سنجش و اصلاح هموگلوبین A1c و g-Hb در تشخیص و پایش دیابت

● دکتر نادر وظیفه شیران

استادیار هماتولوژی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

● مریم سادات شاکر طاهری

دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

❑ خلاصه

هموگلوبین A1c درصدی از هموگلوبین تام هست که طی دوران اریتروپوئز و در طول عمر ۱۲۰ روزه RBC به $NH3^+$ اسیدآمینه والین ابتدایی زنجیره بتا گلوبین متصل شده و با حذف بار مثبت باعث القای بار منفی و در نتیجه حرکت سریع آن در الکتروفورز هموگلوبین می شود. مقدار طبیعی HbA1c حدود ۶٪ بوده و افزایش آن شاخصی از دیابت، پایش درمان و مقدار تقریبی قند خون بیمار طی ۳ ماه گذشته می باشد. از آنجایی که در هموگلوبینوپاتی‌ها ممکن است یک یا هر دوی زنجیره بتا به گلوبین دیگر جهش پیدا کند، در نتیجه سهم هموگلوبین A کمتر شده و به هموگلوبین واریانت (X) افزوده می شود و بدین ترتیب مقدار HbA1c نیز کمتر می‌شود. در موارد هموزیگوت مثل S/S، مقدار هموگلوبین A و در نتیجه HbA1c به صفر رسیده و به‌جای آن HbS1c تشکیل می شود که در صورت استفاده از HPLC و کاپیلاری الکتروفورز می‌بایست مقدار HbA1c اصلاح شود. در این مقاله روش های اصلاح HbA1c با دو روش فوق، عوامل تداخلگر در آن و همچنین روش های جایگزین آن معرفی و مورد بحث قرار خواهد گرفت.

کلمات کلیدی: دیابت، هموگلوبین A1c، AGE، کاپیلاری الکتروفورز، HPLC، فروکتوز آمین، آلبومین گلیکه

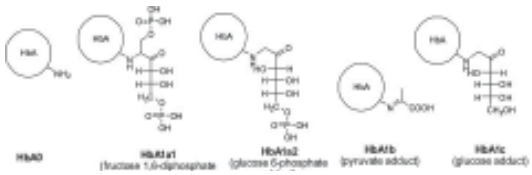
❑ بیوسنتز گلوبین

Heme بعد از سنتز در میتوکندری از طریق پمپ FLVCR1 وارد سیتوزول شده و در شبکه اندوپلاسمی با گلوبین های تترامر ($\alpha 2\beta 2$) ادغام شده و تشکیل HbA0 را می دهند، سپس وارد دستگاه گلژی شده تا فرآیندهایی مثل گلیکاسیون و استیلاسیون بر روی آن انجام شوند. اضافه شدن قندها و به خصوص گلوکز به ساختار هموگلوبین به سن سلول و غلظت گلوکز خون بستگی دارد، به طوری که این روند طی دوران اریتروبلاستی صورت گرفته و در دوران رتیکولوسیت و اریتروسیت بالغ به دلیل فقدان گلژی بسیار محدود و کم می شود. در این فرآیند، گلوکز بسته به شیب غلظت خود و بدون نیاز به انسولین، از طریق

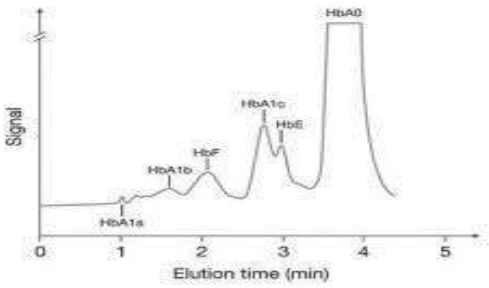
[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

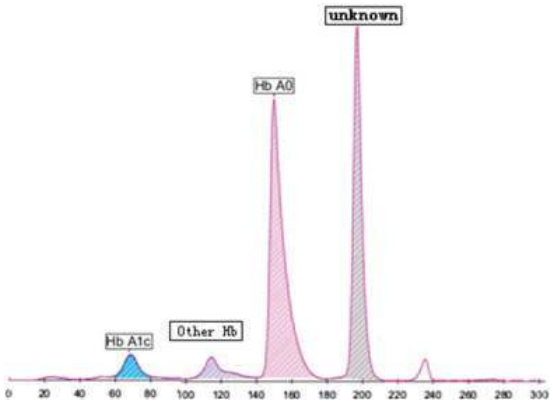
پروتئین‌های GLUT-1 وارد نورموبلاست شده و بدون نیاز به آنزیم خاصی به والین ابتدایی NT زنجیره گلوبین β وصل و تشکیل هموگلوبین های گلیکه HbA1 را می‌کند. در مقابل HbA1 گلیکه، به HbAیی که تازه در شبکه اندوپلاسمی مونتاژ شده و هنوز گلیکه نشده است، HbA0 گفته می‌شود. پس در برابر هموگلوبین A2 هم نمی توان برای HbA بالغین از عبارت هموگلوبین A1 استفاده کرد، چرا که این اصطلاح منحصرا برای بیان هموگلوبین های A گلیکه به کار می رود که ۸٪ از کل HbA می باشد. خود HbA1 به انواع مختلف تقسیم بندی می‌شود:

- HbA1a که به قند گلوکز ۶- فسفات (G6P) یا فروکتوز ۱و۶ دی فسفات (F1,6DP) وصل می‌شود و کمتر از ۲٪ (۱/۶٪) از HbA را تشکیل می‌دهد. امروزه این واریانت خود به دو زیرگروه A1a1 و A1a2 تقسیم می‌شود که به ترتیب به فروکتوز ۱ و ۶- دی فسفات(F1,6DP) و گلوکز ۶- فسفات (G6P) متصل می شود.
- HbA1b که به پیروات وصل شده و کمتر از ۱٪ (۰/۸٪) از HbA را تشکیل می دهد. امروزه این واریانت خود به سه زیرگروه A1b1، A1b2 و A1b3 تقسیم می‌شود.
- HbA1c که به قند گلوکز وصل می شود و کمتر از ۵٪ از HbA را تشکیل می دهد.
- HbA1d که به قند نامشخصی وصل شده و امروزه خود به سه زیرگروه A1d1، A1d2 و A1d3 تقسیم می شود.

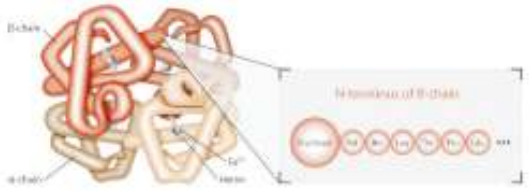


شکل ۱: ساختار انواع HbA





شکل ۲: در HbA1C (قنددار) به دلیل اتصال گلوکز به NH_3^+ والین انتهای NT، بار مثبت آن از بین رفته و هموگلوبین اندکی منفی‌تر شده و لذا سریع تر حرکت می‌کند، ولی در HbA1a به دلیل اتصال قند فسفات دار منفی، نه تنها بار مثبت هموگلوبین کم می شود، بلکه بار منفی فسفات نیز بر آن افزوده شده (۲ بار منفی تر) و خیلی سریع تر از HbA1C حرکت نموده و در کنار Hb-Barts قرار می گیرد. امروزه به جای الکتروفورز قلیایی بر روی استات سلولز، از HPLC (راست) یا کاپیلاری الکتروفورز (CE) استفاده می شود که در کاپیلاری الکتروفورز زون HbA0 و HbA1c و HbA2 را در جایگاه ۱۵۰ و ۷۰ و ۲۴۰ نشان می دهد ولی اگر بیماری همزمان دارای واریانت HbX نیز باشد، دو باند گلیکه A1c و X1c تشکیل می‌شود که X1c باند جدیدی برای خود ایجاد می کند و می‌بایست جمع آن ها به عنوان HbA1c نهایی گزارش شود و در عین حال وجود یک هموگلوبین واریانت نیز گزارش شود. دستگاه‌های امروزی قادرند همه هموگلوبین های قندی را بر اساس افینیتی و خاصیت آنتی ژنی آن ها شناسایی کنند.

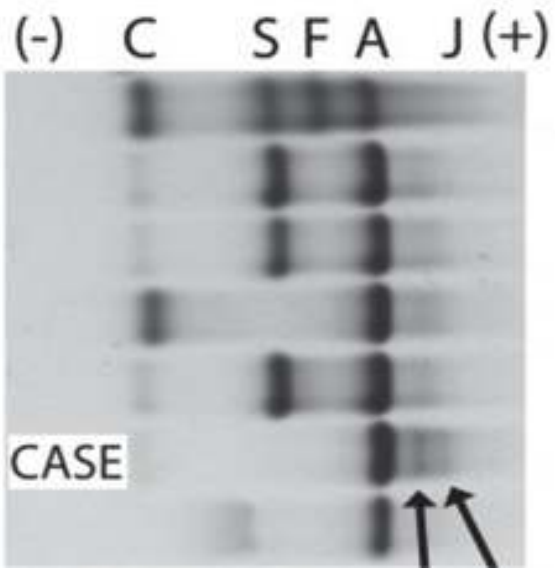


شکل ۳: گلیکه شدن هموگلوبین در ابتدای NT زنجیره‌های بتا نشان داده شده است. لازم به ذکر است که

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

گلوکـز بعد از اتصال به والین و تشـکیل باز شـیف، به فرم آمـادور 2-deoxyfructose-valine تبدیـل می شـود. حـدود ۶۰٪ از گلیکاسـیون در Val ابتدایـی NT و ۴۰٪ مابقی بر روی ۸-۷ Lys+ سـطح گلوبین صورت می گیرد که HbA1c بیشـتر دسـته اول را شامل شده و به مجموع دو دسته، g-Hb گفته می شـود. دسته اول اغلب دائمی و غیر قابل برگشت بوده ولی دسته دوم بیشتر موقتی و ناپایدار می باشد که گاها طی شرایط هیپرگلایسمی بر گلیکاسیون قابـل برگشـت NT:Val1 نیز افزوده می شـود، در نتیجه HbA1c به دو دسـته پایـدار (Stable-A1c) و ناپایدار (Labiel-A1c) تقسـیم می شـود که منظور از HbA1c اصلی، نوع S-A1c می باشـد و L-A1c در شرایط تغذیه قندی افزایش موقت می یابد که فقط برخی دسـتگاه های HPLC نوع Tosoh-G7/8 قادر به افتراق این دو هسـتند. ۵۰٪ از گلیکاسـیون A1c در دوران نورموبلاستی و مابقی در طـول عمر RBC صورت می‌گیرد، لذا کاهش هر کدام از دوره‌ها در آنمی های هیپرپرولیفراتیو (مثل آنمی همولیتیک و هموگلوبینوپاتـی هـا) باعـث کاهـش کاذب آن (بدون کاهـش واقعی قند خون) و افزایـش دو دوره در آنمی‌های هیپوپرولیفراتیـو (مثـل آنمی فقر آهن، مگالوبلاسـتیک و آپلاستیک) باعث افزایش کاذب آن می‌شود.

هموگلوبین سـریع A1c اولین بار در سال ۱۹۵۸ توسط Huisman و Meyering و بـه روش کروماتوگرافـی جداسازی شد. سپس در سـال ۱۹۶۸ دکتر ساموئل رهبر افزایـش آن در بیمـاران دیابتی کنترل نشـده را اثبات و یک سـال بعد، ساختار آن را نیز شناسـایی نمود. در سال ۱۹۷۵ واکنـش شـیمیایی و غیرآنزیماتیک قندی شـدن هموگلوبین (واکنـش آمادوری تشـکیل دهنده Schiff) توسـط Bunn مطرح گردید تا اینکه در سال ۱۹۷۶ آقای Anthony Cerami انـدازه گیری منظـم A1C را برای شـناخت و پایش منظم بیمـاری دیابت مطـرح نمودند. البتـه هماننـد ICSH در هماتولـوژی، ADA، IFCC و NGSP در بیوشـیمی[1] نیز برای بیان مقدار و گزارش آن، دستورالعمل‌های اختصاصی بیان نموده است که در ادامه به آن ها نیز پرداخته خواهد شد.



شکل ۴: دکتر سـاموئل رهبر (۲۰۱۲-۱۹۲۹) دانشمند ایرانـی و متولـد همدان که عـلاوه بـر HbA1C یازده هموگلوبین دیگر را نیز شناسـایی و نامگـذاری نموده اند. دکتر رهبـر در الکتروفورز قلیایـی از هموگلوبین بیماران دیابتی یک باند سـریع تر از A را مشاهده کرده بود که در الکتروفورز اسـیدی دیده نمی شـد. تصویر سمت چپ نیز مربوط به دکتر آنتونی سرامی هست که نقش به سزایی در ارتباط بالینی HbA1C و HbAGE با بیماری های عروقی و آترواسکلروتیک ایفا نموده است.

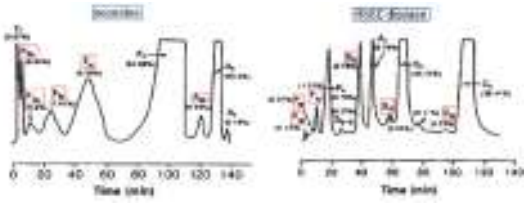
1- National Glycohemoglobin Standardization program of US (NGSP), Japanese Diabetes Society/ Japanese Society of Clinical Chemistry (JDS/JSCC), and Mono-S in Sweden, United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS), International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), American Diabetes Association (ADA), European Association for the study of Diabetes (EASD), and International Diabetes Federation working group (IDFWG)

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

❑ هموگلوبین های مینور

بـــه واریانت های هموگلوبینی ناشـــی از تغییرات پس از ترجمه گلوبین ها کـــه در آن ها توالی نوکلئوتیدی ژن‌های گلوبینی دســـت نخورده باقی می مانند، هموگلوبین مینور گفتـــه می شـــود، از آن جمله مـــی توان به گلیکاســـیون غیرآنزیماتیک، استیلاسیون، پیرواسیون، s-گلوتاتیوناسیون و اضافه شدن اســـتالدهید و کربامیل (مشتق اتانول) اشاره نمود. این تغییرات می توانند روی تمامی هموگلوبین های طبیعی A، F و A2 و غیرطبیعی C و S ایجاد شوند. دیابت، اورمی، آنمی و آپلازی اریتروئیدی، بیماری‌های واســـکولار، ایدز و مصرف داروهایی مثل آســـپرین و پنی‌ســـیلین، قادر هســـتند روی میزان هموگلوبین‌های مینـــور تاثیر بگذارند. برای فـــرم گلیکه HbA از عبـــارت HbA1a-d، برای فرم خام HbA از عبارت HbA0، برای فرم گلوتاتیونه HbA از عبارت HbAIII، برای فـــرم خام HbF از عبارت HbF0، برای فرم گلیکـــه HbF از عبـــارت HbF1a-d، برای فرم اســـتیله HbF از عبـــارت HbF1، بـــرای فـــرم خام HbS از عبـــارت HbS0 و بـــرای فـــرم گلیکـــه HbS از عبارت HbS1a-d استفاده می‌شود که همه A1ها جلوتر از A0، همه S1هـــا جلوتر از S0 حرکت می کنند (شـــکل ۲۹). HbA1c شـــایع ترین هموگلوبین مینور خون محســـوب می‌شـــود که توســـط تکنیک CE (کاپیلاری الکتروفورز)، Cation Exchange or Affinity HPLC، بورونـــات افینیتی، بیوسنسور، روش های آنزیماتیک، الایزا، HPLS یا MS (مس اسپکترومتری) شناسایی می شود.

