پنجمین همایش ملی توسعه علوم فناوریهای نوین در گیاهان دارویی، شیمی و زیست شناسی ایران
5th National Conference on Modern Research in Medicinal plants, chemistry and biology of Iran
www.dpconf.ir

# بررسی تاثیر تغییر شاخص های اریتروسیتی براندازه گیری سطح HbA1Cدر بیماران سالم و دیابتیک

۱- سمیرا کاشانی ۲- محمد طاهر حجتی

۱-دکترای هماتولوژی ،استادگروه علوم آزمایشگاهی،دانشکده بهداشت ،دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۲-دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه پیام نور واحدتفت

Email: s.kashani2020@yahoo.com
Email: mthhematology@gmail.com

## چکیده

بیان مسئله:

دیابت ، بیماری مزمنی است که جنبه های مختلف زندگی فردی و اجتماعی بیماران را تحت تاثیر خود قرار می دهد. "کمیته بین المللی خبرگان " و "انجمن دیابت آمریکا" برای اولین بار تست HbA1C را به عنوان یکی از ملاک های تشخیصی دیابت ملیتوس ذکر کردند و بیان کرد که غلظت های برابر یا بیشتر از ۶/۵ درصد یکی از ملاک های تشخیص قطعی بیماری با شد. از آنجایی که سطوح این مولکول بستگی به میزان ساخت هموگلوبین و عمر RBC دارد، لذا که هر عاملی که باعث کاهش نیمه عمر RBC ها در گردش خون گردد می تواند با تغییرات کاذب HbA1C در پلاسما مرتبط باشد.

## ۱. مقدمه

هموگلوبین A1C به لحاظ شیمیایی عبارت ست از βN-1-deoxyfructosyl-hemoglobin که محصول واکنش غیر آنزیمی گلیکوزیلاسون اسید آمینه والین انتهایی زنجیره β مولکول هموگلوبین می باشد. هر اندازه غلظت گلوکز پلاسما و مدت زمان مواجهه آن با هموگلوبین بیشتر باشد، درصد بیشتری از هموگلوبین گلیکوزیله شده که تا پایان عمر RBC در آن باقی می ماند، لذا قادر به ارزیابی میزان قند خون بیمار در دو تا سه ماهه گذشته می باشد (۵). این مولکول اولین بار در سال ۱۹۵۸ با روش کروماتوگرافی از سایر هموگلوبین ها جدا شد (۶). ده سال بعد دکتر رهبر استاد ایمونولوژی دانشگاه تهران برای اولین بار در دنیا ثابت کرد که مقادیر آن در جریان بیماری دیابت افزایش می یابد (۷).

از آنجایی که سطوح این مولکول بستگی به میزان ساخت هموگلوبین و عمر RBC دارد، لذا فاکتور های تاثیر گذار بر این عوامل ممکن است که بر ساخت و شکل گیری آن و در نتیجه بر سطح پلاسمایی HbA1C تاثیر گذار باشند. در مطالعات متعددی به این مساله اشاره شد که هر عاملی که باعث کاهش نیمه عمر RBC ها در گردش خون گردد می تواند با کاهش HbA1C در پلاسما مرتبط باشد (۱۰-۸). لذا ما در این مطالعه بر آنیم تا با بررسی و مقایسه سطوح HbA1C در افراد دیابتی و غیر دیابتی، به نقش و ارتباط مقادیر مختلف شاخص های مربوط به گلبول های قرمز در این بیماران بپردازیم.

## ۲. ارسال مقالات کامل

دیابت ملیتوس (Diabetes mellitus)

تعریف

دیابت یک اختلال متابولیک چند عاملی، مزمن و پیشرونده است که با هیپرگلیسمی مزمن به دلیل نقص در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین مشخص می شود. هیپرگلیسمی مداوم با آسیب طولانی مدت، اختلال عملکرد، و نارسایی اندام های مختلف به ویژه چشم ها، کلیه ها، اعصاب، قلب و عروق خونی همراه است (۱).

طبقه بندی های دیابت

دیابت به سه نوع عمده طبقه بندی می شود: دیابت نوع ۱، دیابت نوع ۲ ودیابت بارداری (GDM).

دیابت نوع ۱ معمولاً کودکان و افراد در سنین زیر سی سال را تحت تأثیر قرار می دهد، اما می تواند افراد مسن را نیزتحت تاثیرقراردهد. اگر چه پاتوژنز به طور کامل شناخته نشده است، اما دیابت نوع ۱ با از دست دادن ترشح انسولین به دلیل حمله ایدیوپاتیک یا خود ایمنی تخریب سلولهای بتا ترشح کننده انسولین جزایر لانگرهانس در پانکراس مشخص می شود. از این رو عمدتاً با جایگزینی انسولین درمان می شود و درمان بزرگسالان بالای سی سال را تحت تاثیر قرار می دهد. (۲)

دیابت نوع ۲ شایع ترین دیابت در سراسر جهان است که عمدتا بزرگسالان بالای سی سال را تحت تاثیر قرار می دهد، اگرچه اخیراً، موارد بسیاری از دیابت نوع ۲ در بین کودکان چاق تشخیص داده شده است. دیابت نوع ۲ همچنین به عنوان دیابت شیرین غیر وابسته به انسولین (NIDDM)[1] یا دیابت دیررس شناخته می شود. با این حال، این اصطلاح دیگر استفاده نمی شود زیرا اگر بیماران براین اساس طبقه بندی شوند ممکن است باعث سردرگمی درمان به جای بیماری زایی شوند (۳).

دیابت بارداری(GDM)[2] زمانی اتفاق می افتد که عدم تحمل گلوکز برای اولین بار در طی بارداری مشاهده شود. پاتوژنز GDM هنوز تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است. با این وجود، مطالعات دخالت بی نظمی و نقص در مسیر سیگنال دهی انسولین را نشان داده است که منجر به کاهش جذب وانتقال گلوکز در ماهیچه های اسکلتی و سلول های چربی می شود (۳).

