansowana mikroalbuminuria) dla każdej grupy HGI, nieskorygowaną względem HbA_{1c}; widoczna jest wyso-

ce znamienne różnica między grupami. Jednak po skorygowaniu względem uaktualnionego stężenia HbA_{1c} (ryc. 4B) wpływ HGI przestaje być znamienny.



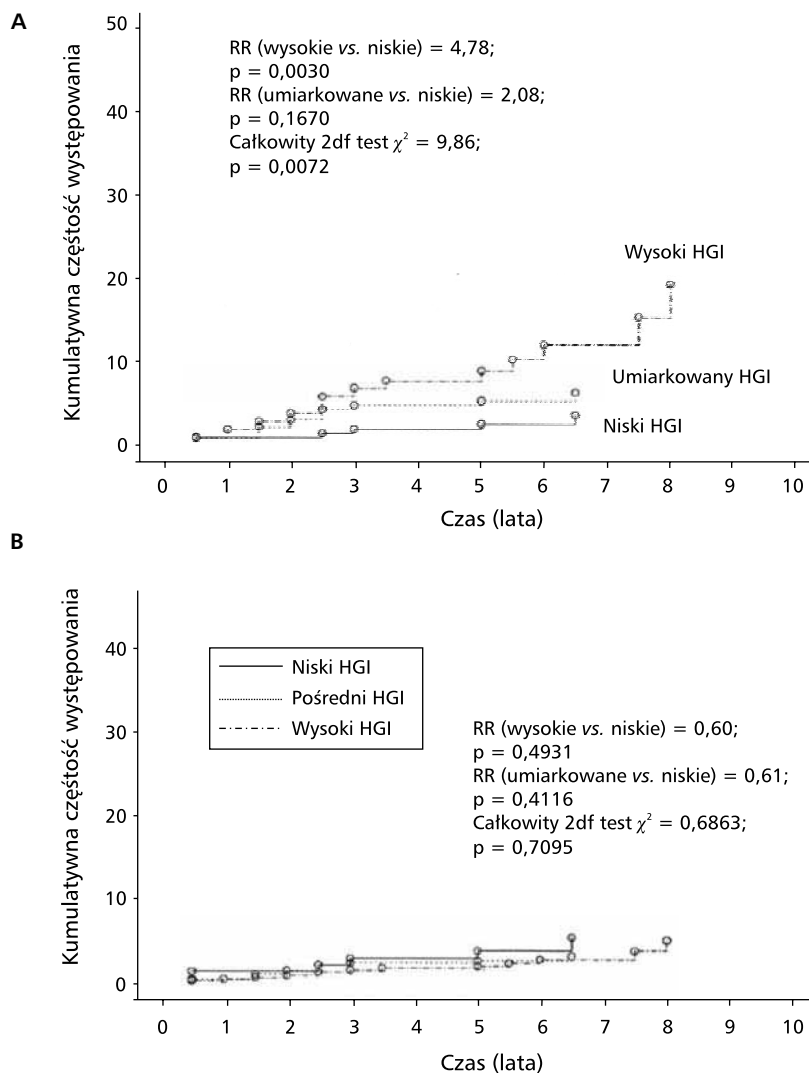
Rycina 4. Skumulowana częstość progresji nefropatii (zaawansowana mikroalbuminuria) w grupach wysokiego, pośredniego i niskiego HGI, uzyskana z modelu regresji proporcjonalnego hazardu Coxa po skorygowaniu względem wieku, czasu trwania cukrzycy, płci, grupy leczenia, kohorty i MBG jako zmiennych objaśniających zależnego od czasu. RR skorygowany względem pośredniego vs. niskiego HGI z wartością p i całkowity 2df w teście Walda, χ^2 i wartość p ; **A.** dane nieskorygowane względem HbA_{1c} ; **B.** dane skorygowane względem przygodnej HbA_{1c} i zależnego od czasu uaktualnionego średniego stężenia HbA_{1c} .

McCarter i wsp. [4] również przeprowadzili analizę porównawczą ryzyka wystąpienia retinopatii w kategoriach HGI wśród osób z najniższego i najwyższego tercyla wartości MBG (grupy niskiego i wysokiego MBG).