استیلاسیون هموگلوبین ها توسط آنزیم استیل ترانسفراز، در حضور استیل کوآنزیم A و اغلب در آلانین NT پروتئین‌ها انجام می شـــود، از طرفی دیگـــر، هموگلوبین برای عملکرد نرمال بـــه NT آزاد نیاز دارد که بلوک شـــدن آن با گلوکز یا اســـتیل، روی عملکرد آن (مثل اتصال به 2,3DPG) اثر منفی گذاشـــته و باعث افزایش میل آن به O2 می شود. از آنجایی که عمده استیلاسیون در HbF و در زنجیره γ انجام می شود، از این رو به HbF استیله، HbF1 و به فرم گلیکه آن HbF1a-d گفته می شـــود. در اورمی ناشی از افزایش اوره خون، ترکیبی به نام ســـیانات تشـــکیل می شود که به صورت غیر قابل برگشت به گروه آمینوی NT هر دو گلوبین α و β متصل می شـــود، در این افراد، هموگلوبین کربامیله نیز تا ۴٪ افزایش می یابد. گلوتاتیونه شـــدن HbAIII در Cys:93 باعث کاهش P50 و اثر تعاون می شود که اغلب در افراد دیابتی و میکروآنژیوپاتـــی افزایش می یابد. اضافه شـــدن اســـتالدهید به ریشـــه آمینوی Lys و Val گلوبین β (حتی به فـــرم گلیکه) نیز همانند افزوده شـــدن گلوکز، فرآیندی غیرآنزیماتیک بـــوده و ۲۵-۱۵٪ از تغییرات پس از ترجمـــه هموگلوبین را به خـــود اختصاص می دهد. فعلا تکنیکی برای سنجش آن وجود ندارد ولی با کروماتوگرافی می توان آن را از دو هموگلوبین A1a و A1b افتراق داد.



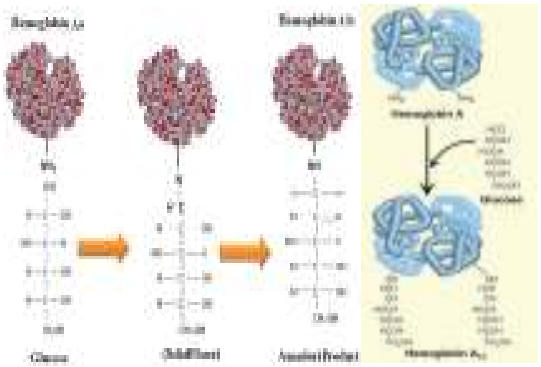
شکل ۵: موقعیت انواع مختلف هموگلوبین‌های گلیکوزیله A، F، C و S

گلوکز طی واکنش غیرآنزیماتیک مِیلارد (گلیکاســـیون) و به صـــورت غیر قابل برگشـــت بـــه ریشـــه NT زنجیره بتـــا در HbA1c متصـــل می شـــود که در ابتـــدا منجر به شـــکل‌گیری سریع و برگشت پذیر ماده ناپایداری موسوم به Pre -A1c (Aldimine) یـــا Schiff Base شـــده و ســـپس به آرامی به کتوآمین پایداری به نام A1c تبدیل می‌شود (شکل ۲۹). این گلوکز توانایی حضور در متابولیسم کربوهیدرات ها را نداشـــته و در صورت نیاز بدن به گلوکز، تجزیه و مصرف نمی شـــود. چه در حالـــت نرمال و چه در بیماری دیابت، جزء A1c بیشترین مقدار هموگلوبین A1 را تشـــکیل داده و پس از آن به ترتیب اجزاء A1a و A1b قـــرار دارند. به جز والین NT:NH3+، گلوکز قادر اســـت با ســـرین، لایزین و آســـپارژین بدون بار هر دو گلوبین α و β نیز پیوند کوالان ایجاد کند ولی تفاوت این نوع گلیکاسیون در الکتروفورز قابل افتراق و تشـــخیص نیست. از آنجایی که گلیکاسیون وابسته به گذر زمان و غلظت قند محیط است، از این رو هرچه عمر یک ســـلول یـــا دوره ترنأور پروتئینی بالا باشد (مثل آپلازی رده اریتروئیدی و آنمی آپلاستیک)،

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

مقدار گلیکاسیون و غلظت HbA1c نیز افزایش می یابد، از طرفی دیگر، هر چه غلظت قند بیشتر شود، زنجیره β با سرعت و تعداد سایت بیشتری نسبت به زنجیره α گلیکه می شود. گلیکاسیون مزمن (چند ماهه)، انواع مختلفی از پروتئین های دیگر مثل آلبومین، غشاء RBC، کریستالین عدسی چشم و حتی هموگلوبین را به نوعی دیگر و با قندهای غیر متعارف گلیکه می کند که به مجموع آن‌ها، AGE یا advanced glycation endproducts و به هموگلوبین مربوطه که در اثر تغییرات دراز مدت و ترن اور طولانی ایجاد می شود، HbAGE گفته می شود (نسل جدیدی از هموگلوبین های A1) که مقدار آن در افراد نرمال ۰/۴۲٪ و در افراد دیابتی، ۰/۷۵٪ بوده و مازاد آن با عوارض جدی میکروواسکولار و ماکروواز‌کولار همراه می باشد. AGE ها می توانند به صورت اندوژن در داخل بدن تولید شده یا توسط مواد غذایی پخته یا سیگار وارد بدن شوند. در سطح سلول های بدن رسپتور مخصوص AGE به نام AGER1 یا R-AGE (از نوع IgSF) وجود دارد که در پاک سازی آن ها نقش دارد ولی تجمع AGEها می تواند از طریق همین رسپتورها باعث بروز عوارض عروقی شود. این سلول ها با تجزیه AGE باعث تولید نسل دومی LMW-AGE می شوند که با ترشح در خون از مسیر کلیوی دفع می شوند. این رخداد وابسته به سن بوده و با افزایش سن، میزان کلیرانس کمتر و تجمع آن‌ها بیشتر و عوارض قلبی-عروقی و آلزایمر آن ها بیشتر می‌شود که بسته به نوع بافت، تجمع خاصی از AGE (اغلب CML و پنتوزیدین) دیده می شود.

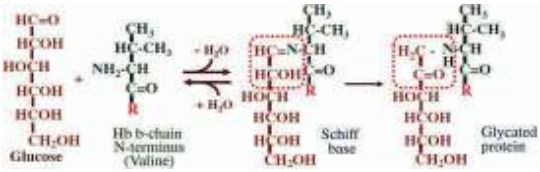
با لیز گلبول های قرمز، Hb آزاد شده و با اتصال به هاپتوگلوبین، توسط اسکاونجر CD163 کبد پاکسازی شده و باعث اینواژینه شدن و کاهش بیان CD163 نیز می‌شود. در بدن سه نوع هاپتوگلوبین HP2-1، HP1-1 و HP-2-2 وجود دارد که نوع Hp-2 (ناشی از داپلیکاسیون اگزون ۳ و ۴ و افزایش قطعه 1.7kb در ژن آن) در اتصال به HbAGE هم دچار کاهش میل به CD163 و هم دچار کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی و افزایش فعالیت اکسیداتیو می شود، این روند باعث تجمع کمپلکس Hp2:HbAGE/A1C در خون و اتصال آن به HDL و LDL می شود که با خاصیت اکسیدانی خود باعث تولید ROS و Ox-LDL و اکسیداسیون HDL، Apo-A1، گلوتاتیون پراکسیداز و LCAT شده و بدین ترتیب باعث کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها و ترانسپورت معکوس کلسترول می شود. در شرایط دیابتیک (HbA1c>6.5)، بیان CD163 کاهش بیشتری دارد که در صورت همزمانی فنوتیپ بیمار با Hp-2-2 می‌تواند باعث تشدید لوپ معیوب فوق و افزایش ۱۰ برابری ریسک بیماری های کرونر قلب (CHD) نسبت به افراد HbA1c<6.5 با ژنوتیپ HP1-1 شود. برهمکنش مقادیر بالای AGE با رسپتور AGER1 باعث ایجاد سیگنال های التهابی (JAK-StAT، MAPK و NF-KB و ...) و استرس اکسیداتیو ناشی از Nox/Phox شده ولی مقادیر کم باعث بروز خاصیت اسکاونجری و پاکسازی AGE ها می شود. سیگنال التهابی با آسیب قلبی عروقی باعث بروز نارسایی قلبی، کلیوی، نوروپاتی، اختلال بینایی و واسکولیت نیز می شود.



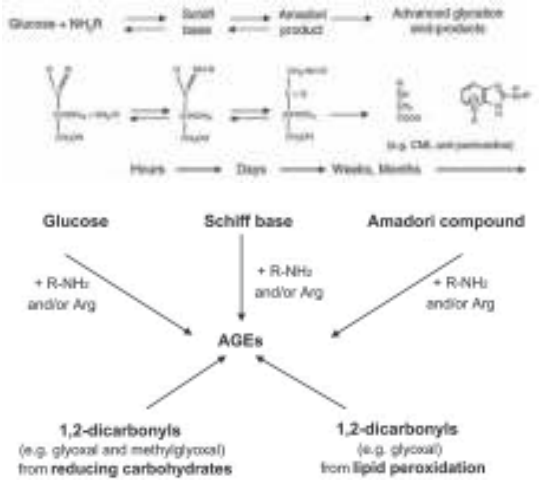
شکل ۶: ترکیب ابتدایی و قابل برگشت گروه آلدئیدی یا کربونیلی گلوکز با گروه آمین والین در هموگلوبین که باعث تشکیل باز شیف (نوعی آلدیمین یا Aldimine ناپایدار) می شود (طی چند ساعت) که در صورت تداوم شرایط هیپرگلایسمی به سمت راست پیش رفته و با جابجایی باند مضاعف از حالت C=N به C=O باز شیف به کتوآمین آمادوری تبدیل می شود (طی چند روز) که HbA0 را به HbA1c تبدیل می کند. این واکنش نیز قابل برگشت بوده ولی در صورت تداوم هیپرگلایسمی طی چند هفته و ماه و بر اساس اصل لوشاتلیه، به مرور محصولات نهایی و پیشرفته گلیکاسیون (AGE) نیز تشکیل می شوند.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

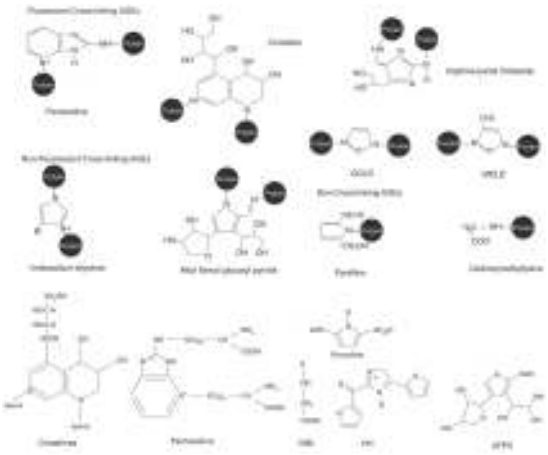
برخلاف گلیکاسیون غیر آنزیماتیک، دگلیکاسیون روندی آنزیماتیک و وابسته به آنزیم FN3K (فروکتوز آمین ۳ کیناز) می باشد.



شکل ۷: واکنش آمادوری که در آن پیوند دوگانه C=N طی چند روز به C=O تبدیل و آلدیمین شیف به کتوآمین آمادوری تبدیل می شود که مهم ترین هموگلوبین آمادوری همان A1c می باشد که به مرور به HbAGE آتروتوکسین نیز تبدیل می شود. گلوکز بعد از اتصال به والین و تشکیل باز شیف، به فرم آمادور 2-deoxyfructose-valine تبدیل می شود.



شکل ۸: بعد از تشکیل آمادوری، به مرور و در اثر دهیدراتاسیون، اکسیداسیون و تجزیه، پروتئین از قند جدا شده و قند تغییر یافته دی کتونی به نام ۳-داکسی گلوکوزون (3-DG) یا ۱-آلکیل آمینو ۱و۴-دی داکسی گلوکوزون تشکیل می شود که توانایی اتصال متقاطع با لیپیدها، لیپوپروتئین ها، اسیدهای نوکلوئیک و دیگر پروتئین ها را داشته و بدین ترتیب محصولات پیشرفته و بزرگ گلیکه AGE را تشکیل می دهند که نسبت به اندوتلیوم عروقی اثرات توکسینی داشته و باعث عوارض بینایی، زخم پا، پلاک آترواسکلروز و ... می شوند. محصولات مختلف آمادوری (AP) در حضور استالدئید ناشی از مصرف الکل، به AAP حلقوی تبدیل می شوند که به دلیل جلوگیری از تشکیل دی‌کتون‌های خطی فعال، در تشکیل AGEها اثرات حفاظت کننده دارد، لذا مصرف اندک اتانول برخلاف مصرف زیاد آن باعث پارادکس فرانسوی و کاهش ابتلا به پلاک آترواسکلروز می شود. محصولات AGE با تغییر شکل فضایی در پروتئین‌ها و لیپیدها باعث کاهش برهمکنش آن ها با دیگر پروتئین‌ها، کاهش عملکرد آن ها، کاهش شناسایی آن ها توسط اسکاونجرها، کاهش پاکسازی و تجمع آن ها در خون می شوند که با تشکیل لوپ معیوب باعث افزایش استرس اکسیداتیو و بروز ناهنجاری های مختلف می شوند.



شکل ۹: انواع مختلف AGE شامل CML (کربوکسی متیل لایزین)، CEL (کربوکسی اتیل لایزین ایمیدازولون)، و پیرالین، کراس لاین، GOLD/MOLD (دایمرگلیوگزال لایزین و متیل گلیوگزال لایزین)، AFPG (آلکیل فرمیل گلیکوزیل پیرول)، ایمیدازولیوم دی لایزین و ... که در بروز آلزایمر، بیماری های چشم، عوارض دیابت، بیماری‌های عروقی و آترواسکلروتیک نقش دارند. معادل لیپیدی AGEها شامل ALE ها[2] هستند (با گلیکاسیون LDL) که عملکرد مشابهی داشته و مواردی مثل CML در هر دو گروه قرار می‌گیرند. سرعت تشکیل AGEها کُند بوده

2- Advanced Lipoxidation Endproducts (ALE)

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

و طی چندین هفته تشکیل می شوند که افزایش دما، ROS ها، غلظت قند و کاهش کلیرانس آن ها باعث تسریع آن ها در حد چند روز می شود. برخی از AGE/ALE ها خاصیت کموتاکتیک هم داشته و باعث فراخوان مونوسیت‌ها و ماکروفاژها و ایجاد شرایط التهابی هم می‌شوند. AGها هم میل به اتصال و تجمع در ECM را داشته و هم بین آن‌ها اتصالات متقاطع ایجاد کرده و باعث کاهش الاستیسیتی آن‌ها می شوند، هم باعث اختلال عملکرد آن‌ها شده و هم با اتصال به رسپتور RAGE/AGER1 باعث بروز التهاب در منطقه می شوند.

