

## KORONER KALP HASTALIĞINDA SERUM SİYALİK ASİD DÜZEYLERİ

Selma SÜER GÖKMEN<sup>1</sup>, Gülseven KILIÇLI<sup>1</sup>, Fatih ÖZÇELİK<sup>2</sup>, Atilla BİRSİN<sup>2</sup>, Sendoğan GÜLEN<sup>1</sup>

### SERUM SIALIC ACID LEVELS IN PATIENTS WITH CORONARY HEARTH DISEASE

**Summary:** Atherosclerotic disease does occur so-called lesion-prone sites which are characterized by increased permeability of the endothelium to plasma proteins, such as albumin, fibrinogen and LDL-cholesterol. It has been proposed by some investigators that there is an increase in the levels of serum sialic acid in patients with coronary heart disease and sialic acid may be a cardiovascular risk factor. The increase in sialic acid levels in these patients may result from the increased desialylation of lipoproteins in atherosclerosis.

In this study, we investigated a possible relationship between the levels of sialic acid reported to be increased in sera of patients with coronary heart disease and the number of obstructed vessels, and considered the role of the increase in sialic acid levels in atherosclerosis. Periferal blood samples from patients were obtained before angiography and according to their angiography results they were divided into three groups: patients with no vessel disease, single vessel disease and double-triple vessel disease. Serum sialic acid levels were determined by the thiobarbituric acid method described by Warren. Serum lipid and lipoprotein levels were determined spectrophotometrically. In patient groups, total cholesterol ( $p < 0.01$  for all patient groups), triglyceride ( $p < 0.01$  for patients with no vessel and double-triple vessel disease,  $p < 0.001$  for patients with single vessel disease), LDL-cholesterol ( $p < 0.05$  for patients with no vessel disease,  $p < 0.01$  for patients with single vessel disease,  $p < 0.001$  for patients with double-triple vessel disease) and VLDL-cholesterol ( $p < 0.01$  for patients with no vessel disease,  $p < 0.001$  for patients with single vessel and double-triple vessel disease) levels were significantly higher, whereas HDL-cholesterol ( $p < 0.01$  for patients with no vessel disease,  $p < 0.001$  for patients with single vessel and double-triple vessel disease) levels were significantly lower when compared with control group. Total sialic acid levels in patients with no vessel disease, with single vessel disease and with double-triple vessel disease were also found to be elevated when compared with the control group ( $p < 0.001$ ). The levels of sialic acid in patients with single disease ( $p < 0.01$ ) and double-triple disease ( $p < 0.001$ ) were also found to be significantly higher than those in patients with no vessel disease. The elevation in serum sialic acid levels of patients with double-triple vessel disease were also higher than those found in patients with single vessel disease ( $p < 0.01$ ).

In conclusion, with this study we may report that serum total sialic acid levels are increased proportionally with the number of obstructed vessels in patients with coronary hearth disease and the increase in sialic acid levels may play an important role in coronary atherosclerosis.

**Key Words:** Sialic acid, lipid-lipoprotein, vessel obstruction, coronary hearth disease.

**Özet:** Atherosklerotik hastalık endotelin, albumin, fibrinojen ve LDL-kolesterol gibi plazma proteinlerine artmış geçirgenliği ile karakterize olan lezyona eğilimli bölgelerinde oluşur. Son yıllarda bazı araştırmacılar tarafından koroner kalp hastalarının serum sialik asid düzeylerinde bir artışın bulunduğu ve sialik asidin kardiovasküler bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir. Bu hastalarda gözlenen sialik asid düzeylerindeki artış atherosklerozda artmış lipoprotein desialilasyonundan kaynaklanabilir.

