Archive of SID

The Journal of Qazvin Univ. of Med. Sci.
Vol. 10, No. 3, Autumn 2006

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
سال دهم، شماره ۳ (پی‌درپی ۴۰)، پاییز ۱۳۸۵

مقایسه آزمون فروکتوزامین با هموگلوبین گلیکوزیله در پایش دیابت

صفدر مهدوی فرد* دکتر بمانعلی جلالی**

Comparision of fructosamine test with glycated hemoglobin in assessing diabetes

S Mahdavifard✡ B Jalali

دریافت : ۸۳/۹/۳۰ پذیرش : ۸۴/۹/۲۰

✸Abstract

Background: Optimal glycemic control is generally believed to be essential in patients with diabetes to minimize the long term complications associated with the disease. Measuring the level of glycated hemoglobin is usually performed to assess long term control while evaluation of short term control is achieved by determining the levels of plasma proteins or fructosamine. Regarding the shorter halflife of plasma proteins, it is believed that fructosamine test is more sensitive in responding to variations in glycemic condition.

Objective: To compare fructosamine and glycated hemoglobin tests in assessing glycemic control.

Methods: This method evaluation study carried out in Yazd center for diabetes in 2003. The study group consisted of 50 diabetic patients who were tested for plasma fructosmine and glycatd hemoglobim levels during two months. Two measurements for fructosamine level (once each month) and one assay for glycatd hemoglobim level (at the end of two months) were performed. Ion exchange chromatography and chlorometric method based on nitro blue tetrazulium reduction were used to measure glycated hemoglobin and fructosamine, respectively.

Findings: The results were indicative of a highly significant correlation between fructosamine and glycated hemoglobin ($r=0.94$; $p<0.001$). Variation coeifficent among series and days of fructosamine measurement were 2.7 and 5.1 with recovery rate of 96.8%.

Conclusion: Based on data found in our study and also in view of lower price, easy performance, high accuracy and precision, it seems that fructosanine to have a high capacity in assessing diabetes control.

Keywords: Fructosamine, Glycated Hemoglobin, Diabetes Mellitus

✸چکیده

زمینه : سنجش هموگلوبین گلیکوزیله جهت پایش بلندمدت و فروکتوزامین یا پروتئین‌های گلیکوزیله پلاسما جهت پایش کوتاه‌مدت قند خون استفاده می‌شود. به نظر می‌رسد آزمون فروکتوزامین به واسطه نیمه عمر کم‌تر پروتئین‌های پلاسما برای بررسی وضعیت قند خون حساس‌تر از آزمون هموگلوبین گلیکوزیله است..

هدف : مطالعه جهت مقایسه آزمون فروکتوزامین با هموگلوبین گلیکوزیله در پایش دیابت انجام شد.

مواد و روش‌ها : این مطالعه بررسی روش در سال ۱۳۸۲ بر روی ۵۰ فرد دیابتی مراجعه کننده به مرکز دیابت یزد انجام شد که به روش نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند. از بیماران انتخاب شده طی دو ماه نمونه خون تهیه شد. نمونه اول در انتهای ماه اول جهت سنجش فروکتوزآمین و نمونه دوم در انتهای ماه دوم جهت سنجش فروکتوزآمین و هموگلوبین گلیکوزیله گرفته شد. فروکتوزامین به روش رنگ‌سنجی بر اساس احیا ماده کروموژن نیتروبلو تترازولیوم و هموگلوبین گلیکوزیله بر اساس کروماتوگرافی تعویض یون اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون همبستگی پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها : ضریب همبستگی بالایی بین نتایج آزمون فروکتوزامین و هموگلوبین گلیکوزیله به دست آمد($r=0/94$ و$p<0/001$). ضریب تغییرات بین سری‌ها و روزهای سنجش فروکتوزامین به ترتیب ۲/۷ و ۵/۱ و میزان بازیابی روش سنجش فروکتوزامین ۹۶/۸ درصد محاسبه شد.

نتیجه‌گیری : با توجه به یافته‌ها به نظر می‌رسد آزمون فروکتوزامین قابلیت پایش دیابت را دارد.