سنجش هموگلوبین های گلیکه (gHb)

امروزه برای تشخیص دیابت، علاوه بر سه تست FBS یا FPG بالای 126mg/dl، PG یا RPG[3] بالای 200mg/dl و 2hpp یا 2hPG بالای 200mg/dl بعد از خوردن 75gr گلوکز از دو تست GTT (تست تحمل گلوکز) و HbA1c نیز استفاده می شود. در واقع از سال ۱۹۹۷، کمیته بین المللی خبرگان (IEC) متشکل از انجمن دیابت آمریکا (ADA)، انجمن اروپایی مطالعات دیابت (EASD)، فدراسیون بین المللی دیابت (IDF) و فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی (IFCC) استفاده از HbA1c>6.5 را به عنوان معیاری قطعی از تشخیص دیابت مطرح نمود و در سال های ۲۰۰۸ و ۲۰۱۰ نیز این نظریه را مجددا تکرار و تایید نمود. نتایج نهایی نیز می بایست یا بر اساس برنامه ملی استاندارد سازی گلیکوهموگلوبین (DCCT/NGSP) به صورت درصد، یا بر اساس نظر IFCC به صورت mmol HbA1c/mol total Hb (SI) گزارش شود که برای تبدیل آن ها به همدیگر فرمول محاسباتی یا سایت اینترنتی آنلاین www.hba1cnet.com وجود دارد. در این سایت با وارد کردن درصد HbA1c می توان هم معادل IFCC (توصیه اصلی) و هم میانگین گلوکز تخمینی (eAG) یا ABG را نیز به دست آورد (فرم پیشرفته تر از HbA1c برای ارزیابی وضعیت قند خون طی ۳-۲ ماه گذشته). همچنین با استفاده از یک جدول، می‌توان از درصد HbA1c برای تعیین میزان قند خون بیمار نیز استفاده نمود (بر اساس mg/dl یا mmol/L). برای تعیین HbA1c هرگز استفاده از دستگاه های POC توصیه نمی شود. ADA و WHO مقدار HbA1c کمتر از ۵/۷ ٪ را نرمال، مقدار ۶/۴-۵/۷ ٪ را پره دیابتیک و مقادیر بالای ۶/۵ ٪ را دیابتیک می داند که در افراد پره دیابت، ریسک ابتلا به دیابت ۸-۳ برابر افراد نرمال می باشد. این تست پایداری و ارتباط بالینی زیاد، ضریب تغییرات درون فردی و بین فردی و خطاهای پره آنالیتیکال و آنالیتیکال پایینی داشته و نیاز به نمونه ناشتا نیز ندارد و توسط روش‌های مختلف و مورد تایید www.ngsp.org.asp سنجیده می شود ولی در حاملگی، آنمی همولیتیک، از دست دادن خون، اسپلنکتومی، نارسایی کلیوی، آنمی آپلاستیک، آنمی فقر آهن، مگالوبلاستیک، هموگلوبینوپاتی و ... تعدادی محدودیت دارد که در ادامه به آن ها پرداخته خواهد شد.

$$NGSP\% = [0.09148 \times 1FCC\ (mmol/mol)] + 2.152$$

$$eAG\ (mg/dl) = [28.7 \times HbA1c\%] - 46.7$$

شکل ۱۰: سایت آنلاین Diagnosis System یا DiaSys برای تبدیل NGSP به IFCC[4]

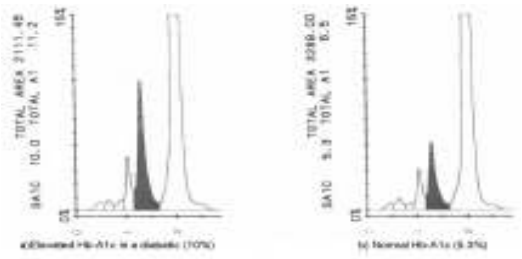
3- Fasting or Random Plasma Glucose (FPG or RPG)

4- DCCT, NGSP, IFCC, In future, IFCC results should be reported in mmol/mol (SI unit) and derived NGSP units in % using the IFCC-NGSP master equation.

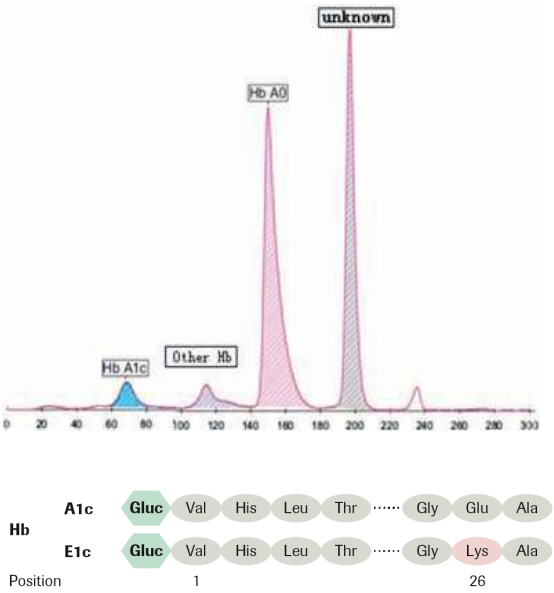
[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

شکل ۱۱: تبدیل میزان A1C (درصد یا SI) به میزان قند خون

علی رغم این که HbA1c یک باند سریع قابل سنجش در جلوی باند A0 ایجاد می کند، ولی به دلیل دقت پایین، برای سنجش HbA1c از روش‌های آنزیمی، ایمونواسی (مثل TINA)[5]، Cation Exchange-HPLC و Boronate Affinity-HPLC استفاده می‌شود که فقط ۳ روش Immuno-Assay، آنزیماتیک و Affinity-HPLC قادر به شناسایی هموگلوبین های واریانت گلیکه بوده و CE فاقد این توانایی می باشد. در واقع، در بیمارانی که هموگلوبین واریانت دارند، اگر فرد هتروزیگوت باشد، بسته به درصد هموگلوبین واریانت (مثلاً ٪30 :HbE یا ٪45 :HbS)، از مقدار HbA و در نتیجه HbA1c کاسته می‌شود و در شرایط هموزیگوت که مقدار HbA صفر شده و کل هموگلوبین از نوع HbE یا HbS می‌شود، دیگر HbA1c وجود نداشته و ملاک HbS1c و HbE1c خواهد بود که دستگاه‌های CE قادر به گزارش آن نبوده و کارشناس مجرب آزمایشگاه می‌بایست آن را ارزیابی و استخراج کند. در موارد هتروزیگوت B/E یا B/S نیز می‌بایست جمع A1c+E1c به‌عنوان عدد نهایی گزارش گردد. بتا تالاسمی مینور باعث افزایش سهم هموگلوبین واریانت (و کاهش سهم HbA) و آلفا تالاسمی مینور باعث کاهش سطح هموگلوبین واریانت (و افزایش سهم HbA) می‌شود، به‌طوری که مقدار HbS در همزمانی بتا تالاسمی به حدود ٪۶۰ و در همزمانی آلفا تالاسمی به حدود ٪۲۵ می‌رسد، لذا مقدار HbA1c در همزمانی تالاسمی مینور بتا با هموگلوبین واریانت، کاهش و در مینور آلفا افزایش خواهد داشت و میزان تداخل هموگلوبین واریانت در بتا تالاسمی بیشتر از آلفا خواهد بود. این در حالی است که در تالاسمی اینترمدیا و ماژور همواره به دلیل اریتروپوئز غیرموثر و همولیز (کاهش عمر RBC) و همچنین به دلیل افزایش شدید HbF و کاهش HbA، دچار کاهش کاذب HbA1c می‌باشیم. در بررسی HbA1c در بیماران تالاسمی ماژور تزریق خون اخیر نیز می‌بایست مد نظر قرار بگیرد.



شکل ۱۲: نتیجه HbA1c در دو شرایط دیابتیک(a) و نرمال (b) با تکنیک CE-HPLC [۱۳]



شکل ۱۳: تاثیر وجود هموگلوبین واریانت در کپیلاری الکتروفورز معمولی که باعث دو تکه شدن HbA1C+HbX1c نیز می شود.

5- Turbidimetric Inhibition Immuno Assay (TINIA)

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

کروماتوگرافی مایع بـا کارایی بالا جهت تعویض کاتیون (CE-HPLC یا HPLC)[6] تکنیکی مشـابه CE است که طـی آن مخلوطی از هموگلوبین های طبیعی و واریانت که بار شبکه ای مثبت داشـته و در pH اسیدی قرار دارند، از طریـق اتصال و جذب به فاز ثابت با بـار منفی (آنیون) در سـتون کروماتوگرافی، به اجزاء تشکیل دهنده خود تفکیک می شوند و سپس یک فاز متحرک آن ها را شست و شو و از ستون مربوطه خارج می سازد. فاز متحرک بافری با غلظت در حالت افزایش کاتیون ها است که در طول ستون جریان دارد و از افزوده شـدن تدریجی بافری بـا غلظت کاتیونی بسـیار بالا (بافر A) به بافر اسیدی با غلظت کاتیونی پایین (بافر B) تشـکیل می شـود. در این تکنیک، کاتیون‌های موجـود در فاز متحرک بـا پروتئین های جذب شـده به سـتون، بر سـر اتصال به آنیون های ستون رقابت نموده و باعث جداشدن و خارج شـدن پروتئین های تعویض شده می شوند. بنابراین مولکول های جذب شده هموگلوبین که دارای بار مثبت هسـتند، از ستون شسته شده و با سرعتی متناسب با تمایل خود نسبت به فاز ثابت، وارد فاز مایع شده و از سـتون خارج می شـوند که به بازه زمانی مابین شروع تست تا خروج هر نوع هموگلوبین، زمان احتباس یا رتنشین تایم (RT) آن هموگلوبین گفته می شـود که بر اساس نوع دستگاه، نوع بافر، نوع هموگلوبین، میزان گلیکوزیلاسیون یا استیلاسیون آن، برای هر هموگلوبین اختصاصی می باشد. در مرحله بعد، پس از اینکه جداسـازی بدین طریق انجام شد، هموگلوبین‌های تفکیک شده از طریق بررسی نوری در بافر مربوطه شناسایی می شوند که شناسایی هموگلوبین‌ها بر اسـاس زمان احتباس آن‌ها و اندازه‌گیری هموگلوبین‌ها، براسـاس محاسبه مسـاحت زیر پیک به دست آمده از آن صورت می گیـرد. بین زمان احتباس هـر هموگلوبین در سـتون HPLC و حرکت آن‌ها در الکتروفورز استات سلولز (pH قلیایـی)، تاحـدودی همخوانـی وجـود دارد. هموگلوبین‌های با بیشـترین بار مثبت (مثل HbC, HbS) زمـان احتباس طولانی تری دارند که با حرکت آهسـته تر آن ها در الکتروفورز اسـتات سـلولز همخوانی دارد. کاربرد HPLC در شناسـایی واریانـت هـای هموگلوبین به این حقیقت بستگی دارد که هر هموگلوبین طبیعی و یا واریانت، در هر سیستم و دستگاه اختصاصی (مثل دستگاه BioRad و Tosoh-G8)، پس از زمان معین از سـتون خارج شـده و وارد محلول الوشـن می شـود (زمان احتباس) که بدین ترتیب بسـیاری از واریانت های هموگلوبین از یکدیگر قابل جداسـازی هسـتند. البته امکان بروز هم پوشانی و تداخل میان بعضی از هموگلوبین ها هنوز هم وجود دارد [۱۴].

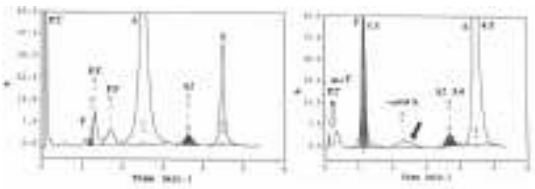
بعضی از هموگلوبین هایی که توسـط الکتروفورز استات سلولز در pH قلیایی قابل جداسـازی از هم نیستند (مثل باندهای GSD)، توسـط HPLC قابل تفکیک هستند، به عنوان مثال هموگلوبین های D-Punjab/LosAngeles و G-Philadelifia به کمـک تکنیک HPLC از HbS و از یکدیگر قابل تشخیص می گردند. سرعت آهسته تر جریان بافر که با تغییر آهسـته غلظت کاتیونی همراه می باشـد، جداسـازی انواع هموگلوبین های با زمان احتباس مشابه را بهبود می بخشـد، اما زمان انجام کلی آزمایش HPLC را افزایش می دهد. در این دسـتگاه، هموگلوبین هایی که از سـتون شسته شـده و خارج می شـوند، به صورت مصور نمایش داده شـده و به طور خودکار توسط اسپکتروسکوپی اندازه گیری می شوند. زمان احتباس هر هموگلوبین مجهول بر اسـاس زمان احتبـاس (RT) هموگلوبین های معلوم و اسـتاندارد کنترل های تجاری طبیعی یا غیرطبیعی تعیین می شـود. در دسـتگاه Bio-Rad VII مقـدار RT برای HbA1c حدود ۱/۵-۰/۲۸ (متوسـط ۰/۱۱) بوده و اغلب منجر به تشـکیل پیک مینور و رپید P2' می شود. در این دسـتگاه هموگلوبین های F←هموگلوبین Aگلیکولیزه یا P2'←هموگلوبیـن A تغییـر یافتـه یـا S←D←A2 ← A ← P3' و C←، بـه ترتیـب هموگلوبین هایی هسـتندکه از سـتون خارج می شوند و مجموع سه پیک A+P2'+P3' به عنوان مقدار کمی HbA گـزارش مـی شـود. میـزان RT بـرای HbA حـدود

6- Cation-exchange high performance liquid chromatography (CE-HPLC or HPLC)
7- retention time

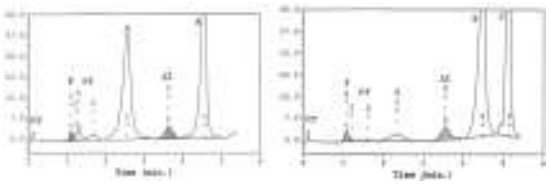
[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

1.90-3.10min است که در دستگاه Bio-Rad به طور میانگین، زمان ۲/۵ min به‌عنوان پیک تشخیصی HbA در نظر گرفته می‌شود. هموگلوبین های KorlBu، Lepore، E، D-Iran،Zurich و Kenya با پیک A2، هموگلوبین Koln و Tacoma با پیک A، هموگلوبین‌های D-پنجاب/ لوس آنجلس و G-فیلادلفیا با پیک D، هموگلوبین پلی مورفیسم B2(A2') با پیک S، هموگلوبین کنستانت اسپرینگ با پیک C و هموگلوبین‌های سریعی مثل I, J, Hope, K و N با پیک های P2' و P3' حرکت می کنند و HPLC هنوز هم قادر به تفکیک آن‌ها نیست. HPLC نه تنها برای شناسایی و اندازه‌گیری هموگلوبین های واریانت، بلکه برای اندازه گیری هموگلوبین‌های F، A2 و A نیز مورد استفاده قرار می گیرد.

