

مارک‌های سرمی ارزیابی هیپرگلیسمی در دیابت شیرین

● 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

شواهد بالینی نشان دهنده ارتباط عوارض دیابت شیرین (Diabetes Mellitus) با وضعیت کنترل گلیسمی بیماران است. از این رو ارزیابی شرایط گلیسمی در مدیریت این بیماری بسیار مهم است. هموگلوبین (HbA1c) متداول‌ترین روشی است که برای بررسی وضعیت گلیسمی بیماران دیابتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقدار HbA1c تحت تأثیر میزان عوامل مداخله‌گر مختلف از جمله بقا گلبول‌های قرمز و هموگلوبینوپاتی قرار می‌گیرد و در چنین مواردی نتایج قابل اعتمادی را به دست نمی‌دهد. در این موارد از نشانگرهای سرمی از جمله فروکتوزآمین، آلبومین گلیکیله و ۱،۵-آنهیدروگلوکوسیتول به عنوان جایگزین HbA1c استفاده می‌گردد. در این مقاله مروری به بررسی روش‌های اندازه‌گیری، جنبه‌های مختلف اثر گذار بر اندازه‌گیری و کاربردهای بالینی این نشانگرها پرداخته می‌شود.

کلمات کلیدی: دیابت شیرین، کنترل گلیسمی، فروکتوزآمین، آلبومین گلیکیله، ۱،۵-آنهیدروگلوکوسیتول

□ مقدمه

گلیکاسیون (glycation) واکنشی غیر آنزیمی است که در آن گلوکز به صورت خود به خود به عامل آمینی پروتئین‌ها و سایر بیومولکول‌ها متصل می‌گردد. عامل اصلی تعیین‌کننده سرعت و میزان این غلظت گلوکز در محیط است (۱). با توجه به این که هیپرگلیسمی مشخصه اصلی

دیابت شیرین محسوب می‌گردد گلیکیشن در این بیماران تسریع شده و عامل اصلی ایجاد اختلالات متابولیک در بیماران دیابتی به شمار می‌آید (۲). گلیکاسیون هموگلوبین (هموگلوبین اصلی بالغین) منجر به تولید HbA1c در گلبول‌های قرمز می‌گردد. 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 به طور متداول از سنجش HbA1c برای پایش وضعیت کنترل قند خون، پاسخ به درمان و خطر ایجاد عوارض دیابت استفاده می‌کنند. استفاده از روش‌های مختلف برای اندازه‌گیری سطح HbA1c منجر به ایجاد تنوع گسترده در نتایج اندازه‌گیری HbA1c می‌شود (۳). به علاوه وجود واریانت‌های هموگلوبین، سطوح بالای HbF و هموگلوبین کاربامیله که تشکیل آن در بیماران با نقص کلیوی شایع است موجب بروز خطا در اندازه‌گیری HbA1c می‌گردد (۴). همچنین در نوزادان که HbF هموگلوبین اصلی است از HbA1c نمی‌توان به عنوان یک نشانگر گلیسمی استفاده کرد (۵). در این موارد از نشانگرهای دیگری از جمله فروکتوزآمین، آلبومین گلیکیله (Glycated albumin) و ۱،۵-آنهیدروگلوکوسیتول (1,5-anhydroglucitol) به عنوان جایگزین HbA1c استفاده می‌گردد. در این مقاله مروری به بررسی روش‌های اندازه‌گیری و جنبه‌های مختلف اثر گذار بر اندازه‌گیری آن‌ها و همچنین کاربردهای بالینی این نشانگرها پرداخته می‌شود.





