

## FICHAS DE BIOQUÍMICA APLICADA

## HEMOGLOBINAS GLICOSILADAS

*J. Martins e Silva*

Cadeira de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Lisboa.  
Hospital de Santa Maria. Lisboa. Portugal.

As hemoglobinas glicosiladas são produto de reacções não-enzimáticas entre a principal hemoglobina do adulto normal ( $HbA_0$ ) e alguns açúcares, com destaque para a glicose. A única diferença aparente entre a  $HbA_0$  e os seus derivados glicosilados reside na presença desses grupos químicos, fixados por ligações estáveis a resíduos de aminoácidos das cadeias  $\beta$ ; no restante, quer na constituição das cadeias polipeptídicas ou grupos heme, não se encontram diferenças.

Devido ao facto de eluírem nos sistemas cromatográficos convencionais antes da  $HbA_0$  (fracção  $A_{II}$ ), os componentes glicosilados são designados, em conjunto, por  $HbA_1$  (ou  $HbA_{1c}$ ) e por ordem de eluição por  $HbA_{1a-1e}$  (Fig. 1). A sub-fracção glicosilada mais abundante é a  $HbA_{1c}$ , que totaliza cerca de 4 % da concentração total de hemoglobina no adulto normal; a  $HbA_{1a}$  e a  $HbA_{1b}$  perfazem cerca de 1 % cada, sendo irrelevante a quantidade de  $HbA_{1d}$  e  $HbA_{1e}$ . Por conseguinte, aproximadamente 6 a 7 % de toda a hemoglobina ocorre, em condições normais, sob a forma de  $HbA_1$  (Fig. 2). Recentemente, foram também identificados derivados glicosilados da  $HbA_2$ .

Métodos mais sensíveis que os habitualmente utilizados revelam que uma fracção adicional de 8-10 % da  $HbA_0$  pode ser glicosilada ao nível dos grupos  $\epsilon$ -amina da lisina de ambas as cadeias e extremidades  $NH_2$  das cadeias  $\alpha$ . A glicosilação dos resíduos de lisina tem sido constatada, também, nas proteínas do cristalino, membranas eritrocitárias, albumina sérica, colagénio e proteínas básicas da mielina dos nervos.

Não parece haver dúvidas quanto à estrutura da  $HbA_{1c}$ , que resultaria da condensação de uma molécula de glicose com um ou ambos os resíduos de valina da extremidade  $NH_2$  da cadeia  $\beta$  da  $HbA_0$  (Fig. 3). Em contrapartida, a estrutura das outras duas formas glicosiladas,  $HbA_{1a}$  e  $HbA_{1b}$ , é mais imprecisa.

Da  $HbA_{1a}$  foram individualizados dois componentes,  $a_1$  e  $a_2$ , caracterizados pela fixação de açúcares fosforilados à extremidade  $NH_2$  das cadeias  $\beta$ : frutose 1,6-difosfato na  $HbA_{1a1}$  e glicose 6-fosfato na  $HbA_{1a2}$ .

A estrutura exacta da  $HbA_{1b}$  é desconhecida. Pensa-se que resulte da desaminação das cadeias  $\beta$  ou por fixação de um açúcar não identificado a um aminoácido que não seja a valina  $NH_2$  terminal dessas cadeias.

Ao contrário da heterogeneidade determinada por genes diferentes (Fig. 2) a formação dos componentes glicosilados ocorre após a síntese da  $HbA_0$ , no decurso dos 120 dias de vida média eritrocitária. Nesse período, a formação de  $HbA_{1a}$ ,  $HbA_{1b}$  e  $HbA_{1c}$  aumenta lenta, contínua e quase inversivelmente, atingindo os níveis máximos nos eritrocitos senescentes. Esta reacção pode ser reproduzida *in vitro*, também sem participação enzimática.

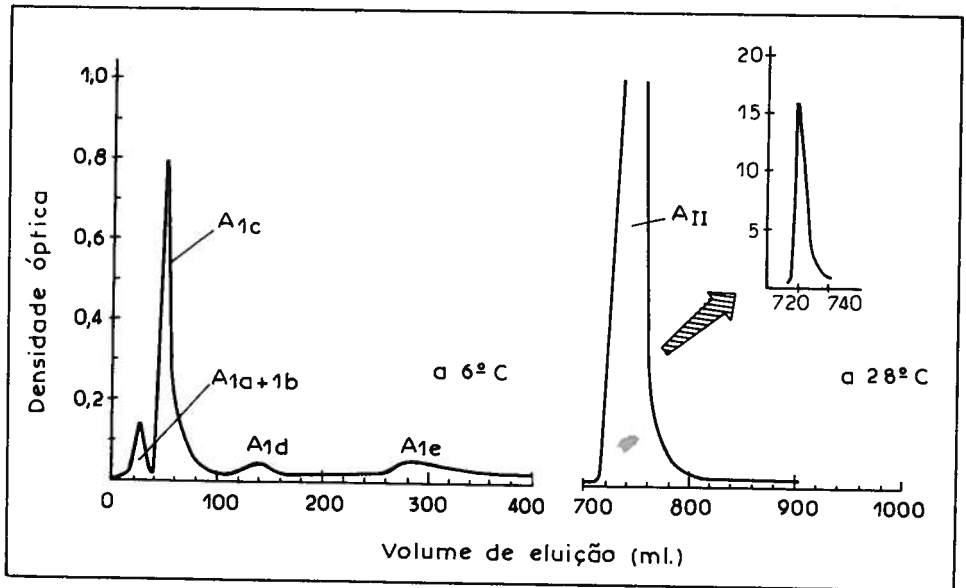


Fig. 1 — Separação cromatográfica das frações I e II da hemoglobina.