Dyskusja

Indeks glikacji oblicza się jako średnią różnicę (lub średnią wartość rezydualną) między zmierzonym stężeniem HbA_{1c} , stężeniem przewidzianym z równania regresji na podstawie MBG oraz innych wyjściowych czynników. Ze statystycznych proporcji tak wyliczonej różnicy wynika, że HGI musi być silnie skojarzony ze średnim stężeniem HbA_{1c} .

W odpowiedzi na wcześniejsze krytyczne publikacje autorów niniejszej pracy [6] Chalew i wsp. [10] zanegowali możliwość scharakteryzowania HGI jako wartości rezydualnej, ponieważ wartość oznaczona u każdego chorego „reprezentuje pomiar każdej średniej kierunkowej dywergencji stężenia HbA_{1c} od przewidzianego z kilkudziesięciu kwartalnych pomiarów; nie jest to jedynie wartość rezydualna z pojedynczej regresji”. Innymi słowy, według autorów HGI jest średnią tych wartości rezydualnych. Przyjęcie średnich tych wartości nie zmienia podstawowych właściwości HGI. W pracy tych autorów korelacja HGI obliczonego dla każdego pacjenta z jego średnim stężeniem HbA_{1c} w czasie trwania badania



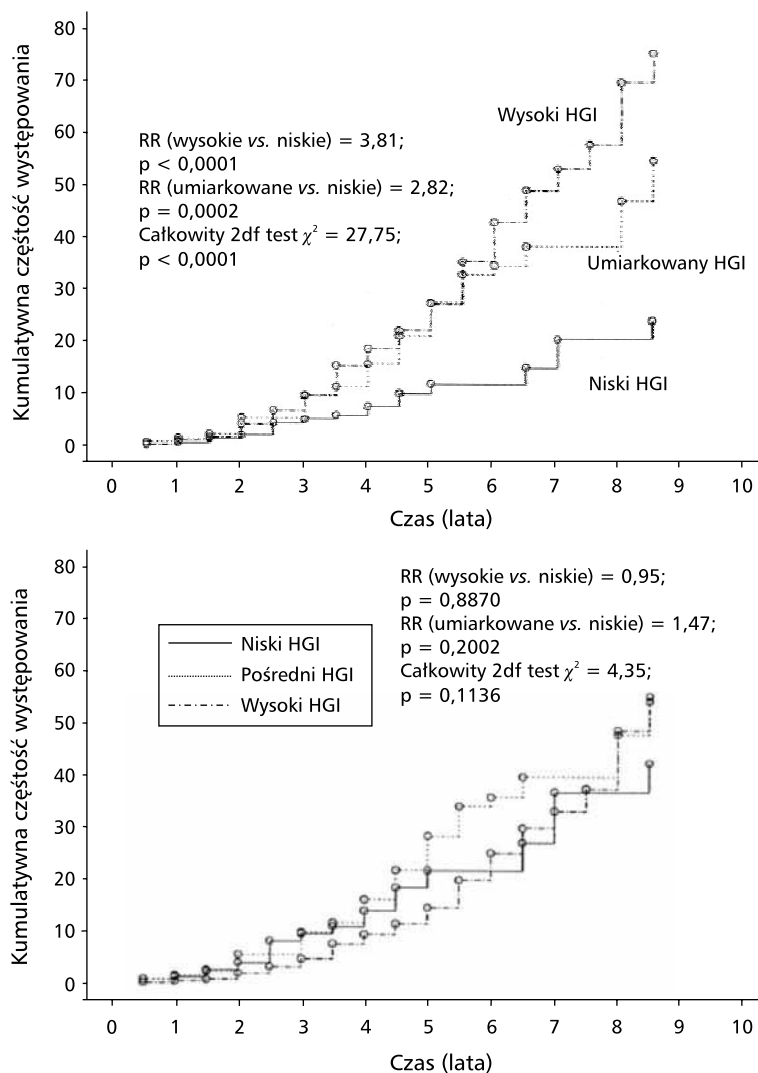
Rycina 5. Skumulowana częstość progresji retinopatii w grupach o wysokim, pośrednim i niskim HGI dla chorych z grupy niskiego MBG, uzyskana z modelu regresji proporcjonalnego hazardu Coxa po skorygowaniu względem wieku, czasu trwania cukrzycy, płci, grupy leczenia, kohorty i MBG jako zależnych od czasu zmiennych objaśniających. Skorygowane RR dla grupy o pośrednim vs. niskim HGI i dla grupy o wysokim vs. niskim HGI z wartością p i całkowitym 2df w teście Walda, χ^2 i wartością p ; **A.** dane nieskorygowane względem HbA_{1c} ; **B.** dane skorygowane względem przygodnego HbA_{1c} i zależnego od czasu uaktualnionego średniego stężenia HbA_{1c}

DCCT wynosiła 0,73, co dowodzi absurdalności pytania, który z parametrów — stężenie HbA_{1c} czy HGI — jest najsilniej skojarzony z ryzykiem wystąpienia powikłań.

