"اندازه گیری هموگلوبین گلیکوزیله پایدار ($Hb\ A_1$) و ناپایدار ($pre\text{-}Hb\ A_{1c}$)"

به روش کروماتوگرافی تعویض یونی نزد افراد مبتلا به دیابت

[1] دکتر علی ترجمان

خلاصه

درحال حاضر اندازه گیری هموگلوبین های گلیکوزیله بخصوص قسمت پایدار هموگلوبین A_{1c} ($Hb\ A_{1c}$) یکی از راههای کنترل بیماری دیابت بوده زیرا این اندازه گیری می تواند مشخص کننده گلیسمی توتال در یک، دو یا سه ماه گذشته باشد. هموگلوبین گلیکوزیله A_1 به سه صورت A_{1a}, A_{1b}, A_{1c} وجود دارد که از بین آنها هموگلوبین A_{1c} از نظر مقدار از دو قسمت دیگر بیشتر بوده و از نظر ساختمان شیمیایی اختلاف آن با سایر هموگلوبین ها اتصال یک مولکول گلوکز در N انتهایی رشته β در روی اسید آمینه والین بدون دخالت آنزیم بوده، قندی شدن این پروتئین ($Hb\ A_{1c}$) خیلی بکندی انجام می گیرد و در تمام طول زندگی گلبولهای قرمز ادامه دارد. تشکیل $Hb\ A_{1c}$ در دو مرحله مختلف انجام می گیرد:

- مرحله اول پیدایش فرم ناپایدار بنام آلدیمین (Aldimine) یا Base de schiff یا $Pre\text{-}HbA_{1c}$ که قابل برگشت بوده و تشکیل آن خیلی سریعتر از مرحله دوم می باشد.
- مرحله دوم تشکیل ستوامین (Cetoamine) یا فرم پایدار هموگلوبین گلیکوزیله.

در این مقاله هدف اصلی مقایسه مقدار هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار (Fraction labile) و قسمت پایدار آن با گلیسمی می باشد. نتایج بدست آمده نشان می دهد که ارتباط نزدیکی بین هموگلوبین گلیکوزیله توتال و قسمت ناپایدار آن وجود دارد، مقدار هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار با زیاد شدن هموگلوبین افزایش می یابد. رابطه بین هموگلوبین گلیکوزیله و قند خون ناشتا که بر روی همان نمونه خون انجام شده مستقیم و معنی دار می باشد. مقایسه ارتباط قسمت هموگلوبین گلیکوزیله پایدار و ناپایدار با مقدار گلیسمی که به چهار گروه مختلف تقسیم شده (۱g/L، ۱-۲g/L، ۲-۳ g/L، ۳-۴ g/L) نشان می دهد که مقدار هموگلوبین پایدار و ناپایدار با گلیسمی رابطه مستقیم دارد یعنی هرچه مقدار گلیسمی بیشتر باشد به همان نسبت مقدار هموگلوبینهای پایدار و ناپایدار بیشتر خواهد بود و همیشه ارتباط قسمت پایدار با گلیسمی بهتر از قسمت ناپایدار آن می باشد. همچنین ارتباط نزدیک بین قسمت پایدار و ناپایدار هموگلوبین گلیکوزیله نشانگر آن است که بیماران مبتلا به دیابت که تحت کنترل کامل نباشند مقدار $Pre\text{-}Hb\text{-}A_{1c}$ "شاخص تغییرات گلیسمی در کوتاه مدت" و هموگلوبین گلیکوزیله پایدار " شاخص تغییرات گلیسمی در از مدت" همزمان افزایش می یابد.

[1] استادیار، متخصص بیوشیمی، دانشکده پزشکی - رشت

مقدمه:

کشف بالا رفتن یکی از قسمتهای گلیکوزیله هموگلوبین (La Fraction mineure) در سال ۱۹۶۸ توسط رهبر (۱) در دانشگاه تهران مبدأ مطالعات هموگلوبین های گلیکوزیله در نزد بیماران مبتلا به بیماری دیابت بوده. در حال حاضر اندازه گیری هموگلوبین های گلیکوزیله یکی از راههای تشخیص بیماری دیابت بوده زیرا این اندازه گیری می تواند شاخص مقدار گلیسمی توتال در یک یا دو یا سه ماه گذشته باشد. در حال حاضر پروتئینهای دیگری را می شناسیم که بدون دخالت آنزیم گلیکوزیله می شوند، نظیر پروتئینهای پلاسمای خون و پروتئینهای بافتی (Proteines tissulaires) (۲ و ۳ و ۴). مطالعات این پروتئینها علاوه بر هموگلوبین می تواند کمکی برای کنترل بیماران مبتلا به دیابت باشد. این پروتئینهای قندی شده بدون دخالت آنزیم می توانند یک نقش اصلی در ضخیم شدن غشای کاپیلرهای خونی داشته باشد که منجر به پیدایش عوارض آنژیوپاتی (Angiopathies)، رتینوپاتی (Retinopathies) و نفروپاتی (Nephropathies) در نزد بیماران مبتلا به دیابت می گردد.