هموگلوبین های واریانت گلیکوزیله زمان های شویش (یا زمان احتباس) متفاوتی نسبت به انواع غیرگلیکوزیله داشته و حدود ۲ دقیقه سریع تر از نوع غیرگلیکولیزه خود از ستون خارج می شوند، مثلا HbA با RT=2.5min و HbA گلیکولیزه با RT=0.11 (معادل P2') یا HbS با RT=4.5min و HbS گلیکولیزه با RT=2.5 (معادل HbA) از ستون خارج می شوند. همین طور انواع استیله هموگلوبین (مانند HbF که تا حدی استیله می باشد) در مقایسه با انواع غیر استیله زمان احتباس متفاوت و سریع‌تری دارند. همچنین، یک هموگلوبین واریانت ممکن است زمان احتباس معادل یک هموگلوبین واریانت دیگر یا حتی یک هموگلوبین طبیعی داشته باشد، به عنوان مثال HbE، HbKorleBu و HbLepore ممکن است با HbA2 هم پوشانی داشته باشند. HbA2 نیز در حضور HbS ممکن است به طور کاذب افزایش نشان دهد. HbS گلیکوزیله ممکن است زمان احتباس معادل و یا بسیار مشابه HbA داشته باشد، بنابراین ممکن است بیمار مبتلا به آنمی سلول های داسی، شبیه فردی به نظر برسد که مقدار بسیار کمی HbA دارد و بدین ترتیب با یک فرد هتروزیگوت A/S اشتباه گرفته شود. در بعضی از دستگاه‌ها، ممکن است HbF با پیک ناشی از HbA گلیکوزیله (P2') ترکیب شده و هنگامی که مقداری معادل ۰/۶٪ و یا کمتر داشته باشد، مورد شناسایی قرار نگیرد. در مقابل، بالا بودن درصد HbA گلیکوزیله ممکن است موجب افزایش کاذب مقدار HbF گردد. آرتیفکت های خاصی نیز وجود دارند که در تفسیر نتایج HPLC ایجاد مشکل کرده و باید مورد شناسایی قرار بگیرند. به عنوان مثال افزایش بیلی روبین پلاسما ممکن است موجب بروز یک پیک واضح در محل مربوط به HbH، هموگلوبین بارتز و HbF استیله شود (شکل ۵۴-۴۶).



شکل ۱۴: شکل سمت راست: کروماتوگرام مربوط به دستگاه Bio-Rad HPLC. این بیمار همزمان به آنمی سلول های داسی شکل و دیابت مبتلا بوده و در خون دارای HbS گلیکوزیله با زمان احتباس معادل HbA (فلش مشکی) و HbF استیله (فلش سفید) می‌باشد که S-گلیکولیزه آن ممکن است حضور HbA کاذب و در نتیجه تشخیص نادرست خصیصه داسی شکل را تداعی کند. شکل سمت چپ: کروماتوگرام Bio-Rad Variant II- HPLC. این بیمار دارای خصیصه سلول های داسی، آنمی همولیتیک، یرقان و بیلی روبین معادل 970 mmol/l بوده و یک پیک کاذب را در ناحیه مربوط به هموگلوبین بارتز و P2' با RT=0.11 نشان می‌دهد. از چپ به راست، پیک ها به بیلی روبین،، HbF HbA تغییر یافته یا P3' (دو پیک)، A , HbA2 و S مربوط می‌شوند.



شکل ۱۵: شکل سمت راست: کروماتوگرام مربوط به دستگاه Bio-Rad HPLC. این بیمار مبتلا به HbC/S می‌باشد و به دلیل فقدان هموگلوبین A، دو باند P2' و P3' آن نیز کاهش شدید دارد. باند A کاذب بوده و

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

بیمـــار ۱/۳٪ HbF و ۴/۱٪ HbA2 دارد. شـــکل ســـمت چپ: کروماتوگـــرام Bio-Rad Variant II-HPLC. این بیمار دارای خصیصه ســـلول های داسی بوده و دارای علایم آزمایشگاهی زیر می‌باشد.

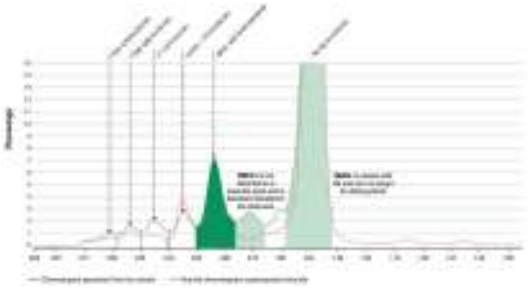
Sickledex is POSITIVE; HbF: 1.0%; HbA: 38.7%; HbA2: 4.4%; HbS: 56.1% و Peripheral smear with 2+ sickle cells .

شـــکل ۱۶: دســـتگاه CE-HPLC BioRad ســـری D10 اتوماتیـــک و ســـری جدیـــد D100 و دســـتگاه Tosoh Bioscience نســـل G7 کـــه تا نســـل G11 نیز توسعه یافته است.

برخلاف دستگاه Bio-Rad در دستگاه Tosoh، از اسامی متفاوتی برای فراکســـیون‌های مختلف HPLC اســـتفاده شـــده اســـت که شـــامل FP، A1A، A1B، F، LA1C و SA1C و A0 می باشـــند. ســـنجش HbA1 یا بر اساس شارژ و بار آن (مثل روش کاپیلاری الکتروفورز روی جریان الکترواوسموتیک با ولتاژ و رانینگ تایم بالا و CE-HPLC در ســـتون کاتیونی) یا بر اساس ساختار و قدرت آنتی ژنی آن (مثـــل روش بورونات با افینیتی نســـبت به دی اُول قند و یا روش TINA با آنتی بادی ضد ۴ اســـید امینه ابتدایی گلیکه) می باشـــد و توصیه می شود برای سنجش دقیق، از دو روش مختلف (یکی شـــارژ و یکی ساختار) استفاده شود تا همزمان حضـــور هموگلوبین واریانت نیز مورد پایش قرار بگیرد. روش بورونات تمامی g-Hb ها را ســـنجش نموده و اختصاصی A1C نیست.

شـــکل ۱۷: ریپورت کروماتوگرام پرینت شـــده دستگاه Tosoh-G8 از فـــرد ســـالم و دیابتیک و تالاســـمیک که این دســـتگاه ها قادرند Stable–A1c ناشی از دیابت را از Labiel A1c ناشـــی از هیپرگلایسمی موقت افتراق دهند و HbA1 را بـــه انـــواع A، B و C تفکیک کنند. همچنین قادرند وجود برخی هموگلوبین های واریانت را شناســـایی و فلاگ بدهند. از انکوباســـیون ۲ ساعته خون با گلوکز ۵۵ میلی مولار، ســـدیم ســـیانایاد ۱۰ میلی مولار و استالدهید ۱۰ مـــولار به ترتیب HbA1c لابیـــل، Hb کربامیله و Hb اســـتیله حاصل می شود. هر چه سرعت جریان ستون کمتر و رزولوشن دستگاه بالاتر باشد، بازه زمانی عبور از ستون نیز از ۲ دقیقه تا ۷ دقیقه (تصویر ســـمت چپ) افزایش یافته و جداسازی باندها از هم بهتر می شود.

$$\%\ HbA1c = \frac{Area\ (sA1c) - area\ (HbX) - area\ (HbX1c)}{Total\ area - area\ (HbX) - area\ (HbX1c)} * 100$$

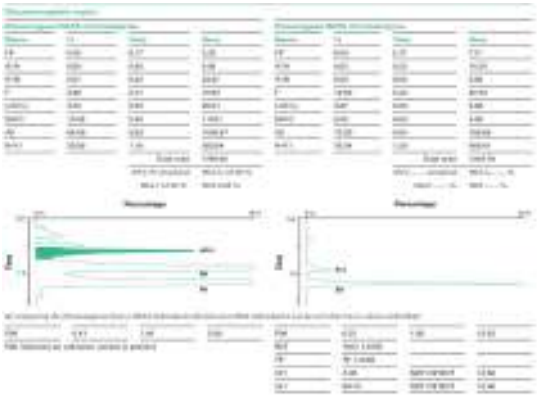


شـــکل ۱۸: ریپورت کروماتوگرام دستگاه Tosoh-G8 فـــرد HbE هتروزیگوت کـــه هیچ باند اضافـــی، RT نابجا یا فلاگ خاصی را نشـــان نمی‌دهـــد و در آن مقدار A1C حـــدود ۶،۰۷٪ و جمـــع هموگلوبین هـــای گلیکه A1 نیز LA1c+A1A+A1B نیز ۷،۸۲٪ اعلام شده است. این در حالی است که بیمار واریانت HbE داشته و با SA1C الوت شده است (فقدان کاذب HbX1 و HbX)، لذا مقدار A1C گزارش شـــده کاهش کاذب دارد، چرا که مخرج معادله به

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

دلیل وجود باند HbE افزایش نشان می دهد. در واقع هیچ کدام از HbE و HbE1c باند جداگانه نداشته (HbE0 با A0 الوت شده و HbE1c نیز در پشت باند A1C یک پیک کوچک غیرقابل تشخیص خلق می کند) ولی حضور نامحسوس آن ها باعث افزایش Total Area می‌شود که باعث کاهش کاذب A1C (نرمال کاذب) و کاهش حساسیت تست می شود. برای مشاهده جزیی تر پیک ها از پیانو-کروماتوگرام همان بیمار در تصویر پایین استفاده شده است که در آن خط قرمز نشانگر یک گراف نرمال بوده و لذا این بیمار در زون ۰,۷۲ یک پیک نامحسوس HbE1c را نشان می دهد که با افزایش مساحت تام باعث بزرگی مخرج می شود. لازم به ذکر است که HbJ نیز همانند HbE دارای اثرات کاهش کاذب بر روی HbA1C می باشد. نیاز به بررسی Post Analytical جواب های HPLC و لذا افزایش حجم و هزینه آزمایش باعث شده تا این روش در برابر دو روش دیگر (بر اساس TINA و Affinity-HPLC) از قدرت کمتری برخوردار باشد ولی مزیت آن توانایی شناسایی همزمان هموگلوبینوپاتی ها می‌باشد. البته این ضعف نه تنها در Tsoh-G7/8 ، بلکه در Bio-RAD و Arkray و دیگر CE-HPLC ها نیز دیده می‌شود و الزاما نتایج نهایی می بایست با بررسی چشمی پیک های غیرطبیعی تایید شوند.

$$\%\ HbA1c = \frac{(Area\ sA1c - area\ HbE1c)}{(Total\ area - area\ HbE)} * 100$$



$$\%\ HbA1c = \frac{Area\ sA1c}{Total\ area - area\ (HbS1c) - area\ (HbS0)} * 100$$

It is not possible to exclude Hb51c in the calculation of HbA1c as it co-elutes with HbA0

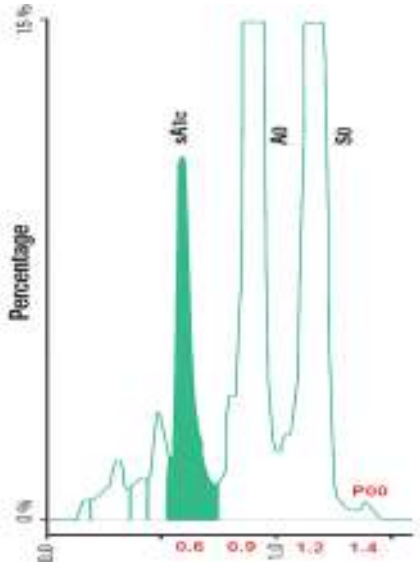
شکل ۱۹: اگر یک فرد HbS/S هموزیگوت را مورد بررسی قرار دهیم، متوجه می شویم که باند HbS آن (یا HbVAR1 یا HV1) در تایم ۱,۲ پیک اصلی را ایجاد کرده و باند HbS1c آن در تایم ۰,۹۴ یعنی در جایگاه پیک HbA0 ایجاد پیک می کند، لذا S1c و A0 با همدیگر حرکت نموده و وجود HbA0 باعث ماسکه شدن S1c می‌شود. در واقع در افراد هتروزیگوت HbA/S دو پیک مجزای A0 و S0 و یک پیک A1c در تایم ۰,۶ ایجاد شده و پیک مجزای S1c پشت A0 مخفی شده و باعث کاهش کاذب A1c می شود. چراکه در مخرج فرمول فوق، مساحت HbX1c کم نشده و مخرج بزرگ می شود. در گزارش HbA1c در بیماران HbA/S بهتر است سهم A1c از کل Total Hb (A0+A1+A2+F)-(S+S1c) به عنوان HbA1c نهایی گزارش شده و کلا HbS و HbS1c از محاسبات حذف شده و درصد A1c از کل totalHb-HbS گزارش شود. در نظریه دوم جمع A1c+S1c به عنوان صورت فرمول و جمع Total Hb به عنوان مخرج[8] فرمول قرار گرفته و لذا جمع همه گلیکوهموگلوبین ها (A1c+S1c) به نیابت و معادل HbA1c گزارش شود. در روش دوم چون S1C و A0 با هم حرکت می کنند، امکان تعیین S1c برای جمع کردن آن با A1c وجود ندارد و لذا روش اول بهتر خواهد بود. در مثال A/S فوق اگر فرمول فوق را محاسبه کنیم، عدد ۹/۵٪ کاذب حاصل می شود (چون S1c مخرج نامعلوم بوده و قابل کاهش نیست) ولی دستگاه با برخی اصلاحات رقم ۱۰,۹۸ ٪ را گزارش نموده است.