W poprzednich analizach [2, 3] wykazano, że bieżące uaktualnione średnie HbA_{1c} są głównym determinantem ryzyka mikronaczyniowych powikłań w badaniu DCCT. Dlatego, jak stwierdzono we wcześniejszej pracy autorów niniejszego doniesienia [6], HGI może zastępować HbA_{1c} , a fakt, że istnieje również zależność między HGI a ryzykiem powikłań, jest statystyczną tautologią. Jedynym sposobem, by się przekonać, czy wskaźnik HGI sam w sobie, czy też jego korelacja z HbA_{1c} tłumaczy powiązanie między

HGI a ryzykiem wystąpienia powikłań, jest przeprowadzenie analizy z obiema zmiennymi. W odpowiedzi na wcześniejsze krytyczne uwagi autorów niniejszego artykułu [6] Chalew i wsp. [10] twierdzili, że takie podejście byłoby niecelowe, „ponieważ HbA_{1c} jest silnie powiązane z MBG”. Faktem jest, co wykazano wcześniej, że korelacja między HbA_{1c} a MBG wynosi $r = 0,65$ — dużo poniżej poziomu ($r > 0,95$), przy którym można mówić o współliniowości.

Zaprezentowana analiza przenosi debatę na dalszy etap — oceny, czy rzekoma skłonność do glikacji, mierzona przez HGI, jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia retinopatii i nefropatii po skorygowaniu względem stężenia HbA_{1c} . W anali-



Rycina 6. Skumulowana częstość progresji retinopatii w grupach o wysokim, pośrednim i niskim HGI dla chorych z grupy wysokiego MBG, uzyskana z modelu regresji proporcjonalnego hazardu Coxa po skorygowaniu względem wieku, czasu trwania cukrzycy, płci, grupy leczenia, kohorty i MBG jako niezależnych od czasu zmiennych objaśniających. Skorygowane RR dla grupy o pośrednim vs. niskim HGI i dla grupy o wysokim vs. niskim HGI z wartością p i całkowitym 2df w teście Walda, χ^2 i wartości p ; **A.** dane nieskorygowane względem HbA_{1c} ; **B.** dane skorygowane względem wybranego HbA_{1c} i zależnego od czasu uaktualnionego średniego stężenia HbA_{1c}

zach wykazano ostatecznie, że to stężenie HbA_{1c} , a nie HGI, determinuje ryzyko wystąpienia powikłań. Związek między HGI a ryzykiem wystąpienia powikłań, opisany wcześniej przez McCartera i wsp. [4], jest zatem spowodowany jego współzależnością z HbA_{1c} , natomiast po skorygowaniu względem HbA_{1c} nie stwierdza się już wpływu HGI na częstość powikłań.

Podobny współczynnik dyskordancji między zmierzonym stężeniem HbA_{1c} i innymi parametrami kontroli glikemii, zwłaszcza stężeniem fruktozaminy, nazywany luką glikozylacji, opisali Cohen i wsp. [11]. Luka glikozylacji jest zdefiniowana podobnie jako różnica między zmierzonym stężeniem HbA_{1c} a stężeniem przewidzianym z regresji na podstawie stężenia fruktozaminy. Wykazano, że ten parametr był

skojarzony z poziomem nefropatii w przekrojowej grupie chorych na cukrzycę. W tej małej grupie ($n = 40$) osób chorujących na cukrzycę typu 1 średnio od 30 lat nie wykazano związku między samym stężeniem HbA_{1c} a stopniem zaawansowania nefropatii, natomiast luka glikozylacji była z nim silnie związana, nawet po skorygowaniu względem stężenia HbA_{1c} . Fakt, że wykonano jedynie pojedynczy pomiar HbA_{1c} i że nie był on skojarzony z poziomem nefropatii, wymaga wyjaśnienia znaczenia tych wyników.