Bu çalışmada koroner kalp hastalarının serumunda arttığı bildirilen sialik asid düzeyleri ile tıkalı damar sayısı arasında bir ilişkinin varlığı araştırılarak, sialik asid düzeylerindeki artışın koroner atherosklerozdaki rolü irdelenmiştir. Periferal kan örnekleri hastalardan anjiyografi öncesi alınmış olup, anjiyografi sonuçlarına göre hastalar üç gruba ayrılmıştır: damarı tıkalı olmayan hastalar (N damar hastaları), bir damarı tıkalı olan hastalar (1 damar hastaları) ve iki-üç damarı tıkalı olan hastalar (2-3 damar hastaları). Serum sialik asid düzeyleri Warren tarafından tanımlanmış olan tiyobarbitürik asid metodu ile tayin edilmiştir. Sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında N damar, 1 damar ve 2-3 damar hastalarının total kolesterol (her üç hasta grubu için  $p < 0.01$ ), trigliserid (N damar ve 2-3 damar hastaları için  $p < 0.01$ , 1 damar hastaları için  $p < 0.001$ ), LDL-kolesterol (N damar hastaları için  $p < 0.05$ , 1 damar hastaları için  $p < 0.01$ , 2-3 damar hastaları için  $p < 0.001$ ) ve VLDL-kolesterol (N damar hastaları için  $p < 0.01$ , 1 damar ve 2-3 damar hastaları için  $p < 0.001$ ) düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek, HDL-kolesterol (N damar hastaları için  $p < 0.01$ , 1 damar ve 2-3 damar hastaları için  $p < 0.001$ ) düzeyleri daha düşüktü. Total sialik asid düzeyleri de N damar, 1 damar ve 2-3 damar hastalarında sağlıklı gruba göre daha yüksek bulundu (her üç hasta grubu için  $p < 0.001$ ). Sialik asid düzeyleri ayrıca N damar hastalarına göre hem 1 damar hastalarında ( $p < 0.01$ ) hem de 2-3 damar hastalarında ( $p < 0.001$ ) daha yüksek olarak bulundu. 2-3 damar hastalarının serum sialik asid düzeylerindeki artış da 1 damar hastalarına göre daha fazlaydı ( $p < 0.01$ ).

Sonuç olarak bu çalışma ile koroner kalp hastalarının serum total sialik asid düzeylerindeki artışın tıkalı damar sayısı ile orantılı olduğunu ve sialik asid düzeylerindeki artışın koroner atherosklerozda önemli rolü olabileceğini söyleyebiliriz.

**Anahtar Kelimeler:** Sialik asid, lipid-lipoprotein, damar tıkanıklığı, koroner kalp hastalığı

<sup>1</sup> Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

<sup>2</sup> Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı



## GİRİŞ

Atheroskleroz, hiperlipidemik ve dislipoproteinemik bir ortamda oluşan zedelenme ve arter duvarının buna yanıtı arasındaki multipl kompleks etkileşimlerden kaynaklanır. Atherojenik kaskadaki olaylar hem çevresel hem de genetik faktörlerden ibarettir (1). Atherosklerozun etiyojisi tam bilinmemekle birlikte plak oluşumunda özellikle lipid ve konnektif doku matriks proteinlerinin önemli rolü olduğu açıktır (2).

Sialik asid (N-asetilneuraminik asid) tüm glikoprotein ve glikolipidlerin bir komponenti olup, özellikle membrandaki glikoproteinlerde terminal olarak bulunur (3). Kanserde (4), diyabette (5) ve böbrek hastalıklarında (6) sialik asid metabolizmasında bir değişimin olduğu bildirilmektedir. Koroner kalp hastalığında (7,8) ve myokard infarktüsünde (9) serum sialik asid düzeylerinde bir artış olduğu ve artmış sialik asid konsantrasyonunun kardiovasküler mortalitenin güçlü bir habercisi olduğu (10,11) ileri sürülmüştür. Son yıllarda atherojenik hastaların LDL'sinin sağlıklıların LDL'sine göre daha düşük bir sialik asid içeriğine sahip olduğu gösterilmiştir (12,13). Biyolojik sistemlerde bir glikoproteinden sialik asid kalıntılarının uzaklaştırılması onun antijenik ekspresyonunu, reseptörler tarafından tanınmasını, fonksiyonunu ve yarılanma ömrünü etkileyebilir (14). LDL'in sialik asidini kaybetmesi onun reseptör aracılıklı alımında artışla sonuçlanır (15). Desialilenmiş LDL'in atherojenik özellik kazandığı ve agregasyona eğilimli olduğu bildirilmektedir (16,17).

