هموگلوبین A1c: کاربردهای بالینی و جنبه‌های اندازه گیری

● دکتر محمد علی تخشید
استاد تمام بیوشیمی بالینی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
takhshidma@sums.ac.ir

● دکتر ریتا عرب سلغار
دانشیار بیوشیمی بالینی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

❑ خلاصه

دیابت شیرین شایع‌ترین اختلال متابولیسم کربوهیدرات‌ها است. هیپرگلیسمی مهم‌ترین ویژگی دیابت شیرین می‌باشد. هیپر گلیسمی موجب بروز مشکلات قلبی عروقی، کلیوی، چشمی و اعصاب محیطی در افراد دیابتی می‌گردد. تنظیم دقیق قند خون نقش اساسی در کنترل این عوارض دارد. از این رو ارزیابی شرایط گلیسمی در مدیریت دیابت شیرین بسیار مهم است. هموگلوبین A1c (HbA1c) متداول‌ترین روشی است که برای بررسی وضعیت گلیسمی بیماران دیابتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف این مقاله مروری بررسی جنبه‌های مختلف اندازه گیری و کاربرد بالینی HbA1c می‌باشد.

کلمات کلیدی: دیابت شیرین، هموگلوبین A1c، تشخیص، کنترل گلیسمی، کنترل کیفیت

❑ مقدمه

دیابت شیرین (Diabetes Mellitus) شایع‌ترین اختلال متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌باشد. شیوع جهانی این بیماری با سرعت نگران کننده‌ای در حال افزایش است. به طوری که در سال ۲۰۱۰، شیوع جهانی دیابت در بین بزرگسالان ۲۸۵ میلیون نفر بود و انتظار می‌رود این میزان تا سال ۲۰۳۰ به ۴۳۹ میلیون نفر افزایش یابد (۱). از سوی دیگر هیپرگلیسمی که در این بیماران دیده می‌شود می‌تواند منجر به ایجاد مشکل در اندام‌های مختلف و بروز بیماری‌های قلبی عروقی، کلیوی، چشمی و اعصاب محیطی در افراد دیابتی گردد که نتیجه آن کاهش طول عمر بیماران و افزایش مرگ و میر و هزینه‌های سنگین برای نظام سلامت می‌باشد (۲). شواهد بالینی نشان دهنده ارتباط مستقیم این عوارض با وضعیت کنترل گلیسمی بیماران است از این رو کنترل دقیق قند خون برای پیشگیری و کنترل بیماری ضروری است.

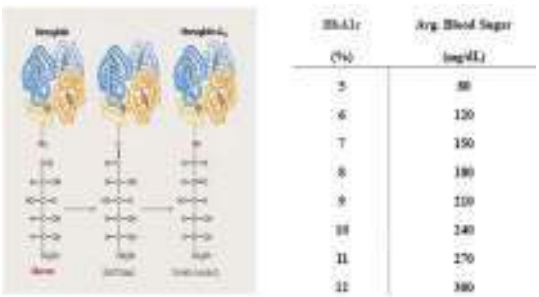
گلیکاسیون (glycation) واکنشی غیر آنزیمی و خود به خودی است که در آن گلوکز به عامل آمینی پروتئین‌ها و سایر بیومولکول ها متصل می‌گردد. سرعت و میزان این فرآیند بستگی به غلظت گلوکز در محیط دارد (۳) لذا این فرآیند در دیابت شیرین تسریع شده و عامل اصلی ایجاد اختلال در عملکرد اندام‌ها و اختلالات بیوشیمیایی بیماران دیابتی به شمار می‌آید (۴). گلیکاسیون هموگلوبین A(هموگلوبین اصلی بالغین) منجر به تولید HbA1c در گلبول‌های قرمز می‌گردد. فدراسیون بین المللی شیمی بالینی (IFCC) HbA1c را به عنوان هموگلوبینی تعریف می‌کند که به طور برگشت ناپذیری در والین انتهای آمینی زنجیره‌های β گلیکیله شده است. عمر گلبول‌های قرمز خون تقریباً ۹۰ تا ۱۲۰ است، از این رو HbA1c نشان دهنده میانگین غلظت گلوکز خون در دو سه ماه گذشته یک بیمار دیابتی است. پزشکان از مقدار HbA1c برای پایش وضعیت کنترل قند خون، پاسخ به درمان و خطر ایجاد و یا بدتر شدن عوارض دیابت استفاده می‌کنند. به علاوه WHO توصیه می‌کند که HbA1c می‌تواند به عنوان یک آزمایش تشخیصی برای

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]