از نظر تاریخی هموگلوبین قندی شده بدون دخالت آنزیم در سال ۱۹۵۸ توسط Allen و همکارانش کشف شد (۵) این گروه بوسیله کروماتوگرافی گلبولهای قرمز لیز شده روی یک کلن که دارای رزین (resine) تعویض یونی موفق به مجزا کردن دو هموگلوبین شدند که آنها را هموگلوبین A_1، A_0 نامیدند. این گروه قسمت A_1 را دوباره کروماتوگرافی کرده و سه هموگلوبین فرعی به نام های A_{1a}، A_{1b}، A_{1c} جدا کردند که از میان آنها هموگلوبین A_{1c} از نظر مقدار از دو قسمت دیگر بیشتر می باشد.

در سال ۱۹۶۲ Huisman و همکارانش (۶) گزارش دادند که مقدار هموگلوبینهای فرعی (a+b+c) در نزد بیماران مبتلا به دیابت به دو یا حتی سه برابر بیشتر از افراد سالم می باشد.

در سال ۱۹۶۴، ۱۹۶۶ عده ای از محققین آمریکائی (۷ و ۸) ثابت کردند که اختلاف بین هموگلوبین فرعی A_{1c} و هموگلوبین A_0 وجود ملکول گلوکز روی اسید امینه والین در قسمت انتهایی رشته β هموگلوبین می باشد.

در سال ۱۹۶۸ رهبر (۱) مطالعاتی را در نزد ۱۲۰۰ نفر از افراد که به نظر وی سالم بودند در دانشگاه تهران انجام داد ولی در میان این افراد دو نفر بودند که مقدار هموگلوبین قندی شده آنها بیشتر از سایرین بوده و این امر باعث شد که در مورد این دو نفر تحقیقاتی صورت بگیرد و بالاخره مشخص شد که افراد فوق الذکر مبتلا به بیماری دیابت می باشند. رهبر برای ثابت کردن این امر که هموگلوبین قندی شده بدون دخالت آنزیم در نزد بیماران مبتلا به دیابت بیشتر از افراد سالم می باشد آزمایشات خود را نزد ۴۷ بیمار مبتلا به دیابت ادامه داد و ثابت کرد مقدار هموگلوبینهای فرعی بخصوص $Hb\ A_{1c}$ در نزد بیماران مبتلا به دیابت بیشتر از افراد سالم می باشد.

در سال ۱۹۷۸ Macdonald و همکارانش (۹) نشان دادند که هموگلوبین A_{1a} از دو قسمت مختلف ساخته شده (A_1a_2, A_1a_1) (جدول ۱) و قندهای متصل به هرکدام با یکدیگر فرق می کنند برای هموگلوبین $A_1\ a_1$ اتصال با یک مولکول فروکتوز ۱، ۶-دی فسفات و برای $Hb\ A_1\ a_2$ اتصال یک مولکول گلوکز ۶ فسفات بر روی اسید امینه والین قسمت انتهایی رشته β می باشد.

نظریات در مورد هموگلوبین A_{1b} فرق می کند بعضی ها

معتقدند(۱۰) که این پروتئین مثل هموگلوبین $A_1\ a_2$ بوده یعنی اتصال یك مولکول گلوکز ۶فسفات به قسمت انتهایی (N-انتهایی) رشته β بوده و عده‌ای دیگر(۱۱) معتقدند که این پروتئین قندی نیست و فقط اختلاف آن با پروتئین های قندی شده در آن است که یکی از اسیدهای آمینه آسپارژین یا گلوتامین رشته β عامل امین خود را از دست داده و به نظر همین محققین این پروتئین فقط در گلبولهای مسن دیده می شود.