همه انواع دیابت از جمله دیابت نوع ۲ هنگام ناشتایی تشخیص داده می شوند. گلوکز پلاسما حداقل در دو نوبت بیش از Ymmol/L است. دیگر معیارهای تشخیصی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. معیار های تشخیصی دیابت بر اساس توصیه WHO

| معیارها |
| --- |

[1] non-insulin-dependent diabetes

[2] Gestational diabetes mellitus

| | |
|---|---|
| ۱ | هموگلوبین گلیکوزیله6.5 (٪ (HbA1c) ۴۸میلی مول در مول) همانطور که اخیرا توسط WHO توصیه شده است(۴). |
| ۲ | غلظت قند پلاسمایی ناشتا ≤۱۲۶ mg/dl (7.0 mmol/L). (ناشتایی به عدم دریافت کالری برای حداقل ۸ ساعت تعریف می شود ).به علاوه علائم کلاسیک دیابت، که شامل پلی اوری، پلی دیپسی و کاهش وزن غیرقابل توضیح است. |
| ۳ | غلظت گاه به گاه گلوکز پلاسما ≤۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر (۱۱,۱ میلی مول در لیتر) به همراه علائم کلاسیک دیابت .گاه به گاه به عنوان هر زمانی از روز بدون در نظر گرفتن زمان غذا تعریف می شود(گلوکز پلاسمای رندوم). |
| ۴ | غلظت قنددو ساعته پس از خوردن ≤ ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر (۱۱,۱ میلی مول در لیتر) طی آزمایش تحمل گلوکز خوراکی .(OGTT) آزمایش باید همانطور که توسط WHO توصیف شده است، با استفاده از بار گلوکز حاوی معادل ۷۵ گرم گلوکز بی آب محلول در آب انجام شود. |
| | اگر هیچ علامتی از هیپرگلیسمی وجود نداشته باشد، معیارهای ۲-۴ باید با تکرار آزمایش در یک روز دیگر تأیید شوند. |

اپیدمیولوژی

دیابت یکی از بزرگ ترین چالش های پیش روی سیستم های بهداشتی محسوب می شود (۴). بروزدیابت در جهان به ویژه در بین کودکان رو به افزایش است (۵). در گزارش سازمان بهداشت جهانی، تخمین زده شد که بروز دیابت در جهان به حدود ۴,۴ درصد افزایش می یابد که بر بیش از ۳۶۶۲۱۲ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ تأثیر می گذارد. (۶).

ترکیبی از عوامل خطر فوق الذکر در حال افزایش است و به اپیدمیولوژی جهانی هر دو نوع دیابت ۱ و نوع ۲ کمک می کند. دیابت نوع ۲ در حال حاضر یکی از شایع ترین بیماری ها در جهان است درجهان تعداد افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ هر روز در حال افزایش است شیوع جهانی دیابت در بین بزرگسالان در حال حاضر حدود ۳۸۲ میلیون تخمین زده می شود و درحدود ۱۷۵ میلیون تشخیص داده نشده که بزرگترین حادثه بین ۴۰ تا ۵۹ سالگی است. در سال ۲۰۳۵، انتظار می رود این تعداد به بیش از ۵۹۲ میلیون افزایش یابد. در سال ۲۰۱۴، تخمین زده می شود که دیابت ۴۲۲ میلیون (۸,۵٪) از بیماران را تحت تأثیر جمعیت جهان قرار می دهد (۷).

پاتوفیزیولوژی

علیرغم حجم تحقیقاتی که در زمینه دیابت انجام شده است و تحقیقات در دهه های گذشته، پاتوژنز دیابت نوع ۱ به طور کامل شناخته نشده است، اما تصور می شود که از عوامل متعددی نشات می گیردکه شامل ناهنجاری های ژنتیکی و/یا عوامل محیطی، که به یا از دست دادن ترشح انسولین یا کاهش عملکرد انسولین منجر می شود. پاتوفیزیولوژی دیابت نوع ۲ به سادگی با مقاومت به انسولین، اختلال در تولید گلوکز کبدی تنظیم و کاهش عملکرد سلول های β منجر به شکست از سلول

های β مشخص می شود (۸). بنابراین اعتقاد بر این است که کاهش اولیه در ترشح انسولین باعث ناهنجاری های ژنتیکی و سایر عوامل خطر دخیل در بیماران دیابت نوع ۲می گردد، و منجر به واکنش سلولهای بتا به هیپرگلیسمی یا واکنش کمتر موثر به کاهش پاسخ انسولین بیولوژیکی در بافت های هدف می شوند کاهش پاسخ بیولوژیکی انسولین (مقاومت به انسولین) رخ می دهد زیرا انسولین به دلیل نقص در انسولین قادر به اتصال به گیرنده خود نیست محل های اتصال گیرنده انسولین یا اختلال در سیگنال انسولین مسیر انتقال غلبه بر مقاومت به انسولین نیاز به سلول های β پانکراس برای افزایش مقدار انسولین ترشح شده، یک حالت هیپرانسولینمی نامیده می شود. زیرا گلوکز درون زا را تسریع می کند خروجی به طور همزمان با هیپرانسولینمی رخ می دهد، حداقل در اوایل و در مراحل اواسط بیماری، مقاومت به انسولین در سلول های کبدی تبدیل می شودمحرک اصلی هیپرگلیسمی در دیابت نوع ۲انتشار پیش التهابی سیتوکین های مشتق از بافت چربی و سطح بالاهمچنین نشان داده شده است که اسیدهای چرب آزاد در ایجاد مقاومت به انسولین در کبدو عضلات اسکلتی و سلول های چربی نقش دارند (۹).

عوامل خطر

عوامل خطر متعددی همراه با توسعه بوده است در دیابت نوع ۲ عوامل ژنتیکی در برخی اقوام، خانواده سابقه دیابت و افزایش سن جمعیت نمونه هایی از این موارد هستند عوامل خطر غیر قابل تغییر با این حال، عوامل سبک زندگی مرتبط بارژیم غذایی ناسالم، عدم تحرک بدنی و سیگار کشیدن معمولا منجر به اضافه وزن، دیس لیپیدمی، فشار خون بالا و اختلال گلوکزتحمل

(IGT) شایع ترین عوامل خطر برای تشدید اپیدمیولوژی دیابت است (۱۰). عوامل محیطی مانند قرار گرفتن در معرض آرسنیک و جیوه، شرایط فیزیکی زندگی، سطح استرس، شغل اعتقاد بر این است که فشارها و وضعیت اقتصادی–اجتماعی پایین نیز در این امر توسعه دیابت نقش دارند. این واقعیت که افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ می توانند برای سالیان متمادی تشخیص داده نشده و یا در درازمدت از آن بی اطلاع باشند.آسیب ناشی از این بیماری نیازمند غربالگری توسط سیستم های معیارهای سلامت می باشد.

