

هموگلوبین A1c: کاربردهای بالینی و جنبه‌های اندازه‌گیری

● 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. هیپرگلیسمی 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 اندازه‌گیری و کاربرد بالینی HbA1c می‌باشد.

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

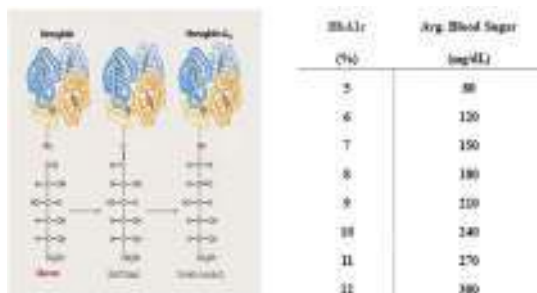
□ مقدمه

دیابت شیرین (Diabetes Mellitus) شایع‌ترین اختلال متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌باشد. شیوع جهانی این بیماری با سرعت نگران‌کننده‌ای 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 بیومولکول‌ها 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 بین‌المللی شیمی بالینی (IFCC) HbA1c را به عنوان هموگلوبینی تعریف می‌کند که به طور برگشت‌ناپذیری در والین انتهایی آمینی زنجیره‌های β گلیکیده 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

می‌گردد (شکل ۱). تشکیل HbA1c طی عمر گلبول‌های قرمز (۱۲۰ روز) و متناسب با غلظت گلوکز خون صورت می‌گیرد. در بیماران دیابتی رابطه مستقیمی بین مقدار HbA1c و متوسط 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 متوسط قند خون در طی ۲ تا ۳ ماه گذشته است (شکل ۱). مقدار طبیعی HbA1c کمتر از ۵/۷ درصد هموگلوبین تام است و انتظار می‌رود هر چه میزان کنترل گلیسمی ضعیف‌تر باشد درصد HbA1c عدد بالاتری را نشان دهد. علاوه بر این، طبق دستورالعمل انجمن دیابت آمریکا و سازمان بهداشت جهانی از سال ۲۰۰۹ HbA1c بیش از ۶/۵ درصد در دو بار آزمایش به عنوان روشی برای تشخیص دیابت معرفی شده است (۶).



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

روش‌های اندازه‌گیری HbA1c

اتصال گلوکز به هموگلوبین موجب تغییر بار الکتریکی، خواص ایمونولوژیک و حرکت الکتروفورزی هموگلوبین می‌گردد. از این رو از روش‌های مختلف کروماتوگرافی تبادل یونی، الکتروفورز، تمرکز ایزوالکتریک و روش‌های ایمونولوژیک برای اندازه‌گیری HbA1c استفاده می‌گردد. روش‌های اندازه‌گیری HbA1c به دو گروه اصلی طبقه‌بندی می‌شوند. گروه اول بر اساس جداسازی HbA1c از سایر انواع هموگلوبین و گروه دوم بر اساس واکنش شیمیایی یا ایمنی خاص با والین گلیکیده انتهایی زنجیره β استوار است (۶).

دیابت استفاده شود، مشروط بر این که تست‌های تضمین کیفیت دقیق وجود داشته و سنجش‌ها مطابق با معیارهای مرجع بین‌المللی 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 سطح HbA1c به عنوان یک تغییر قابل توجه از نظر بالینی در نظر گرفته می‌شود، اندازه‌گیری دقیق HbA1c بسیار مهم است. به علاوه در شرایط خاص مانند شرایطی که میزان بقا و نوسازی گلبول‌های قرمز تغییر می‌کند اندازه‌گیری HbA1c نتایج قابل اعتمادی را به دست نمی‌دهد. در این موارد از بیومارکرهای دیگری از جمله فروکتوزامین، آلبومین گلیکیده و ۱،۵-آنهیدروگلوکوسیتول به عنوان جایگزین HbA1c استفاده می‌گردد. در این مقاله مروری به بررسی روش‌های اندازه‌گیری HbA1c، جنبه‌های مختلف اثر گذار بر اندازه‌گیری آن و کاربردهای بالینی این مارکر پرداخته می‌شود.