ساختمان هموگلوبین A_{1c} توسط Schroeder, Holmquist (۸) شناخته شده و آنها مشخص کردند که اختلاف این هموگلوبین با هموگلوبینهای قندی نشده اتصال یك مولکول هگزوز در قسمت N-انتهایی رشته β در روی اسید آمینه والین می باشد. مقدار این هموگلوبین از سایر هموگلوبینهای قندی شده بیشتر و با اهمیت تر می باشد. کارهای متعددی روی این پروتئین انجام شده(۱۱و۱۲و۱۳و۱۴) و همگی معتقدند که هگزوز متصل به هموگلوبین A_{1c} یك مولکول گلوکز بوده و قندی شدن این پروتئین خیلی به کندی انجام می گیرد و در تمام طول زندگی گلبولهای قرمز ادامه دارد، مقدار آن در گلبولهای جوان کمتر از گلبولهای مسن می باشد.

جدول(۱)-سمبل های مشخص کننده ساختمان چهار هموگلوبین فرعی گلیکوزیله

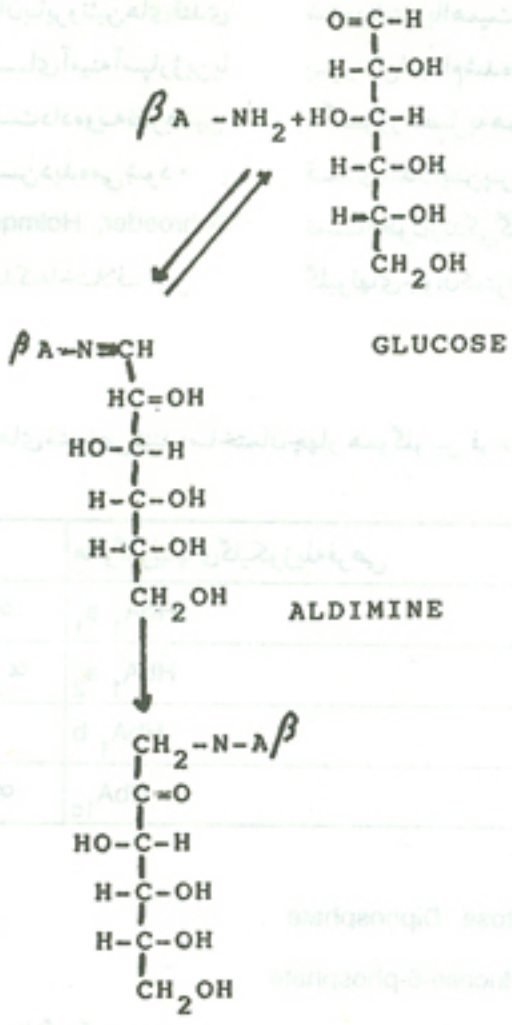
سمبل	هموگلوبینهای گلیکوزیله فرعی
$\alpha_2(\beta\text{-N-FDP})_2$	$HbA_1\ a_1$
$\alpha_2(\beta\text{-N-G.6.P})_2$	$HbA_1\ a_2$
$\alpha_2(\beta\beta)^*$	$HbA_1\ b$
$\alpha_2(\beta\text{-N-GLC})_2$	HbA_{1c}

FDP = Fructose Diphosphate فروکتوزدی فسفات

G.6.P = Glucose-6-phosphate گلوکز ۶-فسفات

β^* = رشته β احتمالاً دزآمینه شده

GLC = Glucose گلوکز



شکل (۱) - مراحل مختلف تشکیل هموگلوبین گلیکوزیله A_{1c}

تشکیل هموگلوبین A_{1c} در دو مرحله مختلف انجام می گیرد (شکل ۱):

- در قسمت اول پیدایش فرم ناپایدار بنام آلدمین (Aldimine) یا (Base de schiff) نیاپره هموگلوبین ($Pre\text{-}Hb_{1c}A_{1c}$) این مرحله قابل برگشت بوده و تشکیل آن خیلی سریعتر از مرحله دوم می باشد.
- در مرحله دوم تشکیل فرم ثابت هموگلوبین A_{1c} (مرحله تشکیل ستوامین Cétoamine) که غیر قابل برگشت می باشد و کندتر از مرحله اول است.

هدف اصلی این تحقیق بررسی ارتباط نزدیک بین گلیسمی و قسمتهای پایدار و ناپایدار هموگلوبین گلیکوزیله می باشد.