دیابت اســـتفاده شود، مشروط بر این که تست‌های تضمین کیفیت دقیق وجود داشته و سنجش‌ها مطابق با معیارهای مرجع بین المللی استاندارد شده باشند. در حال حاضر، در آزمایشگاه‌های بالینی بیش از ۲۰ روش سنجش مختلف بر مبنای اصول مختلف کدورت سنجی، کروماتوگرافی تبادل کاتیونی و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) برای اندازه‌گیری سطح HbA1c مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). از آنجایی که تنها ۰/۵ درصد تغییر در ســطح HbA1c به عنــوان یک تغییر قابل توجه از نظــر بالینی در نظر گرفته می‌شــود، اندازه گیری دقیق HbA1c بسیار مهم است. به علاوه در شرایط خاص مانند شرایطی که میزان بقا و نوسازی گلبول‌هــای قرمز تغییــر می‌کند اندازه گیــری HbA1c نتایج قابل اعتمادی را به دســت نمی‌دهد. در این موارد از بیومارکرهــای دیگــری از جمله فروکتوزامیــن، آلبومین گلیکیلــه و ۱،۵-آنهیدروگلوســیتول به عنــوان جایگزین HbA1c استفاده می‌گردد. در این مقاله مروری به بررسی روش‌های اندازه‌گیری HbA1c، جنبه‌های مختلف اثر گذار بر انــدازه گیری آن و کاربردهای بالینی این مارکر پرداخته می‌شود.

❑ هموگلوبین‌های گلیکیله

هموگلوبیــنA (HbA) هموگلوبین اصلی بزرگســالان و ترکیبــی از زنجیره‌هــای پروتئینی آلفا و بتا می‌باشــد. هموگلوبین‌هــای گلیکیلــه (Glycated hemoglobins) انواعــی از HbA هســتند که در آن مولکول‌هــای قند به انتهای آمینی زنجیره‌هــای پروتئینی و یا به انتهای آمینی باقیمانده‌هــای لیزین موجود در زنجیره‌هــای هموگلوبین متصل شــده‌اند. هموگلوبین‌های گلیکیله بــا توجه به نوع قند اضافه شــده و محــل اتصال آن به انــواع HbA1a1، HbA1b و HbA1c تقسیم بندی می‌گردند (۶). فرم اصلی هموگلوبین‌های گلیکیله، HbA1c می‌باشــد که محصول اتصال گلوکز بــه انتهای آمینی زنجیــره بتای هموگلوبین است. گلوکز به صورت غیر آنزیمی و در واکنشی که وابسته به غلظت گلوکز اســت ابتدا با تشــکیل یک باز شــیف به انتهای آمینی رشــته بتای هموگلوبین اتصال یافته و سپس در یک واکنش جابجایی به کتو آمین پایدار HbA1c تبدیل می‌گردد (شــکل ۱). تشکیل HbA1c طی عمر گلبول‌های قرمز (۱۲۰ روز) و متناســب بــا غلظت گلوکز خون صورت می‌گیــرد. در بیماران دیابتی رابطه مســتقیمی بین مقدار HbA1c و متوســط گلوکز خون فرد در ۲ تا ۳ ماه گذشته وجود دارد به طوری که هر یک درصد افزایش HbA1c برابر افزایش ۳۰ تا ۳۵ میلی گرمی متوســط قند خون در طی ۲ تا ۳ ماه گذشــته است (شــکل ۱). مقدار طبیعی HbA1c کمتر از ۵/۷ درصد هموگلوبین تام است و انتظار می‌رود هر چه میزان کنترل گلیســمی ضعیف‌تر باشد درصد HbA1c عدد بالاتری را نشــان دهد. علاوه بر این، طبق دستورالعمل انجمن دیابت آمریکا و ســازمان بهداشــت جهانی از سال ۲۰۰۹ HbA1c بیش از ۶/۵ درصــد در دو بار آزمایش به عنوان روشی برای تشخیص دیابت معرفی شده است (۶).



HbA1c (%)	Avg. Blood Sugar (mg/dL)
5	90
6	120
7	150
8	180
9	210
10	240
11	270
12	300

