

BÖLÜM 1

DİYABET VE GLİKASYON

Bilal İLANBEY¹

GİRİŞ

Dünya genelinde yaklaşık 422 milyon insan diyabet hastası olup, çoğunluğu düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşamaktadır. Her yıl 1,5 milyon ölüm doğrudan diyabete bağlanmaktadır. Hem vaka sayısı, hem de diyabet prevalansı son yıllarda istikrarlı bir şekilde artmaktadır (1). Diyabetteki uzun süreli hiperglisemi, nefropati, nöropati, retinopati ve koroner arter hastalığı gibi ciddi komplikasyonlara yol açarak hem morbidite, hem de mortaliteye neden olmaktadır.

Translasyondan sonra proteinlere karbonhidratların bağlanmasıyla glikoproteinler oluşur. Oligosakkaritlerin enzim aracılığı ile glikozil bağıyla bağlanması glikozilasyon olarak ifade edilir. Organizmada glikozilasyon genellikle proteinlerin fizyolojik işlevleri için gerçekleştirilir. Glikasyon ise bir proteinin birincil veya ikincil amin gruplarına enzimatik olmayan bir şekilde indirgeyici şekerlerin (genellikle glikoz) ilavesi anlamına gelir (Maillard reaksiyonu) (2, 3).

Diyabetin uzun vadeli etkilerinin çoğunun, protein glikasyonu süreci ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

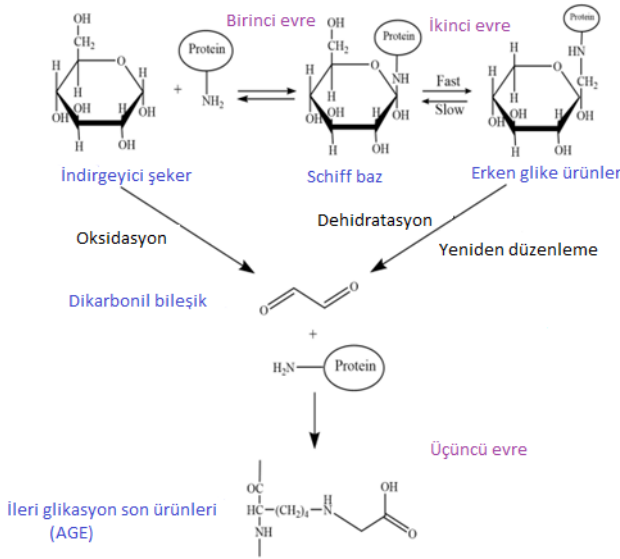
Glikasyon Evreleri

Şekil 1'de görüldüğü üzere glikasyonun erken evresinde proteinler üzerindeki birincil amin gruplarıyla, indirgeyici şekerin nükleofilik atağı sonucunda kararsız bir ara ürün olan Schiff bazı oluşur. Bu ara ürün daha sonra daha kararlı yapıda olan bir Amadori ürünü veya ketoamin oluşturmak için yavaş bir yeniden düzenlemeye tabi tutulabilir. Örneğin bu aşamada glikoz, hemoglobinin β -zincirinin N-terminalindeki valin kalıntısına bağlanırsa HbA1c, plazmadaki proteinlere bağlanırsa fruktozamin veya glike albümin oluşur. Bunlar erken glike ürünler olarak da bilinirler. Erken glike proteinler uzun süredir diyabet tanısı ve tedavisi için kullanılmakta ve araştırma konusu olmaktadır. Bir sonraki aşamada, erken glike ürünlerinden ileri oksidasyon, dehidrasyon ve çapraz bağlama yoluyla reak-

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD., bilalilanbey@hotmail.com

tif dikarbonil bileşikleri oluşabilir. Bu bileşikler, proteinler üzerindeki arjinin ve lizin kalıntıları gibi bölgeler için yüksek reaktivite sergileyerek ileri glikasyon son ürünleri (AGE'ler) oluşturur (4, 5).