Sialik asidin oligosakkaridler, glikoproteinler ve gangliozidlerin terminal ucundan ayrılışını katalizleyen sialidaz (N-asetil neuraminidaz) enzimi (18) atherosklerozda serum sialik asid düzeylerinin artışından sorumlu olabilir. Myokard infarktüsü geçirmiş hastalarda (19) ve atherosklerozlularda (20) sialidaz aktivitesinde bir artış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Koronarografik olarak ölçülmüş koroner lezyonun şiddeti ile artmış sialik asid düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğu ve koroner kalp hastalığında artmış sialik

asid düzeylerinin hücresel adhezyonundaki bozukluklarla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (7). Bu çalışmada koroner kalp hastalarının serumunda arttığı bildirilen sialik asid düzeyleri ile tıkalı damar sayısı arasında bir ilişkinin varlığı araştırılarak, sialik asid düzeylerindeki artışın koroner atherosklerozdaki rolü irdelenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Hastaların periferik kan örnekleri Kardiyoloji Anabilim Dalı tarafından sağlanmış olup, daha sonra hastalara anjiyografi yapılmış ve tıkalı damar sayıları saptanmıştır. Normal periferik kan örnekleri klinik olarak sağlıklı bireylerden elde edilmiştir. Bu bireyler hipertansiyonu olmayan, istirahat EKG'si normal olan ve serum lipid-lipoprotein düzeyleri normal sınırlar içinde bulunan yaşları 45-71 arasında değişen 26 kişiden (11 erkek, 15 kadın) oluşmaktaydı.

Hasta grubu yaşları 39-79 arasında değişen damarı tıkalı olmayan 35 kişi (22 erkek, 13 kadın), bir damarı tıkalı olan 31 kişi (24 erkek, 7 kadın) ve iki-üç damarı tıkalı olan 32 kişiden (22 erkek, 10 kadın) oluşmaktaydı. Hasta grubu oluşturulurken diyabeti ya da renal yetmezliği olan kişiler çalışmaya alınmamıştır ve hem kontrol grubundaki hem de hasta grubundaki bireyler ateş ve lökositöz yönünden incelenerek akut bir olayın varlığı bertaraf edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalardan 20'si antihipertansif, 12'si antitrombotik, 5'i ise antihipertansif + antitrombotik tedavi görmekte olup diğerleri herhangi bir ilaç almıyordu. % 50'nin üzerindeki damar tıkanıklığı patolojik olarak kabul edilmiş olup, hastanın damar tıkanıklık derecesi % 50'nin üzerinde ve 1 damarı tıkalı ise 1 damar hastası, damar tıkanıklık derecesi %50'nin üzerinde ve 2-3 damarı tıkalı ise 2-3 damar hastası olarak kabul edilmiştir. N damar hastaları anjino pectoris gibi göğüs ağrısı ile başvurmuş, "gerçekte koroner kalp hastalığı olmayan" ve anjiyografide damar tıkanıklığı %50'nin altında olup yalancı pozitif efor testi, mikrovasküler spazm (kardiyak sendrom) veya varyant anjin gösteren kişilerdi.

Sialik asid, total kolesterol, trigliserid ve HDL-kolesterol düzeylerinin tayini için serum örnekleri 12 saatlik bir açlık sonrası alınan venöz kanın 30 dakika

içinde pıhtılaştırılıp santrifüj edilmesi ile elde edilmiştir. Serum lipid ve lipoprotein düzeyleri aynı gün otoanalizör ile tayin edilirken sialik asid tayini için serum örnekleri analiz gününe kadar -70°C'ta depolanmıştır.

