Kommt der Aldiminform der glykosylierten Hämoglobine beim Diabetes mellitus eine diagnostische und/oder prognostische Wertigkeit zu?

G. Sachse, A. Schornstein, H. Laube, K. Federlin

III. Medizinische Universitäts-Klinik und Poliklinik, Gießen

Zusammenfassung:

Die vorliegende Studie untersucht die Bedeutung der labilen Aldiminform bei der Bestimmung glykosylierter Hämoglobine. Bei 50 Typ I (insulinbedürftigen) Diabetikern wurden engmaschige Blutzuckertagesprofile (nüchtern 8.30, 11.00, 12.30, 15.00, 17.00, 19.00, 20.00, 22.00 Uhr) erstellt. Am ersten und letzten Tag des stationären Aufenthaltes sowie 3 Wochen nach der Entlassung erfolgte die Bestimmung der HbA_{1a-c} -Werte. Bei 10 Patienten mit extrem labiler Stoffwechsellage bestimmten wir parallel zu den engmaschigen Blutzuckertagesprofilen sogenannte HbA_{1a-c} -Tagesprofile. Bei 94 Typ I-Diabetikern wurden sowohl HbA_{1a-c} -Werte als auch die labile Aldiminform und die Ketoaminform getrennt bestimmt. Wir sahen keine Korrelation zwischen mittlerer Schwankungsbreite im Blutzuckertagesprofil (MAGE) respektive HbA_{1a-c} -Werten, z.T. fast im Normbereich liegende HbA_{1a-c} -Werte bei extrem labiler Stoffwechsellage. Bei labiler Stoffwechsellage schwankten die HbA_{1a-c} -Werte im Tagesverlauf signifikant entsprechend den aktuellen Blutzuckerwerten. Die Aldiminform korrelierte signifikant zur MAGE- sowie zu bereits bestehender diabetischer Neuropathie bzw. Retinopathie.

Schlüsselwörter:

Diabetes mellitus – glykosylierte Hämoglobine – Aldiminform – Labilität der Stoffwechsellage – diabetische Spätkomplikationen

Summary:

To evaluate the importance of the labile aldimine fraction the following studies were done.

In 50 type-1-insulindependent diabetics we determined serial blood glucose profiles (fasted, 8.30 a.m., 11.00 a.m., 12.30 a.m., 3.00 p.m., 5.00 p.m., 7.00 p.m., 8.00 p.m., 10.00 p.m.). HbA_{1a-c} was determined on the first and the last day of the stationary stay and again 3 weeks after demission from the hospital. Furthermore we studied 10 type-1-diabetics with extremely labile carbohydrate metabolism. Again serial blood glucose profiles and in addition serial HbA_{1a-c} -profiles were determined.

In a third study we determined HbA_{1a-c} and the stabile ketoamin and the labile adlimine in 94 type 1-diabetics. There was no correlation between MAGE respectively HbA_{1a-c} in labile diabetics. HbA_{1a-c} -values changed significantly all over the day corresponding to actual blood glucose values. The labile aldimine fraction showed a significant correlation to the MAGE and furthermore to diabetic neuropathy and retinopathy.

Keywords:

Diabetes mellitus – glycosilated hemoglobins – aldiminfracion – lability of carbohydrate metabolism – diabetic late complications

Einleitung

Die Bestimmung der glykosylierten Hämoglobine (HbA_{1a-c}) soll Auskunft über die Güte der diabetischen Stoffwechsel-führung geben. HbA_{1a-c} hat wie normales Hämoglobin ein Molekulargewicht von 64000. Es besitzt die gleiche Aminosäuresequenz und liegt auch in der Tetramerform (Alpha-2 – Beta-2) vor. Nach der Reduktion von HbA_{1a-c} mit Natriumborhydrid ($NaBH_4$) erhält man eine Schiffsche Base, die an das n-terminale Ende der Beta-Kette gebunden ist (1). Dieses relativ instabile Aldimin lagert sich nach Amadori zum stabilen Ketoamin um (2). Bei der stabilen Verbindung am n-termina-

len Ende der Beta-Kette handelt es sich um eine 1-Amino-1-desoxyfructose (3, 4). In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, daß die stabile Ketoaminform der glykosylierten Hämoglobine die mittlere Blutzuckerhöhe der zurückliegenden 4–6 Wochen integriert (5–13). Im Jahre 1977 wurde erstmals darauf hingewiesen, daß in vivo bereits eine nur kurzzeitige Erhöhung der Blutglucosekonzentration einen Anstieg der glykosylierten Hämoglobine bewirke (14). Fernerhin konnte gezeigt werden, daß die Inkubation von Vollblut oder Erythrozytenhämolysat mit Glucose schon nach ca. 2 Std. zu einem Anstieg der HbA_{1a-c} -Konzentration führte (15, 16). Es ergab sich hieraus die Konsequenz, daß bei der

Beurteilung der HbA_{1a-c} -Konzentration als Kontrollparameter der diabetischen Stoffwechsellaage diese schnellen Schwankungen der instabilen Fraktion (Aldiminform) berücksichtigt werden müßten (17).