Glikasyonun proteinin ömrü boyunca sürekli olarak meydana gelmesi nedeniyle glikasyonlu protein konsantrasyonu, belirli bir süredeki ortalama kan şekeri değerini yansıtır. HbA1c açık ara farkla en yaygın olarak kullanılan ve üzerinde çalışılan glikasyonlu proteindir. Ancak klinik çalışmalarda fruktozamin, glük albümin ve AGE'ler de birçok araştırmaya konu olmuştur.



Şekil 1. Glikasyon oluşum mekanizması evreleri

Gliko hemoglobin

HbA1c, glikozun hemoglobin A'nın (HbA) her iki β-zincirinin N-terminal valin kalıntısına eklendiği gliko hemoglobinin önemli bir bileşenidir. Gliko hemoglobinin α- veya β-zincirinde ağırlıklı olarak lizin olmak üzere diğer amino asitlere de bağlanabilir (6). Hemoglobin glikasyonunun derecesi, kandaki glikoz konsantrasyonundan etkilenir. Eritrositlerin ömrü ~120 gün olduğundan, HbA1c önceki 8-12 haftalık ortalama glikoz konsantrasyonunu yansıtır (7). HbA1c ölçümü hızlı ve kullanışlıdır. Fizyolojik ve farmakolojik koşullardan minimum etkilenir.

HbA1c, Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından 1988'den beri diyabetli hastaların rutin takibi için önerilmiş, yakın zamanda da diyabet için bir tanı kriteri olarak dahil edilmiştir (8, 9). HbA1c ile belirlenebilen ortalama glikozun

düşürülmesi, diyabetteki komplikasyonların başlangıcını ve ilerlemesini önemli ölçüde azaltmıştır. Bu durum, HbA1c üzerinden tedavi hedeflerinin geliştirilmesine yol açmıştır (10).

HbA1c düzeyleri, immünojenik testler, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (en yaygın olarak kullanılan iki yöntem), afinite kromatografisi, kapiller elektroforez ve enzimatik testler ile ölçülebilir (11). Yöntemlerin NGSP (Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı) ve Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbi Federasyonu (IFCC) tarafından standardizasyonu gerçekleştirilmiştir (12).

HbA1c sonucunu hatalı olarak değiştiren (interferans) çok sayıda durum vardır (Tablo 1). Bunlar analitik olmayan faktörler ve analitik faktörler (ölçümü etkileyen) olarak iki gruba ayrılabilir (13).

Tablo 1. HbA1c sonucunu etkileyen faktörler	
Analitik olmayan faktörler	Analitik faktörler
1. Fizyolojik (örn. yaş, ırk)	1. Üremi
2. Kronik böbrek yetmezliği (KBY)	2. Hemoglobin varyantları
3. Demir eksikliği anemisi	3. Uyuşturucular (örneğin opiyatlar)
4. Eritrosit ömrü	4. Diğer (ör. bilirubin, trigliserit, alkol)
5. Glikasyon "fenotipleri"	
6. İlaçlar (örn. dapson, antiretroviral)	
7. Diğer (örn. C vitamini, E vitamini)	

Analitik Olmayan Faktörler

Fizyolojik Faktörler

HbA1c konsantrasyonları 30 yaşından sonra her on yılda bir ~ %0.1 artar (14). Bu artışın, ortalama glisemi üzerinde yaşın bir etkisini mi, yoksa sadece yaşlanma ile birlikte prediyabet ve diyabetin daha yüksek prevalansını mı yansıttığı bilinmemektedir. Afrikalı-Amerikalıların glisemi düzeyine nazaran daha yüksek HbA1c'ye sahip olduğunu belirten çalışmaların yanında, yüksek HbA1c'nin gerçekten daha yüksek bir gliseminin yansıması olduğunu savunan çalışmaların olması, ırkın HbA1c düzeyleri üzerine etkili olabileceğini düşündürmektedir (15).

Kronik Böbrek Yetmezliği (KBY)

KBY diyabetin yaygın bir komplikasyonudur. KBY'de eritrositlerin ömrü azalır, bunun sonucu olarak HbA1c değerleri düşer. Ayrıca, KBY'li birçok hasta eritropoezi uyarmak için eritropoietin ile tedavi edilir, bu da genç eritrositlerin sayısını

da artışa neden olduğu için HbA1c düzeylerini daha da azaltır. Bu nedenlerden dolayı KBY'si olan diyabetlilerdeki HbA1c konsantrasyonu glisemi düzeyini doğru bir şekilde göstermeyebilir (16).

