

# HbA1c ja diabeet

Teise tüüpi diabeeti haigestumise kasv on suur probleem üle maailma, aga ka meil Eestis. Seetõttu on parima ravi jaoks väga oluline, **et haiguse avastamiseks oleks efektiivne abivahend.**

**Karit Krause**

tootejuht, Mediq Eesti

Diabeedi tuvastamiseks ja jälgimiseks on erinevaid meetodeid, kuid II tüüpi diabeedi puhul peetakse parimaks erütrotsüütides oleva hemoglobiini ühe kindla variandi mõõtmist. Nimetatud hemoglobiini modifikatsioonil – HbA1c – on stabiilne glükoosi lisand seotud  $\beta$ -ahela N-terminaalsesse osasse.

Normaalse täiskasvanud inimese hemoglobiin koosneb põhiliselt kolmest hemoglobiini tüübist: HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ) 97%, HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) 2,5% ja HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) 0,5%. Ligikaudu 6%

kogu hemoglobiini A-st on HbA1, mis omakorda koosneb HbA1a, HbA1b ja HbA1c.

HbA1c peegeldab glükeemilise tasakaalu tagasiulatuvat ja kumulatiivset glükeerituse indeksit viimase 120 päeva jooksul enne analüüsi tegemist. Analüüsi saab teostada igal hetkel inimese päevast, see ei vaja paastuperioodi.

Aastate jooksul on hakatud HbA1c määramist kasutama diagnostilise testina. Seda tutvustati esmalt 2010. aastal Ameerika Diabeedi Assotsiatsiooni ja aastal 2011 WHO poolt. Glükeeritud hemoglobiini normaalväärtus jääb alla 5,7% ning eeldiabeedi patsientidel vahemikku 5,7–6,4%.

HbA1c määramiseks saab kasutada erinevaid meetodeid lähtuvalt erinevate hemoglobiinide elektroforeetilistest ja kromatograafilistest omadustest.

## Meetodid HbA1c määramiseks

**Immuunanalüüs** mõõdab glükeeritud  $\beta$ -ahela N-terminaalse otsa vastaseid monoklonaalseid või polükonaalseid antikehi, kuid et antikehade seondumiskoht on hemoglobiini modifikatsioone (näiteks HbS (sirprakne aneemia), HbC, HbE, HbM ja HbD) põhjustavate aminohapete kohast ülespoole, siis ei võta immuunotest neid muutusi arvesse.

**Ionvahetus-kromatograafia** puhul eristatakse HbA1c ja HbA0 väikest erinevust nende isoelektrilises punk-

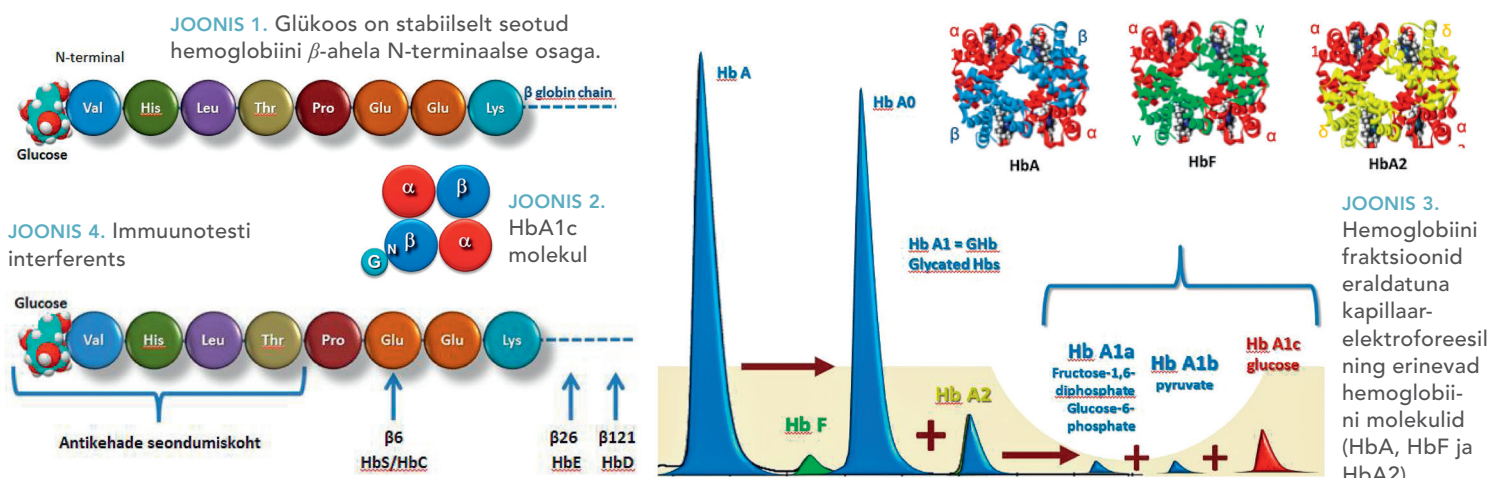
tis. **Afiinsuskromatograafia** (boronaat) kasutab glükoosi ja glükeeritud hemoglobiini spetsiifilist interaktsiooni immobiliseeritud boorhappele. Ioonvahetus- ja afiinsuskromatograafia arvutavad HbA1c hulka võrduste alusel, eeldusel, et seatud koefitsiendid kehtivad alati samamoodi.