Mimo że HGI, obliczony z danych DCCT, może nie być niezależnym czynnikiem ryzyka mikronaczyniowych powikłań, wyniki tego badania wyraźnie wykazują, że dla danej wartości MBG stężenie HbA_{1c} u poszczególnych chorych jest znacznie zróżnicowa-

ne. Podstawą analizy McCartera i wsp. [4] było przypuszczenie, że tę „biologiczną zmienność” stężenia HbA_{1c}, w zależności od wartości glikemii, można przypisać zmienności teoretycznego biologicznego indeksu glikacji u pacjentów [4], który wynika z tego, że u osób z taką samą średnią glikemią prędkość glikacji (lub deglikacji) białek może być różna [12, 13]. Rzeczywisty biologiczny mechanizm, który mógłby wytłumaczyć te teoretyczne różnice między pacjentami, nie został przedstawiony.

Istnieją inne możliwe wyjaśnienia obserwowanej zmienności HbA_{1c}, zależnej od wartości glikemii. Najważniejszym potencjalnym wytłumaczeniem jest fakt, że kwartalne pomiary 7-punktowych profili w badaniu DCCT nie uchwyciły rzeczywistego stężenia glukozy lub tych składowych profili glukozy, które z kolei determinują mierzone stężenia HbA_{1c}; możliwe jest również wystąpienie błędów przy pobieraniu próbek krwi. Ponadto w badaniu DCCT korelacja między MBG a HbA_{1c} w czasie wizyt wynosiła jedynie 0,65, co sugeruje, że kwartalny zestaw profili był źródłem miernych informacji dotyczących skojarzenia między stężeniem HbA_{1c} a wartościami glikemii w ciągu ostatnich tygodni. W 2 wcześniejszych badaniach wykazano dużo wyższe korelacje ($r = 0,95$ lub $r = 0,96$) między średnimi wartościami glikemii, które obliczono na podstawie częstych codziennych pomiarów glikemii przez 4–8 tygodni i pojedynczego pomiaru HbA_{1c}, wykonanego pod koniec badania [14, 15]. Chociaż stosunkowo mała liczebność grupy chorych włączonych do tych badań mogła spowodować, że w próbie nie znalazły się osoby o wysokim lub niskim wskaźniku glikacji, bardzo wysokie wskaźniki korelacji uzyskane w 2 niezależnych próbach sugerują, iż zmienność glikacji, jeśli istnieje, nie jest częsta.

Aby precyzyjnie wykazać zależność między HbA_{1c} i dobową zmiennością glikemii, konieczne jest ciągłe monitorowanie stężenia glukozy z częstymi pomiarami HbA_{1c} przez wiele miesięcy. Na podstawie długookresowych danych dotyczących progresji powikłań można by wyznaczyć dokładniejszy HGI, który mógłby się okazać niezależnym czynnikiem ryzyka progresji powikłań. Jednak HGI wyliczony na podstawie dostępnych danych z badania DCCT, ograniczonych do kwartalnych, mierzonych jednocześnie stężeń MBG i HbA_{1c}, nie wykazuje wpływu na ryzyko powikłań po skorygowaniu względem HbA_{1c}.

Kolejnym czynnikiem, który może się przyczynić do zmienności HbA_{1c}, jest zmienność długości życia czerwonych krwinek [16]. Dla danej wartości dobowej glikemii zmienność długości życia czerwonych krwinek u poszczególnych osób będzie najpraw-

dopodobniej powodowała zmienność stężenia HbA_{1c} i HGI, który z definicji stanowi odchylenie mierzonego oraz oczekiwanego stężenia HbA_{1c}. Niedawno opublikowano wyniki dotyczące odwróconej korelacji między przeżyciem erytrocytów a stężeniem HbA_{1c}, co sugeruje, że niekorzystne działanie złej kontroli glikemii na czas przeżycia erytrocytów może skomplikować tę zależność [17].

Innym dowodem potwierdzającym istnienie międzypersonicznej zmienności glikacji dla takich samych stężeń glukozy we krwi jest obecność dziedzicznego czynnika, który prawdopodobnie wpływa na stężenie HbA_{1c} [18]. Mimo że opublikowano wyniki prac, w których opisywano korelację wynoszącą 0,68 między stężeniami HbA_{1c} u bliźniąt chorujących na cukrzycę typu 1 i 0,52 między stężeniami HbA_{1c} u bliźniąt, z których tylko jedno chorowało na cukrzycę, nie dokonano niezależnego pomiaru wartości glikemii u bliźniąt chorujących na cukrzycę. A zatem nie udało się ustalić, czy stopień zgodności stężeń HbA_{1c} wiązał się ze zgodnością w zakresie przeciętnej wartości glikemii lub z innym czynnikiem, takim jak przekazywana genetycznie szybkość glikacji.