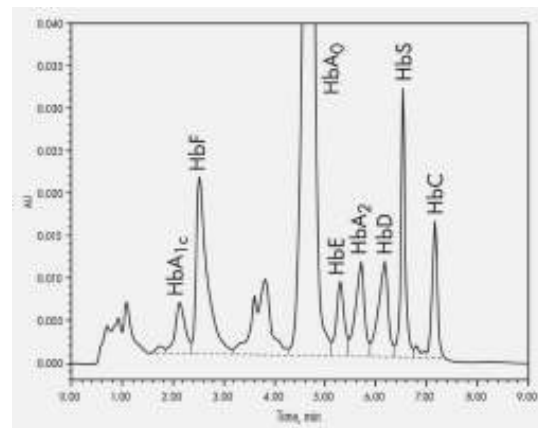
هموگلوبین‌های گلیکیده

هموگلوبین A (HbA) هموگلوبین اصلی بزرگسالان و ترکیبی از زنجیره‌های پروتئینی آلفا و بتا می‌باشد. هموگلوبین‌های گلیکیده (Glycated hemoglobins) انواعی از HbA هستند که در آن مولکول‌های قند به انتهای آمینی زنجیره‌های پروتئینی و یا به انتهای آمینی باقیمانده‌های لیزین موجود در زنجیره‌های هموگلوبین متصل شده‌اند. هموگلوبین‌های گلیکیده با توجه به نوع قند اضافه شده و محل اتصال آن به انواع HbA1a1، HbA1b و HbA1c تقسیم بندی می‌گردند (۶). فرم اصلی هموگلوبین‌های گلیکیده، HbA1c می‌باشد که محصول اتصال گلوکز به انتهای آمینی زنجیره بتای هموگلوبین است. گلوکز به صورت غیر آنزیمی و در واکنشی که وابسته به غلظت گلوکز است ابتدا با تشکیل یک باز شیف به انتهای آمینی رشته بتای هموگلوبین اتصال یافته و سپس در یک واکنش جابجایی به کتو آمین پایدار HbA1c تبدیل



□ روش‌های جداسازی

با توجه به خواص شیمیایی متفاوت HbA1c و هموگلوبین‌های غیر گلیکیده 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 HbA₁ های غیر گلیکیده 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 ناقصین 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 گلیکیده آزادانه از یک ستون مملو از ذرات پوشش داده شده با اسید بورونیک عبور می‌کنند، در حالی که هموگلوبین‌های گلیکیده که دارای میل ترکیبی به اسید بورونیک هستند به ذرات رزین متصل و در ستون باقی می‌مانند. علاوه بر والین انتهای آمینو زنجیره‌های β در HbA1c، گلوکز به گروه آمینو تقریباً ۱۵ باقیمانده لیزین در

هموگلوبین نیز متصل می‌شود. در مجموع، این هموگلوبین گلیکیده 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 اندازه‌گیری غلظت HbA1c، انجام یک واکنش شیمیایی یا ایمنی خاص با والین گلیکیده انتهای آمینو زنجیره β می‌باشد. غلظت هموگلوبین تام نیز به موازات آن به روش نورسنجی اندازه‌گیری می‌شود. بنابراین برای محاسبه غلظت HbA1c دو آزمایش مستقل (اندازه‌گیری HbA1c و هموگلوبین تام) لازم است. روش‌های شیمیایی شامل سنجش‌های ایمنوشیمیایی و آنزیمی است.

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

سنجش آنزیمی: در این روش یک پروتئاز زنجیره β را به قطعات پپتیدی می‌شکنند. 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 اندازه‌گیری 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 اندازه‌گیری تأثیر منفی بگذارد. واریات‌های مختلف هموگلوبین در روش‌های شیمیایی مورد شناسایی قرار نمی‌گیرند بنابراین در اندازه‌گیری تداخل ایجاد نمی‌کنند.

تسریع می‌گردد (۱۴). نقطه ایزوالکتریک 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 اندازه گیری HbA1c می‌گردید. اما در اکثر روش‌هایی که در حال حاضر در بازار موجود هستند، این انواع به خوبی از هم جدا شده و تداخل در اندازه گیری HbA1c ایجاد نمی‌کنند (۱۵).

□ استاندارد سازی

تفاوت در میزان اختصاصیت و انتخاب گری روش‌های اندازه گیری منجر به ایجاد تنوع گسترده در نتایج اندازه‌گیری HbA1c می‌شود. با این حال، استفاده بهینه بالینی از نتایج یک تست مستلزم یکسان بودن نتایج روش‌های مختلف است و تنها در این صورت است که می‌توان به دستور العمل‌های جهانی در مورد مقادیر مرجع و حدود تصمیم‌گیری در تفسیر نتایج پایبند بود. هم‌ارزی نتایج را می‌توان از طریق استاندارد سازی (کالیبراسیون در برابر یک روش اندازه‌گیری مرجع) به دست آورد. فدراسیون بین‌المللی بیوشیمی بالینی (IFCC) یک روش طیف‌سنجی جرمی HPLC-الکترواسپری را به عنوان روش مرجع برای دستیابی به استاندارد سازی در سراسر جهان پیشنهاد داده است. این روش در شبکه جهانی آزمایشگاه‌های مرجع اروپا، آسیا و ایالات متحده به کار گرفته شده است (۱۶). همچنین تاکید شده است که نتایج HbA1c باید توسط آزمایشگاه‌های بالینی در سراسر جهان در واحدهای SI (یعنی mmol/mol) و یا واحدهای NGSP/DCCT (%) گزارش شود. البته توصیه بر این است که غلظت HbA1c را در هر دو واحد گزارش کنند. اگر چه اغلب در یک واحد گزارش می‌شود.