Demir Eksikliği Anemisi ve Eritrosit Ömrü

Demir eksikliği anemisinin (DEA) HbA1c'de artışa neden olduğunu bildiren çalışmaların yanında (17, 18) HbA1c düzeylerine hiçbir etkisi olmadığını bildiren çalışmalar da yer alır (19). Geniş örneklemlili çalışmalarda demir eksikliği anemisinde eritrosit ömrünün uzaması nedeniyle HbA1c'nin klinik karar sınırında hafif arttığı ancak daha yüksek düzeylerde anemiden etkilenmediği belirlenmiştir (20, 21). Bu nedenle demir eksikliği olan hastalarda, HbA1c değeri karar eşliğine yakın olduğu durumlarda prediyabet ve diyabet tanısında dikkatli olunmalıdır.

Analitik Faktörler

Analitik yöntemlerdeki ilerlemeler, eski yöntemleri etkileyen bazı faktörlerin (örneğin aspirin, vitamin C, bilirubin ve trigliseritler) neden olduğu interferansları ortadan kaldırmıştır (22). Ancak tüm maddelerin olası interferansı titizlikle araştırılmamış olsa da, mevcut HbA1c testlerinde interferansların olabileceği düşünülmelidir.

Üremi

Üreden türetilen izosiyanik asit, proteinlere karbamilasyon olarak adlandırılan enzimatik olmayan bir süreç ile kovalanarak bağlanır. KBY'de kan üre konsantrasyonları yüksek olduğundan izosiyanik asit artar ve hemoglobinin N-terminal lizin veya arginin kalıntılarına bağlanır. Karbamilenmiş hemoglobin önceki yöntemlerde HbA1c'de interferans yapmıştır, ancak günümüzdeki çoğu yöntemde bu sorun ortadan kalkmıştır (23).

Hemoglobin Varyantları

Hemoglobin varyantlarının çoğu β geni üzerinde yer alır (24) ve HbAS, HbAC, HbAD ve HbAE gibi varyantlar nispeten daha fazla ortaya çıkar. Bu varyantlar için homozigot olan bireylerde HbA1c normalde ölçülemez. Ancak günümüzde total glike hemoglobin, borat afinite ve kapiller elektroforez gibi yöntemler yöntemleri kullanılarak ölçülebilmektedir (25, 26).

Glike Serum Proteinleri

Glikoz, plazmada hemoglobin dışındaki diğer proteinlerin de amino gruplarına enzimatik olmayan bir şekilde bağlanır. Serum proteinleri eritrositlerden daha hızlı turnover'a uğradığı için fruktozamin veya glike serum albümin konsantrasyonları daha kısa süreli bir ortalama glikozu yansıtır.

Fruktozamin ve glike albümin gibi çeşitli glike edilmiş serum proteinleri, HbA1c'nin yetersiz kaldığı bazı özel hasta popülasyonlarında (hemoliz, hemoglobin varyantları, kan transfüzyonu gibi) HbA1c'nin yerini alabilecek glisemi belirteçleri olarak önerilmiştir.

Fruktozamin

Fruktozamin (1-amino-1-deoksi fruktoz) plazma proteini ketoaminlerinin genel adıdır (27). Tüm glikasyonlu serum proteinleri fruktozaminlerdir. Albümin en bol bulunan serum proteini olduğundan, fruktozamin değerleri büyük ölçüde glike albümin konsantrasyonunu yansıtır. Bu nedenle fruktozamin, 1-3 haftalık bir glisemik kontrolün değerlendirilmesi gerektiğinde kullanılır (28).

Fruktozamin kolaylıkla otoanalizörlere uyarlanabilir ve HbA1c'den daha ucuzdur. Serum albümini <30 g/L olduğunda fruktozamin sonuçlarının geçerli olmadığı kabul edilir (28). Tiobarbitürik asit (TBA), nitroblue tetrazolyum (NBT) ve hidrazin bazlı kolorimetrik yöntemler, glike edilmiş serum proteinlerini ölçmek için kullanılmaktadır (30).