گاهی دستگاه پیک های ناشناسی را شناسایی می کند که به آن ها P00 می گوید. این پیک ها در شکل بالا یکی در تایم ۱,۴ (کروموگراف HbS/A) و یکی در تایم ۱,۰۶ (کروموگراف HbS/S) دیده می شوند که چون دستگاه

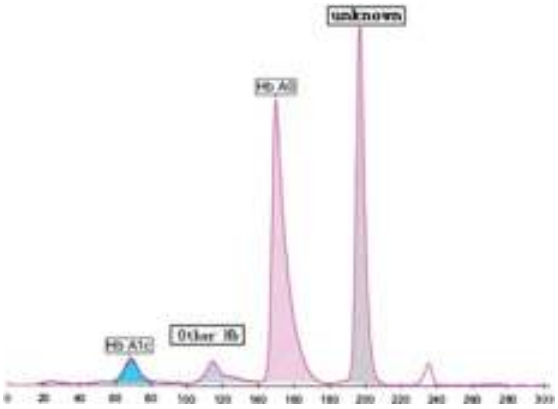
8- Numerator/denominator

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

آن‌ها را به عنوان HbX نمی شناسد، لذا از مخرج کم نکرده و به دلیل بزرگی مخرج باعث کاهش کاذب مقدار HbA1c می‌شـود. در P00 بـا Time:1.4 میـزان Area:5.06 می باشـد که به سـهم خود باعث بزرگی مخـرج فرمول می‌شـود. در واقع در بررسـی A1c باید همه هموگلوبین هـای پاتولوژیک حـذف و هموگلوبین هـای فیزیولوژیک باقـی بمانند، لـذا عدم شناسـایی P00 در یکی از این دو دسـته باعث کاهش کاذب A1c خواهد شد. البته بیش از ۹۵,۵ ٪ هموگلوبین های واریانت تداخلی در نتایج HbA1c با دستگاه Tosoh ندارند. گاها هموگلوبین های مینور دیگر مثل هموگلوبین کرمابیله (در بیماران اورمی) و هموگلوبین استیله (در مصرف آسپرین، پنیسـیلین، الکل و حاملگی)، مقادیر بالای HbF، مصرف Vit-E، داپسون، داروهای آنتی ویرال و وجود HbA1c ناپایدار و قابل برگشـت ناشـی از هیپرگلایسـمی (Labiel-A1c) نیز باعث تداخل در نتایج تسـت A1c می‌شوند که این نوع از دسـتگاه ها قادرند به میزان قابل قبولی آن ها را شناسایی و اصلاح کنند.



شکل ۲۰: گاهی دستگاه پیک های ناشناسی را شناسایی می کند که به آن ها P00 می گوید. این پیک ها در شـکل بالا یکـی در تایم ۱,۴ (کروموگـراف HbS/A) و یکی در تایم ۱,۰۶ (کروموگراف HbS/S) دیده می شوند که چون دستگاه آن ها را به عنوان HbX نمی شناسد، لذا از مخرج کـم نکرده و به دلیـل بزرگی مخرج باعـث کاهش کاذب مقدار HbA1c می شـود. در P00 بـا Time:1.4 میزان Area:5.06 می باشد که به سهم خود باعث بزرگی مخرج فرمـول از ۱۷۹۰,۵۲ به ۱۷۹۵,۶۸ می شـود. در واقع در بررسی A1c باید همه هموگلوبین های پاتولوژیک حذف و هموگلوبین های فیزیولوژیک باقی بمانند، لذا عدم شناسایی P00 در یکی از این دو دسـته باعـث کاهش کاذب A1c خواهد شد که این نوع HPLC قادر به اصلاح آن نمی باشد.



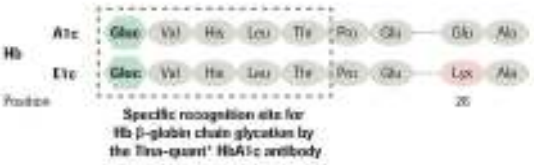
$$\%\ HbA1c = \frac{HbA1c * 100}{Total\ Hb - (HbX) - (HbX1c)}$$

شکل ۲۱: در مورد CEهای معمولی نیز در صورت مشاهده پیک HbX بهتر است درصد HbA1c نسبت به کل هموگلوبین (بجز X0+X1c) گزارش شود. دستگاه های سبیا کشور فرانسه برای کشورهای اندمیک هموگلوبینوپاتی شدیدا توصیه می‌شود، چرا که همزمان مقـدار HbA2 و وجود هموگلوبین واریانت را نیز نشـان می دهد. این دسـتگاه ها به حضور HbA1c کاذب و ناپایدار (L-A1c) ناشـی از هیپرگلایسمی و نه دیابت اخیر (تا ۵٪)، کرباميل هموگلوبین ناشـی از بیماری اورمی (تا ۷٪)، اسـتیل هموگلوبین ناشـی از حاملگی، الکل و مصرف آسپرین (تـا ۵٪)، HbF (تا ۱۵٪)، تریگلیسـرید و شـیلومیکرونمی (تـا ۱۶۰۰)، یرقان (تا ۱۷) غیرحسـاس بـوده و تحت تاثیر

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

حضور آن ها قرار نمی گیرد، این در حالی اســت که موارد فوق در HPLC اثــرات تداخلی بالایی دارنــد (در Sebia-CE باند LA1c با A0 حرکت نموده و قابل تشخیص و تداخل نیست). لازم به ذکر اســت که هیپرگلایســمی و گلوکــز ۱۰۰۰ قادر اســت L-A1c یک فرد ســالم را از ۱/۴ به ۵/۳ ٪ افزایش‌دهد ولی مقدار S-A1c فــرد در ۵/۱ ٪ ثابت بماند. ازطرفی دیگر، مقدار HbA2 در روش A1c دســتگاه تا ۰/۳ ٪ کمتر از روش الکتروفورز هموگلوبین بوده و لذا مقادیر بالای ۲/۸ ٪ (نه بالای ۳/۳ ٪) به عنوان بتا تالاسمی مینور فرض می شود. در HPLC برخلاف CE باند A2 همراه A0 حرکت نموده و قابل سنجش نیســت. در صورت مشــاهده HbVAR یا باید اصلاحات انجام شود یا اینکه از ایمونواسی استفاده شود.

در تکنیک ایمونواسی به روش مهار توربیدومتری (TINA) شرکت Roche از آنتی بادی ضد چهار اسید آمینه ابتدایی و گلیکه زنجیره بتا اســتفاده می شــود. در این روش ابتدا RBC های حجم مشــخصی از خون تام لیز شــده و مقدار Total Hb آن محاســبه می شــود. ســپس آنتــی بادی Anti-GlycoHb به هومولیزانت افزوده می شود تا با اتصال به اسیدآمینه‌های چهارتایی قنددار، کمپلکس محلولی را تشکیل دهد. در مرحله بعد با افزودن پلی‌هاپتن، این مولکول‌ها باعث تشــکیل شــبکه ای کدر از آنتی بادی‌های آزاد متصل نشــده به Glyco-Hb می‌شوند که به روش توربیدومتری قابل سنجش می باشد. لذا هر چه مقــدار HbA1c یا HbX1c ها بیشــتر باشــد، کمپلکس پلی‌هاپتن-آنتی بادی[9] کمتری تشــکیل شــده و مقدار توربیدیتی نیز کمتر می شود (نسبت عکس). البته تعدادی از هموگلوبین های واریانت که در ۴ اسیدآمینه ابتدایی دچار موتاسیون هستند، ممکن است در این روش شناسایی نشوند.



در روش Affinity HPLC، از رزین های حاوی بورونات بــرای اتصال اختصاصی به HbA1c و HbX1c اســتفاده می‌شود. در نتیجه طی الوشن اول، هموگلوبین‌های A0+X0 (پیک ۱) و سپس گلیکوهموگلوبین های A1c+X1c (پیک

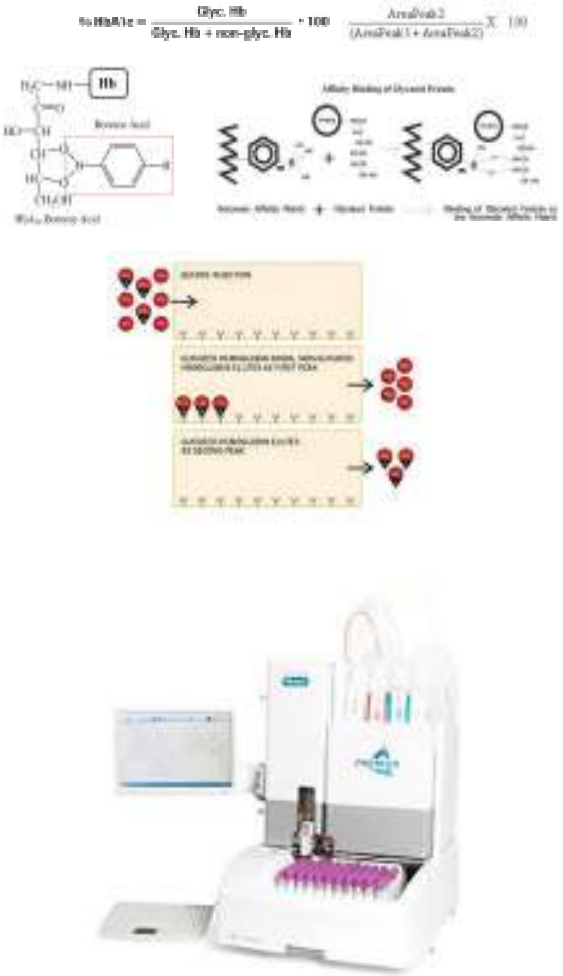
شــکل ۲۲: در روش TINA از آنتی بــادی ضد چهار اســید آمینه ابتدایی و گلیکه زنجیره بتا استفاده می شود. در این روش ابتدا RBC های حجم مشــخصی از خون تام لیز شــده و مقدار Total Hb آن محاسبه می شود. سپس آنتی بــادی Anti-GlycoHb به هومولیزانــت افزوده می شــود تا با اتصال به اســید آمینه هــای چهارتایی قنددار، کمپلکس محلولی را تشــکیل دهد. در مرحله بعد با افزودن پلی‌هاپتن، این مولکول‌ها باعث تشــکیل شــبکه ای کدر از آنتی بادی‌های آزاد متصل نشــده به Glyco-Hb می‌شوند که به روش توربیدومتری قابل سنجش می باشد. لذا هرچه مقــدار HbA1c یا HbX1c ها بیشــتر باشــد، کمپلکس پلی‌هاپتن‌آنتی بادی کمتری تشکیل شده و مقدار توربیدیتی نیز کمتر می شود (نسبت عکس). در این تست چون سنجش Total-Hb و HbX1c همگی در یک کوت انجام می شود، لذا به twin-test’ technology نیز معروف اســت. گلوکز بعد از اتصال به والین و تشــکیل باز شــیف، به فرم آمادور 2- deoxyfructose-valine تبدیل می شود.

جدول ۱: تعدادی از هموگلوبین‌های واریانت که جهش در اسیدآمینه‌های ابتدایی آن‌ها شکل می‌گیرد (۱۷ مورد از کل ۱۵۸۵ واریانت شناخته شده در جهان)

9- polyhapten (or agglutinator; a synthetic polymer with multiple copies of the immunoreactive portion of HbA1c) for freely available HbA1c-specific polyclonal antibodies.

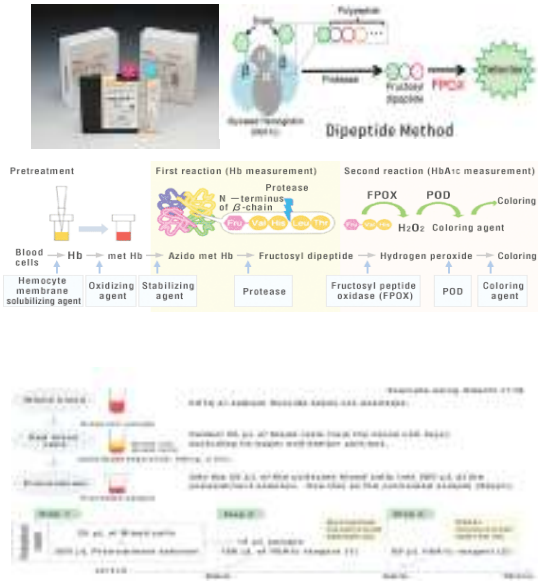
[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

۲) از ســـتون خارج شده و نســـبت گلیکوهموگلوبین ها به هموگلوبین تام مورد محاســـبه قرار می گیرد. البته به دلیل اتصال برخی هموگلوبین هـــای غیر از گلیکوهموگلوبین به ســـتون، مقدار این روش اغلب کمی بالاتـــر از مقدار واقعی قرائت می شـــود. از دســـتگاه های معروف HPLC در این زمینه می توان به ترینیتی بیوتک Premier سری Ultra-2 و Hb9210 اشاره نمود.



شـــکل ۲۳: هموگلوبین و پروتئین های قنددار به دلیل داشتن گروه ۱و۲- سیس دیول توانایی اتصال به ستون های ژله ای بورونات (مثل آمینوفنیل بورونیک اسید) را داشته و از پروتئین های غیرگلیکولیزه تفکیک داده می شوند. بدین ترتیب HbA1c/X1c حین عبور از ستون حاوی بورونات، از طریق گروه دیول خود به ســـتون متصل شده و HbA0 از ســـتون خارج (Elution) و در ۴۱۳nm قرائت می شود. ســـپس A1C از طریق بافر Exchange از ســـتون شسته شـــده (Re-elution) و نســـبت آن ها با هم مورد محاسبه قرار می‌گیرد.

برخلاف روش های وابســـته به افینیتی، دو روش CE و CE-HPLC نیاز به ارزیابی وجود HbX داشته و الزاما باید مقدار HbA1c اصلاح شـــود (با حـــذف HbX و HbX1c غیرفیزیولوژیک از مخرج معادله و محاســـبه نسبت و درصد A1c بـــه کل هموگلوبین های فیزیولوژیـــک طبیعی). در واقع برای محاســـبه دقیـــق HbA1c می بایســـت تمامی واریانت‌های غیرفیزیولوژیک از محاسبه نهایی حذف شوند، لذا عدم شناســـایی یک باند یا حرکـــت همزمان آن با یک هموگلوبیـــن فیزیولوژیـــک باعث بزرگی مخـــرج و کاهش کاذب HbA1c خواهـــد بود و توصیه می شـــود در این دو روش وجود یا عدم وجود HbX همواره به صورت چشـــمی بررســـی شود (افزاینده حجم و هزینه کاری) یا با روش‌های دقیـــق، ســـریع و گاها گرانتـــر افینیتی محـــور (TINA و Affinity HPLC) جایگزین شـــود. روش TINA در ۲۳ ماه می ســـال ۲۰۱۳ گواهی FDA خود را با CV<1.4% برای تشخیص دیابت در ۵۰۰ میلیون بیمار هموگلوبینوپاتی گسترده در جهان (فراوانی کلی ۷٪) دریافت نموده است.