کلیدواژه‌ها : فروکتوزامین، هموگلوبین گلیکوزیله، دیابت شیرین

* کارشناس ارشد بیوشیمی
** استادیار بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی یزد
آدرس مکاتبه : قزوین، الوند، خیابان شهید مطهری، کوچه شهید مژدهی، پلاک ۵۹، تلفن ۲۲۳۰۲۶۱- ۰۲۸۲
✡E.mail: Mahdavifard635@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

*** مقدمه :**

بیماری دیابت شایع‌ترین و قدیمی‌ترین بیماری متابولیک شناخته شده در انسان است. این بیماری که در اواخر قرن بیستم سیر فزاینده داشته است. یکی از مشکلات بهداشتی تمام کشورها اعم از پیشرفته و در حال توسعه به شمار می‌رود. مشکل اصلی افراد مبتلا عوارض حاصل از این بیماری است.[۱و۲] افزایش قند خون زمینه‌ساز تمام عوارض دیابت است، لذا بهترین راه برای جلوگیری از ایجاد یا کاهش بروز عوارض، پایش قند خون و نگه‌داری آن در دامنه طبیعی یا نزدیک به آن می‌باشد. جهت رسیدن به این هدف روش‌های پایش قند خون حائز اهمیت بوده و لازم است که ارزیابی شوند. به طور معمول سنجش هموگلوبین گلیکوزیله جهت پایش بلندمدت (۸ تا۱۰هفته گذشته) و فروکتوزامین یا پروتئین‌های گلیکوزیله پلاسما جهت پایش کوتاه‌مدت(۱تا ۳ هفته گذشته) قند خون استفاده می‌شود.[۳] هموگلوبین گلیکوزیله جهت پایش کوتاه‌مدت کارایی ندارد، چون حداقل سه هفته زمان لازم است تا قند خون هموگلوبین گلیکوزیله را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین در صورتی که فرد دیابتی مبتلا به کم‌خونی و سایر اختلال‌های هموگلوبینی باشد، سنجش هموگلوبین گلیکوزیله جهت پایش دیابت فاقد اعتبار می‌باشد.[۴] این اعتقاد وجود دارد که آزمون فروکتوزامین به واسطه نیمه عمر کم‌تر پروتئین‌های پلاسما سریع‌تر و حساس‌تر از هموگلوبین گلیکوزیله وضعیت قند خون را بررسی می‌کند و به ازای هر بار سنجش هموگلوبین گلیکوزیله حداقل سه بار آزمون فروکتوزامین می‌توان انجام داد که این امر به پایش دقیق‌تر قند خون منجر می‌شود. این مسأله در دیابت حاملگی و رژیم درمانی حایز اهمیت است.[۵و۶و۷] با توجه به مطالب فوق این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه آزمون فروکتوزامین با هموگلوبین گلیکوزیله در پایش دیابت انجام شد.

*** مواد و روش‌ها :**

این مطالعه بررسی روش در سال ۱۳۸۲ در مرکز دیابت یزد انجام شد. ۵۰ فرد دیابتی مراجعه کننده به این مرکز که تحت درمان ویتامین ث و مبتلا به بیماری‌های مزمن کبد و کلیه نبودند، به روش نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند(موارد ذکر شده به کاهش اعتبار آزمون فروکتوزامین منجر می‌شود).[۸]

ملاک دیابتی بودن این افراد داشتن دو مورد قند ناشتای بالای ۱۲۶ یا یک مورد قند دو ساعت بعد از صرف غذا بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. تهیه نمونه خون از بیماران در اول صبح ناشتا و طی دو ماه انجام شد. از نمونه خون تهیه شده در انتهای ماه اول سرم جداسازی شد و مورد سنجش فروکتوزامین قرار گرفت. از نمونه خون تهیه شده در انتهای ماه دوم علاوه بر سرم جهت سنجش فروکتوزامین، گلبول‌های قرمز نیز جداسازی و درصد هموگلوبین گلیکوزیله در آن تعیین شد. در این مطالعه هموگلوبین گلیکوزیله (Hb A1c) به روش کروماتوگرافی تعویض یون سنجش شد. کیت سنجش هموگلوبین گلیکوزیله از شرکت میلان (ایتالیایی) خریداری شد. در این کیت جهت حذف اثر تداخلی شیف بازهای ناپایدار از یون‌های بورات استفاده شد. ضریب تغییرات سنجش هموگلوبین گلیکوزیله توسط این کیت برابر ۴ درصد و دامنه طبیعی آن برابر ۵ تا ۸ درصد است.