شکل ۱: مراحل تشکیل HbA1c و نسبت ارتباط میزان درصد آن با سطح متوسط قند خون

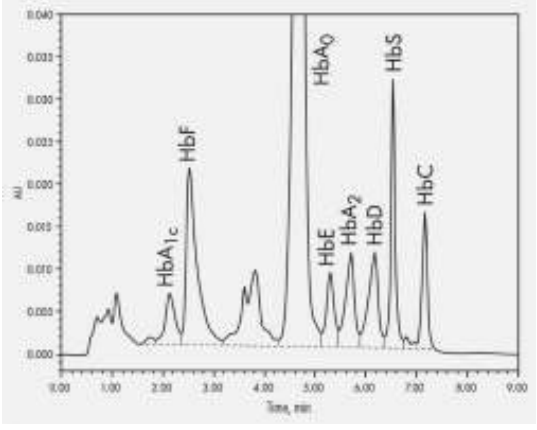
❑ روش‌های اندازه گیری HbA1c

اتصال گلوکز بــه هموگلوبین موجب تغییر بار الکتریکی، خــواص ایمونولوژیک و حرکت الکتروفــورزی هموگلوبین می‌گــردد. از ایــن رو از روش‌های مختلــف کروماتوگرافی تبــادل یونی، الکتروفورز، تمرکــز ایزوالکتریک و روش‌های ایمونولوژیک برای اندازه گیری HbA1c استفاده می‌گردد. روش‌های اندازه گیری HbA1c به دو گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند. گروه اول بر اســاس جداسازی HbA1c از سایر انواع هموگلوبین و گروه دوم بر اســاس واکنش شــیمیایی یــا ایمنی خاص با والین گلیکیله انتهای زنجیره β اســتوار است (۶).

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]

❑ روش‌های جداسازی

با توجه به خواص شیمیایی متفاوت HbA1c و هموگلوبین‌های غیر گلیکیله امکان جداسازی آن‌ها از هم و تعیین مقدار HbA1c به روش‌های کروماتوگرافی تبادل یونی، الکتروفورز مویرگی (Capillary electrophoresis) و کروماتوگرافی میل ترکیبی فراهم شده است. اختلاف در نقطه ایزوالکتریک (pI) مبنای جداسازی HbA1c از HbA های غیر گلیکیله شده در روش کروماتوگرافی تبادل یونی است. با روش تبادل یونی، HbF، هموگلوبین کاربامیله شده (HbCarb) و همچنین انواع جهش یافته مانند HbS نیز قابل جداسازی و مشاهده می‌باشند (شکل ۲) که می‌تواند به عنوان یک نقطه قوت (تشخیص ناقلین و مشاوره ژنتیکی) یا نقطه ضعف (مداخله در سنجش HbA1c) در نظر گرفته شود (۷).



شکل ۲: جداسازی انواع هموگلوبین به روش تبادل یونی HPLC

در روش الکتروفورز مویرگی (Capillary electrophoresis) از اختلاف بار بین HbA1c و سایر انواع هموگلوبین برای جداسازی آن‌ها در میدان الکتریکی با ولتاژ بالا استفاده می‌شود (۸). در کروماتوگرافی میل ترکیبی هموگلوبین‌های غیر گلیکیله آزادانه از یک ستون مملو از ذرات پوشش داده شده با اسید بورونیک عبور می‌کند، در حالی که هموگلوبین‌های گلیکیله که دارای میل ترکیبی به اسید بورونیک هستند به ذرات رزین متصل و در ستون باقی می‌مانند. علاوه بر والین انتهای آمینی زنجیره‌های β در HbA1c، گلوکز به گروه آمینی تقریباً ۱۵ باقیمانده لیزین در هموگلوبین نیز متصل می‌شود. در مجموع، این هموگلوبین گلیکیله شده دیگر تقریباً نیمی از مولکول‌های HbA1c شناسایی شده را تشکیل می‌دهند. از آنجایی که آن‌ها نیز متناسب با HbA1c تشکیل می‌شوند، کالیبراسیون باعث می‌شود که نتایج آزمایش بر حسب HbA1c بیان شود (۹).

❑ روش‌های شیمیایی

اساس روش‌های شیمیایی اندازه گیری غلظت HbA1c، انجام یک واکنش شیمیایی یا ایمنی خاص با والین گلیکیله انتهای آمینی زنجیره β می‌باشد. غلظت هموگلوبین تام نیز به موازات آن به روش نورسنجی اندازه گیری می‌شود. بنابراین برای محاسبه غلظت HbA1c دو آزمایش مستقل (اندازه گیری HbA1c و هموگلوبین تام) لازم است. روش‌های شیمیایی شامل سنجش‌های ایمونوشیمیایی و آنزیمی است.

سنجش ایمونوشیمیایی: در این روش مقدار زیادی آنتی‌بادی ضد HbA1c به نمونه همولیز شده اضافه می‌شود. پس از اتصال به HbA1c، آنتی بادی‌های آگلوتینه شده و کدورت کمپلکس‌های ایمنی به دست آمده با استفاده از کدورت سنج یا نفلومتر به روش فتومتریک اندازه گیری می‌شود. به موازات آن، غلظت کل هموگلوبین اندازه گیری می‌شود (۱۰).

سنجش آنزیمی: در این روش یک پروتئاز زنجیره β را به قطعات پپتیدی می‌شکند. پپتیدها، معمولاً دی‌پپتیدها، با آنزیم فروکتوزیل پپتید اکسیداز واکنش می‌دهند و پراکسید هیدروژن حاصل برای تعیین مقدار HbA1c استفاده می‌شود. به موازات آن، غلظت هموگلوبین تام به صورت فتومتریک اندازه گیری می‌شود (۱۱).