Die vorliegende klinische Studie stellt die Bedeutung dieser labilen Aldiminform zur Diskussion: ist der Aldiminanteil in der klinischen Routinediagnostik zu vernachlässigen, sollte er als „Störgröße“ meßtechnisch eliminiert werden, oder kommt ihm eine diagnostische und/oder prognostische Wertigkeit zu?

Methodik

Es wurden insgesamt 3 unterschiedliche Patientenkollektive untersucht.

Studie I

Zunächst untersuchten wir 50 Typ-1-Diabetiker während eines stationären Krankenhausaufenthaltes. Das Alter der Patienten betrug 17–59 (37 ± 21) Jahre, die Diabetesdauer 1–22 (11 ± 8) Jahre. Wir bestimmten täglich über 2 Wochen sog. engmaschige Blutzuckertagesprofile (nüchtern, 8.30, 11.00, 12.30, 15.00, 17.00, 19.00, 20.00, 22.00 Uhr) und errechneten aus den Einzelwerten sowohl die mittleren Blutzuckertageswerte (MBG) als auch die mittlere Schwankungsbreite im Blutzuckertagesprofil (MAGE). HbA_{1a-c} (Fa. BIO-RAD) wurde mittels Mikrosäulenchromatographie bei sämtlichen Patienten am Aufnahmetag, zur Entlassung und nochmals 3 Wochen nach der Entlassung bestimmt (Zusammenfassung der Daten in Tab. 1).

Studie II

In dieser Studie untersuchten wir 10 Typ-1-Diabetiker mit extrem labiler Stoffwechsellaage. Das Alter dieses Kollektivs betrug 16–31 (26 ± 7) Jahre, die Diabetesdauer 4–11 (7 ± 3) Jahre. Als Kontrollgruppe dienten Typ-2-Diabetiker mit stabiler Stoffwechsellaage. Bei diesen Patienten bestimmten wir wiederum engmaschige Blutzuckertagesprofile und parallel dazu sog. HbA_{1a-c} -Tagesprofile (Zusammenfassung der Daten in Tab. 2).

Studie III

Sie wurde unter ambulanten Bedingungen durchgeführt. Bei 94 Typ-1-Diabetikern im Alter von 21 bis 72 (43 ± 18) Jahren, Diabetesdauer 3–26 (16 ± 10) Jahre bestimmten wir jeweils ein engmaschiges Blutzuckertagesprofil mit Ermittlung der mittleren Schwankungsbreite im Tagesverlauf (MAGE). Am gleichen Tag erfolgte die Bestimmung der glykosilierten Hämoglobine mit Elimination und Bestimmung der labilen Aldiminform (Aldimineliminator Fa. Panchem). Von diesen Patienten wiesen 37 eine diabetische Retinopathie, 29 eine diabetische Neuropathie (peripher und/oder autonom) auf (Zusammenfassung der Daten in Tab. 3).

Statistische Auswertung

Für die Beurteilung von Mittelwertdifferenzen wurde unter Voraussetzung einer Normalverteilung der Student's t-Test für unverbundene Stichproben angewandt. Als signifikant wurde die Differenz zweier Werte angesehen, wenn bei zweiseitiger Prüfung $p < 0,01$ war (18).

Tab. 1: Zusammenfassung der Patientendaten aus Studie 1

- 50 Typ-1-Diabetiker (stationär)
- Alter: 17–59 Jahre (37 ± 21)
- Diabetesdauer: 1–22 Jahre (11 ± 8)
- „engmaschige“ BZ-Tagesprofile (nüchtern, 8.30, 11.00, 12.30, 15.00, 17.00, 19.00, 20.00, 22.00 Uhr) MAGE
- HbA_{1a-c} (BIO-RAD) bei Aufnahme, Entlassung und 3 Wochen nach Entlassung