Sialik asid tayininde Warren tarafından tanımlanmış olan tiyobarbitürik asid metodu kullanılmıştır (21). Sialik asid tayininden önce serumlar 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile 80°C'ta 1 saat inkübe edilerek bağlı sialik asidin salıverilmesi sağlanmıştır. 25, 50, 75 ve 100 µg/ml konsantrasyonunda standard N-asetilneuraminik asid (Sigma) solüsyonları kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Kolesterol, trigliserid ve HDL-kolesterol düzeyleri otoanalizör ile tayin edilirken LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeyleri Friedewald formülünden faydalanarak hesap edilmiştir.

Hasta grupları ile kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar için Student's t testi ve Mann Whitney U testi, hasta grubunun kendi arasındaki karşılaştırmalar için One-Way Anova testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

Kontrol ve hasta gruplarına ait total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL ve VLDL kolesterol düzeyleri Tablo I'de görülmektedir. Sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında N damar, 1 damar ve 2-3 damar hastalarının total kolesterol (her üç hasta grubu için

p<0.01), trigliserid (N damar ve 2-3 damar hastaları için p<0.01, 1 damar hastaları için p<0.001), LDL-kolesterol (N damar hastaları için p<0.05, 1 damar hastaları için p<0.01, 2-3 damar hastaları için p<0.001) ve VLDL-kolesterol (N damar hastaları için p<0.01, 1 damar ve 2-3 damar hastaları için p<0.001) düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek, HDL-kolesterol (N damar hastaları için p<0.01, 1 damar ve 2-3 damar hastaları için p<0.001) düzeyleri daha düşüktü. Hasta ve kontrol gruplarındaki serum sialik asid düzeyleri Tablo II'de görülmektedir. N damar, 1 damar ve 2-3 damar hastalarının serum sialik asid düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0.001). Ayrıca N damar hastalarına göre 1 damar (p<0.01) ve 2-3 damar (p<0.001) hastalarının ve 1 damar hastalarına göre 2-3 damar (p<0.01) hastalarının serum sialik asid düzeylerindeki artış daha fazlaydı (Şekil 1).

## TARTIŞMA

Modifiye lipoproteinler, makrofajların köpük hücrelerine dönüşmesini uyararak, bazı durumlarda da direkt endotel hücre hasarı oluşturarak ateroskleroz gelişimine katkıda bulunurlar (22). Glikasyon ve oksidasyon gibi modifikasyonların (23,24) yanısıra son yıllarda LDL'nin desialilasyonu da gösterilmiştir (12,13). Aterosklerotik hastaların kanından atherojenik olarak modifiye olmuş(desialilenmiş) LDL'in izole edildiği bildirilmiştir (25). Sağlıklılara göre daha az sialik

Tablo I. Hasta gruplarda ve sağıklarda serum lipid-lipoprotein düzeyleri

Grup	n	Total Kolesterol (mg/dl)	Trigliserid (mg/dl)	HDL Kolesterol (mg/dl)	LDL-Kolesterol (mg/dl)	VLDL-Kolesterol (mg/dl)
<b>Hasta</b>						
N damar	35	208.62±50.07** VK: 24.00	157.30±84.40** VK: 53.65	43.222±10.60** VK: 24.53	133.06±45.30*** CV: 34.04	31.57±16.90** CV: 53.53
1 damar	31	205.97±41.81** VK: 20.29	177.77±89.73* VK: 50.47	37.45±7.72* VK: 20.61	134.64±39.45** CV: 29.30	35.58±18.00* CV: 50.59
2-3 damar	32	208.41±39.23** VK: 18.82	172.41±110.02** VK: 63.81	37.31±6.84* VK: 18.33	136.87±35.34* CV: 25.82	33.41±21.58* CV: 64.59
<b>Kontrol</b>	26	180.46±21.13 VK: 11.7	102.46±31.20 VK: 30.45	50.00±5.50 VK: 11.00	109.65±19.70 CV: 17.97	20.00±5.70 CV: 28.50

\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.05

(1) Karşılaştırmalar kontrol grubu ile yapılmıştır.