تظاهرات بالینی و عوارض

تظاهرات بالینی در بیماران دیابتی در هر دو نوع دیابت نوع ۱ و ۲ مشابه است اما شدت علائم بالینی متفاوت است.علائم اصلی شامل پلی دیپسی (تشنگی مفرط و طولانی مدت)،پلی فاژی (گرسنگی بیش از حد) و پلی اوری (ادرار بیش از حد)،کاهش وزن، گرفتگی عضلات، تاری دید،یبوست و خستگی می باشد. ماهیت پیشرونده دیابت در طول زمان با دو نوع عوارض طولانی مدت دیابت همراه است: ماکروواسکولار و میکروواسکولار. دومی معمولاً زودتر رخ می دهد وممکن است شامل رتینوپاتی، نفروپاتی و نوروپاتی محیطی باشد. دراولی ممکن است منجر به بیماری عروق کرونر قلب، سکته مغزی، عروق محیطی بیماری و آسیب یا از دست دادن بینایی، اندام ها و کلیه شود (۱).

مدیریت دیابت

مدیریت بیماران دیابتی بیش از ۱۰ درصداز بودجه سالانه NHS که بیش از نیمی از آن از بیماران عوارض جدی دیابت حمایت می کند رامصرف می کند . دیابت در حال گسترش جمعیت در کشوری مانند بریتانیا تأثیر زیادی بر هزینه های NHS خواهد داشت مگر اینکه هزینه درمان به میزان قابل توجهی کاهش یابد، که می تواند تاثیرات مثبت بر مراقبت از بیمار داشته باشد (۱۱).

در دستورالعمل ملی در روال عمل بالینی با جذب فناوری ها و تجویز دارو (۱۲)، استفاده بهتر از داروهای ضد قند خون و بهبود کنترل گلیسمی تا سطح HbA1c توصیه شده است. برای کنترل قند خون هدف اصلی مراقبت از بهبود کیفیت زندگی افراد دیابتی و نیز افزایش امید به زندگی در آنها می باشد. دستیابی به چنین نتیجه ای به تامین سلامت مکمل و یکپارچه جامع، و مراقبت اجتماعی در هر دو محیط اولیه و ثانویه از طریق متخصصین دیابت بستگی دارد (۱۳).

دیابت یک بیماری پیچیده ای است که مدیریت آن به پیشگیری، تشخیص زودهنگام و مدیریت عوارض و همچنین کنترل بهینه هیپرگلیسمی،فشار خون بالا، دیس لیپیدمی، چاقی و سایر عوامل خطر CVD نیاز دارد.مدیریت دیابت و عوارض مرتبط با آن عوامل خطر شامل تجویز داروهای مختلف دارویی و غیردارویی است این روش ها علاوه بر غربالگری منظم برای پیشگیری عوارض طولانی مدت (۱۴) برای اجرای چنین اقداماتی،علاوه بر این، اولویت اصلی آموزش و توانمندسازی بیماران (۱۵) ارائه شده توسط تیم متخصص چند رشته ای می باشد (۱۶).

در سیستم های بهداشتی مدرن، معمولاً مراقبت از دیابت در مراقبت های اولیه ارائه شده از طریق کلینیک های تخصصی دیابت انجام می شود ،اماموارد‌پیچیده درمراکزتخصصی دیابت درمان می شوند مراقبت های ثانویه که در آن اعضای متخصص دیابت چند رشته ای هستندطبق دستورالعمل ملی یا پروتکل های محلی سازگار شده در دسترس هستنداز یک راهنمای ملی یا الگوریتم شناخته شده مبتنی بر شواهد استفاده میگردد. تیم دیابت معمولاً توسط یک متخصص دیابت و در اکثر موارد شامل پرستاران متخصص دیابت، متخصصین تغذیه، متخصصین پا و سایر همکاران مانند چشم پزشکان، نفرولوژیست ها وداروسازان، هدایت می شود علاوه بر خدمات مراقبتی ارائه شده توسط خانواده پزشکان این باعث بهبود کارایی بالینی، ارتباطات ومراقبت بیمار محوری میگردد (۱۷).

مراقبت بیمار محور

آموزش ساختاری به افراد با دیابت نوع ۲ باید ارائه شود و ناقلان آن در زمان تشخیص از ساختاربرنامه آموزشی یک رویکرد مبتنی بر شواهد که توسط یک مربی آموزش دیده و متناسب با نیازهای فردی برای ارتقای خود مدیریتی است استفاده کنند. مشاوره در مورد نیازهای تغذیه ای باید توسط کارشناسان تغذیه و باید متناسب با نیازهای فرهنگی و توصیه های غذایی و بر اساس عادات غذایی سالم باشد. بیمارانی که به تازگی تشخیص داده شده اند باید سطح گلوکز پلاسما را به عنوان بخشی از خودآموزی روزانه کنترل کرده وبا کمک در تفسیر نتایج پشتیبانی از تعیین اهداف برای سطح HbA1c، سطح لیپید و فشار خون باید گزارش داده شود وسطح HbA1c باید حداقل هر شش ماه یکبار بررسی شود (۱۷).

کاربردهای بالینی HbA1c

بیش از ۲۲۰ میلیون نفر در سراسر جهان مبتلا به دیابت تشخیص داده شده‌اند، اگرچه احتمالاً تعداد واقعی مبتلایان به دیابت به دلیل شروع موذیانه دیابت نوع ۲ بیشتر است. بسیاری از افرادی که اختلال در تحمل گلوکز دارند، بیرون از جامعه تشخیص داده‌شده بیماران باقی می‌مانند. دیابت نوع ۲، ۹۰ تا ۹۵٪ از کل موارد دیابت را تشکیل می‌دهد؛ به‌علاوه، DM (۲T دیابت شیرین نوع دو) خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و سکته را افزایش می‌دهد، در واقع ۵۰٪ از افراد مبتلا به دیابت در اثر بیماری‌های قلبی عروقی فوت می‌کنند (۳۰).

HbA1cبه‌عنوان بهترین معیار تعیین گلایسمی در طی ۳ ماه گذشته پذیرفته شده است. روش‌های مختلفی برای بررسی گلایسمی وجود دارد [به‌عنوان مثال، سابقه علائم آشکار (تکرر ادرار، تشنگی زیاد و غیره)، سنجش گلوکز ادرار و گلوکز پلاسما به‌صورت تصادفی یا ناشتا]. بررسی گاه‌به‌گاه گلوکز خون، بیشترین استفاده را در بین این روش‌های ارزیابی دارد و می‌تواند به‌صورت منطقی منعکس‌کننده میانگین گلیسمی در دیابت نوع ۲ پایدار باشد، اما این روش، صرفاً معیاری صحیح از قند خون در آن لحظه است. قابل اطمینان‌ترین روش سنجش HbA1C که در آزمایشگاه‌های بالینی با کیفیت بالا انجام می‌شود، روش استانداردشده بر اساس برنامه ملی استانداردسازی گلیکوهموگلوبین (NGSP) است (۳۱).