روش‌های شیمیایی این مزیت را دارند که آزمایش‌ها را می‌توان به سادگی با استفاده از اتوآنالیزرها انجام داد. با این وجود، نیاز به انجام دو آزمون مستقل ممکن است که بر کیفیت اندازه گیری تأثیر منفی بگذارد. واریانت های مختلف هموگلوبین در روش‌های شیمیایی مورد شناسایی قرار نمی‌گیرند بنابراین در اندازه گیری تداخل ایجاد نمی‌کنند.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]

❑ عوامل مداخله گر در اندازه گیری HbA1c

رایج‌تریـــن تداخل‌هـــا در اندازه گیری HbA1c ناشـــی از وجـــود واریانت های هموگلوبین، ســـطوح بالای HbF و مشـــتقات هموگلوبین می‌باشـــد. واریانت های ســـاختاری هموگلوبین ناشـــی از جهش‌های نقطـــه‌ای در زنجیره‌های پروتئینی هموگلوبین هســـتند و شـــامل انـــواع S، C، E و D می‌باشـــند. این واریانت ها باعث بیماری‌های همولیتیک نمی‌شوند و از آنجایی که همه آن‌ها دارای یک والین انتهایی در زنجیره بتا هســـتند، گلیکیشـــن آن‌ها همانند HbA1c اســـت. تداخلی که این واریانت ها در اندازه گیری HbA1c ایجاد می‌کنند به نوع روش اندازه گیری بستگی دارد (۱۲).

در بتا تالاســـمی، تولید زنجیره‌های بتا متوقف می‌شود از این رو در ســـاخت هموگلوبین زنجیـــره β با زنجیره γ یا δ جایگزین شـــده و موجب تشـــکیل و افزایش میزان HbF و HbA2 می‌گـــردد. از آنجایی که زنجیـــره γ به جای والین دارای انتهایی آمینی خود دارای گلیسین است، HbF فقط در بقایای لیزین گلیکیله می‌شود. در نتیجه میزان گلیکیله شـــدن آن تقریباً یک ســـوم HbA اســـت و موجب کاهش میزان HbA1c می‌گردد که در روش ایمونواســـی به ازای هـــر ۱٪ HbF یک درصد و با روش افینیتی کروماتوگرافی، ۰/۷ درصـــد غلظت HbA1c کاهش می‌یابد. این تداخل به ویژه در مقادیر HbF بیش از ۱۵-۱۰٪ قابل توجه می‌باشد. در روش کروماتوگرافی تبادل یونـــی و الکتروفورز مویرگی HbF از HbA1c جدا شده بنابراین تداخلی در نتایج ایجاد نمی‌کند (۱۲). HbA1c را نمی‌توان به عنوان یک نشـــانگر گلیســـمی در نوزادان دیابتی اســـتفاده کرد. چون در طول دوره پری ناتال، HbF اصلی‌ترین نوع هموگلوبین اســـت در نتیجـــه مقادیر HbA1c کمتر از حدی اســـت که از میزان هیپرگلیسمی انتظار می‌رود (۱۳).

یکی دیگـــر از منابع خطـــا در اندازه گیـــری HbA1C هموگلوبیـــن کاربامیله اســـت کـــه در اثر اتصـــال اوره به هموگلوبیـــن به وجـــود می‌آید. اوره در داخـــل بدن تجزیه شده و اســـید ایزوسیانیک تشـــکیل می‌دهد که می‌تواند با هموگلوبین واکنش داده و هموگلوبین کاربامیله را تشکیل دهد. تشـــکیل هموگلوبین کاربامیلـــه در غلظت‌های بالای اوره کـــه در بیماران دیابتی با نقص کلیوی شـــایع اســـت تســـریع می‌گردد (۱۴). نقطـــه ایزوالکتریـــک هموگلوبین کاربامیله تقریباً برابر با HbA1c است. در روش‌های قدیمی کروماتوگرافی تبادل آنیونی، هموگلوبین کاربامیله همراه با HbA1c از ستون خارج می‌شدند که موجب افزایش کاذب در انـــدازه گیری HbA1c می‌گردید. اما در اکثر روش‌هایی که در حال حاضر در بازار موجود هستند، این انواع به خوبی از هم جدا شـــده و تداخل در انـــدازه گیری HbA1c ایجاد نمی‌کنند (۱۵).