Son dönem böbrek yetmezliği, bazı anemi türleri ve transfüzyon gibi durumlarda glisemik durumun izlenmesinde fruktozaminin potansiyel bir rol oynadığı bildirilmiştir (31). Fruktozaminin HbA1c ile güçlü korelasyon gösterdiği, diyabet ve komplikasyonların gelişimi için prognostik değerleri olduğu bildirilmiştir (31). Ancak yapılan bazı çalışmalarda HbA1c'yi fruktozamin ile kombine etmenin tek başına HbA1c bakmaktan farkının olmadığı ve diyabet komplikasyonlarıyla ilişkili olmadığı görülmüştür (32).

Glike Albümin

Kanda en bol bulunan protein olan albümin toplam serum proteininin neredeyse üçte ikisini oluşturur (11). Glike albümin (GA) ise toplam glike edilmiş serum proteinlerinin %80'inden fazlasını oluşturur (33). Albüminde 35 glikasyon bölgesi tanımlamıştır (34). İlk olarak 1979'da diyabetik hastalarda serum GA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (35). GA'nın kandaki yarı ömrü 14- 20 gün arasındadır (28).

GA ölçümü için enzimatik, kromatografik, immünolojik, kolorimetrik (tiobarbitürik asit ile) ve etiketsiz empedimetrik immünosensör tekniğine dayanan çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar arasında enzimatik yöntem basit, hızlı ve otoanalizörlere uyarlanabilir olması, analitik performansının iyi olması nedeniyle tercih edilir. Ölçümünden önce tıpkı HbA1c gibi açlık gerektirmez (36, 37). HbA1c gibi GA da kandaki toplam albüminin yüzdesi olarak ifade edilir.

Plazmadaki düzeyleri kadınlarda daha yüksektir ve erkeklerde yaşla birlikte artar. Yine siyahilerde beyaz ırka göre daha yüksektir. Düzeyleri vücut kütle in-

deksi (VKİ) ile ters orantılıdır, obezlerde daha düşüktür (36). Nefrotik sendrom, siroz, tiroid hastalığı, hiperürisemi, hipertrigliseridemi ve sigara gibi albümin metabolizmasını etkileyen faktörler, GA düzeylerini değiştirebilir (38).

Glike albümin diabetes mellitusun öngörülmesi, teşhisi ve izlenmesinde önemli bir rol oynar ve son 2-3 haftadaki kan glikozu düzeyleri hakkında bilgi verir. Ayrıca diyabetik nefropati, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar gibi bazı diyabetik komplikasyonların tespit indeksi olarak da kullanılabilir (39).

Özellikle KBY, anemiler ve hemoglobinopatiler gibi HbA1c'nin hatalı sonuç verebileceği bazı durumlarda, GA düzeyleri etkilenmediğinden diyabetin izleminde glikoz veya HbA1c'yi tamamlayıcı bir araç olarak önerilmiştir. Yapılan bir araştırmada HbA1c ve GA kombinasyonu, hastaların %78'inde prediyabeti tespit ederken, bu oranın tek başına HbA1c ile %50, HbA1c ve fruktozamin kombinasyonu ile %72 olduğu bulunmuştur (32). Japonya'da yapılan başka bir araştırma, HbA1c veya GA'nın prediyabet hastaları için tarama testi olabileceğini, fruktozaminin ise tarama testi olarak uygun olmadığını göstermiştir (40). GA, Japonya'da diyabet için tarama testi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır ve hastalık riski taşıyan hastaları belirlemektedir (41). GA, diyabetli yenidoğanlarda yararlı bir glisemik belirteçtir, hemoglobin varyantlarından etkilenmez ve glisemik değişiklikleri kısa vadede daha sık izleyebilir, HbA1c ise fetal hemoglobinden etkilenir ve glisemik kontrolü tam olarak yansıtmaz (42).