اصلی‌ترین مزیت انجام آزمایش بر بالین بیمار، این واقعیت است که پزشکان می‌توانند فوراً در همان لحظه ویزیت بیمار از نتیجه آزمایش مطلع شوند. مزیت دیگر این است که انجام آزمایش بر بالین بیمار در محل‌هایی که دسترسی آسان به آزمایشگاه ندارند، به‌راحتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از معایب آزمایش بر بالین بیمار می‌توان به ضرورت نگهداری معرف‌ها در شرایط صحیح و احتمال کاهش کنترل کیفی در صورت انجام آزمایش توسط پرسنل فاقد آموزش‌های کافی اشاره کرد. نقطه ضعف دیگر که مخصوصاً در مورد آزمایش خانگیHbA1c توسط بیماران صدق می‌کند این واقعیت است که داده‌ها همیشه به‌طور دقیق و کامل وارد پرونده الکترونیکی پزشکی بیمار نمی‌شوند. بدون در نظر گرفتن این معایب، شواهدی وجود دارد که آزمایش بر بالین بیمار روشی مؤثر است (۳۲).

گلیکاسیون غیرآنزیمی در برابر دگلیکاسیون آنزیمی

بیشتر پروتئین‌ها (از جمله هموگلوبین) با قندها واکنش داده و بدون دخالت آنزیم‌ها ترکیبات کووالانسی را تشکیل می‌دهند. این فرآیند شیمیایی گلیکاسیون غیرآنزیمی نامیده می‌شود. تجمع حاصل از محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته، با پیشرفت عوارض دیابت همراه است (۳۳). دگلیکاسیون آنزیمی، فرآیند گلیکاسیون غیرآنزیمی را معکوس می‌کند و باعث ایجاد گروه‌های آمینوی آزاد می‌شود. دگلیکاسیون آنزیمی یک سیستم دفاعی نیرومند در برابر گلیکاسیون غیرآنزیمی در سلول‌های پستانداران است. این سیستم با استفاده از فروکتوزآمین- ۳- کیناز(FN) ۳(K)، ریشه فروکتوزلیزین بر روی پروتئین‌های گلیکه‌شده را فسفریله می‌کند و در نتیجه ترکیب را ناپایدار می‌سازد که در نهایت باعث تجزیه پروتئین‌های گلیکه‌شده می‌شود (۳۴). این

فرآیند دگلیکاسیون آنزیمی در اپیزودهای هایپرگلایسمی شدید در افراد مبتلا به دیابت با شکست مواجه می‌شود، زیرا گلیکاسیون غیرآنزیمی بدون توقف ادامه می‌یابد. در طولانی مدت، این مسئله پایداری ساختار پروتئین را تغییر می‌دهد و در نهایت منجر به اختلال عملکرد سلولی می‌شود (۳۵).

محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته(Advanced Glycation End products (AGEs ، به‌طور مستقیم و غیرمستقیم (از طریق گیرنده‌ها) باعث شکل‌گیری بیماری قلبی عروقی می‌شوند. آنها در قسمت‌های مختلف بدن انباشته می‌شوند و با گیرنده‌های محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته (RAGE) واکنش ایجاد می‌کنند و باعث القای استرس اکسیداتیو، افزایش التهاب و افزایش رسوب در ماتریکس خارج سلولی می‌شوند و در نتیجه روند مختل شدن عملکرد اندوتلیال را تسریع می‌کنندو منجر به تشکیل سریع‌تر پلاک و درنهایت آترواسکلروز در دیابت می‌شوند (۳۶). هموگلوبین گلیکه‌شده، ترکیبی حد واسط و برگشت‌پذیر است، اما پس از برخی بازآرایی‌های داخلی در این ترکیب، HbA1Cپایدار تشکیل می‌شود. چندین جایگاه گلیکاسیون در مولکول HbA وجود دارد؛ ریشه والین انتهای N زنجیرهb ، عمده‌ترین جایگاه گلیکاسیون است که ۶۰٪ گلوکز متصل‌شده را تشکیل می‌دهد. از سه نوعHbA ۱ یعنیa۱ HbA، HbA۱ bوHbA1C ، نوع HbA1C بیشترین گونه گلیکه‌شده است (۳۷).

چرا استانداردسازی اندازه‌گیری HbA1c ضرورت دارد؟

عدم استانداردسازی منجر به ایجاد تغییرات زیاد در نتایج (۴٪ تا ۱/۸٪) یک نمونه می‌شود و این امر مقایسه نتایج بیماران در آزمایشگاه‌ها را دشوار می‌سازد. این عدم تطابق همواره موجب بروز نگرانی در بین ارائه‌دهندگان مراقبت‌های سلامتی شده است؛ به خصوص در عصر حاضرکه مهاجرت‌های زیادی صورت می‌گیرد و مردم مسافت‌های طولانی را طی می‌کنند و نتیجه آزمایش قبلی خود را نیز با خود می‌برند؛ بنابراین، برخورداری از روش و واحد یکسان برای اندازه‌گیری HbA1C نیاز روز است (۳۸).

برای غلبه بر این مشکل، در سال ۱۹۹۵ فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی (IFCC)، توسعه استانداردسازی بین‌المللی یکپارچه برای HbA1c را بر عهده گرفت. برای کالیبراسیون روش مرجع، مخلوطی از HbA1c خالص و HbAo خالص ساخته شد. یک شبکه آزمایشگاهی نیز راه‌اندازی شد که از دو روش مرجع استفاده می‌کرد و کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا را با طیف‌سنجی جرمی یا الکتروفورز کاپیلاری ادغام کرده و از همان مخلوط به‌عنوان کالیبراتور استفاده می‌کرد، سپسIFCC ، HbA1cرا به‌عنوان هموگلوبینی تعریف کرد که به‌طور برگشت‌ناپذیر در یک یا هر دو والین انتهای N زنجیره‌های بتا گلیکه می‌شود (۳۹).