□ فروکتوز آمین (Fructosamine)

فروکتوز آمین کتوآمینی است که از گلیکاسیون پروتئین‌های سرم شامل آلبومین (عمدتاً)، گلوبولین‌ها و لیپوپروتئین‌ها حاصل می‌گردد پس در واقع شامل تمام پروتئین‌های گلیکله سرم می‌شود (۶). اتصال گلوکز طی واکنش شیف به گروه آمین باقیمانده‌های لیزین و یا انتهای آمینی پروتئین‌ها تولید فروکتوز آمین می‌کند. پروتئین‌های گلیکله شده نیمه عمر کوتاه‌تری در مقایسه با هموگلوبین و گلوبول‌های قرمز دارند، از این رو تغییرات قند خون را در بازه زمانی کوتاه‌تر نشان می‌دهند. مقادیر سرمی فروکتوز آمین نشانگر میانگین غلظت گلوکز سرم در دو تا سه هفته گذشته بیمار می‌باشد. به علاوه تاثیرات هموگلوبینوپاتی‌ها را به حداقل می‌رسانند (۷). گر چه اندازه گیری HbA1c در تشخیص و مدیریت درمان دیابت اهمیت بسزایی دارد اما چندین مطالعه این نظریه را تقویت می‌کند که در افراد دیابتی با عوارض میکروواسکولار یا ماکروواسکولار استفاده از فروکتوز آمین و آلبومین گلیکله شده که تغییرات کوتاه مدت را نشان می‌دهند ارزش بیشتری دارد (۸). به علاوه سنجش فروکتوز آمین در مقایسه با HbA1c ارزان‌تر و آسان‌تر انجام می‌شود.

□ اندازه گیری فروکتوز آمین

برای اندازه گیری فروکتوز آمین می‌توان از سرم یا پلاسما استفاده کرد، نمونه گیری در هر ساعت از شبانه روز بلامانع بوده و نیازی به ناشتایی بیمار نمی‌باشد. کروماتوگرافی میل ترکیبی با استفاده از آمینوفنیل بورونیک اسید و روش کالریمتری براساس احیاء نیتروبلو تترازولیوم (NBT) به فورمازون دو روش اندازه گیری فروکتوز آمین می‌باشند. این روش نسبتاً ارزان و قابل استفاده در دستگاه‌های اتوآنالیزور می‌باشد (۹).

□ عوامل مداخله گر در اندازه گیری فروکتوز آمین

محدوده نرمال فروکتوز آمین سرمی 200–285 $\mu\text{mol/L}$ است. روش کالریمتری در اندازه گیری فروکتوز آمین به تغییرات دما حساس بوده و همچنین تحت تاثیر مواد احیا کننده در سرم مانند بیلی روبین و ویتامین C قرار

می‌گیرد. مقادیر فروکتوز آمین تحت تاثیر میزان آلبومین و پروتئین تام سرم نیز قرار می‌گیرد و در مواردی که میزان آلبومین سرمی کمتر از 3g/dl باشد میزان فروکتوز آمین قابل اعتماد نیست. همچنین در شرایطی که میزان پروتئین تام سرم افزایش یابد (به عنوان مثال در مالتیپل میلوما و یا گاماپاتی‌ها) میزان فروکتوز آمین تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۰). مقادیر پایین کاذب فروکتوز آمین در مقایسه با میانگین سطح سرمی گلوکز در موارد گردش سریع آلبومین مانند سندروم نفروتیک، بیماری‌های شدید کبدی، سوء تغذیه و انتروپاتی‌های با دفع بالای پروتئین دیده می‌شود. میزان فروکتوز آمین سرمی در کودکان کمتر از بزرگسالان می‌باشد که به علت مقدار پایین تر پروتئین‌های سرم می‌باشد (۱۱). فروکتوز آمین قابل شناسایی در بزاق هم می‌باشد و به طور قابل توجهی در بزاق افراد دیابتی تایپ ۲ بالاتر است (۱۲).

□ آلبومین گلیکله (Glycated albumin)

آلبومین خون ۶۰ درصد پروتئین تام خون را شامل می‌شود ۱۰ برابر بیشتر از هموگلوبین به گلیکاسیون حساس می‌باشد. گروه‌های آمینی آزاد آلبومین سرم در PH فیزیولوژیک با گروه‌های کتونی یا آلدئیدی قندهای احیا کننده واکنش داده و ترکیب ناپایدار آلدامین را تشکیل می‌دهند، این محصولات طی فرآیند بازآرایی به محصولات پایداری به نام ترکیبات آمادوری (amadori) تبدیل می‌شود که آلبومین گلیکله نامیده می‌شود. در شرایط افزایش قند خون تولید آلبومین گلیکله افزایش می‌یابد. از آنجایی که نیمه عمر آلبومین در مقایسه با RBC کوتاه‌تر می‌باشد لذا مقدار آلبومین گلیکله در مقایسه با HbA1c توانایی ارزیابی قند خون را فقط در دو تا سه هفته گذشته دارد (۱۱).