[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

شکل ۲۴: در روش آنزیماتیک (کیت Norudia N HbA1c)، ابتدا RBCها لیز شـــده و هموگلوبین به مت هموگلوبین اکسید شده و ســـپس با افزودن محلول R1 (حاوی سدیم آزاید) و تشـــکیل آزیدو مت هموگلوبین، مقدار هموگلوبین تام در ۵۷۰nm ســـنجش می شـــود. در مرحله بعد محلول R2 حـــاوی پروتئاز، دی پپتید فروکتوزیله را از انتهای NT زنجیره بتا جدا می کند که در حضور FPOX (فروکتوزیل پپتید اکســـیداز)، O2 و آب، تولید گلوکوزون، دی پپتید و H2O2 می کند. مقدار آب اکسیژنه در طول موج 660nm و در حضـــور ماده کروموژنیـــک و پراکســـیداز (POD)[10] ســـنجیده می شـــود که مقـــدار آن با مقـــدار هموگلوبین گلیکوزیله نســـبت مستقیم دارد. این کیت قابل نصب روی اتوآنالایزرهای بیوشـــیمی مثل هیتاچی ۹۱۷ و ۷۱۷۰ نیز می‌باشد. وجود بیلی روبین، اسکوربیک اسید، شیلومیکرون و همچنین هموگلوبین واریانت، کربامیله و استیله یا تزریق اخیر ســـرم قندی روی تســـت اثر ندارند. نمونه اولیه شامل خون EDTA دار یا هپارینه اســـت که تا ۷ روز در یخچال پایدار بوده و بعد از تیمار با محلول شـــماره یک، تا ۸ ساعت در RT و تا ۲۴ ســـاعت در یخچال (و نه فریزر) پایدار است. در این تســـت خون را ۵ دقیقه در800g سانتریفوژ کرده و ســـپس 25ul از قسمت پک سل آن برداشته و با 500ul از محلول Pretreatment مخلوط کرده و در ادامه ۱۲ لاندا از آن را با 180ul محلول شماره یک مخلوط و هموگلوبین آن را سنجش می کنند ΔOD 480-800 و ΔOD660-800). ســـپس 60ul نیز از محلول شـــماره ۲ افزوده و رنگ ایجاد شـــده را اندازه گیری می کنند (ΔOD660-800)[11]. مقدار نرمال هموگلوبین 90-310µmol/L اســـت که در مقادیر بالاتر از ۳۱۰، مقدار بافر پره‌تریتمنت را دو برابر و در مقادیر زیر ۹۰ مقدار بافر را نصف می ریزیم. بافرها می بایست دور از نور باشـــند و شست وشـــوی ظروف می بایست در حجم بالای آب باشد تا سدیم آزاید با فلزات ایجاد بخارات اسیدی نکند. در HbF از ۱۰ اسید آمینه ابتدایی فقط ۴ مورد شبیه بتا بوده و لـــذا HbF در مقادیر پایین با روش های افینیتی تداخل نمی آفریند.

$$HbA1c(NGSP\ \%)=98.2\times HbA1c(\mu mol/L)/Hb(\mu mol/L)+1.97$$

شکل ۲۵: خلاصه روش آنزیماتیک مستقل از هموگلوبین واریانت

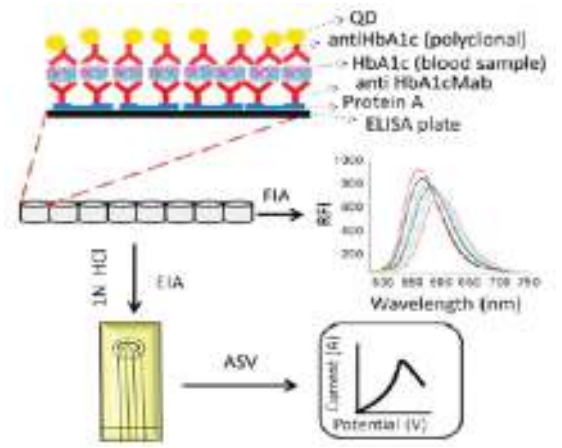
شکل ۲۶: دستگاه POC شـــرکت SIEMENS DCA-2000 مـــورد اســـتفاده در ســـنجش HbA1c که با یـــک قطره خـــون EDTA دار کار کـــرده و خون ابتدا بعد از لانســـت زدن توســـط Capillary holder حاوی EDTA برداشته شـــده و مثل یک خشاب ســـوار بر کارتریج اوپتیکال شده و وارد جایگاه مخصوص دســـتگاه می‌شود. ابتدا Hb توسط فری‌ســـیانید پتاسیم به M-Hb اکســـید شده و سپس در حضور تیوســـیانات به تیوســـیان-مت هموگلوبین تبدیل و در داخـــل DCA Vantage در ۵۳۱nm مقدار هموگلوبین توتال ســـنجیده می شود. ســـپس آنتی بادی ضد لاتکس

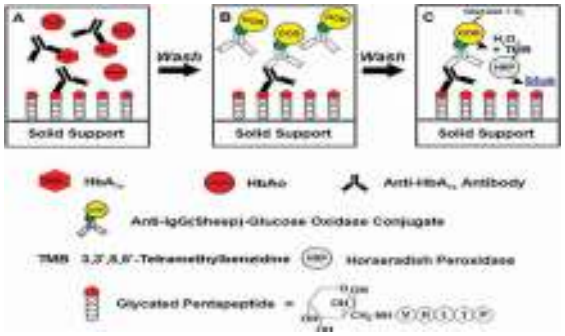
10- In the second reaction, hydrogen peroxide is produced by the action of fructosyl peptide oxidase (FPOX) on glycosylated dipeptide, and then causes color development by 10-(carboxymethyl aminocarbonyl)-3,7-bis (dimethylamino) phenothiazine sodium (coloring agent) in the presence of peroxidase (POD).

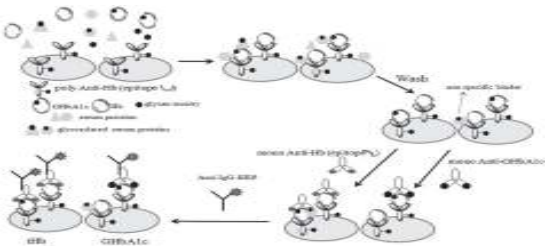
11- HbA1c: The absorbance is 0.050–0.100/min per 10 µmol/L of HbA1c. Hb: The absorbance is 0.10–0.30/min per 100 µmol/L of Hb

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

حاوی تترامر NT بتاگلوبین گلیکه در حضور A1C (حاوی تترامر گلیکه) خنثی شده و از قدرت آگلوتیناسیون آن کم می‌شـود و هر چه مقدار A1c بیشتر باشد، مهار آنتی بادی و در نتیجه توانایی آگلوتیناسیون آن با لاتکس کمتر شده و باعث افزایش پراکنش نور در طول موج ۵۳۱nm می شـود که با مقدار قند و A1C نسـبت مستقیم دارد (روش مشابه ایمونواسی TINA). اگر اندیکاتور کارتریج قرمز شد یا بیش از ۹۰ روز در RT ماند یا به دمای بالای ۴۰ درجه رسـید، باید اوت شود. کارتریج در یخچال تا ماه ها پایدار بوده ولی قبل مصرف الزاما باید هم دمای محیط شود و تا یک ساعت بعد باز شدن حتما مصرف شود.







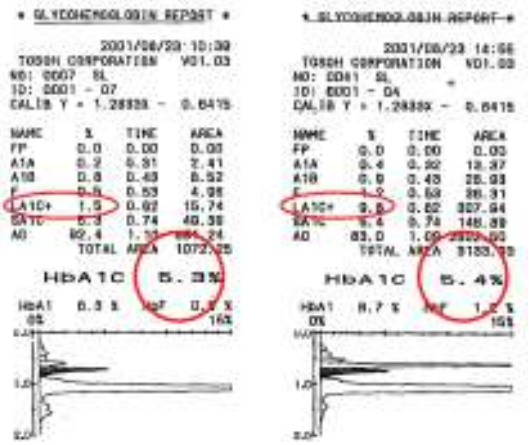
شکل ۲۷: استفاده از روش ELISA در سنجش مقـدار HbA1c که در آن آنتی بـادی مونوکلونال ضد HbA1c را بـه کف پلیت کوت کرده و پـس از افزودن همولیزانت و اتصال A1c به آن ها، آنتی بادی ضد اپی توپ دیگر را پس از شسـت و شو و به صورت سـاندویچی به آن می افزایند، در ادامه AHG ثانویه نشـاندار با آنزیم گلوکز اکسـیداز یا فلوروکروم را به پلیت افزوده و شـدت رنگ یا فلورسـنت را مورد سـنجش قرار مـی دهند. در تصویـر پایین که از چیپ میکروواری اسـتفاده می کند، به مـوازات HbA1c، هموگلوبیـن تام نیز از طریق اپی تـوپ های عمومی مورد سـنجش قرار می گیرد، سپس از طریق نسبت gHb/tHb درصد HbA1c مورد محاسبه قرار می گیرد.

شکل ۲۸: روش دیگـر در سـنجش HbA1C استفاده از بیوالکتـرو آنالایزرهـا هسـت کـه از بیوسنسـورهای اوپتیـکال، میکروفلوییدی، آمپرومتریک، الکتروشـیمیایی و الکترودهـا و نانومتریـال هـای نانوتیـوب کربـن (CNT)، Nitrogen Doped grapheme (CSMB) و Core shell magnetic bionano particle (CSMB)، Interdigitated Array (IDA) و ... استفاده می کند.

شکل ۲۹: در سـنجش A1c بـه روش لاتکس، از آنتی بادی های ضد g-Hb (یا HbA1c) سوار بر لاتکس استفاده می شود، به طوری که حضور HbA1c و اتصال آن به آنتی بادی های مذکور باعث آگلوتیناسیون لاتکس ها می شود و

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

شدت آن با غلظت HbA1c نسبت مستقیم دارد.



شکل ۳۰: تاثیر حضور HbA1c ناپایدار (در اثر شرایط هیپرگلایسمی دارویی یا غذایی و نه دیابت) بر سنجش HbA1c که باید شناسایی و افتراق داده شود.

جدول ۲: تکنیک‌های مورد استفاده در سنجش HbA1c

Immunoassays (e.g., Roche Diagnostics)	CE-HPLC (e.g., Tosoh Bioscience)	Affinity-HPLC (e.g., Trinity Biotech)
Detection of HbA1c	Detection of fraction of HbA1a, HbA1b and HbA1c	Detection of glycated Hb
Measures real analyte as defined by the IFCC	Calculated peak	Calculated peak
Including Hb variants and their glycated forms	Excluding Hb variants and their glycated forms	Including Hb variants and their glycated forms

جدول ۳: تاثیر هموگلوبین‌های واریانت در سنجش HbA1c به روش‌های مختلف

نتیجه گیری و بحث

RBC همانند سلول های اپیتلیال کلیه، مغز و کبد برای ورود گلوکز به درون خود نیازی به انسولین نداشته و لذا در دیابت علی رغم افت محسوس انسولین، گلوکز به راحتی و طبق شیب غلظت وارد اریتروبلاست ها شده و در دستگاه گلژی با هموگلوبین A تازه سنتز شده ترکیب و ایجاد HbA1 را می کند که غلظت آن نمادی از مقدار قند خون در زمان اریتروپوئز محسوب می شود. این در حالی است که سلول های دیگر به دلیل نداشتن رسپتور انسولینی دچار فقر داخل سلولی گلوکز بوده و باعث کتواسیدوز دیابتی می شوند. پس با توجه به موارد مذکور، تشکیل HbA1 برخلاف نوع HbA2 ربطی به زنجیره گلوبین، ژنتیک فرد و آنزیم خاصی ندارد. البته به دلیل گلیکاسیون والین انتهایی و بلوکه شدن NT در گلوبین های خانواده بتای HbA1c توسط گلوکز، علاوه بر افزایش سرعت الکتروفورزی، توانایی اتصال آن به 2,3DPG کاهش یافته و لذا P50 آن کاهش و میل آن به O2 افزایش می یابد (در HbA1c میل زنجیره β به 2,3DPG در شرایط T تا ۲,۶ برابر و در شرایط R تا ۱,۷ برابر کمتر از HbA می باشد). در HbA1c اثر بوهر نیز کمتر از HbA می باشد. البته ۶۰٪ گلیکاسیون در والین NT بوده و باعث تولید HbA1c اصلی می شود ولی ۴۰٪ مابقی نیز ریشه های Lys+ رخ می دهد، لذا HbA1c نماینده کل g-Hb نبوده و حدود ۲-۱,۵٪ کمتر از NGSP می باشد. واحد گزارش HbA1c نیز mmol HbA1c/mol total Hb می باشد.

در افراد طبیعی به دلیل این که اغلب موارد، مقدار گلوکز خون بین 70-110 mg/dl متغیر بوده و گلوکز به راحتی وارد نورموبلاست ها می شود، لذا HbA1c حدود ۶-۴٪ از کل هموگلوبین فرد را تشکیل می دهد اما در افراد دیابتی (نوع I و II) این مقدار می تواند بسیار بالاتر باشد و به ۱۸-۷٪ هم برسد. حدود ۱۰-۵٪ موارد دیابت را نوع I و ۹۵-۹۰٪ موارد را دیابت نوع II تشکیل می دهد. این هموگلوبین در الکتروفورز قلیایی روی استات سلولوز کمی سریع تر از HbA حرکت می کند و لذا Fast-HbA نیز نامیده می شود که از نظر عملکردی، ضعیف تر از HbA معمولی عمل می کند و هر چه میزان آن ها در بدن بیشتر باشد، شدت نارسایی های فیزیولوژیک نیز بیشتر خواهد بود، به طوری که امروزه علت بسیاری از علائم و عوارض

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

دیابـــت را مرتبط به این پدیده مـــی دانند. از آنجایی که i) نیمـــه عمر گلبول های قرمز به طور شـــاخص ۶۰ روز بوده و ii) گلیکاســـیون هموگلوبین نیز در دوران نورموبلاستی و اریتروسیتی انجام می شود و iii) از آنجایی که آزمایش‌های قند خون ناشـــتا (FBS)، قند خون دو ســـاعته (2h.pp) و تســـت تحمل گلوکز (GTT) مقدار قند خون بیمار و میزان افزایـــش آن را تنها در لحظه نمونه گیری نشـــان می‌دهند، لذا اندازه گیری میزان HbAlc انعکاســـی از متوسط غلظت گلوکـــز خون بیمار طی ۶ تا ۸ هفته قبـــل (یا ۲ ماه اخیر) بوده و اطلاعات با ارزشی را در مورد کنترل بیماران دیابتی فراهم می آورد، به همین دلیل آزمایش HbA1c به مراتب ارجح تر و نتایج آن تفسیر بهتری از وضعیت قند خون بیمار را به پزشک ارائه می نماید، ولی خطای ۱٪ در میزان A1c با تغییر 1.6mmol/L متوسط قند بیمار همراه می باشد[۱۲].

دیابت I (فقدان انسولین مترشحه از جزایر لانگرهانس) نیاز به غربالگری نداشته ولی دیابت II (مقاومت به انسولین) در افراد ۷۰-۴۰ ساله چاق و کم تحرک نیاز به غربالگری سالانه (بر اساس نظر سرویس پیشگیری و سلامت) یا هر سه سال یک بار (بر اساس نظر ADA) دارد. طبق تعریف، به کسی که دارای HbA1c>6.5، GTT(75gr Glu)>200، BS>200 و FBS>126 علایـــم بالینی پرنوشـــی، پـــرادراری، تاخیـــر ترمیم زخم، تاری دید، رخـــوت، کاهش وزن، بی‌حســـی، بیماری های قلبی- عروقی و نوروپاتی باشد، دیابتیک گفته می شود که از ریسک فاکتورهای دیابت نیز می توان به چاقی، کم تحرکی، افت HDL، افزایش تری گلیســـرید، سن بالای ۴۵، اختلال خـــواب، کبد چرب، تجویز کورتون، درمان ضد افســـردگی، هیپرتانسیون و ... اشاره نمود.