این تعریف همچنین هموگلوبینی را که علاوه بر این، در هریک از ریشه‌های لیزین زنجیره b گلیکه می‌شود را نیز در برمی‌گیرد. قبل از تعریفIFCC ، HbA1c به‌صورت یک پیک (peak) مشخص در HPLC تعریف شده بود که به‌وضوح چندان علمی به‌نظر نمی‌رسید. هموگلوبینی که فقط در یک جایگاه لیزین گلیکه شده است، در اندازه‌گیری HbA1c لحاظ نمی‌شود. از آنجا

که اندازه‌گیری IFCC بسیار اختصاصی است، فقط یک گونه مولکولی HbA1c رااندازه‌گیری می‌کند؛ بنابراین، اجزای غیر HbA1cدر نتایج نهایی گنجانده نشده‌اند؛ در نتیجه مقادیرHbA1c به‌دست‌آمده با استفاده از روش IFCC به میزان ۵/۱ تا ۲ درصد، کمتر از نتایج NGSP ردیابی‌شده به DCCT و همچنین روش‌های مقایسه تعیین‌شده سوئدی و ژاپنی است (۴۰).

نگرانی‌هایی در مورد تأثیر این تغییر مقادیر در مراقبت از بیمار مطرح شده است چرا که می‌تواند منجر به کنترل کمتر از حد مطلوب گلایسمی در بیماران دیابتی شود. برای غلبه بر این مشکل، «معادله اصلی» برای فرمولیزه کردن ارتباط بین روش مرجع IFCC و هر سه روش مقایسه تعیین‌شده(DCMs) ، یعنی برنامه ملی استانداردسازی گلیکوهموگلوبین ایالات متحده (NGSP)، انجمن دیابت ژاپن/ انجمن شیمی بالینی ژاپن (JDS/ JSCC) و Mono-S در سوئد شکل گرفت .معادله اصلی امکان تبدیل نتایج IFCC به نتایج HbA1c مرسوم‌تر که می‌تواند در نتایج حاصل از DCCT و مطالعه آینده‌نگر دیابت انگلستان (UKPDS)قابل ردیابی باشد را فراهم می‌آورد (۴۱).

در سال ۲۰۰۴، کارگروه سنجش HbA1c با شرکت انجمن دیابت آمریکا، انجمن اروپایی مطالعه دیابت و فدراسیون بین‌المللی دیابت، با هدف هماهنگ‌سازی سیستم‌های گزارش‌دهی شکل گرفت. در این کارگروه اعضایی از ADA، IDF، EASD، NGSP و IFCC شرکت داشتند. در سال ۲۰۰۷، IFCCتوصیه کرد که نتایج HbA1c به‌جای درصدHbA1c به‌صورت mmol HbA1C/mol Hbنمایش داده شود. بیمارانی که برای خودنظارتی (self-monitoring) روزانه‌ی گلوکز از mmol/l یا mg/dlاستفاده می‌کنند، درک این مقادیر برایشان دشوار است چرا که پزشکانشان در هنگام صحبت با آنها مقادیر هموگلوبین

را به درصد بیان می‌کنند. برای از بین بردن این سردرگمی‌ها و کاهش این عدم تطابق‌ها، بیانیه اجماع (consensus statement)در مورد استانداردسازی جهانی اندازه‌گیری هموگلوبین A۱c در ماه می ۲۰۰۷ توسط ADA، EASD، IDFو IFCCبه تصویب رسید. مطابق این بیانیه، سیستم مرجع جدید IFCC تنها مرجع معتبر برای اجرای استانداردسازی اندازه‌گیری HbA1cاست. علاوه بر این، نتایج HbA1c در سراسر جهان باید با اســـــتفاده از معادله اصلیIFCC-NGSP ، مطابق واحدهای IFCC (Hb گلیکه‌شده برحسب mmol به Hbکل برحسب (mol و واحدهای منشأ گرفته از NGSP گزارش شوند؛ بنابراین بازه ۲۵ تا ۴۲ (mmol/mol) افراد غیردیابتی را نشان می‌دهد، همانگونه که بر اساس واحدهای منشأ گرفته از NGSPنیز به‌طور مشابه، بازه مربوط به افراد دیابتی ۵/۲ تا ۲/۴ درصد (HbA1c) است. همچنین معین شد که می‌توان از میانگین گلوکز متناظر با HbA1C نیز به عنوان تفسیری از نتایج HbA1cاستفاده نمود (۴۲).

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه اطلاعات ۷۰۶ بیمار از نظر متغیر های سن، جنس، وضعیت دیابت، وضعیت آنمی، و میزان HbA2 مورد بررسی قرار گرفتند ( جدول شماره ۱). میانگین سن در خانم ها 52.75±12.48 و در آقایان 53.1±11.9 سال بود که تفاوت معنی داری نداشتند (p=0.696). اما بررسی سن بیماران بر اساس وضعیت دیابت نشان داد که در افراد سالم میانگین سن 45.7±13.4، در افراد پره دیابتی 54.26±10.08، و در افراد دیابتی 56.97±9.79 بود.

مقایسه میانگین سن در گروه های ذکر شده نشان داد که بین افراد سالم و پره دیابتی تفاوت معنی داری وجود داشت و سن افراد پره دیابتی بالاتر از افراد سالم بود (p=0.001). همچنین مقایسه بین افراد سالم و دیابتی نیز به همین صورت معنی دار

بود (p=0.001). بررسی صورت گرفته مقایسه سن در افراد پره دیابتی و دیابتی نیز بصورت معنی داری نشان از بالاتر بودن سن افراد دیابتی داشت (p=0.036). بررسی ارتباط بین سن و وضعیت دیابت نیز معنی دار بود (0.001).

در مطالعه حاضر که باهدف بررسی تاثیر تغییر شاخص های اریتروسیتی براندازه گیری سطح HbA1C در بیماران سالم و دیابتی انجام شد نشان داد که گرچه میانگین سنی در خانم ها و آقایان تفاوت معنی داری نداشت (p=0.696)، اما مقایسه میانگین سنی بیماران بر اساس وضعیت دیابت نشان داد که میانگین سنی افراد پره دیابتی بالاتر از افراد سالم بود (p=0.001). همچنین میانگین سنی افراد دیابتی بالاتر از افراد پره دیابتی بود (p=0.036). بررسی ارتباط بین سن و وضعیت دیابت نیز معنی دار بود (0.001).

در مطالعه Masuch و همکاران (۶۵) نیز نشان داد که با افزایش سن میزان درصد HbA1c افزایش خواهد یافت و نیز رگرسیون خطی ارتباط مثبت HbA1c با سن را تایید کرد که این میزان مستقل از BMI بود. این نتایج همچنین با نتایج Huang و همکارانش نیز همخوانی داشت (۶۶).