مواد و وسایل مورد نیاز:

- میکروکلن بیورکس ۷۰ (Microcolonne Biorex 70)
- تامپون فسفات ۷/۶=PH حاوی ۰/۱ مول KCN
- معرف لیزکننده گلبولهای قرمز (آب مقطر یا محلول ۱۰۰ میلی گرم در صد ساپونین)
- بن ماری
- اسپکتروفتومتر

نحوه جمع آوری نمونه های خون:

نمونه های خون افراد مبتلا به دیابت در لوله های حاوی EDTA جمع آوری شده، مقدار قند خون بلافاصله در ساعت اول نمونه برداری اندازه گیری شده و مقدار هموگلوبین گلیکوزیله توتال (A_1) حداکثر ۶ ساعت پس از نمونه گیری اندازه گرفته شد و در این فاصله نمونه های خون در یخچال در حرارت چهار درجه نگهداری گردید.

- اندازه گیری هموگلوبین گلیکوزیله توتال ($Hb\ A_1$)

مقدار هموگلوبین A_1 بوسیله کروماتوگرافی تعویض یونی متد Bio Rad.

(Bio- Rad hemoglobin A_1 by column test) اندازه گرفته شد.

- اندازه گیری قسمتهای ثابت یا پایدار (Fraction stable) و ناپایدار (Fraction labile) یا ($Pre\text{-}Hb\ A_{1c}$):

خون جمع آوری شده در لوله حاوی EDTA را سانتریفوژ کرده و پس از حذف پلاسما گلبولهای قرمز را سه بار بوسیله شش حجم سرم فیزیولوژیک شستشو داده سپس گلبولهای قرمز شسته شده را در ۳۰ حجم سرم فیزیولوژیک به مدت ۲۰ ساعت در حرارت آزمایشگاه یا به مدت ۶ ساعت در حرارت ۳۷ درجه قرار داده و پس از مدت فوق مجددا" مقدار HbA_1 را به روش قبلی اندازه گرفته و مقدار بدست آمده را در صد هموگلوبین گلیکوزیله پایدار محسوب گردید. اختلاف هموگلوبین A_1 بدست آمده در قبل و بعد از انکوبه کردن (incubation) گلبول در ۳۷ درجه در صد هموگلوبین ناپایدار ($Pre\text{-}Hb\ A_{1c}$) محسوب گردید.

- اندازه گیری مقدار قند خون

قند خون ناشتای افراد دیابتیک به روش اورتوتولوئیدین (۱۵) اندازه گیری گردیده.

نتایج

گلبولهای قرمز ۹۵ بیمار مبتلا به دیابت را به مدت ۶ ساعت در حرارت ۳۷ درجه یا ۲۰ ساعت در حرارت آزمایشگاه کشت داده، اختلاف دو هموگلوبین A_1 اندازه گرفته شده قبل و بعد از کشت گلبولی را بعنوان هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار ($Pre\text{-}Hb\ A_{1c}$) به حساب آورده و نتایج بدست آمده نشان داده که اختلاف قابل توجه ای در مقدار هموگلوبین ناپایدار در حرارت ۳۷ درجه به مدت ۶ ساعت یا حرارت آزمایشگاه به مدت ۲۰ ساعت وجود ندارد.

ارتباط بین قسمتهای پایدار و ناپایدار $Hb\ A_1$ با گلیسمی:

نمونه ها از افراد مبتلا به دیابت در حالت ناشتا گرفته شده و مقدار گلیسمی و هموگلوبین گلیکوزیله پایدار و ناپایدار روی همان نمونه گرفته شده اندازه گیری گردید. همانطوری که در شکل (۲) نشان داده شده ارتباط نسبتا" معنی داری (corrélation significative) ($r=0.41, P<0.001$) بین قسمت ناپایدار هموگلوبین گلیکوزیله و گلیسمی وجود دارد.

که این ارتباط بین قسمت پایدار هموگلوبین گلیکوزیله و گلیسمی نزدیکتر معنی دار تر می باشد شکل (۳) ($r=0.52, P<0.001$).

شکل های (۴ و ۵) به ترتیب بین قسمت پایدار هموگلوبین گلیکوزیله و قسمت ناپایدار هموگلوبین گلیکوزیله با مقدار گلیسمی که بصورت 3-4g/L، 2-3g/L، 1-2g/L، 1g/L

تقسیم بندی شده نشان دهنده آن است که قسمت ناپایدار ($Pre\text{-}Hb\ A_{1c}$) و همچنین قسمت پایدار هموگلوبین گلیکوزیله همزمان با افزایش گلیسمی زیاد می شوند. اختلاف معنی داری بدست آمده وقتی که افرادی دارای مقدار گلیسمی بالا (3-4g/L) داشته اند با افرادی که مقدار گلیسمی آنها کمتر از 2g/L بوده مقایسه شده اند.