با توجه به مطالب فوق، غلظت HbAlc بستگی مستقیم بـــه طول عمر گلبول قرمز و غلظت قنـــد در ۳-۲ ماه اخیر دارد، لـــذا در افرادی که طول عمـــر گلبول های قرمز آن‌ها کاهـــش می‌یابـــد (مثل آنمی هـــای همولیتیـــک)، میزان HbAlc پایین‌تـــر از مقدار واقعـــی خواهد بود. در مقابل، با افزایش ســـن گلبول های قرمز، تغیـــر جزئی دیگری نیز در هموگلوبین رخ داده و در جایگاه ۹۳ زنجیره بتا، گلوتاتیون به سیستئین متصل می شود که از آن به عنوان هموگلوبین AIII یاد می شـــود. در این هموگلوبین، با احتســـاب موارد فوق، هموگلوبین تغییر نیافته و تازه ســـنتز شده را می‌توان به صورت HbA0 نشان داد.

پس در کل چهار نوع HbA وجود دارد:

HbA0: هموگلوبین بدون تغییر تازه سنتز شده

HbAI: هموگلوبین گلیکه

HbA2: هموگلوبیـــن بالغیـــن نوع ۲ کـــه از آلفا و دلتا تشکیل شده است.

HbA: HbAIII یـــی که در گذر زمان،Cys:93 آن به گلوتاتیون متصل می شـــود که این نوع هموگلوبین توانایی بالایی در اتصال به NO دارد.

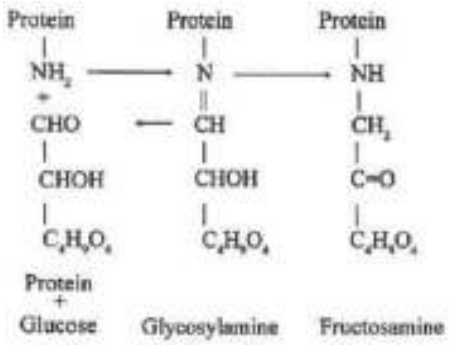
در برابر گلیکاســـیون، یـــک روند دفاعی دگلیکاســـیون توســـط آنزیم فروکتوز آمین ۳ کیناز نیـــز وجود دارد که با فسفریلاسیون ریشـــه های فروکتوز لایزین و ناپایدار کردن آن باعث متلاشی شدن پروتئین مذکور و حذف پروتئازومی آن می شـــود. لذا در دیابت به دلیل بالا بـــودن روند فوق، تخریب پروتئینی داخل ســـلولی افزایش و سلول ها بیشتر تجزیه و لیز می شوند.

جهت افزایش میزان HbA1c نیـــاز به مدت ها افزایش گلوکز خون بوده و بســـیار بعید و حتی غیر ممکن اســـت که تزریـــق فرضا یک ســـرم قندی و یا افزایـــش حاد ولی موقت گلوکز قادر باشـــد میزان S-A1c را به میزان زیادی بالا ببرد ولـــی در مقابل میـــزان L-A1c به صورت موقت افزایـــش می یابد. به هر حال چـــون در افراد دیابتی میزان هموگلوبیـــن sA1c بیش از افراد طبیعی می باشـــد، از آن جهت کنترل طولانی مدت بیماری استفاده می شود. از آن جایی که میزان بالای هموگلوبیـــن A1c در افراد دیابتی،

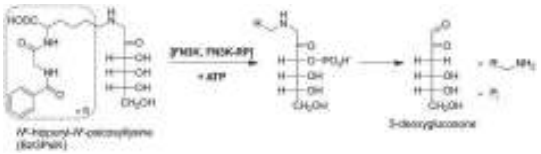
12- HbA1c deviation of 1% reflects a change of 1.4 – 1.9 mmol/L in average blood glucose concentration.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

مقادیر ناچیـــز هموگلوبین هـــای A1a و A1b موجود در گلبول های قرمز را تحت الشعاع قرار می دهد، لذا می توان به جای اندازه گیـــری HbA1c، مجموعه هموگلوبین های سریع را اندازه گیری نمود. هر چند درصد هموگلوبین های ســـریع و یا A1 را می‌توان بـــا روش کروماتوگرافی تعویض یونی (میکروستون) یا حتی HPLC اندازه گیری نمود اما، روش‌های بیوشـــیمیایی نفلومتری به دلیل افینیتی نسبت بـــه g-Hb دقیق تر بوده و دســـتگاه و کیـــت های تجارتی آن نیـــز در بازار موجود می باشـــند. یکـــی از معایب مهم همه تکنیک‌های ســـنجش g-Hb، بیماری های خونی می باشـــند که کاهش یا افزایش عمر RBC بر روی آن ها تاثیر مـــی گذارد. در واقـــع وقتی که در آنمـــی همولیتیک، عمر RBC بـــه زیر ۲۵ روز کاهش یافته و فرصت گلیکاســـیون هموگلوبین کمتر می‌شـــود، با هر روشـــی هم که بخواهیم HbA1c را بسنجیم، مقدار آن کاهش کاذب خواهد داشت، لذا می بایســـت از یک پارامتر دیگر مثـــل آلبومین گلیکه برای پایش دیابت اســـتفاده نمود. بدین ترتیب می توان به جای هموگلوبین گلیکه، از آلبومین گلیکه (GSA) و روش فروکتـــوز آمین و پایش روتین قند خون[13]برای مونیتورینگ دیابت اســـتفاده نمود. البته تست فروکتوز آمین پایش قند خون در دوره کوتاه تری از گذشـــته (۳-۱ هفته بعد) انجام داده و همانند A1c پایش ۳-۲ ماه اخیر را نمی کند. A1c حدود ۶٪ معادل قند خون 120mg/dl بوده و هر ۱٪ تغییر در آن معادل 30mg/dl تغییر در قند خون می باشد. مقدار نرمال فروکتوزآمین به شـــرط آلبومین نرمال 5g/dl حدود 200-285 umol/L می باشد که معادل A1c آن برای هر غلظت در جدول ۴ نشان داده شده است. در واقع هر 75mol تغییـــر در فروکتوز آمین معـــادل ۲٪ تغییر در HbA1c و 60mg/dl تغییر در قند خون هســـت. آنزیـــم FN3K (و تا حـــدودی FN3K-RP)[14] با فسفریلاســـیون فروکتوز آمین در کربن ســـوم، باعـــث ناپایداری و جدا شـــدن آن از پروتئین می شـــود و لذا نیمه عمر کمتری دارد (۲۰ روز). علی رغم مزایای محدود تســـت فروکتوز آمین، مقدار آن به ندرت از نظر بالینی (حتی در افراد مبتلا به هموگلوبینوپاتی یا سایر اختلالات ســـلول های قرمز) اندازه گیری می شـــود چراکه نیمـــه عمر آن ۴-۱ هفته ای بوده ولـــی داروهای دیابت به چندین ماه زمان برای پایدار شـــدن نیاز دارند (به اســـتثنا بارداری که نیازهای دارویی می تواند ســـریع تر تغییر کند). دوم اینکه، فروکتوزامین دارای تغییرات بالاتری نســـبت به آزمایش های A1c می باشد. سوم اینکه، اکثریت مطالعات در مورد مراقبت از دیابت بر اســـاس ســـنجش A1c انجام می شـــود که می توانـــد نتایج فروکتوزامین برای تفســـیر آن را مشکل ســـازد. چهارم این که، آزمون A1c به خوبی استاندارد شده و به دلیل استفاده تقریبا جهانی، قابل اعتماد است ولی برای پایش دیابت خیلی اخیر، یا پایش دیابت در بیماران کلیوی (ESRD) و حامله در کل آلبومین گلیکه یا تست فروکتوز آمین بهتر پاسخ می دهد.



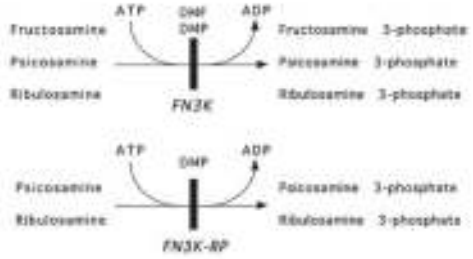
شکل ۳۱: روند تشکیل فروکتوز آمین



13- fructosamine, glycated serum albumin or self-monitoring of blood glucose

14- Fructosamine 3-kinase (FN3K) and FN3K-related protein (FN3K-RP), an enzyme that phosphorylates psicosamines and ribulosamines, but not fructosamines, on the third carbon of their sugar moiety. Protein-bound psicosamine 3-phosphates and ribulosamine 3-phosphates are unstable, decomposing at pH 7.1 and 37 °C with half-lives of 8.8 h and 25 min respectively, as compared with 7 h for fructosamine 3-phosphates.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]



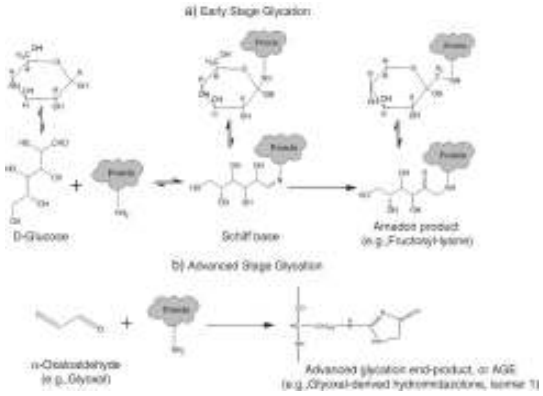
شکل ۳۲: روند تجزیه مجدد فروکتوز آمین و مولکول های مشابه به 3DG و Pi و لایزین

جدول ۴: تبدیل مقادیر A1C و فروکتوز آمین به یکدیگر

Approximate Comparison of Glucose, Fructosamine, & A1C		
Glucose (mg/dl)	Fructosamine (umol)	A1C (%)
90	212.5	5.0
120	250	6.0
150	287.5	7.0
180	325	8.0
210	362.5	9.0
240	400	10
270	437.5	11.0
300	475	12.0
330	512.5	13.0
360	550	14.0
390	587.5	15.0

جدول ۴: کاربرد روش‌های مختلف پایش A1C و دیابت در شرایط مختلف بالینی

نقص متابولیسم فروکتوز و پایش مزمن	بیماری‌های اریتروسیتی	هموگلوبین واریانت و تالاسمی	افراد نرمال	اساس تست
+	-	-	+	HPLC و CE
+	-	+	+	ایمونواسی و آنزیم اسی
-	+	+	+	فروکتوز آمین



شکل ۳۳: ساختار آلبومین گلیکه (GSA) و انواع AGEs (در صورت تداوم هایپرگلایسمی تشکیل شده و باعث بروز ناهنجاری های مختلفی از جمله عوارض بینایی، زخم پا، پلاک آترواسکلروز و افزایش استرس اکسیداتیو می‌شوند). فروکتوزآمین ترکیبی تشکیل شده از قند و پروتئین است که از واکنش غیرآنزیمی گلوکز با گروه‌های آمین پروتئین ها تشکیل و ترکیبات واسطه ای به نام آلدیمین ها (Aldimine) را می سازد. این آلدیمین ها، کتوآمین های پایداری به نام فروکتوز آمین ها را تشکیل می دهند. میزان گلیکاسیون غیرآنزیمی پروتئین ها در داخل بدن متناسب با غلظت گلوکز در طول عمر پروتئین است. از آنجایی که آلبومین فراوان ترین پروتئین سرم است، لذا GA می تواند نسبت بالایی از فروکتوزآمین ها را تشکیل دهد. آلبومین گلیکه به عنوان بیومارکری جایگزین برای HbA1c پیشنهاد می شود. GA یک شاخص کنترل گلیکاسیون است که بسیاری از معایب بیومارکر HbA1c را ندارد و انتظار می رود که با جمع آوری مشاهدات بیشتر در مطالعات تحقیقاتی بزرگ و بررسی فاکتورهای اثر گذار روی GA، این بیومارکر به عنوان یک شاخص بررسی وضعیت گلیکاسیون جایگزین HbA1c شود. GA هم می تواند بازتابی از تغییرات گلوکز پلاسما ولی در مدت زمان کوتاه‌تر (طی ۳-۲ هفته گذشته) باشد که این ویژگی حساسیت آن را نسبت به تغییرات سریع سطح گلوکز خون نشان می دهد. اما در شرایطی که بیمار با اختلالات متابولیسم آلبومین مانند سیروز کبدی، اختلالات تیروئید، سندروم نفروتیک، هیپراوریسمی، افزایش تری گلیسرید، مصرف

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

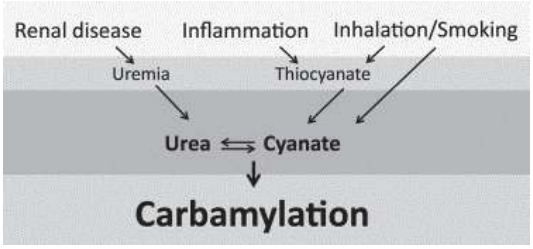
گلوکورتیکوئیدها و ... همراه باشد و سطح آلبومین سرم نیز تغییر کند، همانند HbA1c می تواند نتایج کاذبی را به ما نشان دهد. با وجود مزایای محدود تست فروکتوزآمین برای اندازه‌گیری GA، مقدار آن به ندرت در آزمایشگاه اندازه‌گیری می شود. همچنین به دلیل اینکه معمولا مطالعات برای کنترل دیابت براساس سنجش HbA1c انجام می شود، تفسیر نتایج تست فروکتوزآمین را کمی مشکل می سازد ولی در شرایطی، برای پایش دیابت در بیماران کلیوی و افراد باردار به دلیل تغییر سریع نیازهای دارویی می توان از آن به عنوان جایگزین استفاده کرد. برای بررسی میزان تاثیر آنمی فقر آهن روی سطح GA مطالعات گسترده ای انجام شد، در یکی از این پژوهش ها با استفاده از روش مطالعه مورد-شاهدی بین افراد غیر دیابتی با آنمی فقر آهن و بدون آنمی فقر آهن، نمونه خون محیطی سیاهرگی از افراد انتخاب شده (۸-۱۰ ساعت ناشتا) گرفته شد و با روش های آزمایشگاهی و تست های آماری مخصوص نتایج در جداولی گردآوری و تفسیر نتایج اعلام شد. با توجه به نتایج اعلام شده، سطح آلبومین ارتباط مستقیم با سطح هموگلوبین خون دارد، بنابراین می توان مطرح کرد که در آنمی فقر آهن به دلیل وضعیت تغذیه، سطح آلبومین سرم هم کاهش یابد. آلبومین از گلیکاسیون در برابر پروتئین‌های آزاد دیگر مثل انسولین و آپومیوگلوبین محافظت می کند و لذا افزایش سطح آلبومین پلاسما، به صورت رقابتی از گلیکاسیون دیگر پروتئین ها مانند هموگلوبین جلوگیری می شود. وقتی سطح آلبومین آزاد طی آنمی فقر آهن کاهش می یابد، سطحGA و HbA1c بالا می رود، در صورتی که میزان گلوکز خون در محدوده طبیعی خود قرار دارد. بنابراین میزان GA نیز می تواند به دلیل آنمی فقر آهن به طور کاذب افزایش یابد. در نتیجه وقتی برای بررسی و کنترل قند خون، HbA1c درخواست می شود، بهتر است در افرادی که با بیماری های خونی و به ویژه انواع آنمی ها مواجه هستند، به دلیل تاثیرگذاری کاهش یا افزایش عمر RBCها روی نتایج، میزان هموگلوبین هم ارزیابی شود تا با مقایسه داده ها، مشخص شود که تغییرات سطح HbA1c نشان دهنده وضعیت گلیکاسیون آن ها توسط قند خون بوده و ارتباطی با کاهش یا افزایش عمر اریتروسیت ها و هموگلوبین خون ندارد. همچنین می توان در شرایطی خاص و به عنوان جایگزین، از GA به روش فروکتوزآمین برای بررسی دیابت استفاده کرد که در اندازه گیری GA نیز باید به وجود بیماری هایی که روی متابولیسم و میزان آلبومین اثر گذار هستند، توجه شود که با در نظر گرفتن همزمان شرایط بیمار و نتایج تست ها، می‌توان وجود نتیجه کاذب را در هر دو تست مشخص نمود. با مطالعات انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که حتی بیومارکر GA نیز می تواند در شرایطی خاص نامعتبر باشد و بازتاب درستی از وضعیت گلیکاسیون را به ما نشان ندهد و به دلیل استانداردسازی‌های انجام شده روی تست HbA1c، با وجود ارائه نتایج کاذب، همچنان این تست برای پایش دیابت در اولویت قرار دارد.