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۷ منتشر شد بیان کرد که آستانه فعلی HbA1c (≤۶,۵٪ یا 48mmol/mol) حساسیت کم (۳۵,۶٪) و ویژگی بالا (۹۸,۹٪) را در تشخیص دیابت نشان داد(۳). کارایی تشخیصی HbA1c برای دیابت با افزایش سن کاهش می یابد و این اثر سنی با کاهش تعداد RBC با افزایش سن ایجاد می شود.بنابراین HbA1c به دلیل کاهش فیزیولوژیکی تعداد گلبول های قرمز در افراد مسن، برای تشخیص دیابت در افراد مسن می تواند نامناسب باشد.

علاوه بر سن، جنسیت نیز از عوامل مهم اثرگذار بر سطح HbA1c می باشند. نتایج ما نشان داد که میانگین HbA1c در خانم ها بالاتر از میانگین آن در مردان بود که این تفاوت به لحاظ آماری معنی دار بود (p=0.004).

با این وجود نتایج مطالعه دیگر نشان داد که سطح HbA1c برای مردان به طور قابل توجهی بالاتر از زنان در بین همه شرکت‌کنندگان بود. با این حال، بین سطوح HbA1c در مردان برای گروه سنی ۵۰ تا ۷۰ سال رابطه مثبت معنی‌داری وجود نداشت. ولی این سطح در مردان به طور قابل توجهی بالاتر از زنان برای گروه های سنی ۳۰–۳۹ و ۴۰–۴۹ سال بود (۲). همچنین در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که زنان HbA1c کمتری نسبت به مردان داشتند که گرچه این اختلاف معنادار نبود (۶۶)

احتمالا نتایج متناقض در نتایج ما به علت انطباق بیشتر میزان هموگلوبین در هر دو گروه جنسی بوده است .

در بررسی سطح هموگلوبین بر اساس وضعیت دیابت مشاهده شد که سطح هموگلوبین به ترتیب در افراد سالم ، پره دیابتی و دیابتی بالاتر بود که در این میان، میانگین سطح هموگلوبین در افراد سالم و دیابتی تفاوت معنی داری نشان داد (p=0.011). همچنین رابطه معنی دار منفی بین میزان هموگلوبین توتال و HbA1c دیده شد (p=-0.007).

نتایج حاصل از مطالعه ما با نتایج مطالعات گسترده ای همخوانی داشت و نشلن داد که شیوع کم خونی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بسیار بالا است (۶۶) (۶۷).

یکی از مکانیسم های احتمالی افزایش بروز کم خونی در بیماران مبتلا به دیابت می تواند به این دلیل باشد که، دیابت منجر به آسیب کلیه می شود و نارسایی کلیه ها می تواند باعث کم خونی شود. کلیه های سالم می دانند که بدن چه زمانی به گلبول های قرمز جدید نیاز دارد. آنها هورمونی به نام اریتروپویتین (EPO) ترشح می کنند که به مغز استخوان سیگنال می دهد تا تعداد گلبول قرمز بیشتری بسازد. کلیه های آسیب دیده EPO کافی برای پاسخگویی به نیازهای بدن ارسال نمی کنند. از سوی دیگر، افراد مبتلا به دیابت بیشتر در معرض رگ های خونی ملتهب و میکرو و ماکرو آنزیوپاتی ها هستند که میتواند طول عمر گلبول های قرمز را کاهش دهد. این می تواند مغز استخوان را از دریافت سیگنال مورد نیاز برای ساخت گلبول های قرمز بیشتر جلوگیری کند. بنابراین تحت کنترل نگه داشتن دیابت و بررسی های مناسب برای شناسایی کم خونی در بیماران دیابتی در مراحل اولیه می تواند از شدت عوارض ناشی از کم خونی در جمعیت دیابتی بکاهد. زنان دیابتی و سالمندان دیابتی آسیب پذیرترین گروه در برابر کم خونی هستند، بنابراین باید در تغذیه و مکمل های آنها دقت شود. پزشکان باید از خطر کم خونی در این بیماران آگاه باشند و در صورت نیاز به آنها مکمل های ویتامین و آهن تجویز کنند. برای حفظ سطح گلوکز در محدوده طبیعی، باید انطباق دارویی در جمعیت دیابتی حاصل شود. باید در زمان تشخیص خطر کم خونی و سایر عوارض دیابت به افراد دیابتی آگاهی داده شود.همچنین، مجموعه تغییرات مشاهده شده مشخصه کم خونی بیماری مزمن است که بر کیفیت زندگی بیماران دیابتی تأثیر می گذارد و با پیشرفت بیماری، توسعه و بیماری های همراه است که به طور قابل توجهی در افزایش خطر بیماری های قلبی عروقی نقش دارد (۶۸) (۶۹) (۷۰)

همچنین در مطالعات متعددی همبستگی منفی بین HbA1c و MCV، MCH و MCHC مشاهده شد. بنابراین، این مطالعه به این نتیجه رسید که پارامترهای RBC یک ابزار مناسب موازی با HbA1c و قند خون برای ارزیابی بیماران دیابتی است (۷۱) (۷۲) (۷۳).

در این مطالعه نشان داده شد که هیپرگلیسمی تأثیر قابل توجهی بر تعداد گلبول‌های قرمز و عملکرد فیزیولوژیکی آن دارد، که می‌تواند باعث ارزیابی بهتر شرایط بیماران دیابتی گردد.

رفرانس


۱. –Bardsley, Joan K, Want, et al. Overview of diabetes. Critical Care Nursing Quarterly. 2004;27(2):106 .۱۱۲

۲. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and . . ۲۲۹–treatment. The Lancet. 2001;358(9277):221 .

۳. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. J Clin Invest. 2005 و ۱۱۵(۳):۴۸۵–۴۹۱.

۴. Eaton S, Brent S, Shah N, et al. Expenditure on diabetes treatments.

۵. Gonzalez EL, Johansson S, Wallander MA, et al. Trends in the prevalence and incidence of diabetes in the UK: 1996-2005. J Epidemiol Community Health. 2009 و ۶۳(۴):۳۳۲–۳۳۶.

۶. Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 2004 و ۲۷(۵):۱۰۴۷–۱۰۵۳.

۷. Geneva, World Health Organization. Global report on diabetes. و ۲۰۱۶.

۸. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, et al. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. J Clin Invest. 1999 و ۱۰۴(۶):۷۸۷–۷۹۴.

۹. Surampudi PN, John-Kalarickal J, Fonseca VA. Emerging concepts in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. Mt Sinai J Med. 2009 و ۷۶(۳):۲۱۶–۲۲۶.