**HPLC** separeerib HbA1c ja muud plasma komponendid uuritavate fraktsioonide ning HPLC kolonni sisepinna keemiliste interaktsioonide alusel. Lisaks stabiilsele HbA1c-le on veres olemas ka labiilne HbA1c, mille puhul on glükoos seotud aldimiin-sidemega – laguneb üsna kiiresti ning HbA1c muutub tagasi HbA0-ks ehk mitteglükeeritud hemoglobiiniks. HPLC puhul ei suudeta eraldada HbA1c ja HbA1c labiilset vormi.

Samuti mõjutab HPLC puhul HbA1c mõõtmist karbamüleeritud Hb, kuna karbamüleerimine ei muuda HbA0-i elektrilist laengut ning CHb ja HbA1c separatsioon ei ole täielik. Karbamüleerimine esineb ka normaalsetel indiviididel, kuid palju kõrgemal tasemel ureemilistel patsientidel.

## HbA1c analüüs kapillaarelektroforeesil ning lisaväärtused

Kapillaarelektroforees on instrument, mis pakub olulisi kliinilisi eeliseid glükeeritud hemoglobiini (HbA1c) määramiseks ning ka mitmeid lisaväärtusi.



HbA1c määramisel II tüüpi diabeedi seisukohalt otsime just sellist fraktsiooni, millel on glükoos stabiilselt ketoamiinsidemega seotud hemoglobiini  $\beta$ -ahela N-terminaalsesse ossa. Pea sama oluline on ka teiste Hb fraktsioonide kvantitatiivne hindamine, mida saab samuti kapillaarelektroforeesil teostada.

Kapillaarelektroforeesi kasutab laetud molekulide elektroforeetilist liikumist spetsiifilise pH-ga aluselises puhvris. Eraldamine toimub ka elektrolüütide pH ja elektroosmootse voolu järgi. Erinevate hemoglobiini fraktsioonide eraldamine viiakse läbi väikese siseläbimõõduga ränioksiidiga kaetud kapillaartorudes ettemääratud ja kindla temperatuuri ning pinge tingimustes.

Kapillaarelektroforeesi üks tugevustest seisneb selles, et suudab anda HbA1c täpse tulemuse ilma analüütiliste segajateta nagu näiteks labiiline HbA1c, karbamüleeritud hemoglobiin (cHb on suurenenud ureemilistel patsientidel), või ka kõige sagedamini esinevad hemoglobiinopaatid. See saavutatakse hemoglobiini modifikatsioonipiikide täielikul eraldamisel HbA1c ning HbA0 piikidest.

Enamgi veel, meetod on lineaarne laias üldhemoglobiini kontsentratsioonide vahemikus ning seetõttu ei mõjuta HbA1c mõõtmistulemusi ka aneemia.

Hemoglobiini patoloogilised muutused koguses või kvaliteedis, võivad mõjutada erütrotsüütide eluiga. Kõik füsiopatoloogilised seisundid, mis mõjutavad punaste vererakkude eluiga, võivad viia tulemuste vale interpretatsioonini, seega on need muutused arstile interpreteerimiseks ja raviplaaniks vajalikud, sest tavapärasel HbA1c väärtused ei ole sel juhul enam sobivad.

Keskmine RBC (erütrotsüütide) eluiga hematoloogiliselt normaalsete ning Hb modifikatsiooniga indiviididel:

Hb	RBC keskmine eluiga päevades
Hb A	120
Hb S	93
Hb E	Pole andmeid
Hb C	87
Hb D	115

Kvalitatiivsete hemoglobiinopaatiate (ehk hemoglobiini modifikatsioonide) korral erineb defektne hemoglobiin

normaalsest üksikute aminohapete asetuse poolest (kirjeldatud on üle 900 variandi, kuid 99% langevad nelja kategooriasse: S, C, E ja D). Tuginedes WHO-le on hemoglobiinopaatid ülemaailmselt enimlevinud autosoomsed retsessiivhaigused, mil ligikaudu 7% kogu populatsioonist on anormaalse hemoglobiini geeni kandjad. Esinemisagedus on suurem Aafrikas, Aasias ja Vahemeremaal, kuid viimastel aastatel on migratsiooni tõttu laialdasemalt levinud ka mujale.