VK: Varyasyon katsayısı



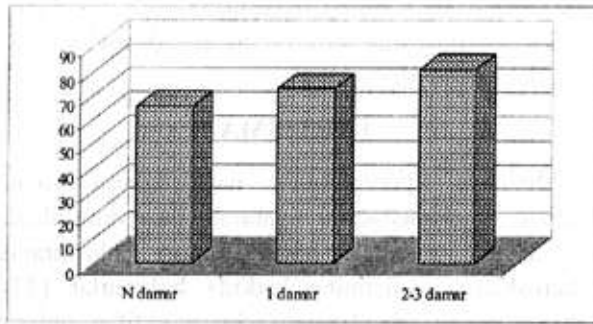
**Tablo II.** Hasta gruplarında ve sağlıklılarda serum total sialik asid düzeyleri (1).

Grup	n	Total Sialik asid (mg/dl)
<b>Hasta</b>		
N damar	35	65.18±10.23* (VK: 15.69)
1 damar	31	72.75±11.93* (VK: 16.40)
2-3 damar	32	80.50±9.23* (VK: 11.46)
<b>Kontrol</b>	26	51.67±6.20 (VK: 12.00)

\*p<0.001

VK: Varyasyon katsayısı

(1) Karşılaştırmalar kontrol grubu ile yapılmıştır.



**Şekil 1.** N damar, 1 damar ve 2-3 damar hastalarının serum total sialik asid düzeylerinin karşılaştırılması.

asid içeren (12,13) bu desial LDL'lerin agregasyona eğilimli olduğu ve bu agregatların intimal düz kas hücreleri tarafından alınarak lipid birikimi ile sonuçlandığı gösterilmiştir (16). Protein veya lipide bağlı oligosakkaridlerde terminal olarak bulunan sialik asid (26) düzeylerinin koroner kalp hastalarında arttığı gösterilmiştir (7-9). Serum total sialik asid düzeylerinin kardiyomyopati ve valf yetersizliği olan hastalarda değişikliğe uğramadığı ve sadece infarktüs ve anjina gibi koroner lezyonları olan koroner kalp hastalarında artış gösterdiği bildirilmiştir (7). Kardiyovasküler mortalitenin güçlü bir habercisi olarak kabul edilen artmış serum sialik asid düzeyleri (10,11), myokard infarktüsü (9,27) ve nefropati (28), mikroanjyopati (29), retinopati (30) gibi komplikasyonları olan diyabetik hastalarda da artmış olarak bulunmuştur.

Koroner kalp hastalarının serum sialik asid düzeylerinde bir artış bulunduğunu ve sialik asidin kardiyovasküler bir risk faktörü olabileceğini ileri süren çalışmalar göz önüne alınarak bu çalışmada koroner kalp hastalarında serum total sialik asid düzeylerindeki artışın damar tıkanıklığı ile orantılı olup olmadığı araştırılmış ve böylece sialik asid düzeylerindeki artışın koroner aterosklerozdaki rolü irdelenmiştir.