۱۰. Joshi SK, Shrestha S. Diabetes mellitus: a review of its associations with different environmental . . ۱۱۵–factors. Kathmandu Univ Med J (KUMJ). 2010;8(29):109

۱۱. Bagust A, Hopkinson PK, Maslove L, et al. The projected health care burden of Type 2 diabetes in the UK from 2000 to 2060. Diabetic Medicine. 2002 و ۱۹:۱–۵.

۱۲. s the evidence that NICE guidance has been ’Sheldon TA, Cullum N, Dawson D, et al. What notes, ’implemented? Results from a national evaluation using time series analysis, audit of patients and interviews. Bmj. 2004 و ۳۲۹(۷۴۷۳):۹۹۹.

۱۳. Lee SJ, Boscardin WJ, Stijacic Cenzer I, et al. The risks and benefits of implementing glycemic control guidelines in frail older adults with diabetes mellitus. J Am Geriatr Soc. 2011 و ۵۹(۴):۶۶۶–۶۷۲.

۱۴. London, National Collaborating Centre for Chronic Conditions. Type 2 diabetes: national clinical guideline for management in primary and secondary care (update). و ۲۰۰۸.

۱۵. ۲۰۰۹,. NHS Diabetes. NICE and Diabetes: A Summary of Relevant Guidelines.

۱۶. Choe HM, Bernstein SJ, Cooke D, et al. Using a multidisciplinary team and clinical redesign to improve blood pressure control in patients with diabetes. Qual Manag Health Care. 2008 و ۱۷(۳):۲۲۷–۲۳۳.

۱۷. ۱۹۹۸, Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet. و ۳۵۲(۹۱۳۱):۸۳۷–۸۵۳.

۱۸. ۱۹۹۸, Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet. و ۳۵۲(۹۱۳۱):۸۵۴–۸۶۵.

۱۹. London, National Collaborating Centre for Chronic Conditions. Type 2 diabetes: national clinical guideline for management in primary and secondary care (update). و ۲۰۰۸.

۲۰. Grootenhuis PA, Snoek FJ, Heine RJ, et al. Development of a type 2 diabetes symptom checklist: a measure of symptom severity. Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association. 1994 و ۱۱(۳):۲۵۳–۲۶۱.

۲۱. Rosenzweig JL, Weinger K, Poirier-Solomon L, et al. Use of a disease severity index for evaluation of healthcare costs and management of comorbidities of patients with diabetes mellitus. Am J Manag Care. 2002 و ۸(۱۱):۹۵۰–۹۵۸.

۲۲. Young BA, Lin E, Von Korff M, et al. Diabetes complications severity index and risk of mortality, hospitalization, and healthcare utilization. Am J Manag Care. 2008 و ۱۴(۱):۱۵–۲۳.

۲۳. Gnavi R, Picariello R, la Karaghiosoff L, et al. Determinants of quality in diabetes care process: The population-based Torino Study. Diabetes Care. 2009 و ۳۲(۱۱):۱۹۸۶–۱۹۹۲.

۲۴. Miedema K (2005) Standardization of HbA1c and Optimal Range of Monitoring. Scand J Clin Lab Invest 240:,. ۶۱-۷۲.

۲۵. Kobold U, Jeppsson JO, Dulffer T, Finke A, Hoetzel W, et al. (1997) Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. Clin Chem 43: 1944-1951.

۲۶. Koval D, Kašička V, Cottet H (2011) Analysis of glycated hemoglobin A1c by capillary electrophoresis and capillary isoelectric focusing. Anal Biochem 413(1): 8-15.

۲۷. Reynolds TM, Smellie WS, Twomey PJ (2006) Glycated haemoglobin (HbA1c) monitoring. BMJ 333(7568): 586-588.

۲۸. Xanthis A, Hatzitolios A, Koliakos G, Tatola V (2007) Advanced glycosylation end products and nutrition--a possible relation with diabetic atherosclerosis and how to prevent it. J Food Sci 72(8): R125-R129.

۲۹. Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek C, Lehrman M, et al. (1976) Correlation of glucose regulation and hemoglobin AIc in diabetes mellitus. N Engl J Med 295(8): 417-420.

۳۰. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, et al. (1999) Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart. Association Circulation 100(10): 1134-1146.

۳۱. Little RR (2003) Glycated hemoglobin standardization-National Glycohemoglobin ,.۱۱۹۱-۱۱۹۸ Standardization Program (NGSP) perspective. Clin Chem Lab Med 41(9):.

۳۲. Miller CD, Barnes CS, Phillips LS, Ziemer DC, Gallina DL, et al. (2003) Rapid A1c availability improves clinical decision-making in an urban primary care clinic. Diabetes Care 26(4): 1158-1163.

۳۳. Wu X, Monnier VM (2003) Enzymatic deglycation of proteins. Arch Biochem Biophys 419(1): 16-24.

۳۴. Depierre G, Van SE (2003) Fructosamine 3-kinase, an enzyme involved in protein deglycation. Biochemical Society transactions 31(6): 1354-1357.

۳۵. Szwergold BS, Howell SK, Beisswenger PJ (2005) Transglycation-a potential new mechanism for deglycation of Schiff's bases. Ann NY Acad Sci 1043: 845-864.

۳۶. Agati V, Schmidt AM, Ramasamy R (2007) Receptor for Advanced Glycation Endproducts ’Yan SF, D & (RAGE): a formidable force in the pathogenesis of the cardiovascular complications of diabetes aging. Curr Mol Med 7(8): 699-710.

۳۷. Peacock I (1984) Glycosylated haemoglobin: measurement and clinical use. J Clin ,.۸۴۱-۸۵۱ Pathol 37 (8):.

۳۸. Little RR, Wiedmeyer HM, JD England, AL Wilke, Rohlfing CL, et al. (1992) Interlaboratory standardization of measurements of glycohemoglobins. Clinical Chemistry 38(12): 2472-2478.

۳۹. Uwe Kobold, Jan Olof Jeppsson, Thomas Dülffer, Andreas Finke, Wieland Hoelzel, et al. (1997) Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. Clinical Chemistry 43(10): 1944-1951.

۴۰. Mosca A, Goodall I, Hoshino T, Jeppsson JO, John WG, et al. (2007) Global standardization of glycated hemoglobin measurement: the position of the IFCC Working Group. Clin Chem Lab Med 45(8): 1077-1080.

۴۱. Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, Miedema K, Barr JR (2004) IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. Clin Chem 50(1).

۴۲. Cas Weykamp (2013) HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. Ann Lab Med ,.۳۹۳-۴۰۰ 33(6):.

۴۳. Nathan DM, Turgeon H, Regan S (2007) Relationship between glycated haemoglobin levels and mean glucose levels over time. Diabetologia 50(11): 2239-2244.