Albüminin glikasyona uğraması, iki ve üç boyutlu yapısını özellikle heliks oluşumu bozulabilir. Böyle bir konformasyonel değişiklik, tiyol gruplarının sayısını azaltarak antioksidan aktivitede bir azalmaya yol açabilir. Ayrıca albüminin bağlama özelliğini değiştirerek ilaç ve yağ asitleri gibi maddelerin taşınma fonksiyonunu etkiler. Örneğin sülfonilüreler, salisilat ve ibuprofen gibi ilaçlar için bağlanma afinitesi azalır (37).

Albüminin glikasyona uğraması, diyabet komplikasyonlarının hedefi olan organ ve dokularda geri dönüşü olmayan hasarlara neden olur. Örneğin artmış GA, epitel ve mezenseşimal hücrelerden pro-oksidan moleküllerin üretimini artırarak nefropatinin gelişimini doğrudan etkileyebilir (43). Yüksek GA, AGE reseptörlerinin (RAGE) aktivasyonunu uyarır, trombosit aktivasyonunda ve agregasyonunda rol oynar, aterosklerotik plakların oluşumunu teşvik eden adezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyarır (44). Ayrıca kas hücreleri ve adipositlerde insülin direncine neden olur (37).

İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE'ler)

Hiperglisemi ile diyabetin kronik komplikasyonları arasındaki ilişkide doku proteinlerinin glikasyonunun rolü vardır. Glikozun proteinlere, lipitlere veya nükleik

asitlere bağlanması, daha fazla modifikasyona uğrayabilen stabil Amadori ürünleri üzerinden AGE'leri oluşturur (Şekil 1). Amadori ürünlerinin geri dönüşümsüz yeniden düzenlenmeleri, oksidatif veya oksidatif olmayan yollarla veya proteinler üzerindeki lizin, arginin veya sisteinin yan zincirlerinin kondansasyonu, glioksal, metilglioksal ve deoksiglukozonlar gibi karbonhidratı parçalanmış reaktif dikarbonil bileşikleri oluşturur (45). Bu bileşikler birçok protein arasında geri dönüşümsüz bir şekilde çapraz bağlar oluşturup, onların yapı ve işlevlerini bozarak AGE'leri oluşturur (46). Örneğin glioksal, N-(karboksimetil)lizin (CML), glioksal türevli lizil-dimer veya N-(karboksimetil)arginin oluşturabilirken; metilglioksal, metilglioksal türevli lizil-dimer, argipirimidin, N-(karboksietil)lizin (CEL) ve diğer AGE'lerin oluşumunu uyarabilir (46). Bugün 20'den fazla AGE tanımlanmıştır (47).

AGE'lerin düzeyleri, hiperglisemi düzeltilse bile normale dönmez, bu nedenle proteinin ömrü boyunca sürekli birikirler. AGE'ler ayrıca yaş ile orantılı olarak da birikir.

Vücutta AGE'ler yalnızca endojen olarak oluşmaz, diyetteki AGE'ler de dokularda birikime katkıda bulunur (48). Batı tipi beslenme şeker, yağ ve tuz açısından zengindir ve gıdalar genellikle $>100^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarda işlenir. Isıl işlem, ultra yüksek sıcaklıkta işleme, pastörizasyon, sterilizasyon veya ışınlama sırasında gıdalarda AGE'ler oluşur (49).

Kanda yüksek AGE'ler diyabetin nefropati, retinopati, nöropati ve kardiyovasküler komplikasyonları ile ilişkilendirilmiştir (15). AGE'ler diyabet dışında, kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, böbrek yetmezliği, kanser, artritis, yaşlılık ve Parkinson, Alzheimer gibi nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere birçok hastalıkla da ilişkilidir (50).

Belirli AGE'ler, AGE reseptörünü (RAGE) aktive ederek, proenflamatuvar sitokinlerin üretimi ve oksidatif stresin artışı ile sonuçlanan hücre içi sinyalleşmeyi uyarır. RAGE, endotelial ve renal hücreler de dahil olmak üzere birçok hücrenin yüzeyinde ekspresyon edilir. RAGE'lerin diyabet komplikasyonlarının patofizyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir. RAGE'nin serumda çözünür formu (sRAGE) ELISA ile ölçülebilir (51). Tip 2 diyabetli hastalarda sRAGE düzeylerinin böbrek fonksiyonunun azalması ve mortaliteyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (15).