□ مدیریت کیفیت در اندازه گیری غلظت HbA1c

درمان بیماران دیابتی متکی به نتایج اندازه گیری‌های مکرر HbA1c در طی سال‌ها یا دهه‌های متوالی است. بنابراین باید به مدیریت کیفیت آن توجه زیادی کرد. از

□ عوامل مداخله گر در اندازه گیری HbA1c
رایج‌ترین تداخل‌ها در اندازه گیری HbA1c ناشی از وجود واریانت‌های هموگلوبین، سطوح بالای HbF و مشتقات هموگلوبین می‌باشد. واریانت‌های ساختاری هموگلوبین ناشی از جهش‌های نقطه‌ای در زنجیره‌های پروتئینی هموگلوبین هستند و شامل انواع S، C، E و D می‌باشند. این واریانت‌ها باعث بیماری‌های همولیتیک نمی‌شوند و از آنجایی که همه آن‌ها دارای یک والین انتهایی در زنجیره بتا هستند، گلیکیشن آن‌ها همانند HbA1c است. تداخلی که این واریانت‌ها در اندازه گیری HbA1c ایجاد می‌کنند به نوع روش اندازه‌گیری بستگی دارد (۱۲). در بتا تالاسمی، تولید زنجیره‌های بتا متوقف می‌شود از این رو در ساخت هموگلوبین زنجیره β با زنجیره γ یا δ جایگزین شده و موجب تشکیل و افزایش میزان HbF و HbA2 می‌گردد. از آنجایی که زنجیره γ به جای والین دارای انتهای آمینی خود دارای گلیسین است، HbF فقط در بقایای لیزین گلیکیده می‌شود. در نتیجه میزان گلیکیده شدن آن تقریباً یک سوم HbA است و موجب کاهش میزان HbA1c می‌گردد که در روش ایمونواسی به ازای هر ۱٪ HbF یک درصد و با روش افینیتی کروماتوگرافی، ۰/۷ درصد غلظت HbA1c کاهش می‌یابد. این تداخل به ویژه در مقادیر HbF بیش از ۱۵-۱۰٪ قابل توجه می‌باشد. در روش کروماتوگرافی تبادل یونی و الکتروفورز مویرگی HbF از HbA1c جدا شده بنابراین تداخلی در نتایج ایجاد نمی‌کند (۱۲). HbA1c را نمی‌توان به عنوان یک نشانگر گلیسمی در نوزادان دیابتی استفاده کرد. چون در طول دوره پری‌ناتال، HbF اصلی‌ترین نوع هموگلوبین است در نتیجه مقادیر HbA1c کمتر از حدی است که از میزان هیپرگلیسمی انتظار می‌رود (۱۳).

یکی دیگر از منابع خطا در اندازه گیری HbA1c هموگلوبین کاربامیله است که در اثر اتصال اوره به هموگلوبین به وجود می‌آید. اوره در داخل بدن تجزیه شده و اسید ایزوسیانیک تشکیل می‌دهد که می‌تواند با هموگلوبین واکنش داده و هموگلوبین کاربامیله را تشکیل دهد. تشکیل هموگلوبین کاربامیله در غلظت‌های بالای اوره که در بیماران دیابتی با نقص کلیوی شایع است



می‌توان از تغییرات بیولوژیکی و نیازهای بالینی به دست آورد. برای HbA1c، یک قانون کلی پذیرفته شده این است که پزشکان تفاوت ۰/۵ درصد بین نمونه‌های متوالی بیمار را به عنوان یک تغییر قابل توجه در کنترل قند خون تفسیر می‌کنند (۱۸). CV درون آزمایشگاهی (برگرفته از سوابق QC داخلی آزمایشگاه) باید کمتر از ۳٪ باشد. CV کلی بین آزمایشگاهی (برگرفته از بررسی EQA) باید کمتر از ۵٪ در یک روش باشد (۱۹).

