هموگلوبین گلیکوزیله(Glycosylated Hemoglobin)

اندازه‌گیری هموگلوبین گلیکوزیله (Hb-G) اندازه‌گیری موثر جهت بررسی متابولیسم گلوکز می‌باشد. چنانچه هموگلوبین طبیعی را به روش کروماتوگرافی ستونی مورد ارزیابی قرار دهیم، تعدادی ترکیب فرعی دیده می‌شوند که نقطه ایزوالکتریک پایین‌تری نسبت به هموگلوبین A دارند. این ترکیبات فرعی تحت گروه HbA_1می‌باشند.

HbA_1، ترکیبی از پنج جزء و HbA_1a و HbA_1b و HbA_1c و HbA_1d و HbA_1e می‌باشد HbA_1 .به صورت طبیعی ٪۵ تا ٪۸ هموگلوبین توتال را تشکیل داده و ساختمان پلی‌پپتیدی مشابه HbA دارد. تفاوت آن‌ها در اتصال یک قند شش کربنه بهHbA_1 می‌باشد.

HbA_1c، گلیکوزیله شده به وسیله اتصال یک مولکول گلوکز به انتهای N اسید آمینه مولکول هموگلوبین می‌باشد HbA_1C .بزرگترین جزء از اجزاء پروتئین‌های گلیکوزیله می‌باشد. عمل گلیکوزیلاسیون فرآیندی آهسته و تدریجی بوده و واکنشی برگشت‌ناپذیر، بدون دخالت آنزیم تلقی می‌شود که در طی یک دوره معین از زندگی گلبول قرمز که ۱۲۰ روز می‌باشد، اتفاق می‌افتد. مقدار هموگلوبین گلیکوزیله (Hb-G) در گلبول‌های قرمز جوان و همچنین در همولیزها کمتر می‌باشد. بنابراین متناسب باسن گلبول قرمز و غلظت گلوکز در خون، میزان Hb-G نشانگر وضعیت گلوکز خون در طول ۶۰ روز قبل می‌باشد. در صورتی که اندازه‌گیری قند خون، تنها می‌تواند وضعیت قند خون بیمار را در لحظه نمونه‌گیری مشخص کند.

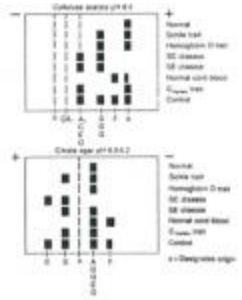
مقدار Hb-G نشان دهنده میزان قند در افراد دیابتی بوده و جهت کنترل وضعیت گلوکز در افراد دیابتی باید ٪۲-۱ بیشتر از مقدار افراد غیردیابتی در نظر گرفته شود. در واقع بیمار دیابتی که انسولین مصرف می‌کند ولی میزان Hb-G آن مانند افراد طبیعی می‌باشد، با خطر هیپوگلیسمی مواجه می‌باشد HbA_1c .شاخص خوبی برای بررسی وضعیت گلوکز و استاندارد خوبی برای کنترل دیابت می‌باشد و به پزشک اجازه می‌دهد که در بیمار خود به صورت موثری سیر درمان را ارزیابی کند.

مقادیر طبیعی

نوع هموگلوبین گلیکوزیله	درصد
HbA_1a_1	2/0%
HbA_1a_2	2/0%
HbA_1b	5/0%
HbA_1c	4-6%
HbA_1d	2/0-5/0%

روش‌های اندازه‌گیری(Method of Quantitation)

روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری Hb-G وجود دارد، از جمله می‌توان کروماتوگرافی تعویضی یونی، رنگ‌سنجی با اسید تیو بار بیتوریک ، کروماتوگرافی با قدرت جذب و HPLC و الکتروفورز بر روی ژل آگارز، تمرکز در نقطه ایزوالکتریک را نام برد. مقادیر طبیعی براساس روش‌های مختلف اندازه‌گیری متفاوت می‌باشد. در کروماتوگرافی تعویضی یونی با ستون‌های کوچک، هموگلوبین‌های غیرطبیعی (S, D, C, F, E) بر میزان هموگلوبین گلیکوزیله تاثیر می‌گذارند و گلوکز به زنجیره‌های بتاهموگلوبین‌های غیرطبیعی می‌چسبد. لذا در محاسبه لازم است درصدی را به اجزا مختلف هموگلوبین گلیکوزیله جدا شده به وسیله الکتروفورز اضافه نمود. کروماتوگرافی جذبی اجازه می‌دهد که مقدار Hb-G مربوط به هموگلوبین‌های غیرطبیعی را تخمین بزنیم.