Diyabet komplikasyon riskini tarama amacıyla bir biyobelirteç olarak AGE'lerin ölçümü düşünülmüştür. Bunlardan biri dokulardaki AGE'lerin ölçümüdür. Dokularda invaziv olmayan cilt otofloresansı kullanılmakla birlikte çalışmalarda cilt otofloresansının diyabet komplikasyonlarıyla ilişkili olup olmadığı tartışmalıdır (15). Yine dolaşımdaki AGE'lerin ölçümü için birçok immünokimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Ancak yapıların heterojenliği gibi olumsuz durumlar ve standardizasyonun sağlanamaması nedeniyle uygun sonuçlar elde edilememiştir

(47). İzotop dilüsyonu sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MSMS) proteinlerin glikasyon, nitrasyon ve oksidasyon ile modifikasyonunu ve ayrıca serbest eklentileri kantitatif olarak analiz eder. Diğer yöntemlere göre daha iyi sonuçlar verir, ancak pahalı ekipman ve yüksek eğitilmiş personel gerektirir (47).

AGE'leri inhibe etmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Örneğin aminoguanidin gibi AGE inhibitörleri ile yapılan hayvan çalışmalarında diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarını önlediği bulunurken, yapılan insan çalışmalarında önemli bir fayda görülmemiştir (51). Çalışmalarda metformin alan tip 2 diyabetli hastalarda, metformin almayanlara göre daha düşük AGE düzeyleri tespit edilmiştir (52). Anjiyotensin reseptör blokerleri, ACE inhibitörleri, pentoksifilin ve aspirinin AGE oluşumunu engellediği, ALT-711'in dikarbonil çapraz bağlarını kırdığı keşfedilmiştir (53). Yine flavonoid polifenollerin de AGE inhibisyonu yaptığı bildirilmiştir (50).

SONUÇ

HbA1c'nin keşfinden bu yana, protein glikasyonunun ek ölçümleri, glikasyonlu serum proteinleri ve AGE'leri ortaya çıkarmıştır. HbA1c ölçümünün geliştirilmesi ve standardizasyonu diyabet alanında teşhis, tedavi ve diyabetik komplikasyonları azaltmada büyük ilerlemeler sağlamıştır. HbA1c ölçümünün anemi, KBY, hemoglobin varyantları gibi faktörlerden etkilenmesi günümüzde oldukça minimize edilmiştir.

Diğer glike proteinlerden olan glike albümin, diyabette tanı ve izlemede şu an için HbA1c'yi tamamlayıcı bir rol oynayabilir. AGE'lerin diyabet komplikasyonlarında patofizyolojisinin bir nedeni mi, yoksa sonucu mu olduğunu belirlemek önemlidir. AGE'lerin ölçülmesiyle diyabetin komplikasyonları arasındaki ilişkiler belirlenebilir ve AGE düzeylerinin düşürülmesine yönelik tedavilerin geliştirilmesine katkıda bulunulabilir. Ancak hem glike albümin hem de AGE testlerinin standardizasyonunun sağlanması gerekmektedir. Bunun için önemli ve büyük örneklemli araştırmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

1. World Health Organisation [Available from: https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1].
2. Dalziel M, Crispin M, Scanlan CN, Zitzmann N, Dwek RA. Emerging principles for the therapeutic exploitation of glycosylation. *Science* 2014;343:1235681.
3. Thornalley PJ, Langborg A, Minhas HS. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. *Biochem J* 1999;344 Pt 1:109-16.
4. Anguizola J, Matsuda R, Barnaby OS, et al. Glycation of human serum albumin. *Clin Chim Acta* 2013;425:64-76.
5. Wu WC, Ma WY, Wei JN, et al. Serum Glycated Albumin to Guide the Diagnosis of Diabetes Mellitus. *PLoS One* 2016;11:e0146780.
6. Shapiro R, McManus MJ, Zalut C, Bunn HF. Sites of nonenzymatic glycosylation of human hemoglobin A. *J Biol Chem* 1980;255:3120-7.