Przeprowadzono bardzo niewiele analiz zależności między wartością glikemii a ryzykiem powikłań. Na podstawie analizy części danych DCCT Service i O'Brien [19] stwierdzili, że uaktualniona MBG jest czynnikiem ryzyka retinopatii. Jednak należy zauważyć, że skorygowanie względem MBG podczas fazy obserwacji w badaniu DCCT nie zmieniło znamiennej zależności między bieżącym średnim stężeniem HbA_{1c} a ryzykiem wystąpienia powikłań i nie było niezależnym czynnikiem ryzyka po dodaniu do HbA_{1c}. Kilpatrick i wsp. przeprowadzili ostatnio analizę danych i wykazali, że nie ma związku między zmiennością stężenia glukozy w ciągu dnia i w różnych dniach, określoną na podstawie kwartalnych oznaczeń w zestawach Profilset, a ryzykiem wystąpienia powikłań. A zatem we wszystkich dostępnych analizach wykazano, że najsilniejszym czynnikiem ryzyka jest samo stężenie HbA_{1c}, a nie wartość glikemii lub HGI. Uważa się, że formowanie się zaawansowanych końcowych produktów glikacji (AGE, *advanced glycation end products*) tworzy jedną ścieżkę w patogenezie powstawania mikronaczyniowych powikłań [21]. Istnieje dowód z dodatkowej analizy z badania DCCT, że glikacja kolagenu, wyrażona zawartością furozyny, oraz dalsze formowanie się AGE, wyrażone zawartością karboksymetylizyny, są czynnikami predykcyjnymi rozwoju i progresji retinopatii cukrzycowej, a także nefropatii, niezależnych od stężenia HbA_{1c} [22, 23]. Te analizy wykazują, że stężenie AGE może być mechanizmem, w którym utrzymanie wysokie-

go stężenia HbA_{1c} powoduje wyższe ryzyko progresji lub wystąpienia powikłań.

Zmienna skłonność do glikacji białek innych niż hemoglobina, prawdopodobnie zależna od czynników genetycznych, może zwiększać ryzyko wystąpienia powikłań, poza tymi czynnikami ryzyka, które przypisuje się przewlekłej hiperglikemii. Jednak w niniejszej analizie wykazano, że to stężenia HbA_{1c}, a nie HGI, determinują to ryzyko.

Podsumowując, w zaprezentowanej analizie dowiedziono, że u osób ze zróżnicowaną wartością HGI stężenia HbA_{1c} także przybierają odmienne wartości. Mimo że wyższe wartości HGI wiążą się ze zwiększonym ryzykiem powikłań, wpływ ten jest całkowicie spowodowany korelacją między HGI a stężeniem HbA_{1c}. U osób z tym samym stężeniem HbA_{1c} odmienna wartość HGI nie wpływa na zróżnicowanie ryzyka wystąpienia powikłań. Dlatego autorzy odrzucają sugestię McCartera i wsp. [4] opartą na danych dotyczących HbA_{1c} i wartości glikemii z badania DCCT, że u osób ze skłonnością do glikacji występuje zwiększone ryzyko powikłań, niezależnie od stężenia HbA_{1c}. Dane autorów niniejszej pracy wskazują, że osoby, u których hiperglikemia utrzymuje się przez podobny czas (HbA_{1c}), będą miały podobne ryzyko wystąpienia powikłań i że im niższe stężenie HbA_{1c}, tym niższe ryzyko powikłań, niezależnie od stężenia HGI.

Klinicyści i badacze nie powinni zastępować stężenia HbA_{1c} przez HGI w celu oceny ryzyka wystąpienia powikłań u poszczególnych chorych lub u grupy pacjentów ani uzależniać od tego wskaźnika decyzji o intensyfikacji leczenia. Klinicyści powinni dążyć do osiągnięcia zalecanych wartości HbA_{1c} i glikemii u wszystkich chorych i nie sugerować się wskaźnikiem HGI.