Täpsemateks soovitusteks HbA1c erinevate referentsvahemike määramiseks on vaja rohkem uuringuid, kuid üldiselt peaks vähenenud punaste vererakkude elueaga olema seotud madalamad sihtväärtused. Teadmine patsientidele hemoglobiinopaatia kandmisest on oluline kapillaarelektroforeesi lisaväärtus pereplaneerimise ja geneetilise nõustamise seisukohalt.

Kvantitatiivsete hemoglobiinopaatiate alla kuuluvad persisteeriv HbF ja talasseemiad, mille korral on vähenenud kas alfa- või  $\beta$ -ahela sünteesimine.

Üldiselt asendatakse inimese organismis esimeste elukuude jooksul looteaegne hemoglobiin (HbF) HbA-ga, kuid teatud haiguste korral HbF tase tõuseb. Näiteks  $\beta$ -talasseemia, sirprakse aneemia, aneemia, leukeemia, kilpnäärme ületalitluse, insuliinõõltuva diabeedi, aga ka päritud kõrge HbF taseme ja raseduse korral. Kõrgenenud HbF tase mõjutab HbA1c mõõtmistulemusi immuun-, afiinsus- ja ioonvahetusmeetodite puhul.

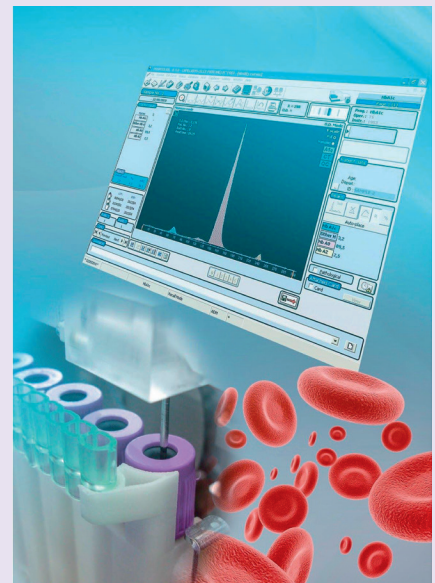
Rahvusvahelisele Talasseemia Föderatsioonile (*Thalassemia International Federation*) andmetele tuginedes, on 1,5% maailma elanikkonnast mõne talasseemia tüve kandjad. Kuigi talasseemia kerge vormiga patsiendid on tavaliselt asümptomaatilised, arvatakse, et see siiski mõjutab punaste vererakkude eluiga ning arstid peaksid arvestama sellega, et tavalised HbA1c väärtused ei pruugi neile patsientidele kohaldatavad olla. Talasseemiaga patsientidele puuduvad hetkel konkreetsed HbA1c väärtused. Lisaks eelmainitud põhjustele, on teadmine talasseemia olemasolust väga oluline ka fertiilses eas inimestele.

Kapillaarmetod on ainus rutiinne HbA1c meetod, mis on võimeline täpselt määrama HbA2 fraktsiooni, mis

tõttu saab seda kasutada  $\beta$ -talasseemia sõeluuringuks. Kuna rauapuudus võib HbA2 fraktsiooni vale vähenemise ja normaliseerumise põhjustada ning see läbi  $\beta$ -talasseemia uuringut raskendada, on seisundi diagnoosiks siiski vajalikud põhjalikumad uuringud.

\*\*\*

Kapillaarelektroforeesi abil on võimalik II tüüpi diabeedi ja hemoglobiinopaatiate ravis teha suuri edusamme. Laborite tagasiside ja hinnang mujal maailmas pärast meetodi kasutuselevõttu on olnud suurepärase.



JOONIS 5. Sebia foreesiprogramm.

### Sebia kui juhtiv kapillaarelektroforeesi tootja

Tootja aastast 1967. Enam kui 50 aastaga on Sebiast saanud maailma juhtiv kliinilise valguelektroforeesi seadmete ja reagentide pakkuja. Sebia edu püsib kolmel sambal: tehnoloogiliselt kõrge tase, arendus- ja teadustöö kasutamine tootmises ning kliendikesksus.

Valikus on kolm kapillaarelektroforeesi instrumenti, mille HbA1c mõõtetulemused on identsed, kuid instrumentide töömaht erinev.

Sebia kapillaarelektroforeesi abil HbA1c mõõtmine on kooskõlas IFCC-ga (*International Federation of Clinical Chemistry*). Lisaks on meetod läbinud NGSP-i (*National Glycohaemoglobin Standardisation Program*) sertifitseerimise. 