❑ استاندارد سازی

تفاوت در میزان اختصاصیـــت و انتخاب گری روش‌های انـــدازه گیـــری منجر بـــه ایجاد تنـــوع گســـترده در نتایج اندازه‌گیری HbA1c می‌شـــود. با این حال، استفاده بهینه بالینی از نتایج یک تســـت مســـتلزم یکســـان بودن نتایج روش‌هـــای مختلف اســـت و تنها در این صورت اســـت که می‌توان به دستور العمل‌های جهانی در مورد مقادیر مرجع و حدود تصمیم‌گیری در تفســـیر نتایج پایبند بود. هم ارزی نتایج را می‌توان از طریق استاندارد سازی (کالیبراسیون در برابر یک روش اندازه گیری مرجع) به دست آورد. فدراسیون بین‌المللی بیوشیمی بالینی (IFCC) یک روش طیف سنجی جرمی HPLC-الکترواسپری را به عنوان روش مرجع برای دستیابی به استاندارد سازی در سراسر جهان پیشنهاد داده اســـت. این روش در شبکه جهانی آزمایشـــگاه‌های مرجع اروپا، آســـیا و ایالات متحده به کار گرفته شده است (۱۶). همچنین تاکید شده اســـت که نتایج HbA1c باید توسط آزمایشـــگاه‌های بالینی در سراســـر جهان در واحدهای SI (یعنـــی mmol/mol) و یا واحدهای NGSP/DCCT (٪) گزارش شـــود. البته توصیه بر این است که غلظت HbA1c را در هـــر دو واحد گزارش کنند. اگر چه اغلب در یک واحد گزارش می‌شود.

❑ مدیریت کیفیـــت در انـــدازه گیری غلظت HbA1c

درمان بیماران دیابتی متکی بـــه نتایج اندازه گیری‌های مکرر HbA1c در طی ســـال‌ها یا دهه‌های متوالی اســـت. بنابرایـــن باید به مدیریت کیفیـــت آن توجه زیادی کرد. از

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]

نقطه نظر ملاحظات پیش از اندازه گیری (preanalytical) برخلاف نمونه‌های گلوکز، نمونه‌های HbA1c خون گیری از بیمـــار را می‌توان در هر زمانی انجام داد. خون به دســـت آمده از طریق خون گیری از رگ یا خون مویرگ انگشـــتی مناسب اســـت. ضد انعقاد مورد استفاده باید EDTA باشد مگر اینکه توســـط شرکت ســـازنده مشخص شـــده باشد. پایداری نمونه بستگی به روش اندازه گیری دارد. روش‌های HPLC بیشترین حساســـیت را نسبت به اثرات عمر نمونه دارند. در خون HbA1c به طـــور کلی تا ۱ هفته در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد پایدار است و در خون ذخیره شده در زیر ۷۰- درجه ســـانتیگراد حداقل برای ۱ سال پایدار است. نگهداری در دمای ۲۰- درجه ســـانتیگراد اثرات نامطلوبی دارد و باید از آن اجتناب شود (۱۷). از جنبه ملاحظات پس از انـــدازه گیـــری (post analytical) نتایج زیر حد پایین مقدار مرجع باید با آزمایش تکراری تأیید شـــوند. اگر نتایج در آزمایش‌های تکراری تأیید شـــد، پزشـــکان باید در مورد احتمال وجود واریانت های هموگلوبین و یا عوامل منجر به کوتاه شدن عمرگلبول قرمز مطلع شوند. نمونه‌هایی با نتایج بســـیار بالا (بیش از ۱۴۰ میلی مول یا بیش از ۱۵ درصد) و نمونه‌هایـــی که نتایج آن‌ها با تصویر بالینی بیمار مطابقت ندارد باید دوباره مورد سنجش قرار گیرند. آزمایش مکرر با یک روش سنجش متفاوت می‌تواند به شناسایی دلیل نتایج غیر منتظره بیمار یا مربوط به روش اندازه گیری کمک کند.

سیستم کیفیت: در آزمایشـــگاه‌های واجد شرایط، یک سیســـتم کیفیت متشکل از سه اصل اساســـی وجود دارد: اعتبار بخشـــی بـــا ISO 15189، کنتـــرل کیفی داخلی و خارجی (external quality assessment;EQA). برای کنترل داخلی، دو نمونـــه کنترل (با غلظت HbA1c کم و بالا) باید در هر مرحله اندازه گیری مورد سنجش قرار گیرد. نمونه‌های خون تام منجمد ذخیره شـــده در زیر ۷۰- درجه سانتیگراد و همولیزات لیوفیلیزه بدون اثرات ماتریکس برای این منظور مناســـب هستند. شرکت در یک برنامه EQA یا PT اطلاعات خارجی ارزشـــمندی را برای مدیریت کیفیت تســـت HbA1c فراهم می‌کنـــد. قابلیت اطمینـــان نتایج اندازه‌گیری HbA1c به bias (کالیبراســـیون مناســـب) و دقت (تکـــرار پذیری روش) بســـتگی دارد. اهداف کیفی را می‌توان از تغییرات بیولوژیکی و نیازهای بالینی به دســـت آورد. برای HbA1c، یک قانون کلی پذیرفته شده این است که پزشـــکان تفاوت ۰/۵ درصد بین نمونه‌های متوالی بیمار را به عنوان یک تغییر قابل توجه در کنترل قند خون تفسیر می‌کنند (۱۸). CV درون آزمایشـــگاهی (برگرفته از سوابق QC داخلی آزمایشـــگاه) باید کمتر از ۳٪ باشد. CV کلی بین آزمایشـــگاهی (برگرفته از بررسی EQA) باید کمتر از ۵٪ در یک روش باشد (۱۹).