7. Yi L, Swensen AC, Qian WJ. Serum biomarkers for diagnosis and prediction of type 1 diabetes. *Transl Res* 2018;201:13-25.
8. Association AD. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1989;12:365-68.
9. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33:S62-S69.
10. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;359:1577-89.
11. Rifai N. Tietz Textbook of Laboratory Medicine Seventh Edition ed Elsevier, 2023.
12. Little RR, Rohlfing CL, Sacks DB, National Glycohemoglobin Standardization Program Steering C. Status of hemoglobin A1c measurement and goals for improvement: from chaos to order for improving diabetes care. *Clin Chem* 2011;57:205-14.
13. Dagogo-Jack S. Pitfalls in the use of HbA1c as a diagnostic test: the ethnic conundrum. *Nature Reviews Endocrinology* 2010;6:589-93.
14. Pani LN, Korenda L, Meigs JB, et al. Effect of aging on A1C levels in individuals without diabetes: evidence from the Framingham Offspring Study and the National Health and Nutrition Examination Survey 2001–2004. *Diabetes Care* 2008;31:1991-96.
15. Welsh KJ, Kirkman MS, Sacks DB. Role of Glycated Proteins in the Diagnosis and Management of Diabetes: Research Gaps and Future Directions. *Diabetes Care* 2016;39:1299-306.
16. Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, et al. Diabetic kidney disease: a report from an ADA Consensus Conference. *Diabetes Care* 2014;37:2864-83.
17. Ahmad J, Rafat D. HbA1c and iron deficiency: a review. *Diabetes Metab Syndr* 2013;7:118-22.
18. English E, Idris I, Smith G, et al. The effect of anaemia and abnormalities of erythrocyte indices on HbA1c analysis: a systematic review. *Diabetologia* 2015;58:1409-21.
19. Cavagnoli G, Pimentel AL, Freitas PA, Gross JL, Camargo JL. Factors affecting A1C in non-diabetic individuals: Review and meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2015;445:107-14.
20. Kim C, Bullard KM, Herman WH, Beckles GL. Association between iron deficiency and A1C levels among adults without diabetes in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2006. *Diabetes Care* 2010;33:780-85.
21. Ford ES, Cowie CC, Li C, Handelsman Y, Bloomgarden ZT. Iron-deficiency anemia, non-iron-deficiency anemia and HbA1c among adults in the US. *J Diabetes* 2011;3:67-73.
22. Camargo JL, Stiff J, Gross JL. The effect of aspirin and vitamins C and E on HbA1c assays. *Clin Chim Acta* 2006;372:206-9.
23. Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, et al. Measurement of HbA1c in patients with chronic renal failure. *Clin Chim Acta* 2013;418:73-76.
24. Patrinos GP, Giardine B, Riemer C, et al. Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations for population and sequence variation studies. *Nucleic Acids Res* 2004;32:D537-41.
25. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. *Clin Chem* 2001;47:153-63.
26. Orts JA, Zuniga A, Bello Y, Fabregat AB, Vicente AI. Hb A1c Determination by Capillary Electrophoresis is an Efficient Method for Detecting β -Thalassemias and Hemoglobin Variants. *Hemoglobin* 2016;40:335-40.
27. Armbruster DA. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. *Clin Chem* 1987;33:2153-63.
28. Cohen MP. Perspective: measurement of circulating glycated proteins to monitor intermediate-term changes in glycaemic control. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992;30:851-9.
29. Baker JR, O'Connor JP, Metcalf PA, Lawson MR, Johnson RN. Clinical usefulness of estimation of serum fructosamine concentration as a screening test for diabetes mellitus. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983;287:863-67.
30. Roohk HV, Zaidi AR. A review of glycated albumin as an intermediate glycation index for controlling diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2008;2:1114-21.
31. Selvin E, Rawlings AM, Grams M, et al. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014;2:279-88.