Çalışmamızda koroner kalp hastaları anjiyografi sonuçlarına göre iki gruba ayrılmış ve damar tıkanıklık derecesi %50'nin üzerinde olan ve 1 damarı tıkalı olanlar 1 damar hastası, damar tıkanıklık derecesi %50'nin üzerinde olan ve 2-3 damarı tıkalı olanlar 2-3 damar hastası olarak kabul edilmiştir. Anjiyografide damar tıkanıklık derecesi %50'nin altında olup hiç tıkalı damarı olmayan grup ise N damar hastası olarak kabul edilmiştir. Bu gruptaki hastalar gerçek koroner kalp hastası olmayan ancak anjino pektoris gibi göğüs ağrısı şikayetleri olan ve yalancı pozitif efor testi, mikrovasküler spazm (kardiyak sendrom) veya varyant anjin gösteren kişilerdi. N damar, 1 damar ve 2-3 damar hastalarının serum total sialik asid düzeylerini sağlıklı gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulduk. Ayrıca sialik asid düzeylerindeki artışın N damar hastalarına göre 1 damar ve 2-3 damar hastalarında, 1 damar hastalarına göre ise 2-3 damar hastalarında daha fazla olduğunu gösterdik.

Çalışmamızda serum total sialik asid düzeylerinin tıkalı damar sayısı ile orantılı olarak arttığı bulgusu koroner kalp hastalarının serum sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan artmış desialilasyonun sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu aynı zamanda koroner kalp hastalarında lipoprotein desialilasyonunun tıkalı damar sayısı ile orantılı olarak arttığını ve serum sialidaz aktivitesinde özellikle 1 damar ve 2-3 damar hastalarında önemli bir artış olduğunu gösteren daha önceki çalışmamız (20) ile de tutarlıdır. Koroner kalp hastalığı olan bireylerde gözlenen serum sialik asid düzeylerindeki artış lipoproteinlerin veya membran glikoproteinlerinin artmış desialilasyonundan kaynaklanabilir.

Serum total sialik asid düzeylerindeki artışta sialidaz önemli rol oynayabilir, çünkü sialidaz glikoprotein moleküllerinden sialik asid kalıntılarının uzaklaştırılmasını katalizler (18). Sialidaz tarafından sialik asid kalıntılarının uzaklaştırılması, sialokonjugatların yarılanma ömrünü, antijenik ekspresyonunu ve reseptörler tarafından tanınmasını etkileyebilen önemli bir biyolojik süreçtir (14). Sialik asid LDL'in fibroblastlar tarafından reseptör aracılıklı alımını kontrol eder ve LDL'den uzaklaştırılması LDL katabolizmasının hızlanmasına yol açar (15).

Serum sialik asidin plazma fibrinojen ve eritrosit sedimentasyon hızı ile de orantılı olduğu bulunmuştur (28). Eritrosit hücre membranının negatif yüzey yüklerinden sorumlu olan sialik asidin (31), akut myokard infarktüsü sonrası eritrositteki miktarında bir azalmanın olduğu bildirilmiştir (32). Eritrosit sialik asid içeriğindeki azalmadan da akut myokard infarktüsünde aktivitesinin arttığı bildirilen (19) sialidaz enzimi sorumlu olabilir. Bununla birlikte koroner kalp hastalarının serum sialik asid düzeylerindeki artış atherosklerozun bir sonucu da olabilir, çünkü atherosklerozda akut faz proteinlerini içeren kronik inflamatuvar bir sürecin bulunduğu ileri sürülmüştür (33). Myokard infarktüsü geçirmiş bireylerde serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artışın terminal pozisyonunda sialik asid kalıntıları içeren birçok akut faz proteininin karaciğer tarafından artmış atılımı ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (34,35). Bu yönü ile ele alındığında serum total sialik asid düzeylerindeki artışın damar tıkanıklığı ile orantılı olduğu bulgusu aynı zamanda total sialik asidin kardiovasküler mortalitenin bir habercisi olduğunu ileri süren çalışmaları (8,10,11) desteklemektedir.

