

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 β ; 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 ϵ -amina da lisina de ambas as cadeias e extremidades NH_2 das cadeias α . 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 β 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 β : 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 β 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.

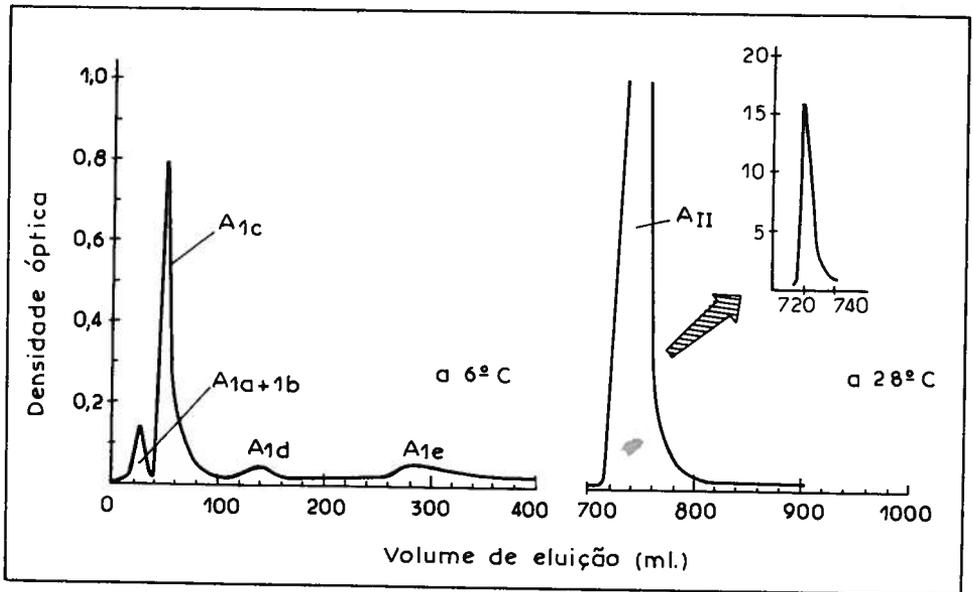


Fig. 1 — Separação cromatográfica das frações I e II da hemoglobina.

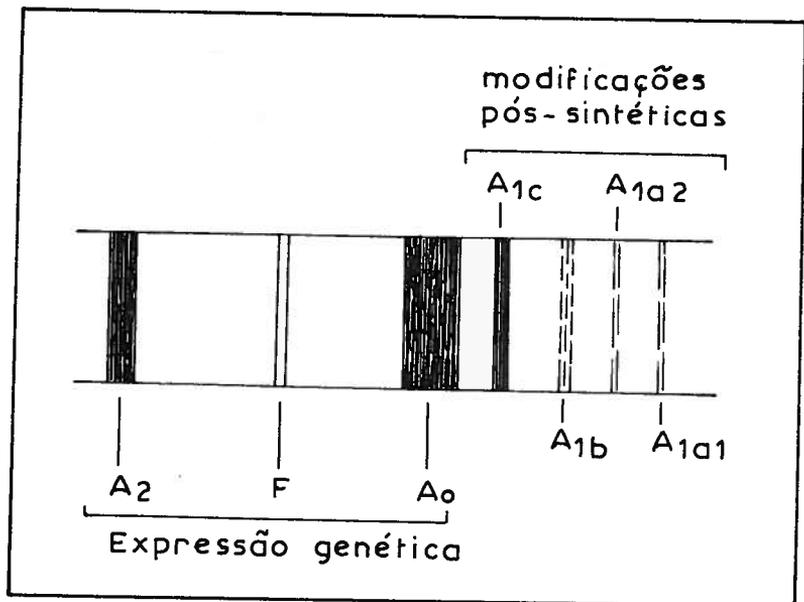


Fig. 2 — Separação por electroforese em gel com isofocagem das principais formas de hemoglobina existentes no hemolisado eritrocitário e derivados glicosilados da HbA₀.