ارتباط بین قسمتهای پایدار و ناپایدار هموگلوبین گلیکوزیله:

شکل ۶ نشان می دهد که یك ارتباط ضعیف ولی معنی داری بین هموگلوبین گلیکوزیله پایدار و $Pre\text{-}HbA_{1c}$ وجود دارد ($r=0296, P<0.001$) در ضمن لازم به یادآوری است که ارتباط بسیار نزدیکی بین مقدار هموگلوبین گلیکوزیله توتال A_1 و قسمت پایدار آن وجود دارد. همچنین همانطوری که در شکل (۷) نشان داده شده مقدار هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار با زیاد شدن هموگلوبین گلیکوزیله توتال (A_1) افزایش می یابد.

بحث

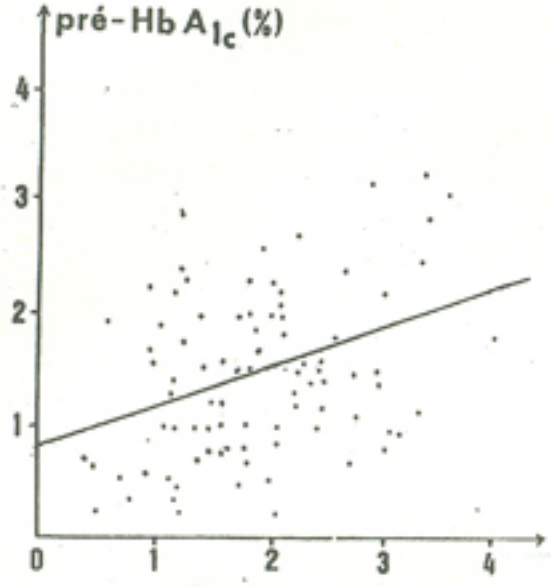
همانطوری که قبلاً نیز اشاره شد قندی شدن هموگلوبین بدون دخالت آنزیم بوده و در طی طول عمر گلبول قرمز (۹۰ تا ۱۲۰ روز) پس از سنتز هموگلوبین A صورت می گیرد و مقدار هموگلوبین گلیکوزیله بستگی به مقدار قندی دارد که در جریان خون در تماس با گلبولهای قرمز وجود دارد، لذا هرچه مقدار قند خون کمتر به عبارت دیگر بیماران مبتلا به دیابت در کنترل بهتری باشند مقدار هموگلوبین گلیکوزیله کمتر خواهد بود و با توجه به اینکه قندی شدن هموگلوبین طولانی و در تمام دوره زندگی گلبولهای قرمز انجام می گیرد، اندازه گیری هموگلوبین گلیکوزیله در بیماران دیابتی برای کنترل دراز مدت گلوکز بعنوان عامل موثر و مفید تر از اندازه گیری گلوکز خون می باشد.

قسمت ناپایدار هموگلوبین گلیکوزیله می تواند در مقدار هموگلوبین گلیکوزیله پایدار (شاخص متعادل گلیسمی در دراز مدت) مداخله کند.

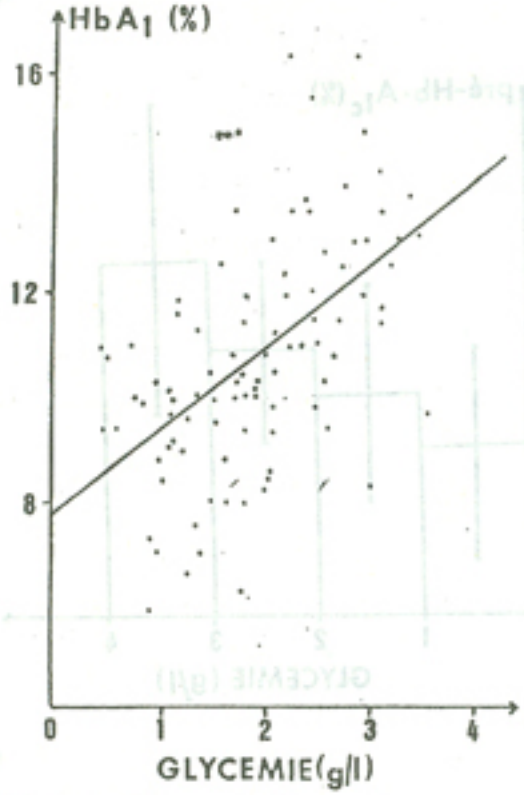
نتایج بدست آمده نشان می دهد که:

- مقدار هموگلوبین گلیکوزیله در نزد بیماران مبتلا به دیابت نسبت به افراد سالم افزایش قابل توجه ای داشته.
- ارتباط نزدیك و معنی داری بین قسمت ناپایدار و پایدار هموگلوبین گلیکوزیله وجود دارد که همیشه این ارتباط بین قسمت پایدار هموگلوبین گلیکوزیله با گلیسمی نزدیکتر می باشد.
- ارتباط نزدیکی بین مقادیر هموگلوبین گلیکوزیله پایدار و ناپایدار وجود دارد (برای کنترل تعادل گلیسمی بهتر است قسمت پایدار هموگلوبین گلیکوزیله اندازه گیری شود)، این ارتباط نزدیك بین هموگلوبین گلیکوزیله پایدار و ناپایدار نشانگر آن است که بیماران مبتلا به دیابت که تحت کنترل کامل قرار نگیرند مقدار هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار (شاخص تغییرات گلیسمی در کوتاه مدت) و هموگلوبین گلیکوزیله پایدار (شاخص تغییرات گلیسمی در دراز مدت) همزمان افزایش می یابد.
- ارتباط مستقیم و معنی داری بین قند خون، ناشتا و مقدار هموگلوبین گلیکوزیله وجود دارد که با نتایج مطالعات بدست آمده سایرین (۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹) مطابقت دارد. تغییرات در صد هموگلوبین می تواند حتی در نزد بیمارانی که ظاهراً تحت کنترل بوده و مقدار قند خون آنها کمتر از دوگرم در لیتر و در صد هموگلوبین گلیکوزیله بین ۸ تا ۱۲ باشد مشاهده گردد.

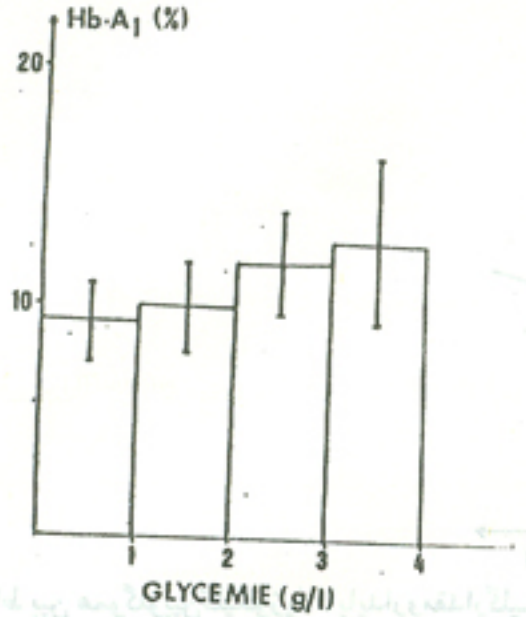
قابل ذکر است که هموگلوبین F می تواند در این روش اندازه گیری هموگلوبین گلیکوزیله A_1 دخالت کند (۲۰) ولی از آنجائیکه مقدار هموگلوبین F در نزد افراد سالم بسیار کم می باشد (<1%) مسئله مهمی در اندازه گیری هموگلوبین گلیکوزیله A_1 ایجاد نمی کند.



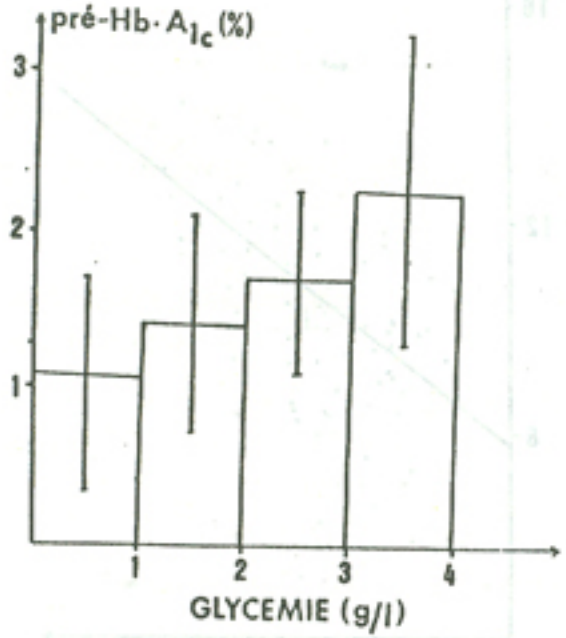
شکل (۲) - ارتباط بین هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار و مقدار گلیسمی