❑ کاربردهای بالینی

کاربرد اولیه ســـنجش پایش و مدیریـــت بیماران دیابتی می‌باشد. مقدار HbA1c به طور گسترده برای پایش معمول وضعیت کنترل قند خون در بیماران دیابتی نوع I و نوع II استفاده می‌شود. HbA1c شاخص میانگین گلیسمی است و به این ترتیب، میزان کنترل قند خون، پاســـخ به درمان و خطر ابتلا و یا بدتر شـــدن عوارض دیابت را نشان می‌دهد. محدوده مرجع و حدود تصمیم بالینی برای غلظت HbA1c در جدول ۱ خلاصه شـــده است. هدف کلی درمان بیماران دیابتـــی HbA1c ۷ درصد و توصیه بـــه تقویت درمان در سطوح HbA1c بالاتر از ۸ درصد می‌باشد. غلظت HbA1c نشـــان دهنده یک زنجیره است: مقادیر کمتر از ۵/۸٪ خطر کم دیابت را نشـــان می‌دهد، در حالی که مقادیر بیشـــتر از ۶/۴٪ نشـــان دهنده وجود دیابت است و مقادیر ۶/۴-۵/۸٪ نشـــان دهنده افزایش خطر ابتلا به دیابت می‌باشد. در مورد دفعات آزمایش HbA1c اتفاق نظر وجود ندارد و بستگی به وضعیت بالینی بیماران دارد و در بیماران با شرایط پایدار و کنترل شده کمتر از بیمارانی باشد که کنترل ضعیفی دارند. توصیه ADA برای بیماران با کنترل قند خون پایدار حداقل دو آزمایش در ســـال اســـت و در بیمارانی که درمان آن‌ها تغییر کرده یا اهداف کنترل گلیســـمی را برآورده نمی‌کنند انجام آزمایش‌های ســـه ماهه می‌باشـــد. علاوه بر این، تمام بیماران مبتلا به دیابت که در بیمارستان بستری می‌شوند، باید غلظت HbA1c آن‌ها اندازه گیری شود (۲۰).

کاربرد دیگر اندازه گیری HbA1c تشـــخیص دیابت است. با توجه به استانداردســـازی بهبود یافتـــه آزمایش و داده‌های اخیر که نشـــان دهنده ارتباط HbA1c با رتینوپاتی اســـت،

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]

یک کمیته متخصص بین المللی استفاده از غلظت HbA1c را برای تشـخیص دیابت توصیه کرد. این دیدگاه در بسیاری از کشـورها از جمله ایالات متحده، ژاپـن و بریتانیا پذیرفته شده اسـت. با این حال، نظرات در مورد جایگزینی این روش با تسـت گلوکز پلاسما ناشتا یا اسـتفاده از آن به موازات این آزمایش متفاوت اسـت. WHO توصیه می‌کند که HbA1c می‌تواند به عنوان یک آزمایش تشخیصی برای دیابت استفاده شود، مشروط بر این که تست‌های تضمین کیفیت دقیق وجود داشـته باشد و سنجش‌ها با معیارهای مطابق با مقادیر مرجع بین المللی اسـتاندارد شده باشند و شـرایطی وجود نداشته باشد که مانع از اندازه گیری دقیق آن شود. این شرایط شامل بارداری، مشـکوک بودن به دیابت نوع I، یک دوره کوتاه مدت علائم دیابت، بیماری‌های حـاد، دریافت داروهایی که ممکن است باعث افزایش سریع سطح گلوکز شود، آسیب پانکراس، هموگلوبینوپاتی ها، کم خونی، نارسایی کلیوی و عفونت HIV است (۲۱). یک کاربرد خاص استفاده از اندازه گیری HbA1c در دوران بارداری در بیماران دیابتی برای تعیین حداقل خطر پری ناتال برای مادر و حداکثر سلامت جنین است. کنترل دقیق قبـل و در طول بارداری خطر ناهنجاری‌های مادرزادی، اضافه وزن نـوزادان و همچنین عوارض بـارداری و زایمان را کاهش می‌دهد (۲۲).