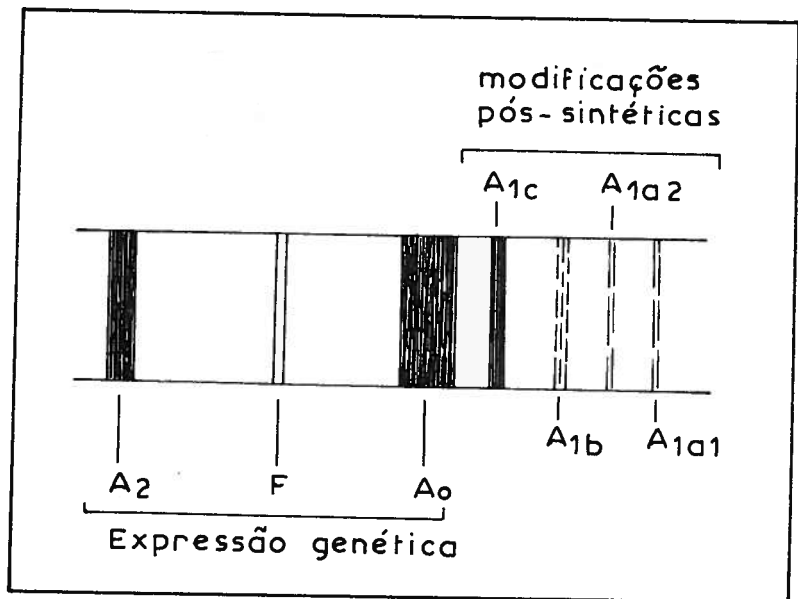


Fig. 2 — Separação por electroforese em gel com isofocagem das principais formas de hemoglobina existentes no hemolisado eritrocitário e derivados glicosilados da HbA<sub>0</sub>.

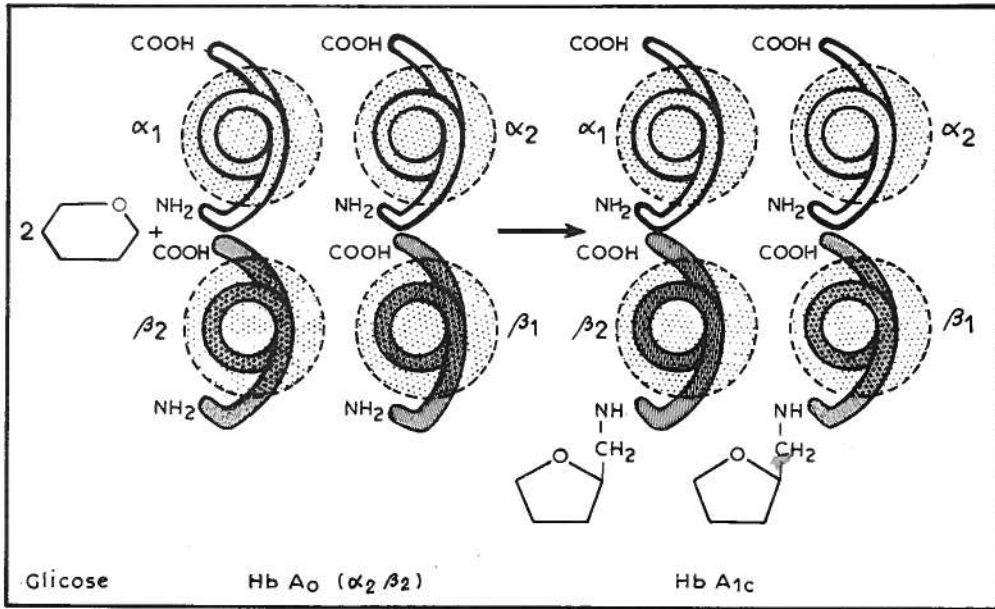


Fig. 3 — Representação esquemática da fixação das moléculas de glicose a cada uma das extremidades NH<sub>2</sub> da HbA<sub>0</sub>, formando a HbA<sub>1c</sub>. Em cada uma daquelas extremidades das cadeias passa a existir uma molécula de 1-desoxi (N-valil)-frutose.