Tab. 2: Zusammenfassung der Patientendaten aus Studie 2

- 10 Typ-1-Diabetiker mit extrem labiler Stoffwechsellaage
- Alter: 16–31 Jahre (26 ± 7)
- Diabetesdauer: 4–11 Jahre (7 ± 3)
- „engmaschige“ BZ-Tagesprofile
- „ HbA_{1a-c} -Tagesprofile“

Kontrollgruppe: 10 Typ-2-Diabetiker mit stabiler Stoffwechsellaage

Tab. 3: Zusammenfassung der Patientendaten aus Studie 3

- 94 Typ-1-Diabetiker (ambulant)
- Alter: 21–72 Jahre (43 ± 18)
- Diabetesdauer: 3–26 Jahre (16 ± 10)
- „engmaschige“ BZ-Tagesprofile → MAGE
- HbA_{1a-c} (PANCHEM) → Ketoaminform → Aldiminform
- 37 × Retinopathie
- 29 × Neuropathie (peripher und/oder autonom)

Ergebnisse

Abb. 1 zeigt den Zusammenhang zwischen HbA_{1a-c} und mittleren Blutzuckertageswerten. Wir sehen erwartungsgemäß eine gute Korrelation ($r = 0,674$; $p < 0,005$). Setzt man jedoch die gemessenen HbA_{1a-c} -Werte in Beziehung zur MAGE als Maß für die Labilität der diabetischen Stoffwechsellaage, so zeigt sich hier eine fehlende Korrelation (Abb. 2).

In den Tab. 4 und 5 sind die Blutzuckerwerte bzw. HbA_{1a-c} -Profile der 10 extrem labilen Typ-1-Diabetiker dargestellt. Es zeigen sich extrem starke Blutzuckerschwankungen im Tagesverlauf, denen Schwankungen der HbA_{1a-c} -Tageswerte bis zu 2% zuzuordnen sind.

Abb. 3 gibt im Vergleich hierzu die HbA_{1a-c} - und Blutzucker-mittelwerte des Kontrollkollektivs (10 stabile Typ-2-Diabetiker) wieder, bei denen keine signifikanten Schwankungen im Tagesverlauf auftreten.

Abb. 4 zeigt den Zusammenhang zwischen labilem Aldiminanteil und MAGE bei 94 Typ-1-Diabetikern. Hier findet sich interessanterweise eine signifikante Korrelation ($r = 0,683$; $p < 0,005$) worauf in der Diskussion noch näher eingegangen wird. Abb. 5 ist der Zusammenhang zwischen bereits bestehenden diabetischen Spätkomplikationen (Retinopathie, Neuropathie) und dem Anteil der labilen Aldiminform wiedergegeben. Es zeigt sich, daß Patienten mit bestehenden Spätkomplikationen signifikant höhere Aldiminwerte aufweisen, als solche ohne Spätkomplikationen ($p < 0,005$ resp. $p < 0,001$).

Abb. 1: Korrelation von HbA_{1a-c} mit den mittleren Blutzuckertageswerten

Abb. 2: Fehlende Korrelation der HbA_{1a-c} -Werte zur MAGE

Abb. 3: Blutzucker- und HbA_{1a-c} -Werte von stabilen Typ-2-Diabetikern

Abb. 4: Korrelation des labilen Aldiminanteils zur MAGE

Abb. 5: Zusammenhang zwischen bereits bestehenden diabetischen Spätkomplikationen und dem Anteil der labilen Aldiminform?

Diskussion

Unsere Untersuchungen zeigen, daß die Bestimmung der Gesamtfraction der glykosilierten Hämoglobine zwar Aufschluß über die mittlere Blutzuckerhöhe gibt, nicht aber zur MAGE als Maß für die Schwankungsbreite und damit die Labilität der diabetischen Stoffwechsellaage korreliert. Die fehlende Korrelation läßt sich dadurch erklären, daß mit der MAGE eine zweidimensionale Meßgröße, nämlich die Schwankungen der Blutzuckerwerte nach oben und unten erfaßt wird, wohingegen ein Anstieg der glykosilierten Hämoglobine ja nur im Rahmen ansteigender Blutzuckerwerte erfolgt. Es erscheint somit zunächst nicht sinnvoll diese beiden Meßgrößen zueinander in Korrelation zu setzen. Andererseits ist zu überlegen, ob die glykosilierten Hämoglobine wirklich uneingeschränkt als Langzeitparameter der diabetischen Stoffwechsellaage bezeichnet werden sollten, wenn sie zwar die mittlere Blutzuckerhöhe integrieren, aber kein Maß für die Labilität der diabetischen Stoffwechsellaage darstellen. Diese Einschränkung der Aussagefähigkeit der glykosilierten Hämoglobine erscheint wichtig, da bis jetzt nicht sicher gesagt werden kann, inwieweit zum einen insgesamt zu hohe mittlere Blutzuckerwerte, zum anderen aber häufige Blut-