□ کاربردهای بالینی

کاربرد اولیه سنجش پایش و مدیریت 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، پاسخ به درمان و خطر ابتلا و یا بدتر شدن عوارض دیابت را نشان می‌دهد. محدوده مرجع و حدود تصمیم بالینی برای غلظت HbA1c در جدول ۱ خلاصه شده است. هدف کلی درمان بیماران دیابتی HbA1c ۷ درصد و توصیه به تقویت درمان در سطوح HbA1c بالاتر از ۸ درصد می‌باشد. غلظت HbA1c نشان دهنده یک زنجیره است: مقادیر کمتر از ۵/۸٪ خطر کم دیابت را نشان می‌دهد، در حالی که مقادیر بیشتر از ۶/۴٪ نشان دهنده وجود دیابت است و مقادیر ۶/۴-۵/۸٪ نشان 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 بیماران باشد که کنترل ضعیفی دارند. توصیه ADA برای بیماران با کنترل قند خون پایدار حداقل دو آزمایش در سال است و در بیماران که درمان آن‌ها تغییر کرده یا اهداف کنترل گلیسمی را برآورده نمی‌کنند انجام آزمایش‌های سه ماهه می‌باشد. علاوه بر این، تمام بیماران مبتلا به دیابت که در بیمارستان بستری می‌شوند، باید غلظت HbA1c آن‌ها اندازه‌گیری شود (۲۰).

کاربرد دیگر اندازه‌گیری HbA1c تشخیص دیابت است. با توجه به استانداردسازی بهبود یافته آزمایش و داده‌های اخیر که نشان دهنده ارتباط HbA1c با رتینوپاتی است،

نقطه نظر ملاحظات پیش از اندازه‌گیری (preanalytical) برخلاف نمونه‌های گلوکز، نمونه‌های HbA1c خون‌گیری از بیمار را می‌توان در هر زمانی انجام داد. خون به دست آمده از طریق خون‌گیری از رگ یا خون مویرگ انگشتی مناسب است. ضد انعقاد مورد استفاده باید EDTA باشد مگر اینکه توسط شرکت سازنده مشخص شده باشد. پایداری نمونه بستگی به روش اندازه‌گیری دارد. روش‌های HPLC بیشترین حساسیت را نسبت به اثرات عمر نمونه دارند. در خون HbA1c به طور کلی تا ۱ هفته در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد پایدار است و در خون ذخیره شده در زیر ۷۰- درجه سانتیگراد حداقل برای ۱ سال پایدار است. نگهداری در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد اثرات نامطلوبی دارد و باید از آن اجتناب شود (۱۷). از جنبه ملاحظات پس از اندازه‌گیری (post analytical) نتایج زیر حد پایین مقدار مرجع باید با آزمایش تکراری تأیید شوند. اگر نتایج در آزمایش‌های تکراری تأیید شد، پزشکان باید در مورد احتمال وجود واریانت‌های هموگلوبین و یا عوامل منجر به کوتاه شدن عمر گلوبول قرمز مطلع شوند. نمونه‌هایی با نتایج بسیار بالا (بیش از ۱۴۰ میلی‌مول یا بیش از ۱۵ درصد) و نمونه‌هایی 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 اندازه‌گیری کمک کند. سیستم کیفیت: در آزمایشگاه‌های واجد شرایط، یک سیستم کیفیت متشکل از سه اصل اساسی وجود دارد: اعتبار بخشی با ISO 15189، کنترل کیفی داخلی و خارجی (external quality assessment; EQA). برای کنترل داخلی، دو نمونه کنترل (با غلظت HbA1c کم و بالا) باید در هر مرحله اندازه‌گیری مورد سنجش قرار گیرد. نمونه‌های خون تام منجمد ذخیره شده در زیر ۷۰- درجه سانتیگراد و همولیزات لیوفیلیزه بدون اثرات ماتریکس برای این منظور مناسب هستند. شرکت در یک برنامه EQA یا PT اطلاعات خارجی ارزشمندی را برای مدیریت کیفیت تست HbA1c فراهم می‌کند. قابلیت اطمینان نتایج اندازه‌گیری HbA1c به bias (کالیبراسیون مناسب) و دقت (تکرار پذیری روش) بستگی دارد. اهداف کیفی را