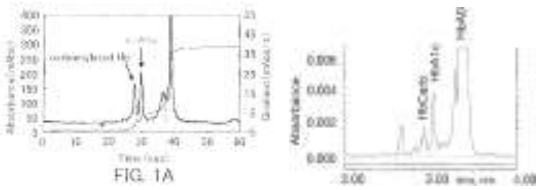
تفسیر نتایج

از آنجایی که علاوه بر دیابت، در بیماران اسپلنکتومی (منجر به افزایش عمر RBC) و همچنین در بیمارانی که به علت نارسایی مزمن کلیه دیالیز می شوند، مقادیر HbA1 و AGEها به دلیل عدم کلیرانس و تجمع آن ها، افزایش می‌یابد، لذا در تفسیر نتایج به دست آمده باید جانب احتیاط را رعایت نمود. کربامیل هموگلوبین ناشی از اورمی بیماران کلیوی یا ناشی از تیوسیانات التهاب و دخانیات نیز به دلیل نزدیکی پیک کربامیل هموگلوبین به HbA1c اغلب می تواند باعث تداخل و افزایش کاذب A1C شود. البته در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه که هنوز به حد دیالیز نرسیده و یا دیالیز آن ها دیر شده باشد، ممکن است مقادیر به دست آمده کمتر از میزان واقعی باشند. هموگلوبین F نیز همانند HbA1 دارای اندکی شارژ مثبت بوده و به همراه A1، ستون کروماتوگرافی تعویض یونی را ترک می کند، لذا مقادیر هموگلوبین های سریع به دست آمده از روش فوق در بیمارانی که دارای مقادیر بالایی HbF هستند (مثل تالاسمی ماژور، نوزادان، بیماری HPFH و دیگر تالاسمی‌های اینترمدیا)، افزایش کاذبی خواهد داشت. آنمی های هیپوپرولیفراتیوی مثل آپلاستیک، آنمی فقر آهن و آنمی مگالوبلاستیک به دلیل افزایش عمر RBC و یرقان یا افزایش تری گلیسرید به

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

صورت کاذب باعث افزایش مقدار HbA1c شده و در مقابل، سوء تغذیه، خونریزی، نارسایی مزمن کبد، آنمی همولیتیک، حاملگی، درمان AIDS (افزاینـــده HbF) و تجویز ویتامین های آنتی اکسیدان E/C می توانند باعث کاهش کاذب مقدار HbA1c شـــوند. به طور کلی، با هر روشی که کروماتوگرافی تعویض یونی صورت پذیرد، (خـــواه به روش ماکرو و خواه با تکنیک میکرو)، غلظت یونی و pH بافر از اهمیت بسیار ویژه ای برخـــوردار بوده و باید کاملا دقت شـــود که کوچک ترین تغییری در مقادیر آن‌ها خواه در اثر ورود وسایل آلوده و خواه بـــه علت ماندن در حرارت اطـــاق روی ندهد. محدوده کمتر از ۵/۷٪ آن به عنـــوان نرمال، محدوده ۵/۷-۶/۴ ٪ به عنوان شرایط پره دیابتیک و محدوده بالای ۶/۵ ٪ به عنوان شرایط دیابتیک شناخته می شوند.





شـــکل ۳۴: کربامیل هموگلوبین با زمان الوشـــن ۲/۸۸ دقیقه‌ای در روش HPLC با رزولیشن بالا می تواند به راحتی از A1c با زمان الوشـــن ۳/۰۱ دقیقه تفکیک شود. این بیمار دیابتیک و اورمیک با سطح اوره 54mmol/L می باشد.

گلیکاســـیون امری غیـــر قابل برگشـــت بوده امـــا با این وجـــود، اثر عمـــده ای روی عملکرد هموگلوبیـــن ندارد ولی میل اکســـیژنی آن به خاطر معیوب شـــدن برهمکنش آن با 2,3DPG مختصـــری افزایش پیدا می کنـــد. نه تنها HbA بلکه ســـایر هموگلوبین های نرمـــال و واریانت نیز می توانند گلیکه شوند که گاهی این حالت به دلیل رقابت بر سر اتصال به گلوکز باعـــث کاهش مقدار HbA1c می شـــوند، این در حالی اســـت که غلظت بقیـــه هموگلوبین هـــای مینور مثل HbF1c یـــا HbS1c افزایش می یابـــد. در چنین مواردی استراتژی تعیین مقدار HbA1c نادرست بوده و می بایست یا مجموع هموگلوبین‌های گلیکه (A1c+X1c) مورد سنجش قرار بگیرند یا اینکه از روش های آنزیماتیک و ایمونواســـی یا معادل های دیگر گلیکه مثل آلبومین گلیکه و فروکتوز آمین استفاده شـــود. هموگلوبین‌های گلیکه برخی مواقع می‌توانند باعث اشتباهات و ســـردرگمی‌های تشخیصی نیز بشوند مثلا ممکن اســـت در تکنیک HPLC، یـــک هموگلوبین گلیکه خصوصیات یکسانی با دیگر هموگلوبین های نرمال یا واریانت نشان بدهد (مثل S1c و A0) و به همین ترتیب ممکن است HbS گلیکه خیلی نزدیک به HbA شـــویش شده و به دلیل رتنشن تایم مشابه، با آن اشتباه گرفته شود.

جدول ۵: علل افزایش و کاهش واقعی و ظاهری درصد HbA1c

	درصد افزایش یافته	درصد کاهش یافته
واقعی	دیابت ملیتوس	افراد نرمال یا تحت درمان
کاذب (ظاهری)	حضور هموگلوبین واریانت با زمان احتباس برابر با HbA1cکه با آن همپوشانی دارد.	حضور انواع واریانت های هموگلوبین که باعث کاهش باند A و تشکیل باند واریانت می شوند*، مثل: HbS,HbC,HbTakamatsu, HbG-Szuha,HbHimeyi, HbO-Padova,Hb-Camden,HbG-Coushatta
حقیقی	آنمی فقر آهن عفونت با HIV حضور جمعیت مسن از گلبول های قرمز مثل آنچه در ابتلاء به آپلازی خالص گلبول های قرمز دیده می شود که در آن عمر گلبول های قرمز بالا می رود. اسپلنکتومی الکلیسم (افزایش سطح گلیکاسیون و کربامیلاسیون) نارسایی کلیوی و اورمی افزایش بیلی روبین و تریگلیسرید** دوز بالای آسپرین هیپرگلایسمی و افزایش LA1c (گاها) برخی داروها	کاهش طول عمر گلبول های قرمز و رتیکولوسیتوز (آنمی همولیتیک) با منشاء ایمیون و غیرایمیون (ممبرانوپاتی، آنزیموپاتی، هموگلوبینوپاتی، مالاریا و ...) خونریزی درمان با اریتروپوئیتین اسپلنومگالی و هیپراسپلینیسم انتقال خون اخیر حاملگی آرتریت روماتوئید افزایش تری‌گلیسرید درمان HIV با داروهای آنتی ویرال بیماری مزمن کبدی تجویز دوز پایین آسپرین تجویز ویتامین E و C برخی داروها (داروهای اکسیدان مثل داپسون و ریباویرین)

* احتمالا به دلیل ناپایداری هموگلوبین و بروز همولیز یا به دلیل تغییر اسیدآمینه هایی که مورد هدف گلیکوزیلاسیون قرار می گیرند. درکل هموگلوبینوپاتی ها بسته به نوع، می‌توانند هم باعث کاهش و هم افزایش کاذب A1c شـــوند. ** در برخی منابع، افزایش TG با افزایش کاذب A1C ذکر شده است.

همـــان طوریکه اشـــاره شـــد، در بیماران مبتـــلا به آنمی

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]

همولیتیک، میزان HbA1c نسبت به مقدار طبیعی آن کاهش دارد، چرا که گلیکاسیون با متوسط عمرگلبول های قرمز در ارتباط بوده و طی گذر زمان افزایش پیدا می کند، به عبارتی طی عمر ۱۲۰روزه گلبول های قرمز، به تدریج هموگلوبین های داخل آن گلیکه می شوند، از این رو، تخریب زودرس اریتروسیت ها در اثر آنمی همولیتیک و تولید سلول‌های جدید با سطح هموگلوبین گلیکه پایین، باعث کاهش مقدار کلی HbA1c می شود. در اریتروبلاستوپنی گذرای کودکان و آنمی آپلاستیک که عمر جمیعت سلولی گلبول‌های قرمز افزایش پیدا می کند، میزان HbA1c بیشتر از حد طبیعی می شود. در آنمی فقر آهن و عفونت با ویروس HIV نیز میزان آن به صورت قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند (۰/۵±۹/۱٪ در برابر ۰/۲±۷/۴ نرمال). مقدار Hb-S1c (گلیکه) در بیماران دیابتی مبتلا به آنمی سلول‌های داسی حدود ۷۵٪ از کل هموگلوبین های گلیکه بوده و مابقی آن‌ها را HbF1c و HbA2c تشکیل می دهند. در این بیماران، هر چند مقدار HbS1 تا ۲ برابر افراد غیر دیابتی افزایش دارند، ولی درکل به دلیل نیمه عمر پایین سلول‌های داسی و بروز آنمی همولیتیک، مقدار کلی هموگلوبین‌های گلیکه نصف افراد دیابتی غیر مبتلا به آنمی داسی شکل می‌باشد. مقدار HbA1c در نوزادان نارس (30-36W) کمتر از نوزادان رسیده و فول ترم (40W) می‌باشد. به طور مشابه، میزان استیلاسیون HbA نیز در نوزادان نارس کمتر بوده ولی با افزایش سن سلول و افزایش تعداد F سل ها، میزان آن افزایش می یابد.

References:

1- Sacks DB. A1C versus glucose testing: A comparison. Diabetes Care 2011;34:518–23.

2- Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Lernmark Å, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Diabetes Care 2023;46:151–99.

3- Rhea JM, Molinaro R. Pathology consultation on HbA(1c) methods and interferences. Am J Clin Pathol 2014;141:5–16.

4- American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes mellitus. Diabetes Care 2015;38:8–16.

5- Chen Z, Shao L, Jiang M, Ba X, Ma B, Zhou T. Interpretation of HbA1c lies at the intersection of analytical methodology, clinical biochemistry and hematology (Review). Exp Ther Med 2022;24:707.

6- Panzer S, Kronik G, Lechner K, Bettelheim P, Neumann E, Dudczak R. Glycosylated hemoglobins (GHb): An index of red cell survival. Blood 1982;59:1348–50.

7- Polgreen PM, Putz D, Stapleton JT. Inaccurate glycosylated hemoglobin A1C measurements in human immunodeficiency virus-positive patients with diabetes mellitus. Clin Infect Dis 2003;37:53.

8- Brown JN, Kemp DW, Brice KR. Class effect of erythropoietin therapy on hemoglobin A(1c) in a patient with diabetes mellitus and chronic kidney disease not undergoing hemodialysis. Pharmacotherapy 2009;29:468.

9- Ng JM, Cooke M, Bhandari S, Atkin SL, Kilpatrick ES. The effect of iron and erythropoietin treatment on the A1C of patients with diabetes and chronic kidney disease. Diabetes Care 2010;33:2310–13.

10- Roberts WL, Safar-Pour S, De BK, Rohlfing CL, Weykamp CW, Little RR. Effects of hemoglobin C and S traits on glycohemoglobin measurements by eleven methods. Clin Chem 2005;51:776–78.

11- Lo C, Lui M, Ranasinha S, Teede HJ, Kerr PG, Polkinghorne KR, et al. Defining the relationship between average glucose and HbA1c in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. Diabetes Res Clin Pract 2014;104:84–91.

12- Kohne E. Hemoglobinopathies: Clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Dtsch Arztebl Int 2011;108:532–40.

13- Thachil J, Owusu-Ofori S, Bates I. Haematological diseases in the tropics. Manson's Tropical Infectious Diseases 2014;65:894–932.

14- Tirthankar S, Viswanathan M, Ranjit U. An unusual case of nonmeasurable glycosylated hemoglobin (HbA1c) by high-performance liquid chromatography in a type 2 diabetes. Journal of Diabetology 2022;13:129–32.

15- Hegde SN, Srikousthubha MS, Anupama YJ. A case of undetectable glycated hemoglobin (HbA1C). QJM 2018;111:567– 68.

16- John J, Sakarde A, Chafle J, Amle D, Jose J, Sakhare V, et al. An assessment of the utility of serum fructosamine in the diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. Cureus 2023;15:33549.

17- Effect of Iron Deficiency Anemia on Glycated Albumin Levels: A Comparative Study in Nondiabetic Subjects with Iron Deficiency Anemia. Journal of Laboratory Physicians. 2023 Jun; 15(2): 253–258.

18- Chromatographic Pattern of Glycated Hemoglobin Seen in a Patient Population at the Outpatient Clinic of a Nigerian Tertiary Hospital. IOSR Journal of Dental and Medical Science. 2013 November – December; PP 55-59

19- Albumin Abundance and Its Glycation Status Determine Hemoglobin Glycation. ACS Omega. 2018 October;12999–13008

20- Non-enzymic glycation of individual plasma proteins in normoglycemic and hyperglycemic patients. Clin Chem. 1987 Dec; 33(12):2220-4

Glycated albumin: a potential biomarker in diabetes. Archives of Endocrinology and Metabolism.2022 May;61(3);296-304

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-06-04]