Tab. 4: Blutzuckerwerte der 10 Patienten mit extrem labiler Stoffwechsellaage

Patient	nüchtern	8.30	11.00	12.30	15.00	17.00	19.00	20.00	22.00 h
1	103	331	212	138	197	315	358	298	146
2	227	374	116	198	335	403	291	207	255
3	212	378	286	159	68	217	305	336	200
4	299	443	307	138	196	388	112	317	207
5	123	328	300	246	181	317	312	289	197
6	164	355	296	405	334	308	164	200	72
7	143	322	200	249	78	204	337	344	156
8	92	299	138	215	307	368	201	126	300
9	197	398	256	205	319	221	117	204	107
10	62	259	148	307	336	369	384	197	98

Tab. 5: HbA_{1a-c}-Profile der 10 Patienten mit extrem labiler Stoffwechsellaage

Patient	nüchtern	8.30	11.00	12.30	15.00	17.00	19.00	20.00	22.00 h
1	12,4	13,0	13,2	12,9	12,8	12,9	13,5	14,0	13,8
2	12,0	12,2	12,9	10,9	11,3	12,1	12,6	11,8	11,9
3	12,2	12,4	13,0	12,8	12,3	11,9	11,9	12,1	12,4
4	10,0	11,3	11,7	9,9	10,6	10,5	11,3	11,3	10,8
5	11,1	12,0	11,8	11,1	10,7	12,4	11,8	11,4	11,4
6	11,6	11,9	12,3	13,2	13,0	13,3	12,4	12,5	12,0
7	9,9	12,0	12,0	10,7	10,3	10,5	11,7	11,0	9,9
8	10,3	11,3	10,4	10,7	11,5	11,0	11,1	10,8	10,0
9	11,4	12,0	11,1	11,5	12,1	12,0	11,8	11,0	10,8
10	9,8	10,7	10,1	11,4	11,8	11,4	11,2	11,2	11,7

zuckerschwankungen zur Entstehung diabetischer Spät komplikationen beitragen können. Unseres Erachtens ist die Definition einer langfristig guten diabetischen Stoffwechsellaage nur über die Bestimmung der Gesamtfraction glykosilierter Hämoglobine nicht ausreichend. Frühere Untersuchungen ließen vermuten, daß die Ketoaminkonzentration der Konzentration an instabilen Aldiminen proportional sei (17). Dem widersprechen die Ergebnisse dieser Studie, daß nicht die Gesamtfraction der glykosilierten Hämoglobine wohl aber der Aldiminanteil zur MAGE korreliert. Diese zunächst widersprüchlich erscheinenden Ergebnisse wären dann zu erklären, wenn wie bereits von anderen Autoren vermutet (13, 19, 20) auch eine raschere Dissoziation der stabilen Ketoaminform erfolgen würde. Welche Faktoren eine solche Dissoziation fördern oder die Umlagerung des instabilen Aldimins in die stabile Form verhindern, ist bis jetzt noch nicht geklärt. Möglicherweise kommt hier dem pH-Wert des Reaktionsmilieus eine ähnliche Bedeutung zu wie bei der Bildung des instabilen Aldimins selbst.

Die Tatsache, daß Diabetiker mit bereits bestehenden diabetischen Spät komplikationen signifikant höhere Aldiminanteile aufwiesen als Patienten ohne Spät komplikationen und, wie gezeigt, der Aldiminanteil zur Labilität der diabetischen Stoffwechsellaage korrelierte, wirft erneut die Frage auf, ob und inwieweit Schwankungen der diabetischen Stoffwechsellaage das Entstehen diabetischer Spät komplikationen begünstigen können. Ob in diesem Fall der Aldiminform eine prognostische Wertigkeit bezüglich des Auftretens diabetischer Spät komplikationen zukäme, müßten weitere Untersuchungen zeigen. Eine Vernachlässigung oder Elimination des Aldiminanteils als „Störgröße“ erscheint uns aufgrund der vorgelegten Ergebnisse verfrüht. Die Bedeutung der Aldiminform sollte einer weiteren kritischen Prüfung unterzogen werden.