32. Sumner AE, Duong MT, Aldana PC, et al. A1C Combined With Glycated Albumin Improves Detection of Prediabetes in Africans: The Africans in America Study. *Diabetes Care* 2016;39:271-7.
33. Cohen MP. Clinical, pathophysiological and structure/function consequences of modification of albumin by Amadori-glucose adducts. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830:5480-5.
34. Priego-Capote F, Scherl A, Muller M, et al. Glycation isotopic labeling with ¹³C-reducing sugars for quantitative analysis of glycated proteins in human plasma. *Mol Cell Proteomics* 2010;9:579-92.
35. Dolhofer R, Wieland OH. Glycosylation of serum albumin: elevated glycosyl-albumin in diabetic patients. *FEBS Lett* 1979;103:282-6.
36. Kohzuma T, Yamamoto T, Uematsu Y, Shihabi ZK, Freedman BI. Basic performance of an enzymatic method for glycated albumin and reference range determination. *J Diabetes Sci Technol* 2011;5:1455-62.
37. Zendjabil M. Glycated albumin. *Clin Chim Acta* 2020;502:240-44.
38. Cohen RM, Sacks DB. Comparing multiple measures of glycemia: how to transition from biomarker to diagnostic test? : *Oxford University Press*; 2012. p. 1615-17.
39. Giglio RV, Lo Sasso B, Agnello L, et al. Recent updates and advances in the use of glycated albumin for the diagnosis and monitoring of diabetes and renal, cerebro-and cardio-metabolic diseases. *Journal of Clinical Medicine* 2020;9:3634.
40. Shima K, Abe F, Chikakiyo H, Ito N. The relative value of glycated albumin, hemoglobin A1c and fructosamine when screening for diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1989;7:243-50.
41. Araki T, Ishikawa Y, Okazaki H, et al. Introduction of glycated albumin measurement for all blood donors and the prevalence of a high glycated albumin level in Japan. *Journal of Diabetes Investigation* 2012;3:492-97.
42. Suzuki S, Koga M, Amamiya S, et al. Glycated albumin but not HbA1c reflects glycaemic control in patients with neonatal diabetes mellitus. *Diabetologia* 2011;54:2247-53.
43. Lu L, Pu LJ, Xu XW, et al. Association of serum levels of glycated albumin, C-reactive protein and tumor necrosis factor-alpha with the severity of coronary artery disease and renal impairment in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem* 2007;40:810-6.
44. Paradelo-Dobarro B, Bravo SB, Rozados-Luis A, et al. Inflammatory effects of in vivo glycated albumin from cardiovascular patients. *Biomed Pharmacother* 2019;113:108763.
45. Zhang Y, Gu Y, Ren H, et al. Gut microbiome-related effects of berberine and probiotics on type 2 diabetes (the PREMOTÉ study). *Nat Commun* 2020;11:5015.
46. Vistoli G, De Maddis D, Cipak A, et al. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation. *Free Radic Res* 2013;47:3-27.
47. Thornalley PJ, Rabbani N. Detection of oxidized and glycated proteins in clinical samples using mass spectrometry—a user’s perspective. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 2014;1840:818-29.
48. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J Am Diet Assoc* 2010;110:911-16. e12.
49. Arena S, Salzano AM, Renzone G, D’Ambrosio C, Scaloni A. Non-enzymatic glycation and glycoxidation protein products in foods and diseases: an interconnected, complex scenario fully open to innovative proteomic studies. *Mass Spectrom Rev* 2014;33:49-77.
50. Wu Q, Liang Y, Kong Y, et al. Role of glycated proteins in vivo: Enzymatic glycated proteins and non-enzymatic glycated proteins. *Food Res Int* 2022;155:111099.
51. Manigrasso MB, Juranek J, Ramasamy R, Schmidt AM. Unlocking the biology of RAGE in diabetic microvascular complications. *Trends Endocrinol Metab* 2014;25:15-22.
52. Rabbani N, Chittari MV, Bodmer CW, et al. Increased glycation and oxidative damage to apolipoprotein B100 of LDL cholesterol in patients with type 2 diabetes and effect of metformin. *Diabetes* 2010;59:1038-45.
53. Sadowska-Bartosz I, Bartosz G. Prevention of protein glycation by natural compounds. *Molecules* 2015;20:3309-34.