Podziękowania

Badanie zostało dofinansowane przez *Division of Diabetes, Endocrinology and Metabolic Disease, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*.

PIŚMIENNICTWO

1. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: the effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl. J. Med.* 1993; 329: 977–986.
2. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: the relationship of glycemic exposure (HbA_{1c}) to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1995; 44: 968–983.
3. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: the absence of a glycemic threshold for the development of long-term complications: the perspective of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1996; 45: 1289–1298.
4. McCarter M.J., Gomez R., Hempe J.M., Chalew S.A. Biological variation in HbA_{1c} predicts risk of retinopathy and nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1259–1264.
5. Hempe J.M., Gomez R., McCarter R.J., Chalew S.A. High and low hemoglobin glycation phenotypes in type 1 diabetes: a challenge for interpretation of glycemic control. *J. Diabetes Complications* 2002; 16: 313–320.
6. Genuth S., Nathan D.M., Lachin J.M. Biological variation in HbA_{1c} predicts risk of retinopathy and nephropathy in type 1 diabetes: response to McCarter et al. *Diabetes Care* 2005; 28: 234–235.
7. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy: ETDRS report number 12. *Ophthalmology* 1991; 98 (supl.): 823–833.
8. Diggle P.J., Liang K.Y., Zeger S.L. *Analysis of Longitudinal Data*. Oxford University Press, New York 1994.
9. Kalbfleisch J.D., Prentice R.L. *The statistical analysis of failure time data*. John Wiley & Sons, New York 1980.
10. Chalew S.A., Hempe J.M., McCarter M.J. Biological variation in HbA_{1c} predicts risk of retinopathy and nephropathy in type 1 diabetes: response to Genuth, Lachin, and Nathan. *Diabetes Care* 2005; 28: 234–235.
11. Cohen R.M., Holmes Y.R., Chenier T.C., Joiner C.H. Discordance between hemoglobin A1c and fructosamine: evidence for a glycosylation gap and its relation to nephropathy in long-standing type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 163–167.
12. Delpierre G., Collard F., Fortpied J., Van Schaftingen E. Fructosamine 3-kinase is involved in an intracellular deglycation pathway in human erythrocytes. *Biochem. J.* 2002; 365: 801–808.
13. Szwegold B.S., Beisswenger P.J. Enzymatic deglycation: a new paradigm or an epiphenomenon? *Biochem. Soc. Trans.* 2003; 31: 1428–1432.
14. Svendsen P.A., Lauritzen T., Soegaard U., Nerup J. Glycosylated hemoglobin and steady state mean blood glucose concentrations in type 1 (insulindependent) diabetes. *Diabetologia* 1982; 23: 403–405.
15. Nathan D.M., Singer D.E., Hurxthal K., Goodson J.D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Engl. J. Med.* 1984; 310: 341–346.
16. Gould B.J., Davie, Yudkin J.S. Investigation of the mechanism underlying the variability of glycated hemoglobin in nondiabetic subjects not related to glycemia. *Clin. Chem. Acta* 1997; 260: 49–64.
17. Virtue M.A., Furne J.K., Nuttal F.Q., Levitt M.D. Relationship between GHB concentration and erythrocyte survival determined from breath carbon monoxide concentration. *Diabetes Care* 2004; 27: 931–935.
18. Snieder H., Sawtell P.A., Ross L., Walker J., Spector T.D., Leslie R.D.G. HbA_{1c} levels are genetically determined even in type 1 diabetes. *Diabetes* 2001; 50: 2858–2863.
19. Service F.J., O'Brien P.C. The relation of glycemia to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetologia* 2001; 44: 1215–1220.
20. Kilpatrick E.S., Rigby A.S., Atkin S.L. The effect of glucose variability on the risk of microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 1486–1490.
21. Vlassara H., Palace M.R. Diabetes and advanced glycation end-products. *J. Int. Med.* 2002; 251: 87–101.
22. Monnier V.M., Bautista O., Kenny D. i wsp. Skin collagen glycation, glycoxidation, and crosslinking are lower in subjects with long-term intensive versus conventional therapy of type 1 diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 870–880.
23. Genuth S.M., Sun W., Cleary P. i wsp. Glycation and carboxymethyllysine levels in skin collagen predict the risk of future progression of diabetic retinopathy and nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial and epidemiology of diabetes interventions and complications participants with type 1 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 3103–3111.