□ اندازه گیری آلبومین گلیکله

روش‌های مختلفی شامل روش‌های آنزیمی، کروماتوگرافی و HPLC، الایزا، کالریمتری و الکتروکمیkal برای اندازه گیری آلبومین گلیکله در دسترس می‌باشد. روش آنزیمی روشی ساده، دقیق و قابل استفاده در اتوآنالیزور ها

می‌باشد (۱۴). در این متد ابتدا آمینو اسیدهای گلیکیده اندوژن حذف شده سپس آلبومین گلیکیده توسط یک پروتئیناز اختصاصی آلبومین هیدرولیز شده و محصول این واکنش توسط کتوآمین اکسیداز اکسیده شده و H_2O_2 تولید می‌گردد که با کروموژن ترکیب و تولید رنگ می‌شود. میزان نرمال آلبومین گلیکیده حدود ۱۴ درصد بوده و در بیماران دیابتی به بالاتر از ۱۷ درصد خواهد رسید، گاهی در افراد دیابتی این میزان دو تا ۵ برابر حد نرمال می‌شود. گفتنی است که متدهای اندازه گیری آلبومین گلیکیده نیز مانند فروکتوزآمین فاقد روش‌های استانداردسازی بوده و کنترل کیفی آن به خوبی $HbA1c$ انجام نشده است. میزان آلبومین گلیکیده سرمی نیز مانند فروکتوزآمین تحت تأثیر غلظت آلبومین سرمی قرار می‌گیرد (۱۵، ۱۶).

□ کاربرد بالینی آلبومین گلیکیده

آلبومین گلیکیده مزایای متعددی در ارزیابی کنترل گلوکز دارد، اولین مزیت این است که برخلاف $HbA1c$ تحت تأثیر طول عمر غیر نرمال RBC و یا واریانت‌های مختلف هموگلوبین قرار نمی‌گیرد. آلبومین گلیکیده یک شاخص مفید اختصاصی برای کنترل قند خون در اختلالات خونی مانند کم خونی، خونریزی‌ها، آنمی کلیوی، بارداری، سیروز کبدی و دیابت نوزادان محسوب می‌گردد. مزیت دیگر آلبومین گلیکیده در شرایطی است که افزایش قند خون به سرعت اتفاق افتاده و یا گلیسمی به سرعت بدتر می‌شود (مانند دیابت تایپ ۱ فولمیننت). نهایتاً در مقایسه با $HbA1c$ ، همخوانی بهتری بین آلبومین گلیکیده و سطح قند خون بعد از غذا وجود دارد. با توجه به این که سرعت گلیکیشن در آلبومین ده برابر سریع‌تر از $HbA1c$ می‌باشد احتمالاً انعکاس بهتری از تغییرات گلوکز خون و افزایش قند خون بعد از غذا در مقایسه با مقادیر $HbA1c$ می‌باشد (۱۷).

□ محدودیت‌های آلبومین گلیکیده

مقادیر آلبومین گلیکیده در بیماری‌هایی که متابولیسم آلبومین غیر نرمال می‌باشد قابل اطمینان نیست، افزایش متابولیسم آلبومین در بیماری‌هایی مانند سندروم نفروتیک،