۴۴. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, et al. (2002) Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes Care 25(2): 275-278.

۴۵. Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, et al. (2008) Translating the A1C assay into estimated average glucose values. Diab Care 31(8): 1473-1478.

۴۶. Huang ES1, Zhang Q, Gandra N, Chin MH, Meltzer DO, et al. (2008) The effect of comorbid illness and functional status on the expected benefits of intensive glucose control in older patients with type 2) diabetes: a decision analysis. Ann Intern Med 149(1):.

۴۷. A1c)., Melissa Conrad Stöppler (2016) HbA1c Test (Hemoglobin.

۴۸. Methods., Diazyme laboratories (2017) Innovations in clinical Diagnostics. Direct Enzymatic HbA1c.

۴۹. Pohanka, Miroslav (2009) Monoclonal and polyclonal antibodies production - preparation of potent biorecognition element. Journal of Applied Biomedicine (De Gruyter Open) 7(3): 115-121.

۵۰. Camargo JL, Gross JL (2004) Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method. J Clin Pathol 57(9): 346-349.

۵۱. Maurice Owen (2015) The glucose vs. HbA1c controversy. Canterbury Scientific, New Zealand.

۵۲. Liu L, Hood S, Wang Y, Bezverkov R, Dou C, et al. (2008) Direct enzymatic assay for %HbA1c in human whole blood samples. Clin Biochem 41(7-8): 576-583.

۵۳. Sridevi S, Vasu KS, Sampath S, Asokan S, Sood AK, et al. (2016) Optical detection of glucose and glycated hemoglobin using etched fiber Bragg gratings coated with functionalized reduced graphene oxide. J Biophotonics 9(7): 760-769.

۵۴. Molazemhosseini A, Magagnin L, Vena P, Liu CC (2016) Single- Use Disposable Electrochemical Label-Free Immunosensor for Detection of Glycated Hemoglobin (HbA1c) Using Differential Pulse Voltammetry (DPV). Sensors (Basel) 16(7): 1024.

۵۵. Ang L, Shaorui X, Hongyu D, Xiaochun W (2016) A New Electrochemical HbA1c Biosensor Based on Flow Injection and Screen Printed Electrode. Int J Electrochem. Sci 11: 3086-3094.

۵۶. *Saeed O, Mahmood S, Hamideh M (2016) Label-free detection of glycated haemoglobin in human blood using silicon-based photonic crystal nanocavity biosensor. Journal of Modern Optics 63(13): 1274-1279. .*

۵۷. Hsieh MM, Fitzhugh CD, Weitzel RP, Link ME, Coles WA, Zhao X, Rodgers GP, Powell JD, Tisdale JF. (2014 Jul 2). Nonmyeloablative HLA-Matched Sibling Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Severe Sickle Cell Phenotype. JAMA. و 312(1):48-56 .do,

۵۸. Steinberg, M. & Sebastiani, P. Genetic modifiers of sickle cell disease. Am. J. Hematol. 87, 795 –۸۰۳. 2012) https://doi.org/10.1002/ajh.23232).

۵۹. condition/alpha-thalassemia, National Library of Medicine. (2009) Alpha thalassemia. Retrieved from http://ghr.nlm.nih.gov/.

۶۰. http://ghr.nlm.nih.gov/gene/HBB, National Library of Medicine. (2009) HBB. Retrieved from.

۶۱. Chandrakasan S, Kamat D: An Overview of Hemoglobinopathies and the Interpretation of Newborn Screening Results. December 2013 Pediatric Annals, 42:12 و ۵۰۲.

۶۲. Wheeler E, Leong A, Liu CT, Hivert MF, Strawbridge RJ, Podmore C, Li M, Impact of common genetic determinants of Hemoglobin A1c on type 2 diabetes risk and diagnosis in ancestrally diverse populations: A transethnic genome-wide meta-analysis. PLoS Med. 20.

۶۳. David C. Klonoff, MD, FACP, FRCP (Edin), Fellow AIMBEFirst. Hemoglobinopathies and Hemoglobin A1c in Diabetes Mellitus Published March 22, 2019. https://doi.org/10.1177/1932296819841698.

۶۴. https://professional.diabetes.org/content-page/practice-guidelines-resources.

۶۵. Masuch A, Friedrich N, Roth J, Nauck M, Müller UA, Petersmann A. Preventing misdiagnosis of diabetes in the elderly: age-dependent HbA1c reference intervals derived from two population-based study cohorts. BMC endocrine disorders. 2019 و ۱۹(۱):۱۰-۱۰.

۶۶. Huang S-H, Huang P-J, Li J-Y, Su Y-D, Lu C-C, Shih C-L. Hemoglobin A1c Levels Associated with Age and Gender in Taiwanese Adults without Prior Diagnosis with Diabetes. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2021 و ۱۸(۷):۳۳۹۰.

۶۷. Taderegew MM, Gebremariam T, Tareke AA, Woldeamanuel GG. Anemia and its associated factors among type 2 diabetes mellitus patients attending debre berhan referral hospital, north-east Ethiopia: a cross-sectional study. Journal of blood medicine. 2020 و ۴:۱۱.

۶۸. **AlDallal SM, Jena N. Prevalence of anemia in type 2 diabetic patients. Journal of hematology. 2018 و ۷(۲):۵۷.**

۶۹. **Kwon E, Ahn C. Low hemoglobin concentration is associated with several diabetic profiles. The Korean journal of internal medicine. 2012 و ۲۷(۳):۲۷۳.**

۷۰. **Chung JO, Cho DH, Chung DJ, Chung MY. Associations between hemoglobin concentrations and the clinical characteristics of patients with type 2 diabetes. The Korean journal of internal medicine. 2012 و ۲۷(۳):۲۸۵.**

۷۱. *Bhutto AR, Abbasi A, Abro AH. Correlation of hemoglobin A1c with red cell width distribution and other parameters of red blood cells in type II diabetes mellitus. Cureus. 2019;11(8).*

۷۲. **Renuka P, Bag S. Hemorheological Indices and Glycated Hemoglobin in Type 2 Diabetes Mellitus. Biomedical and Pharmacology Journal. 2020 و ۱۳(۴):۹۰۲-۱۸۹۹.**

۷۳. **Alamri B, Bahabri A, Aldereihim A, Alabduljabbar M, Alsubaie M, Alnaqeb D, et al. Hyperglycemia effect on red blood cells indices. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019 و ۲۳(۵):۵۰-۲۱۳۹.**