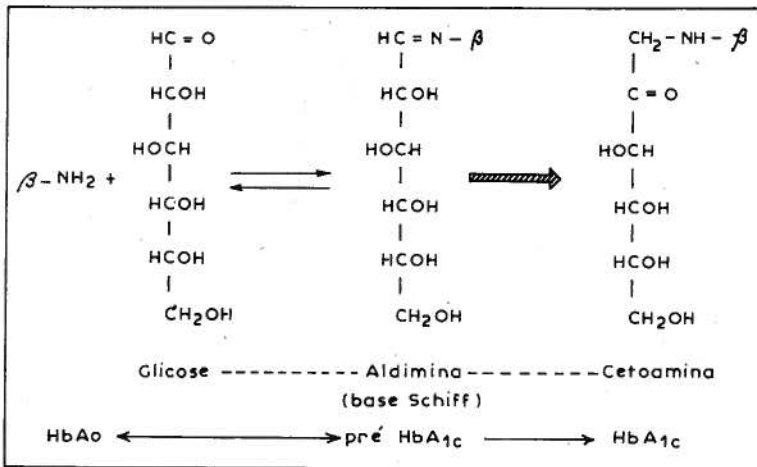


Fig. 4 — Representação esquemática das duas fases de formação da HbA<sub>1c</sub>. Na primeira etapa, rápida, o grupo aldeído da glicose reage com o grupo amina da valina terminal das cadeias  $\beta$ , formando um composto lábil, caracterizado por uma ligação aldimina. Este composto (pré-HbA<sub>1c</sub>) pode dissociar-se nos reagentes iniciais ou evoluir, através de um rearranjo molecular (Ama-dori), para a forma final (HbA<sub>1c</sub>), caracterizada por uma ligação covalente (cetoamina) estável.

O interesse crescente que vem sendo manifestado pelas hemoglobinas glicosiladas, particularmente pela HbA<sub>1c</sub>, prende-se com a sua aparente relação com o estado de controlo glicídico e evolução da diabetes mellitus.

De facto, a HbA<sub>1</sub> e, particularmente a HbA<sub>1c</sub>, tendem a aumentar para níveis duas ou três vezes superiores ao normal, em doentes com diabetes metabolicamente descontrolada ou em murgalhos com diabetes experimental. Os níveis de HbA<sub>1</sub> dependeriam da concentração de glicose em circulação dois ou três meses antes; não haveria correlação aparente com a idade do doente, duração da doença, complicações coexistentes ou terapêutica instituída. *In vitro*, a formação dos componentes glicosilados também aumenta com a concentração da glicose no meio. Pelos resultados observados, é sugerido que a grandeza da glicosilação não-enzimática da HbA<sub>1</sub> *in vivo* depende de duas variáveis independentes; tempo de sobrevivência eritrocitária e concentração média da glicose circulante nos meses anteriores. Explicar-se-ia assim que a HbA<sub>1</sub> esteja aumentada na diabetes e diminuída nos estados hemolíticos.

Recentemente, vêm sendo descritas variações rápidas no teor da HbA<sub>1c</sub>, quer *in vitro* ou *in vivo*, a par de alterações súbitas da concentração de glicose. É admissível que essas variações rápidas da HbA<sub>1c</sub> dependam de um intermediário lábil, facilmente dissociável, com a configuração de uma base Schiff; a fracção mais estável da HbA<sub>1c</sub> corresponderia ao produto final determinado pela ligação cetoamina (Fig. 4).

Tudo leva a crer que as hemoglobinas glicosiladas sejam um índice seguro do estado de controlo glicídico, reflectindo a glicémia média verificada num período de tempo dilatado. Esse índice não seria afectado (excepto numa proporção limitada, correspondente à fracção lábil da HbA<sub>1c</sub>) pelas variações diárias da glicémia. Acessoriamente, as determinações de HbA<sub>1</sub> constituiriam um meio de objectivar a eficácia da terapêutica instituída; poderá ainda assumir-se como um processo de avaliar as inter-relações entre o controlo da diabetes e o desenvolvimento das complicações tardias próprias da doença, além de constituir uma forma de despistagem da diabetes, nos seus períodos iniciais.

#### BIBLIOGRAFIA

- BUNN HF: Nonenzymatic glycosylation of protein; relevance to diabetes. *Amer J Med* 1981; 70: 325-330.
- GONEN G, RUBENSTEIN AH: Haemoglobin A<sub>1</sub> and diabetes mellitus. *Diabetologia* 1978; 15: 1-8.
- JOVANOVIS L, PETERSON CM: The clinical utility of glycosylated hemoglobin. *Amer J Med* 1981; 70: 331-338.
- KOENIG RJ, CERAMI A: Hemoglobin A<sub>1c</sub> and diabetes mellitus. *Ann Rev Med* 1980; 31: 29-34.
- McDONALD MJ, BLEICHMAN M, BUNN HF, NOBLE RW: Functional properties of the glycosylated minor component of human adult hemoglobin. *J Biol Chem* 1979; 254: 702-707.
- SHAPIRO R, McMANUS MJ, ZALUT C, BUNN HF: Sites of non-enzymatic glycosylation of human hemoglobin A. *J Biol Chem* 1980; 255: 3120-3127.

Pedido de separatas: J. Martins e Silva  
 Cadeira de Bioquímica  
 Faculdade de Medicina de Lisboa  
 Hospital de Santa Maria  
 Lisboa, Portugal.