پرکاری تیروئید، سندروم کوشینگ، مصرف گلوکوکورتیکوئیدها و در نوزادان باعث کاهش سطح آلبومین گلیکیده خواهد شد (۱۸). در مواردی که متابولیسم آلبومین کاهش پیدا کند مانند سیروز کبدی و کم کاری تیروئید سطح آلبومین گلیکیده افزایش خواهد یافت (۱۹). گر چه این تغییرات به شدت تغییرات سرمی فروکتوزآمین نمی‌باشد. برخلاف $HbA1c$ ، آلبومین گلیکیده به طور معکوس تحت تأثیر چاقی است و در اشخاص چاق با درصد بالای چربی کاهش بیشتری دارد (۲۰). سطح سرمی گلوکز در نوزادان پایین‌تر از بالغین بوده همچنین بالا بودن متابولیسم آلبومین در نهایت باعث کاهش سطح آلبومین گلیکیده نوزادان خواهد بود (۲۱). اندازه گیری آلبومین گلیکیده همزمان با اندازه گیری گلوکز برای تشخیص دیابت و پیش دیابت نیز پیشنهاد شده است زیرا حساسیت و اختصاصیت بالایی دارد (۲۲). آلبومین گلیکیده به عنوان یک عامل آتروژنیک در ایجاد عوارض ناشی از دیابت نقش دارد و به طور برگشت ناپذیر باعث تقویت پاسخ‌های آتروژنیک، ترومبوژنیک و التهابی و تشدید خطر بیماری‌های قلبی عروقی شده همچنین باعث از بین بردن اثر ضد التهابی HDL می‌شود (۲۳). علاوه بر این نشان داده شد که گلیکاسیون، آلبومین را برای بعضی انواع سلول‌های مغزی و عروقی سیتوتوکسیک کرده و کاهش نقش محافظتی در ممانعت از تجمع بتا آمیلوئید داشته و در نهایت در پیشرفت آلزایمر مشارکت داشته است (۲۴). به طور کلی می‌توان گفت که آلبومین گلیکیده نه تنها یک جایگزین مناسب $HbA1c$ می‌باشد بلکه به عنوان یک عامل در پیشگویی عوارض دیابت نیز اهمیت دارد.

□ آنهیدروگلووسیتول (1,5-AG)

آنهیدروگلووسیتول نوعی داکسی گلوکز است که به طور نرمال در پلی الکلهای مواد غذایی موجود می‌باشد و از طریق جذب روده‌ای وارد بدن می‌شود. در مواقعی که گلوکز خون نرمال باشد سطح سرمی این نشانگر وابسته به میزان این ترکیب در مواد غذایی، میزان جذب روده‌ای، فیلتراسیون گلومرول‌ها و باز جذب توبولی است (۲۵). غلظت سرمی نرمال 1,5-AG برابر $12-40 \mu\text{g/ml}$ می‌باشد. باز جذب توبولی 1,5-AG توسط کوترانسپورتر SGLT4 و همراه با گلوکز انجام می‌شود لذا مقادیر سرمی آن با سطوح بسیار بالای گلوکز در باز جذب



تداخل قبل از انجام واکنش پروتئین‌ها با کمک تری کلرواستیک اسید و گلوکز با استفاده از ستون‌های تعویض یونی جدا می‌شوند (۲۹).

نتیجه گیری

نشانه‌های سرمی کنترل گلیسمی می‌توانند به عنوان جایگزین HbA1c در شرایطی مانند هموگلوبینوپاتی و سایر مواردی که استفاده از HbA1c ممکن نیست به کار گرفته شوند. مزیت دیگر این نشانه‌ها این است جهت پایش کوتاه مدت تر گلوکز خون مناسب‌تر از HbA1c می‌باشند به نظر می‌رسد که اندازه گیری 1,5-AG سرمی برای تخمین گردش قند خون در یک روز مفید باشد. همچنین از این نشانه‌ها می‌توان برای بررسی نوسانات قند خون بعد از غذا استفاده نمود. با این وجود، هیچ دستورالعمل قطعی برای استفاده از این نشانه‌ها به عنوان روش جایگزین HbA1c و یا مکمل نشانه‌های استاندارد و کلاسیک مانند قند خون ناشتا و مطالعات آینده نگر بلند مدت در این زمینه وجود ندارد. لذا ضروری است مطالعات کوهورت بزرگ برای روشن شدن توانایی بالقوه این نشانه‌ها در تشخیص سریع‌تر، مدیریت درمان و جلوگیری از عوارض دیابت انجام پذیرد.