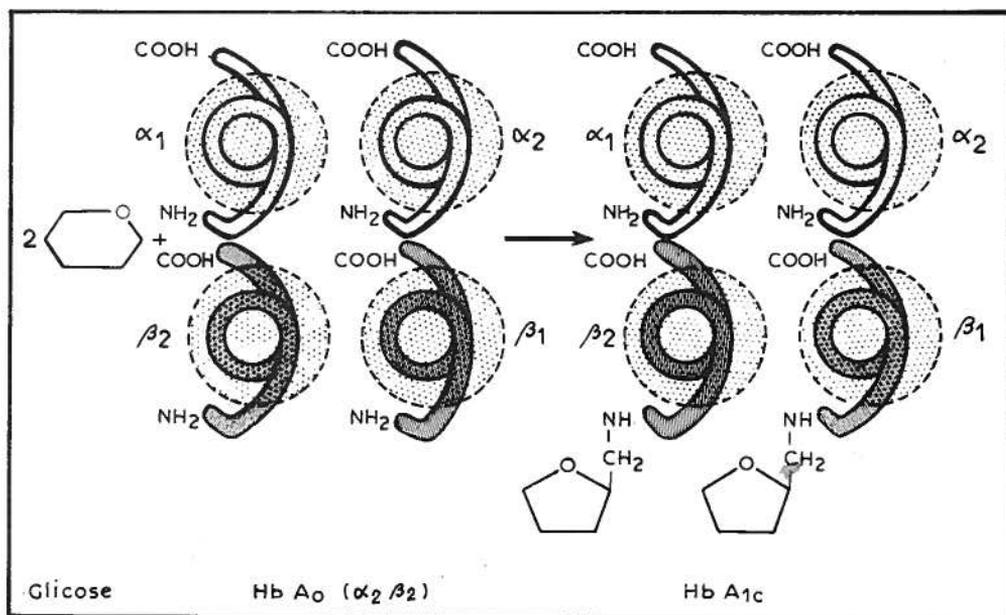


Fig. 3 — Representação esquemática da fixação das moléculas de glicose a cada uma das extremidades NH_2 da HbA_0 , formando a HbA_{1c} . Em cada uma daquelas extremidades das cadeias passa a existir uma molécula de 1-desoxi (N-valil)-frutose.

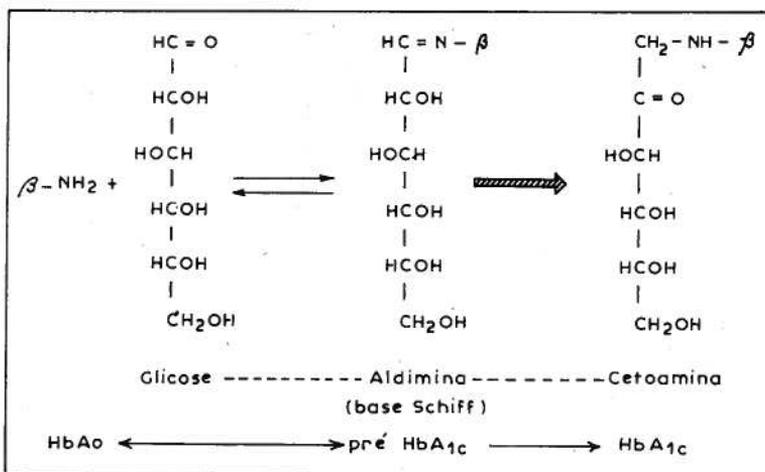


Fig. 4 — Representação esquemática das duas fases de formação da HbA_{1c} . Na primeira etapa, rápida, o grupo aldeído da glicose reage com o grupo amina da valina terminal das cadeias β , formando um composto lábil, caracterizado por uma ligação aldimina. Este composto (pré- HbA_{1c}) pode dissociar-se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

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

De facto, a HbA₁ e, particularmente a HbA_{1c}, 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 HbA₁ 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 HbA₁ *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 HbA₁ esteja aumentada na diabetes e diminuída nos estados hemolíticos.

Recentemente, vêm sendo descritas variações rápidas no teor da HbA_{1c}, quer *in vitro* ou *in vivo*, a par de alterações súbitas da concentração de glicose. É admissível que essas variações rápidas da HbA_{1c} dependam de um intermediário lábil, facilmente dissociável, com a configuração de uma base Schiff; a fracção mais estável da HbA_{1c} 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_{1c}) pelas variações diárias da glicémia. Acessoriamente, as determinações de HbA₁ 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 A₁ 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_{1c} 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.