عدم قطعیت: عدم قطعیت نتایج HbA1c باید توسط 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 ناشی می‌شود و مهم‌ترین آن‌ها طول عمر گلبول‌های قرمز است. در افراد عادی، گلبول‌های قرمز تقریباً ۱۲۰ روز زنده می‌مانند. مقدار ۶/۱ درصد HbA1c نشان دهنده خطر بالای ابتلا به دیابت در افرادی است که گلبول‌های قرمز آن‌ها طول عمر نسبتاً کوتاهی دارند در حالی که در افرادی با گلبول‌های قرمز با طول عمر نسبتاً طولانی خطر کمی برای دیابت دارد. عدم قطعیت مربوط به اندازه‌گیری از خطاهای مربوط به روش اندازه‌گیری شامل systematic bias (به دلیل کالیبراسیون غیر ایده‌آل) و Random bias (به دلیل عدم دقت) ناشی می‌شود. عدم قطعیت تفسیر نتایج مجموع عدم قطعیت مربوط به تغییرات بیولوژیکی و همچنین خطاهای آزمایشگاهی است. به دلیل حاشیه کوچک محدود تصمیم‌گیری بالینی، عدم قطعیت همیشه باید در نظر گرفته شود، به خصوص زمانی که از HbA1c برای تشخیص استفاده می‌شود (۲۳).

شرایط بالینی خاص: مزیت اصلی HbA1c عدم تأثیرپذیری آن از نوسانات گلوکز بعد از غذا و همراه با بیماری است. با این حال، چند شرط باید در نظر گرفته شود. در شرایط بالینی که طول عمر گلبول قرمز به طور قابل ملاحظه‌ای کوتاه‌تر است (کم خونی کلیوی با استفاده از اریتروپویتین، کم خونی مزمن و همولیتیک، از دست دادن خون حاد و تزریق اخیر)، نتایج HbA1c به صورت کاذب پایین است. بیماری کبد، دیالیز و مالاریا مزمن نیز ممکن است باعث نتایج کاذب پایین شود. کم خونی فقر آهن ممکن است باعث نتایج افزایش کاذب HbA1c گردد که ظاهراً به دلیل افزایش سرعت گلیکلیه شدن است. تأثیر سن و نژاد نیز مورد بحث است. برخی از مطالعات نشان می‌دهد که غلظت HbA1c با افزایش هر دهه سن تقریباً ۰/۱٪ افزایش می‌یابد (۲۴). همچنین نشان داده شده است که غلظت HbA1c در جمعیت‌های آمریکایی آفریقایی تبار و اسپانیایی تبار نسبت به قفقازی‌ها بیشتر است، اگر چه محدوده مرجع و محدودیت‌های تصمیم‌گیری برای

یک کمیته متخصص بین‌المللی استفاده از غلظت HbA1c را برای تشخیص دیابت توصیه کرد. این دیدگاه در بسیاری از کشورها از جمله ایالات متحده، ژاپن و بریتانیا پذیرفته شده است. با این حال، نظرات در مورد جایگزینی این روش با تست گلوکز پلازما ناشتا یا استفاده از آن به موازات این آزمایش متفاوت است. WHO توصیه می‌کند که HbA1c می‌تواند به عنوان یک آزمایش تشخیصی برای دیابت استفاده شود، مشروط بر این که تست‌های تضمین کیفیت دقیق وجود داشته باشد و سنجش‌ها با معیارهای مطابق با مقادیر مرجع بین‌المللی استاندارد شده باشند و شرایطی وجود نداشته باشد که مانع از اندازه‌گیری دقیق آن شود. این شرایط شامل بارداری، مشکوک بودن به دیابت نوع I، یک دوره کوتاه مدت علائم دیابت، بیماری‌های حاد، دریافت داروهایی که ممکن است باعث افزایش سریع سطح گلوکز شود، آسیب پانکراس، هموگلوبینوپاتی‌ها، کم خونی، نارسایی کلیوی و عفونت HIV است (۲۱). یک کاربرد خاص استفاده از اندازه‌گیری HbA1c در دوران بارداری در بیماران دیابتی برای تعیین حداقل خطر پری‌ناتال برای مادر و حداکثر سلامت جنین است. کنترل دقیق قبل و در طول بارداری خطر ناهنجاری‌های مادرزادی، اضافه وزن نوزادان و همچنین عوارض بارداری 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 تصمیم‌گیری بالینی برای

غلظت HbA1c

National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)



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 تصمیم‌گیری بالینی مربوط به سن، قومیت و گروه‌های خاص بیمار باید مشخص شود.

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

نتیجه‌گیری

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

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, Hamed 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- Szymczak 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



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 glycosylated 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 Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2017*. Wiley Online Library; 2017.

21- Organization WH. WHO. Use of glycosylated 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.