Standard interpretation norm		NGCP(%)
Reference range		4-6
Decision limits monitoring Therapy	Target treatment	7
	Limit change therapy	8
Diagnosis	Low risk	<5.8
	Increasing risk future diabetes	5.8-6.4
	Diabetes	>6.4

جدول ۱: محدوده مرجع و حدود تصمیم بالینی برای غلظت HbA1c

National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)

عدم قطعیت: عدم قطعیت نتایج HbA1c باید توسـط پزشکان مورد توجه قرار گیرد. عدم قطعیت نتایج HbA1c ناشی از تغییرات بیولوژیکی و همچنین خطاهای آزمایشگاهی است. عدم قطعیت ناشی از تغییرات بیولوژیکی ناشی از عوامل غیر مرتبط با گلوکز ناشـی می‌شود و مهم‌ترین آن‌ها طول عمر گلبول‌های قرمز است. در افراد عادی، گلبول‌های قرمز تقریبـاً ۱۲۰ روز زنده می‌مانند. مقدار ۶/۱ درصد HbA1c نشـان دهنده خطر بالای ابتلا به دیابت در افرادی است که گلبول‌هـای قرمز آن‌ها طول عمر نسـبتاً کوتاهی دارند در حالی که در افرادی با گلبول‌های قرمز با طول عمر نسـبتاً طولانی خطر کمی برای دیابت دارد. عدم قطعیت مربوط به اندازه گیری از خطاهای مربوط به روش اندازه گیری شامل systematic bias (به دلیل کالیبراسـیون غیر ایده‌آل) و Random bias (به دلیل عدم دقت) ناشـی می‌شود. عدم قطعیت تفسیر نتایج مجموع عدم قطعیت مربوط به تغییرات بیولوژیکی و همچنین خطاهای آزمایشگاهی است. به دلیل حاشـیه کوچک محدود تصمیم‌گیری بالینی، عدم قطعیت همیشـه باید در نظر گرفته شـود، به خصوص زمانی که از HbA1c برای تشخیص استفاده می‌شود (۲۳).

شـرایط بالینی خاص: مزیـت اصلـی HbA1c عدم تأثیرپذیـری آن از نوسـانات گلوکز بعد از غـذا و همراه با بیماری اسـت. با این حال، چند شـرط باید در نظر گرفته شـود. در شـرایط بالینی که طول عمر گلبول قرمز به طور قابل ملاحظه‌ای کوتاه‌تر است (کم خونی کلیوی با استفاده از اریتروپویتیـن، کم خونی مزمن و همولیتیک، از دسـت دادن خون حاد و تزریق اخیـر)، نتایج HbA1c به صورت کاذب پایین اسـت. بیماری کبد، دیالیز و مالاریا مزمن نیز ممکن اسـت باعث نتایج کاذب پایین شـود. کم خونی فقر آهن ممکن است باعث نتایج افزایش کاذب HbA1c گردد که ظاهراً به دلیل افزایش سرعت گلیکیله شدن است. تأثیر سـن و نژاد نیز مورد بحث اسـت. برخی از مطالعات نشان می‌دهد که غلظت HbA1c با افزایش هر دهه سـن تقریباً ۰/۱٪ افزایش می‌یابد (۲۴). همچنین نشان داده شده است که غلظـت HbA1c در جمعیت‌هـای آمریکایی آفریقایی تبار و اسپانیایی تبار نسـبت به قفقازی‌ها بیشتر است، اگر چـه محدوده مرجع و محدودیت‌هـای تصمیم گیری برای

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]

آسیایی‌ها مشابه با قفقازی‌ها در نظر گرفته می‌شود. (۱۹).

❑ نتیجه گیری

از آنجایی که آزمایش‌های بالینی به وضوح رابطه بین کنترل قند خون، HbA1c و عوارض دیابت را نشان داده‌اند و همچنین به لطف استاندارد سازی و تلاش‌های مداوم صنعت تشخیص، این آزمایش تا حد زیادی بهبود یافته است و در حال حاضر یک آزمایش قابل اعتماد و ابزار ضروری در مدیریت و تشخیص دیابت است. با این حال هنوز چالش‌هایی وجود دارد از جمله این که دسترسی جهانی به سنجش‌های دقیق به ویژه در کشورهای در حال توسعه هنوز وجود ندارد.

غلظت HbA1c هنوز در واحدهای مختلف گزارش شده است. اگر چه غلظت HbA1c می‌تواند برای تشخیص استفاده شود، اما میزان محدودیت‌های بیولوژیکی کاربرد آن باید حل گردد. همچنین مقادیر مرجع و محدودیت‌های تصمیم گیری بالینی مربوط به سن، قومیت و گروه‌های خاص بیمار باید مشخص شود.

References:

1- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes research and clinical practice. 2010;87(1):4-14.