Schrifttum:

- HOLMQUIST, W. R., SCHROEDER, W. A.: A new terminal blocking group involving a Schiff base in hemoglobin A_{1c}. *Biochemistry* 5, 2489–2503 (1966).
- HODGE, J. E.: The Amadori rearrangement. *Advances in Carbohydrate Chem.* 10, 169–205 (1955).

- BUNN, H. F., HANEY, D. N., GABBAY, K. H., GALLOP, P. M.: Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A_{1c}. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 67 No. 1, 103–109 (1975).
- KOENIG, R. J., BLOBSTEIN, S. H., CERAMI, A.: Structure of carbohydrate of hemoglobin A_{1c}. *J. Biol. Chem.* 252, 2992–2997 (1977).
- HUISMAN, T. H. J., DOZY, A. M.: Studies on the heterogeneity of hemoglobin V. Binding of hemoglobin with oxidized glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 60 No. 2, 302–319 (1962).
- RAHEAR, S.: An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. *Clin. Chem. Acta* 22, 296–298 (1968).
- TATTERSALL, R. B., PYKE, D. A., RANNEY, H. M., BRUCKHEIMER, S. M.: Hemoglobin components in diabetes mellitus: studies in identical twins. *N. Engl. J. Med.* 293, 1171–1173 (1975).
- KOENIG, R. J., ARAUJO, D. C., CERAMI, A.: Increased hemoglobin A_{1c} in diabetic mice. *Diabetes* 25, 1–5 (1976a).
- KOENIG, R. J., PETERSON, C. M., KILO, C., CERAMI, A., WILLIAMSON, J. R.: Hemoglobin A_{1c} as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 25, 230–232 (1976b).
- KOENIG, R. J., PETERSON, C. M., JONES, R. L., SAUDEK, C., LEHRMAN, M., CERAMI, A.: Correlation of glucose regulation and hemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 295, 417–420 (1976c).
- CERAMI, A., KOENIG, R. J., PETERSON, C. M.: Hemoglobin A_{1c} and diabetes mellitus. *Br. J. Haematol.* 38, 1–3 (1978).
- GONEN, B., RUBENSTEIN, A. H., ROCHMAN, H., TANEGA, S. P., HORWITZ, D. L.: Hemoglobin A_{1c}: an indicator of the metabolic control of diabetic patients. *Lancet* 2, 734–737 (1977).
- GABBAY, K. H., HASTY, K., BRESLOW, J. L., ELLISON, R. C., BUNN, H. F., GALLOP, P. M.: Glycosylated hemoglobins and long-term blood glucose control in diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44, 859–864 (1977).
- DOLHOFFER, R., STÄDELE, A., WIELAND, O. H.: Clinical and biochemical studies on the significance and formation of hemoglobins A_{1c} and A_{1a+b} in diabetes mellitus. *Klinische Wochenschrift* 55, 945–954 (1977).
- SVENDSEN, P. A., CHRISTIANSEN, J. S., WELINDER, B., NERUP, J.: Fast glycosylation of hemoglobin. *Lancet* 17, 603 (1979).
- NIEDERAU, C., REINAUER, H.: In vitro und in vivo Untersuchungen über Hämoglobin A_{1c}. 14. Kongress der Deutschen Diabetes-Gesellschaft in Freiburg i. Br. (1979).
- SACHSE, G., KOCH, U., LAUBE, H., FEDERLIN, K.: HbA_{1a-c} – Wirklich ein aussagekräftiger Langzeitparameter zur Beurteilung der diabet. Stoffwechsellaage? – Einfluß von kurzfristigen Blutzuckerschwankungen auf die HbA_{1a-c}-Konzentration. Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, Akt. Endokrin. 2, 136–139 (1981).
- KAISER, R., GOTTSCHALK, G.: Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten. Soforthilfe für statistische Tests mit wenigen Meßdaten. B. J.-Wissenschaftsverlag, Mannheim-Wien-Zürich (1972).
- BUNN, H. F., HANEY, D. N., KAMIN, S., GABBAY, K. H., GALLOP, P. M.: The biosynthesis of human hemoglobin A_{1c} (slow glycosylation of hemoglobin in vivo). *J. Clin. Invest.* 57, 1652–1659 (1976a).
- BUNN, H. F., HANEY, D. N.: Glycosylation of hemoglobin in vitro: affinity labeling of hemoglobin by glucose-6-phosphat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 73, 3534–3538 (1976b).

Anschrift der Verfasser

Dr. G. Sachse
Dr. A. Schornstein
Dr. H. Laube
Prof. Dr. K. Federlin
III. Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik
Rodthohl 6
D-6300 Gießen