کلیدی رقابت می‌کند به طوری که افزایش قند خون به بیش از 180mg/dl باعث کاهش 1,5-AG سرمی به دلیل افزایش دفع کلیدی آن خواهد شد. میزان پایین 1,5-AG سرمی نشانگر افزایش گلوکز در گردش خون و بروز گلوکز اوری در یکی دو هفته اخیر می‌باشد (۲۶). از طرف دیگر اندازه گیری 1,5-AG بهتر از HbA1c تغییرات گلوکز خون بعد از مصرف غذا را نشان می‌دهد (۲۷). گرچه 1,5-AG ممکن است کاربرد بالینی برای پیگیری و درمان دیابت تایپ ۱ داشته باشد اما نتایج آزمایش تحت تأثیر تغییرات در همودینامیک کلیه است که از اعتماد به نتایج می‌کاهد (۲۸).

اندازه گیری 1,5-AG

روش‌های متفاوتی برای اندازه گیری کمی 1,5-AG وجود دارد که دو روش مهم آن شامل GC-MS و روش کالریمتری آنزیمی می‌باشد. نمونه سرم و پلاسما هر دو قابل استفاده بوده و ناشتایی ضرورتی ندارد. در هر دو روش خارج کردن گلوکز و پروتئین سرم جهت آماده سازی نمونه لازم است. در روش آنزیمی با استفاده از آنزیم پیرانوز اکسیداز، 1,5-AG اکسید شده و آب اکسیژنه تولید شده که نسبت مستقیم با میزان 1,5-AG دارد به روش کالریمتری با سنجش جذب نوری کروموزن تغییر رنگ یافته خوانده می‌شود. جهت جلوگیری از

References:

- 1- Seri A, Khorsand M, Rezaei Z, Hamed A, Takhsid MA. Inhibitory effect of buniun persicum hydroalcoholic extract on glucose-induced albumin glycation, oxidation, and aggregation in vitro. *Iranian journal of medical sciences*. 2017;42(4):369.
- 2- Abedi S, Vessal M, Asadian F, Takhsid MA. Association of serum kynurenine/tryptophan ratio with poor glycaemic control in patients with type2 diabetes. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2021;20(2):1521-7.
- 3- Lee J-E. Alternative biomarkers for assessing glycaemic control in diabetes: fructosamine, glycated albumin, and 1, 5-anhydroglucitol. *Annals of pediatric endocrinology & metabolism*. 2015;20(2):74.
- 4- Weykamp C. HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. *Annals of laboratory medicine*. 2013;33:400-393: (6).
- 5- 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.
- 6- Mosca A, Carenini A, Zoppi F, Carpinelli A, Banfi G, Ceriotti F, et al. Plasma protein glycation as measured by fructosamine assay. *Clinical chemistry*. 1987;33(7):1141-6.
- 7- Ahmed N, Furth AJ. Failure of common glycation assays to detect glycation by fructose. *Clinical chemistry*. 1992;38(7):1301-3.
- 8- Koga M, Murai J, Saito H, Mukai M, Matsumoto S, Kasayama S. Glycated albumin levels are higher relative to glycated haemoglobin levels in gastrectomized subjects. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2010;47(1):39-43.
- 9- Frandsen E, Sabagh T, Bacchus R. Serum fructosamine in diabetic pregnancy. *Clinical chemistry*. 1988;34:316-9.



10- Rivera-Velez SM, Hwang J, Navas J, Villarino NF. Identification of differences in the formation of plasma glycated proteins between dogs and humans under diabetes-like glucose concentration conditions. *International journal of biological macromolecules*. 2019;123:1197-203.

11- Miyazaki A, Kohzuma T, Kasayama S, Koga M. Classification of variant forms of haemoglobin according to the ratio of glycated haemoglobin to glycated albumin. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2012;49(5):441-4.