فروکتوزامین به روش رنگ‌سنجی بر اساس احیای ماده کروموژن نیتروبلوتترازولیوم اندازه‌گیری شد. اصول واکنش از این قرار است که فروکتوزامین در PH برابر ۱۰/۳۵ تبدیل به امینول می‌شود و این ماده با دادن یک الکترون به ترازولیوم به آنیون امینول تبدیل می‌شود. این ترکیب هم با دادن یک الکترون دیگر به گلوکوزون تبدیل می‌شود. ترازولیوم با گرفتن یک و دو الکترون به ترتیب کمپلکس رنگی منو و دی‌فرمازون را ایجاد می‌کند. شدت رنگ متناسب با

www.SID.ir

Archive of SID

میزان فروکتوزامین است. مواد شیمیایی مورد نیاز برای اندازه‌گیری فروکتوزامین شامل کربنات سدیم، نیتروبلو تترازولیوم- تریتون ایکس ۱۰۰ از شرکت مرک و دی‌هیدروکسی استون دیمر از شرکت سیگمای آمریکا تهیه شد.

برای اندازه‌گیری فروکتوزامین به لوله‌های حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سرم بیمار (محلول استاندارد یا آب مقطر به عنوان شاهد)، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر بی‌کربنات ۰/۱ مولار(pH=۱۰/۳۵) حاوی ۲۵۰ میکرومولار نیتروبلوتترازولیوم اضافه و پس از مخلوط نمودن، تمام لوله‌ها در بن‌ماری ۳۷ درجه انکوبه شدند. جذب نوری لوله استاندارد پس از ۱۵ دقیقه و جذب لوله‌های مربوط به سرم بیمار در دو زمان ۱۰ و ۱۵ دقیقه علیه شاهد و در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. از آن جا که مواد مداخله‌گر سرم در این روش در ۱۰ دقیقه نخست واکنش می‌دهند، ولی واکنش فروکتوزامین در فاصله ۱۰ تا ۱۵ دقیقه انجام می‌شود،[۷و۸] اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها در دو مرحله جهت حذف رنگ حاصل از مواد مداخله‌گر بوده و بدین ترتیب اختلاف جذب در دو مرحله فوق تنها مربوط به فروکتوزامین است که در این روش محاسبه و برای تعیین غلظت این ترکیب مورد استفاده قرار گرفت. غلظت فروکتوزامین با توجه به جذب مؤثر نمونه‌ها و استاندارد و با استفاده از رابطه کلی فوتومتری محاسبه شد. دامنه طبیعی فروکتوزامین ۱۸۰ تا ۲۸۰ میکرومول بر متر بوده و محلول استاندارد مورد استفاده در این روش با غلظت ۲۰۰ میکرومولار تهیه شده بود.

جهت تعیین دقت بین سری‌ها، غلظت فروکتوزامین در یک نمونه ۱۰ بار تعیین و از طریق محاسبه ضریب تغییرات میزان آن تعیین شد. جهت دقت بین روزها ۸ روز متوالی در یک نمونه فروکتوزامین سنجش و از طریق محاسبه ضریب تغییرات میزان آن تعیین شد.

