

106 Weitere Amino-Kandidaten, die mit Glucose Schiffsche-Basen bilden, sind die ϵ -Amino-Gruppe der Lysin-Reste und auch die Guanidino-Gruppe der Arginin-Reste. Beide sind jedoch weitgehend protoniert, so dass dort eine Glykierung des Hämoglobins unwahrscheinlich ist.

107 Das Glucose-Derivat ist Fructose in der Keton-Form. Aus einer Aldohexose entsteht ein Aldimin und daraus eine Keto-hexose, die ihrerseits wieder eine Schiffsche Base mit einem Amin bilden kann. Es entsteht dann ein Ketimin.

M

108 **Blutzucker-Kontrolle bei Diabetikern**
durch ...

- Bestimmung der aktuellen Glucose-Konzentration im sog. Nüchtern-Blut (nach 12-stündiger Nahrungskarenz)
- Glucose-Belastungstest: Verlauf der Glucose-Konzentration im Blut in kurzen Intervallen bis 4 Stunden nach oraler Aufnahme einer definierten Glucosemenge (bei Verdacht auf Vorliegen eines latenten Diabetes),
- Aufnahme des Blutzucker-Tagesprofils (Verlauf der Glucose-Konzentrationen über 24 Stunden),
- Bestimmung des Glykohämoglobins (HbA1c).

Die Glucose-Bestimmung mit Hilfe zweier enzymatischer Methoden (GOD/POD = Glucoseoxidase/Peroxidase oder HK/G6PDH = Hexokinase/Glucose-6-P-Dehydrogenase) zeigt die momentane Konzentration (a) bzw. für eine kurze Zeitspanne die Dynamik des Blutzuckers im Belastungstest (b) und oder im Tagesprofil (c).

Den behandelnden Arzt interessiert jedoch auch, wie in den zurückliegenden Wochen die Glucose-Konzentrationen sich verhielten, d.h. wie häufig sehr hohe Blutzuckerspitzen auftraten und/oder ob es langanhaltende Erhöhungen gab, die nicht von den Momentaufnahmen der Glucose-Bestimmung erfasst wurden. Hierfür gibt der Anteil des Glykohämoglobins einen Anhalt (d).

Warum Glykohämoglobin – und nicht andere Proteine des Blutplasmas, die ja ebenfalls glykiert werden ?
Hämoglobin wird genommen, weil es ...

- ein leicht isolierbares Protein des Blutes ist,
- in hoher Konzentration vorliegt (150 g/L, dagegen Albumin nur 40 g/L),
- eine lange Verweildauer im Blut hat (Lebensdauer der Erythrozyten 4 Monate, dagegen Halbwertszeit des Albumins maximal 3 Wochen),
- sich in glykiertes und nicht-glykiertes Hb mittels Kationen-Austauschchromatographie auftrennen lässt,
- bereits gefärbt ist (hohes Absorptionsmaximum um 400 nm, Soret-Bande) und somit photometrisch leicht bestimmt werden kann.

109 **Wie lassen sich glykiertes und nicht-glykiertes Hämoglobin voneinander trennen ?**

Das adulte Hämoglobin besteht zu 98% aus $\alpha_2\beta_2$ (HbA1) und zu 2% aus $\alpha_2\delta_2$ (HbA2). Glykiert wird vor allem die α -Amino-Gruppe des N-terminalen Valins der β -Ketten des HbA1 (deshalb HbA1c).

Diese Amino-Gruppe kann im Desoxy-Hb protoniert sein; sie ist beteiligt am BOHR-Effekt. Dem HbA1c fehlt folglich eine mögliche positive Ladung; es ist ein schwächeres Kation (oder stärkeres Anion) als das normale HbA1. Bei der Elektrophorese würde es schneller zur Anode wandern und bei der Kationenaustausch-Chromatographie weniger fest am negativ geladenen Austauscherharz hängen.

Die Ladungsunterschiede sind aber so minimal, dass beide Verfahren nicht praktikabel sind. Die Klinischen Chemiker haben es aber mit einem Trick geschafft: Borsäure reagiert mit den OH-Gruppen von Zuckern unter Bildung eines negativ geladenen Produktes. In einem Borat-haltigen Puffer hat HbA1c nicht nur eine positive Ladung weniger als HbA1, sondern an seiner Zuckerkomponente zusätzlich noch 2 negative Ladungen. Damit wird HbA1c zu einem deutlich stärkerem Anion, so dass der Unterschied in den Netto-Ladungen jetzt ausreicht, um glykiertes vom nicht-glykierten Hämoglobin zu trennen.

M

110 **Diabetes-Spätchäden sind in der Regel Gefäßschäden.**

Während die Glykierung von Hämoglobin und Plasma-proteinen harmlos ist, kann die Glykierung von Proteinen der Gefäßwände und der extrazellulären Matrix pathologische Folgen haben.

Aus Aldiminen entstehen Ketoamine, die wiederum Ketimine mit den Amino-Gruppen anderer Proteine bilden können. Es kommt zu **Quervernetzungen zwischen Proteinen**, die mitverantwortlich sind für Endothel-Läsionen und die frühzeitige Entwicklung der **Arteriosklerose** bei Diabetikern.

Auch den diabetischen **Linsentrübungen** sollen Quervernetzungen der Kristallin-Moleküle zugrunde liegen, verursacht durch Glykierung des transluzenten Linsen-Proteins.

C

105 Kondensation einer Amino-Gruppe mit Carbonyl (Aldehyd oder Keton) ergibt ein Azomethin ($-N=CH-$), auch genannt *Schiffsche Base*, das in zwei tautomeren Formen vorliegt

Kondensation

$$\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{C}-\text{NH}_2 \\ | \\ \text{H} \end{array} + \text{O}=\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ | \quad | \\ -\text{C}-\text{N}=\text{C} \\ | \quad | \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} + \text{H}_2\text{O}$$

↕ **Tautomerie**

$$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ | \quad | \\ -\text{C}=\text{N}-\text{C}- \\ | \quad | \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$$

Schiffsche Base oder Azomethin

Amin + Aldehyd = Aldimin
Amin + Keton = Ketimin