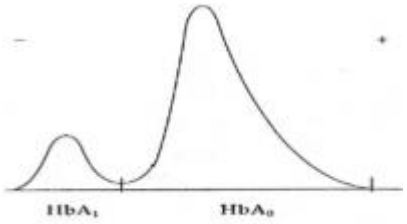


شکل شماره ۲۸: تصویر، شمای حرکت الکتروفورزی مختلف را در PH های قلیائی و اسیدی بر روی استات سلولز و سیترات آگار نشان می‌دهد.

مشخصات انواع مختلف تالاسمی

مقادیر طبیعی در بزرگسالان(Values in the Normal Adult)

همان طور که گفته شد نتایج به دست آمده بسته به نوع روش اندازه‌گیری به کار گرفته شده فرق می‌کند. روش‌های اختصاصی برای اندازه‌گیری Hb-G مقدار ٪۵/۵ را نشان می‌دهد. روش‌هایی که تمامی HbA1 را اندازه‌گیری می‌کنند، (به خصوص در روش‌های الکتروفورز ژل آگارز در pH اسیدی، کروماتوگرافی تعویض یونی ستون کوچک، کروماتوگرافی پیوسته با ستون‌های کوچک)، مقادیر ٪۷ تا ٪۸ را به دست می‌دهند.



شکل شماره ۲۹: نمودار الکتروفورز هموگلوبین گلیکوزیله در سرم طبیعی

انواع قندهای مختلف باند شده به هموگلوبینA

جزءA هموگلوبین	%از هموگلوبین تال	نوع قند باند شده
HbA_1a_1	2/0%	Hexose-diphosphate Frotose-diphosphate
		Glucose, mannose, galactose-diphosphate
HbA_1a_2		Hexose-diphosphate

HbA_1b	2/0% 5/0%	Glucose-6-Phosphate Glucose, mannose, galactose-monophosphate Hexose nome-Phosphorylated
HbA_1c HbA_1d	4-6 2/0/6/0	Glucose, mannose, galactose 1-deoxy- β-D-Glucose β-D-glucopyransyl

مشخصات برتر فنی و تکنیکی الکتروفورز به جرأت می‌توان گفت که الکتروفورز یکی از مفیدترین ابزارها برای بررسی و بازنگری فرآیند حیات و یکی از اولین روش‌های عملی برای آنالیز پروتئین‌ها می‌باشد. بیشترین کاربرد الکتروفورز به عنوان یک ابزار تشخیصی در آزمایشگاه‌ها می‌باشد. از روش الکتروفورز، علاوه بر تعیین و شناسایی پروتئین‌ها، جهت بررسی چربی‌ها، گلیکوژن‌ها و آنزیم‌ها نیز استفاده می‌شود. همراهی واکنش‌های ایمونوپرسی پیتاسیون با الکتروفورز و توسعه تکنیک‌های مختلف الکتروفورز گام‌های تازهٔ دیگری در قلمرو علوم زیستی محسوب می‌شود که چشم‌انداز جدیدی از امکانات را در مقابل چشمان محققین گشوده است. حجم نمونه کم، حساسیت بالا و سادگی تکنیک الکتروفورز باعث گسترش همه جانبه الکتروفورز در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و تحقیقاتی شده است. سیستم‌های الکتروفورز موئینه‌ای با کارایی بالا در حال رایج شدن در آزمایشگاه‌های تشخیصی هستند. این سیستم‌ها می‌توانند به سرعت نسبت CK_1 به CK_2 و نیز مقدار RNA ویروسی را مشخص کنند. از این سیستم در ارزیابی سیر درمان در بیماران مبتلا به ایدز نیز استفاده می‌شود. الکتروفورز پروتئین‌ها با قدرت تفکیک زیاد، مزیت‌های بیشتری نسبت به روش مرسوم سلولز استات دارد. تکنیک الکتروفورز با قدرت تفکیک بالا، پروتئین‌های سرم را با استفاده از یک ژل نازک آگارز و بافر pH ۸/۶ = تا حدود ۲۰ باند تفکیک می‌کند. از این روش در الکتروفورز مایع مغزی نخاعی برای تشخیص مولتیپل اسکلروزیس استفاده می‌شود. هر چند در حال حاضر الکتروفورز دو بعدی به عنوان ابزار تحقیقاتی به کار می‌رود ولی ممکن است در آینده در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی نیز کاربرد داشته باشد.