جهت تعیین صحت، ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌ای که غلظت فروکتوزامین در آن ۱۲۵ میکرومول بر لیتر بود به میزان هم حجم از استاندارد ۱۰۰۰ میکرومولار اضافه شد. غلظت مورد انتظار برابر ۵۶۲/۵ میکرومول بر لیتر محاسبه شد. جهت تعیین غلظت حاصل از طریق روش رنگ‌سنجی میزان فروکتوزامین در نمونه سه بار تعین شد و میانگین آن ۵۴۵ به‌دست آمد. میزان صحت از طریق محاسبه درصد بازیابی تعیین شد.

$$\frac{\text{(غلظت حاصل)}}{\text{غلظت مورد انتظار}} \times ۱۰۰$$

جهت تعیین حساسیت، از استاندارد ۱۰۰۰ میکرومول بر لیتر رقت ۱/۱۰۰ و ۱/۲۰۰ تهیه شد که غلظت فروکتوزامین در آنها ۱۰ و ۵ میکرومول بر لیتر بود.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و به وسیله آزمون همبستگی پیرسون تجزیه و تحلیل شدند.

*** یافته‌ها :**

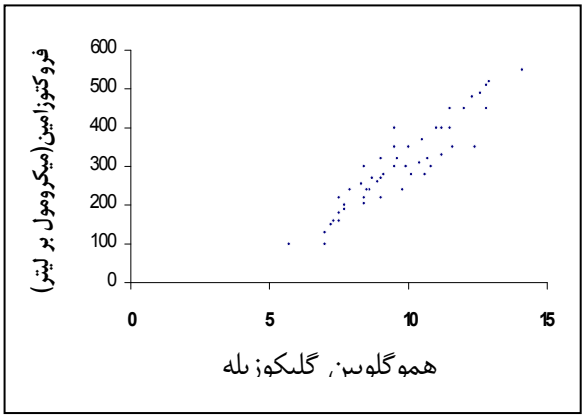
از ۵۰ بیمار دیابتی مورد مطالعه، ۲۹ نفر (۵۸ درصد) مرد و ۲۱ نفر (۴۲ درصد) زن بودند. میانگین بیش‌ترین میزان هموگلوبین گلیکوزیله و فروکتوزامین به ترتیب ۵±۹/۷ درصد و ۲۵±۳۰۳/۶ میکرومول بر لیتر بود. ضریب تغییرات برای روش فروکتوزامین (دقت) بین سری‌ها و روزها به ترتیب ۲/۷ و ۵/۱ درصد ومیزان بازیابی(صحت) این روش برابر ۹۶/۸ درصد به دست آمد.

بین میزان فروکتوزامین و درصد هموگلوبین گلیکوزیله همبستگی بالایی به دست آمد (r=۰/۹۴ و p<۰/۰۰۱) (نمودار شماره ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

نمودار ۱- رابطه فروکتوزامین و هموگلوبین گلیکوزیله



* بحث و نتیجه‌گیری :

این مطالعه نشان داد که آزمون فروکتوزامین مانند هموگلوبین گلیکوزیله قابلیت پایش دیابت را دارد. در این مطالعه بین فروکتوزامین و هموگلوبین گلیکوزیله ضریب همبستگی بالایی به دست آمد که بیان‌گر قابلیت بالای آزمون فروکتوزامین جهت پایش دیابت در مقایسه با هموگلوبین گلیکوزیله است. یافته‌های حاضر با سایر مطالعه‌ها در این زمینه همخوانی دارد.[۲و۹و۱۰و۱۱] ضریب همبستگی به دست آمده در این مطالعه با مطالعه‌های دیگران تفاوت مختصری داشت که می‌تواند به دلیل تفاوت در دفعات نمونه‌گیری فروکتوزامین باشد.