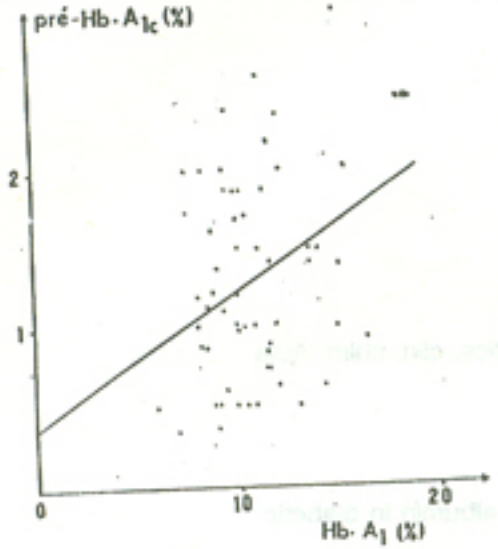
شکل (۳) - ارتباط بین هموگلوبین گلیکوزیله پایدار و مقدار گلیسمی



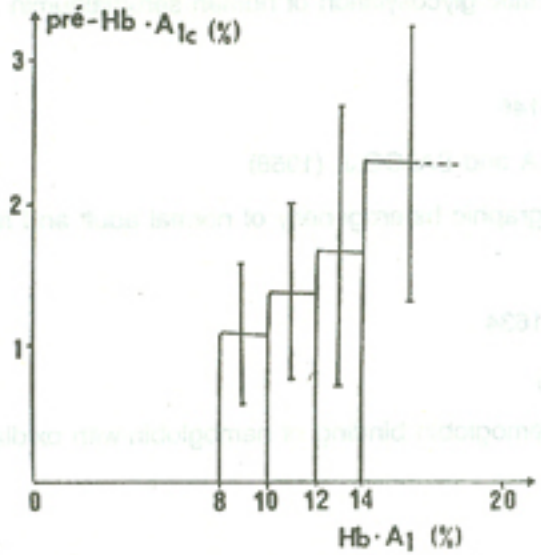
شکل (۴) - ارتباط بین هموگلوبین گلیکوزیله پایدار و مقدار گلیسمی که به چهار گروه مختلف تقسیم شده است.



شکل (۵) - ارتباط بین هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار و مقدار گلیسمی که به چهار گروه مختلف تقسیم شده است.



شکل (۶) – رابطه بین هموگلوبین گلیکوزیله پایدار ($Hb\ A_1$) و قسمت ناپایدار آن ($pre\text{-}Hb\ A_{1c}$).



شکل (۷) – مقایسه مقادیر هموگلوبین گلیکوزیله ناپایدار ($pre\text{-}Hb\ A_{1c}$) با هموگلوبین گلیکوزیله توتال (A_1)

REFERENCES:

1/ RAHBAR S. (1968)
An abnormal hemoglobin in the red cells of diabetics. clin. chim. Acta 22,296- 298 .

2/ DOLHOFER R. and WIELAND O.H. (1979).
Glycosylation of serumalbumin: elevated glycosyl- albumin in diabetic patients. FEBS letters 103 (2). 282,286 .

3/ GUTHROW C.E., MARY ANN MORRIS ,TAMES,F. DAY ,THORPE, S.R. BAYNES,J.W.(1979)
Enhanced non-enzymatic glycosylation of human serumalbumin in diabetes mellitus. Proc. natl. acad.sci. USA 76(9) 4258-4261 .

4/ GARLICK,R.L., MAZER,J.S.(1983)
The pricipal site of non-enzymatic glycosylation of human serumalbumin in vivo .
J. Biol. chem.258 (10) 6142-6146.

5/ ALLEN, D.N.,SCHROEDER,W.A and BALOG,J. (1958)
Observation on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal hemoglobine.
J.Amer. chem. soc.80, 1928- 1634 .

6/ HUISMAN, T., DOSY,A. (1962)
studies on heterogeneity of hemoglobin binding of hemoglobin-with oxidized glutathione .
J. lab.clin.Med. 60,302-319 .

7/ HOLMQUIST,W. R.,SCHROEDER, W.A .(1964)
properties and partial characterization of adult human hemoglobin A_{1c}
Biochem. Biophys. Acta 82, 639 .

8/ HOLMQUIST,W.R. , SCHROEDER , W.A. (1966)

A new N-terminal blocking group involving a schiff base in hemoglobin A_{1c}
Biochemistry 6, 2489-2503 .

9/ Mac DONALD, M.J., SCHAPTRO,R.,BLEICHMAN, M. SOLWAY,J.,BUNN,H.F. (1978) .
Glycosylated minor components of human adult hemoglobin.
J. Bio . chem. 253 2327-2332 .