2- Alam S, Hasan M, Neaz S, Hussain N, Hossain M, Rahman T. Diabetes Mellitus: insights from epidemiology, biochemistry, risk factors, diagnosis, complications and comprehensive management. Diabetology. 2021;2(2):36-50.

3- Seri A, Khorsand M, Rezaei Z, Hamedi A, Takhshid MA. Inhibitory effect of bunium persicum hydroalcoholic extract on glucose-induced albumin glycation, oxidation, and aggregation in vitro. Iranian journal of medical sciences. 2017;42(4):369.

4- Abedi S, Vessal M, Asadian F, Takhshid MA. Association of serum kynurenine/tryptophan ratio with poor glycemic control in patients with type2 diabetes. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. 2021;20(2):1521-7.

5- Lee J-E. Alternative biomarkers for assessing glycemic control in diabetes: fructosamine, glycated albumin, and 1, 5-anhydroglucitol. Annals of pediatric endocrinology & metabolism. 2015;20(2):74.

6- Saiedullah M, Ferdoush M, Begum S, Rahman MR, Sarkar A, Ahmad A. Studies on subfractions of hemoglobin A1 in diabetic subjects. Diab Endocr J. 2009;38(suppl 1):20.

7- Nasir NM, Thevarajah M, Yean CY. Hemoglobin variants detected by hemoglobin A1c (HbA1c) analysis and the effects on HbA1c measurements. International journal of diabetes in developing countries. 2010;30(2):86.

8- Klingenberg O, Furuset T, Hestbråten CR, Hallberg MH, Steiro A, Orset IR, et al. HbA1c analysis by capillary electrophoresis–comparison with chromatography and an immunological method. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. 2017;77(6):458-64.

9- Slowinska-Solnica K, Pawlica-Gosiewska D, Gawlik K, Kuzniewski M, Maziarz B, Solnica B. Boronate Affinity Chromatography Accurately Measures HbA1c also in Patients with End-Stage Renal Disease-Performance Evaluation of the A1c HPLC Analyzer. Clinical Laboratory. 2018;64(9):1451-5.

10- Gupta S, Jain U, Chauhan N. Laboratory diagnosis of HbA1c: a review. J Nanomed Res. 2017;5(4):00120.

11- Hirokawa K, Shimoji K, Kajiyama N. An enzymatic method for the determination of hemoglobinA1C. Biotechnology letters. 2005;27(14):963-8.

12- Weykamp C. HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. Annals of laboratory medicine. 2013;33(6):393-400.

13- Suzuki S, Koga M, Amamiya S, Nakao A, Wada K, Okuhara K, et al. Glycated albumin but not HbA1c reflects glycaemic control in patients with neonatal diabetes mellitus. Diabetologia. 2011;54(9):2247-53.

14- Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, Hanson SE, Connolly S, Higgins T, et al. Measurement of HbA1c in patients with chronic renal failure. Clinica chimica acta. 2013;418:73-6.

15- Szymezak J, Lavalard E, Martin M, Leroy N, Gillery P. Carbamylated hemoglobin remains a critical issue in HbA1c measurements. Clinical chemistry and laboratory medicine. 2009;47(5):612-3.

16- Weykamp C, John WG, Mosca A, Hoshino T, Little R, Jeppsson J-O, et al. The IFCC Reference Measurement System for HbA1c: a 6-year

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]

progress report. Clinical chemistry. 2008;54(2):240-8.

17- Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, Connolly S, Hanson S. Effects of sample storage conditions on glycated hemoglobin measurement: evaluation of five different high performance liquid chromatography methods. Diabetes technology & therapeutics. 2007;9(1):36-42.

18- Little RR, Rohlfing CL, Sacks DB. Status of hemoglobin A1c measurement and goals for improvement: from chaos to order for improving diabetes care. Clinical chemistry. 2011;57(2):205-14.

19- 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. Clinical chemistry. 2011;57(6):e1-e47.

20- Marathe PH, Gao HX, Close KL. American D iabetes A ssociation S tandards of M edical C are in D iabetes 2017. Wiley Online Library; 2017.

21- Organization WH. WHO. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus. 2011 [Cited 12 Juni 2018].

22- Kitzmiller JL, Block JM, Brown FM, Catalano PM, Conway DL, Coustan DR, et al. Managing preexisting diabetes for pregnancy: summary of evidence and consensus recommendations for care. Diabetes care. 2008;31(5):1060-79.

23- Weykamp C, John WG, Mosca A. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c. Journal of diabetes science and technology. 2009;3(3):439-45.

24- Ziemer DC, Kolm P, Weintraub WS, Vaccarino V, Rhee MK, Twombly JG, et al. Glucose-independent, black–white differences in hemoglobin A1c levels: a cross-sectional analysis of 2 studies. Annals of internal medicine. 2010;152(12):770-7.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-20]