Serum sialik asid düzeylerindeki artıştan serumda bulunan glikoproteinlerin artmış sialilasyonu da sorumlu olabilir. Asialoglikoprotein molekülüne sialik asid kalıntılarının transferini katalizleyen sialyltransferaz enziminin aktivitesinin trombosit agregasyonu yapan bileşikler tarafından uyarıldığı gösterilmesi (36), bu enzimin de atherosklerozda serum total sialik asid düzeyindeki artış ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda hasta gruplarında lipid-lipoprotein düzeyleri de ölçülerek sağlıklı grup ile karşılaştırılmış ve total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeylerinin daha yüksek, HDL-kolesterol düzeylerinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Lipid-lipoprotein düzeylerinin yüksek olması atheroskleroz patogenezinde tek başına önemli bir risk faktörüdür, ancak lipoproteinler, modifikasyona uğramak suretiyle bu riskin daha da artmasına neden olabilirler. Sialik asid kalıntılarının bulunduğu apoprotein B'yi (37) içeren lipoproteinler (LDL ve VLDL gibi) sialik asidlerini kaybettikleri zaman atherojenik karakter kazandıklarından, desialilasyona uğrayacak lipoprotein miktarı arttıkça, atheroskleroz riskinin de artacağı kuşkusuzdur.

Koroner kalp hastalarının serum total sialik asid düzeylerindeki artışta sialik asid sentezinin artışı, desialilasyon artışı ve akut faz reaktantlarının artışında içine alan pek çok faktör rol oynayabilir. Bu çalışma koroner kalp hastalarının serum total sialik asid düzeylerindeki artışın tıkalı damar sayısı ile orantılı olduğunu açıkça göstermektedir. Bunun total sialik asidin kardiovasküler mortalitenin bir habercisi olduğunu ileri süren çalışmaları destekleyen bir bulgu olduğuna inanıyoruz.

## REFERENCES

1. D.E. Goldstein, KM Parker, J.D. England (1982) Clinical application of glycosylated hemoglobin measurements. *Diabetes* 31 (Suppl 3), 70-78.
2. C.W. Weykamp, T.J. Penders, F.A.J. Muskiet, W. Van der Slik (1994) Effect of calibration on dispersion of glycohemoglobin values determined by 111 laboratories using 21 methods. *Clin Chem* 40, 138-144.
3. G.S. Bodor, R.R. Little, N. Garrett, W. Brown, D.E. Goldstein, M.H. Nahm (1992) Standardisation of glycohemoglobin determinations in the clinical laboratory: Three years of experience. *Clin Chem* 38, 2414-2418.
4. BIO-RAD; Hemoglobin A1c micro column test. Catalog Number 1928001/1928092, 100 tests, January 1993 edition.
5. BAYER DCA 2000+ Hemoglobin A1c Reagent Kit.
6. R.R. Little, H.-M. Wiedmayer, J.D. England, A.L. Wilke, C. L. Rohlfing, F.H. Wians, Jr., J.M.



- Jacobson, Zellmer, D.E. Goldstein (1992) Interlaboratory Standardization of measurements of glycohemoglobins. *Clin Chem* 38, 2472-2478.
7. R.R. Little, J.D. England, H.-M. Wiedmeyer, E.M. McKenzie, R. Mitra, P.M. Erhart, J.B. Durham, D.E. Goldstein (1986) Interlaboratory standardization of glycohemoglobin determinations. *Clin Chem* 32, 358- 360.
  8. G. Phillipou, P. J. Phillips (1993) Intraindividual variation of glycohemoglobin: Implications for interpretation and analytical goals. *Clin Chem* 39, 2305-2308.
  9. C.W. Weykamp, T.J. Penders, C.W.M. Siebelder, F.A.J. Muskiet, W. Van der Slik (1993) Interference of carbamylated and acetylated hemoglobins in assays of glycohemoglobin by HPLC, electrophoresis, affinity chromatography and enzyme immunoassay. *Clin Chem* 39, 138-142
  10. P. Bannon, F. Lessard, R. Lepage, L. Joly, L. Dufresne (1984) Glycated hemoglobin in uremic patients as measured by affinity and ion-exchange chromatography. *Clin Chem* 30, 485-486.
  11. C.W. Weykamp, T.J. Penders, F.A.J. Muskiet, W. Van der Slik (1993) Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem* 39, 1717-1723.