10/ HANNEY, D.N., BUNN,H.F. (1976).
Glycosylation of hemoglobin in vitro: Affinity of hemoglobin to glucose- 6-
Phosphate .
Proc. Natl. acad . sci. USA 73 3534 - 3538 .

11/ BUNN,H.F., HANEY,D.M., GABBAY,K.H., GALLOP, P.H. (1975).
Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in
hemoglobin A_{1c}
Biochem. Biophys. Res . Commun. 67 103- 109 .

12/ BOOKCHIN. R.M.,GALLOP P.M. 1968 .
Structure of hemoglobin A_{1c} nature of the N-termmal- chain -blocking group.
Biochem. Biophys. Res. commun. 32 86-93 .

13/ FLUCKIGER , R., WINTERHALTER,K. H. (1976) .
In vitro synthesis of hemoglobin A_{1c}
FEBS Lett. 71, 356- 360 .

14/ KOENIG,R.J., BLOBSTEIN, S.H.,CERAMI,A . (1977).
Structure of carbohydrate of hemoglobin A_{1c}
J. Bio. chem. 252, 2992- 2997 .

15/ NORBERT TIETS, Fundamentals of clinical chemistry, saunders (1978) 249- 256.

16/ RAHBAR, S., BLUMENFELD,O., RANNEY, M. (1969) .
studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus.
Biochem. Biophys. Res . commun. 36 830 - 843 .

17/ BEISSWENGER, P.J., SPIRO, R. G. (1970) .
Human glomerular basement membrane: Chemical alteration in diabetes mellitus.
Science 168 596 - 598 .

18/ WESTBERG, N. G., MICHAEL ,A.F. (1973) .

Human glomerular basement membrane: chemical composition in diabetes mellitus
Acta Med. scand. 194, 39 - 47 .

19/ JEFFREY S. FLIER, M.D. (1988) .
Advanced Glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications
The New England Journal of Medicine . 318 , 1315 - 1321 .

20/ Jatscoff, R.W., GERALD, J.M. CHERIL, L.C.
and warnock, L.M .(1983) .
Interference of fetal hemoglobin and labile glycosylated hemoglobin with measurments of glycosylated hemoglobin clin . chem. 29 (3) 543 - 545 .

Measurment of stable Glycosylated Hemoglobin (Hb A1) and Its unstable type (pre- Hb A_{1c}) with the Ion- exchange Chromatography in Diabetic patients.

Tarjoman, A.

SUMMARY:

At present , measurment of glycosylated hemoglobin, especially the stable fraction of hemoglobin (Hb A1c) is one of the ways to control diabetes because this measurment can demonstrate total glycemia during last 1,2,3 months. Glycosylated hemoglobin is seen in 3 forms: A1a ,A1b ,A1c . Among these ,hemoglobin A1c is quantitively more than other 2 forms and its difference with other hemoglobins in terms of chemical structure is the linkage of a molecule of glucose in N- terminal of β chain on the aminoacid of Valine without intervention of enzyme. Glycogenesis of this protein (Hb A1c)occurs very slowly and this process continues in the all

life- time of red globules. Formation of Hb A1c takes place in 2 different phases: First phase: Appear ance of the unstable form called aldimine or pre Hb- A1c which is reversible and its formation is very faster than the second phase.
Second phase: Formation of Ketoamine or stable form of glycosylated hemoglobin. The main goal in this article is to make a comparison between the rate of unstable glycosylated hemoglobin and its stable fraction with glycemia. The results obtained indicate that there is a close correlation between total glycosylated hemoglobin and its unstable fraction . The rate of unstable glycosylated hemoglobin enhances with the increase of hemoglobin. Correlation between glycosylated hemoglobin and glycemia in the state of fast which has been experimented on the same blood sample, is direct and meaningful. A Comparison between the linkage of stable and unstable glycosylated hemoglobins with glycemia rate divided into 4 different (1g/L, 1-2g/L, 2-3g/L, 3-4g/L), indicates that the contents of stable and unstable hemoglobins have a direct relation with glycemia , i.e, the more the content of glycemia, the more will be the contents of stable and unstable hemoglobins, and the linkage of stable fraction with glycemia is always better than the unstable fraction.

In addition, the close linkage between the fractions of stable and unstable glycosylated hemoglobin reflects that diabetic patients who are not under complete control, the content of pre- Hb A1c, a marker of glycemia changes in the short- term, and stable glycosylated hemoglobins, a marker of glycemia changes in the long- term, will increase simultaneously.