12- Selvin E, Rawlings AM, Grams M, Klein R, Sharrett AR, Steffes M, et al. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2014;2(4):279-88.

13- Brownlee M. Glycation and diabetic complications. *Diabetes*. 1994;43(6):836-41.

14- Kouzuma T, Usami T, Yamakoshi M, Takahashi M, Imamura S. An enzymatic method for the measurement of glycated albumin in biological samples. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2002;324(1-2):61-71.

15- Kouzuma T, Uemastu Y, Usami T, Imamura S. Study of glycated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycated albumin measurement method. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2004;346(2):135-43.

16- Kohzuma T, Koga M. Lucica GA-L glycated albumin assay kit: a new diagnostic test for diabetes mellitus. *Molecular diagnosis & therapy*. 2010;14(1):49-51.

17- Chon S, Lee YJ, Fraterrigo G, Pozzilli P, Choi MC, Kwon MK, et al. Evaluation of glycemic variability in well-controlled type 2 diabetes mellitus. *Diabetes technology & therapeutics*. 2013;15(6):455-60.

18- Suzuki S, Koga M, Takahashi H, Matsuo K, Tanahashi Y, Azuma H. Glycated albumin in patients with neonatal diabetes mellitus is apparently low in relation to glycemia compared with that in patients with type 1 diabetes mellitus. *Hormone research in paediatrics*. 2012;77(5):273-6.

19- Koga M. Glycated albumin; clinical usefulness. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2014;433:96-104.

20- Koga M, Matsumoto S, Saito H, Kasayama S. Body mass index negatively influences glycated albumin, but not glycated hemoglobin, in diabetic patients. *Endocrine journal*. 2006;53(3):387-91.

21- Lee J-E. Alternative biomarkers for assessing glycemic control in diabetes: fructosamine, glycated albumin, and 1,5-anhydroglucitol. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2015;20(2):74-8.

22- Hwang YC, Jung CH, Ahn HY, Jeon WS, Jin SM, Woo JT, et al. Optimal glycated albumin cutoff value to diagnose diabetes in Korean adults: a retrospective study based on the oral glucose tolerance test. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2014;437:1-5.

23- Okuda LS, Castilho G, Rocco DD, Nakandakare ER, Catanozi S, Passarelli M. Advanced glycated albumin impairs HDL anti-inflammatory activity and primes macrophages for inflammatory response that reduces reverse cholesterol transport. *Biochimica et biophysica acta*. 2012;1821(12):1485-92.

24- Ramos-Fernández E, Tajés M, Palomer E, Ill-Raga G, Bosch-Morató M, Guivernau B, et al. Posttranslational nitro-glycative modifications of albumin in Alzheimer's disease: implications in cytotoxicity and amyloid- β peptide aggregation. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014;40(3):643-57.

25- Yamanouchi T, Tachibana Y, Akanuma H, Minoda S, Shinohara T, Moromizato H, et al. Origin and disposal of 1,5-anhydroglucitol, a major polyol in the human body. *The American journal of physiology*. 1992;263(2 Pt 1):E268-73.

26- Stettler C, Stahl M, Allemann S, Diem P, Schmidlin K, Zwahlen M, et al. Association of 1,5-anhydroglucitol and 2-h postprandial blood glucose in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*. 2008;31(8):1534-5.

27- Dungan KM, Buse JB, Largay J, Kelly MM, Button EA, Kato S, et al. 1,5-anhydroglucitol and postprandial hyperglycemia as measured by continuous glucose monitoring system in moderately controlled patients with diabetes. *Diabetes care*. 2006;29(6):1214-9.

28- Seok H, Huh JH, Kim HM, Lee BW, Kang ES, Lee HC, et al. 1,5-anhydroglucitol as a useful marker for assessing short-term glycemic excursions in type 1 diabetes. *Diabetes & metabolism journal*. 2015;39(2):164-70.

29- Juraschek SP, Steffes MW, Miller ER, 3rd, Selvin E. Alternative markers of hyperglycemia and risk of diabetes. *Diabetes care*. 2012;35(11):2265-70.