اگرچه برخی از مطالعه‌ها نشان داده است که سنجش فروکتوزامین نمی‌تواند جایگزینی برای هموگلوبین گلیکوزیله جهت پایش دیابت باشد،[۱۳] ولی نتایج این مطالعه و سایر مطالعه‌ها[۱۱و۱۲و۱۴و۱۵] نشان می‌دهد که مشکل اصلی فروکتوزامین (تداخل ترکیبات احیاءکننده موجود در سرم) قابل اصلاح بوده و با حل این مشکل این روش با توجه به توانایی ارزیابی میان مدت، روش مناسبی برای پایش دیابت است. برای حذف تأثیر ترکیبات مداخله‌گر در این مطالعه از تعیین جذب در دو مرحله استفاده شد. این کار در عمل آسان بوده و در عین حال تأثیر قابل توجهی دارد. از جمله نقاط ضعف هموگلوبین گلیکوزیله پرهزینه بودن روش اندازه‌گیری و نیز ناتوانی در نشان دادن وضعیت کنترل دیابت در میان مدت است.[۴] نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که با اعمال تغییرات مختصر و بدون ایجاد مشکلات عملی و افزایش هزینه، قابلیت آزمون فروکتوزامین برای ارزیابی دیابت در میان مدت را می‌توان بهبود بخشید.

در مجموع نتیجه‌گیری می‌شود که علی‌رغم ناپایداری محلول‌ها و تأثیر مواد مداخله کننده در واکنش، با توجه به سرعت بالا، هزینه نسبتاً پایین و نیز امکان بهبود بخشیدن به قابلیت‌های علمی، می‌توان از آزمون فروکتوزامین برای پایش دیابت استفاده نمود.

* مراجع :

۱. افخمی اردکانی م، وحیدی س، وحیدی ع و همکاران. بررسی شاخص‌های اپیدمیولوژیک دیابت بزرگسالان یزد. مجله دانشگاه علوم پزشکی یزد، بهار ۱۳۸۰، ۹، ۱، ۲۲

2. Glastras SJ, Mohsin F, Donaghue KC. Complications of diabetes mellitus in childhood. Pediatr Clin North Am 2005; 52(6): 1735-53

3. Reda C. HbA1c and serum fructosamine as markers of chronic glycemic state in type 2 diabete dialysis patients. BMJ 2001; 4:21-5

4. ADA. Test of glycemia in diabetes. Diabete Care 2000; 25: 597-9

5. Brein JE, Brooke LM. Determination of reference value for a novel ketoamine-specific fructosamine assay of assessment of diabete glycemic control. Diabete Thechnol Ther 1999; 4: 47-55

6. Prior TW. Sensivity of serum fructosamine in short term glycemic ontrol . Ann Clin Lab Sci 1989 19 (2): 107-13

7. Johnson R. Fructosamine assay. Clin Chem Acta 1982; 127: 87-95

8. Chung HF, H Lee. Affects of NBT concentration on fructosamine assay for quantitating of glycated proteins. Chemical Chemistry 1988; 31: 2113-4

www.SID.ir

Archive of SID

۹. امینی م، یونسی ا، آنی م. مقایسه فروکتوزامین با هموگلوبین گلیکوزیله در افراد دیابتی نوع دو. مجله ایرانی غدد و متابولیسم، ۱۳۷۹، ۲، ۱، ۴-۱۲۳

10. Kruse M.Significance of serum fructosamine in the metabolic control of children and aldolescent with diabete mellitus type 1. Monats Scher 1989; 135(40): 200-1

11. Baker JR, Metcalf DA, Johnson R. Use of protein based standards automated colorometric determination of fructosamine in serum. Clin Chem 1983; 31(9): 1550-4

۱۲. یونسی ا. بررسی فروکتوزامین به عنوان معیار ارزیابی میان مدت پایش دیابت و رابطه آن با یک سری از پارامترهای بیوشیمیایی خون. پایان‌نامه جهت اخذ دکترای حرفه‌ای علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۱۳۷۲

13. Malik M, Gill GV, Pugh RN, Bakir A, Hossain M. Can plasma fructosamine substitute for glycated hemoglobin estimation in the assessment of diabetic control. Trop Doct 2000; 30(2): 74-6

14. Lim SY, Jhoo YM, Lee SS, Lee MH, Chung ES, Lee SJ. The clinical Usefulness of serum fructosamine an HbAic in patients with NIDDM. Korean J Intern Med 1989; 4(2): 155-9

15. Cohen MP. Perspective: measurement of circulating glycated proteins to monitor intermediate-term changes in glycemic control. Eur J clin chem clin Biochem. 1992; 30(12): 851-9

www.SID.ir