

糖尿病诊断指标糖化血红蛋白的检测方法及临床意义

李小琳, 秦 雄(综述), 欧阳林莉(审校)

作者单位: 418000 湖南, 怀化医学高等专科学校

作者简介: 李小琳(1978-), 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 内分泌疾病的诊治。E-mail: 397784702@qq.com

通讯作者: 秦 雄(1983-), 男, 大学本科, 主治医师, 研究方向: 骨科疾病的诊治。E-mail: 182197131@qq.com

[摘要] 糖尿病目前已被国际社会列为人类健康头号杀手的非传染性疾病。血糖的检测在糖尿病的诊断、治疗及预防急性和慢性并发症中尤为重要。糖化血红蛋白(glycated hemoglobin A1c, HbA1c)是反映既往2~3个月平均血糖水平的指标,用于评估长期血糖控制状况。目前HbA1c检测已经被推荐作为糖尿病诊断试验。现对HbA1c的检测方法及其临床意义作一综述。

[关键词] 糖尿病; 糖化血红蛋白; 检测方法; 临床意义

[中图分类号] R 781.6⁺4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2012)12-1195-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2012.12.36

Detection method and clinical significance of HbA1c - a new diagnostic index of diabetes mellitus LI Xiaolin, QIN Xiong, Ouyang Lin-li. Huaihua Medical College, Hunan 418000, China

[Abstract] Diabetes mellitus, one non-infectious disease, is currently considered as one main killer to human health by the international community. Detection of glycemia is particularly important to diabetic diagnosis and treatment, and prevention of its acute and chronic complications. HbA1c can reflect the level of glycemia during the past 2~3 months. And it has been recommended as a diagnostic test of diabetes mellitus at present. Now the detection method and the clinical significance of HbA1c is summarized in this paper.

[Key words] Diabetes mellitus; Glycated hemoglobin A1c; Detection method; Clinical significance

糖尿病目前已被国际社会列为人类健康头号杀手的非传染性疾病。糖化血红蛋白(glycated hemoglobin A1c, HbA1c)是反映患者既往2~3个月平均血糖水平的指标,用于评估长期血糖控制状况,是决定是否需要调整治疗方案的重要临床依据^[1]。1960年, Rahbar等^[2]首先对糖尿病患者体内异常血红蛋白进行描述。1985年世界卫生组织(WHO)的报告中第一次提到了在糖尿病管理中HbA1c的潜在用途^[3],但是由于当时HbA1c检测缺乏标准化而未被广泛使用。在上世纪80年代,虽然HbA1c开始应用于临床,并逐渐成为一个临床实践的基本指标^[4],但是许多专家认为精确测量HbA1c所存在的困难超过了其应用的方便性,并不建议采用HbA1c作为诊断试验^[5]。近年来,由于糖基化的生物化学、临床需求和管理的多样性,多种HbA1c的检测方法的建立、HbA1c检测的方便性,美国糖尿病学会(ADA)正式推荐采用HbA1c作为糖尿病诊断试

验的指标^[6]。现对HbA1c的检测方法及其临床意义作一综述。

1 HbA1c的测定方法

根据检测原理不同,HbA1c的测定方法分为两大类,一类是根据血红蛋白(Hb)所带电荷不同来区分HbA1c,包括离子交换高效液相色谱法、毛细管电泳法、等电聚焦法等;另一类是利用HbA1c与非HbA1c的分子结构差异来区别,多采用亲和色谱法和免疫化学法^[7]。

1.1 阳离子交换色谱法 原理是糖化会导致Hb分子表面阳离子丢失而使HbA1c在非HbA1c前先被洗脱。阳离子交换色谱法可用于小型、微型或大型柱层析方法或部分或全自动的高效液相色谱法(HPLC)/快速蛋白液相色谱法(FPLC),但是易受其他翻译后修饰Hb如醛亚胺型、甲酰化、乙酰化、乙醛加合物、降解物、老化人工物品和异常Hb的干扰。实验已经表明使用HPLC的方法分离HbA1c

亚组分能够达到临床精密度的需求,并且通过使用特殊的柱原料(poly-CATA)和30~40 min分离时间可以改善分离效果。所有的阳离子交换色谱法对pH值和温度的变化敏感,因此要控制pH值和温度。阳离子交换色谱法精密度高、重复性好,且操作简单,已被临床广泛采用。

1.2 电泳法 其原理是非HbA1c与HbA1c的总电荷和等电点不同,它们分别是琼脂糖凝胶和pH值梯度5.0~6.5的凝胶等电聚焦电泳分离的基础。琼脂糖凝胶电泳对Hb亚组分分辨率很小,而等电聚焦则可以更好地使亚组分分离。可能由于此方法的自动化程度不足,其重要性已经下降。

1.3 亲和层析法 其原理是硼酸与顺式-羟基结合。将血液样本中的Hb加到层析柱后,所有的HbA1c(GHb和旁链糖化的Hb;总HbA1c)与硼酸结合而非糖HbA1c通过层析柱,再加入高浓度也包含顺式-羟基的多羟基复合物,例如山梨醇后,HbA1c与硼酸结合被替换而从柱子上洗脱下来。m-氨基苯硼酸琼脂糖共价结合的亲和柱已经商品化并可用于微柱分析检测。亲和层析法受经翻译以后修饰的Hb和病理Hb的影响相对较小。但应用此方法,仅能测定总HbA1c。

1.4 免疫分析法 其原理是在缬氨酸 β -N-末端糖化的Hb提供了一个容易被抗体识别的抗原表位。可以用单克隆抗体或多克隆抗体进行放射免疫分析和免疫酶学分析测定,抗体特异识别 β 链N-末端糖化的Hb最后4~8个氨基酸组成的抗原表位。异常的Hb或翻译后经修饰的Hb对其检测结果无干扰,相对易于推广使用,但是可能受结合部位有氨基酸改变的Hb病的影响,部分受血红蛋白F(HbF)的影响。目前的免疫化学试验不仅检测HbA1c,通常也同时检测血糖糖化血红蛋白(HbA2c),因为血红蛋白A2糖化 δ 链的表位是相同的。但在大多数情况下HbA2c意义不大。上述方法检测原理不同,各有优缺点,且其检测结果受异常的或加工修饰过的Hb等干扰因素的影响程度不等。考虑到这些因素,2004年,国际临床化学联合会(IFCC)成立了研究HbA1c的工作组,旨在推进一项国际标准化计划^[8]。这项工作的重要组成部分是建立HbA1c检测的参考方法。现在,美国建立的国家Hb标准化计划(NGSP)^[9]以及IFCC逐步使各个生产商的检测设备基于标准参考方法进行校准,从而保证各实验室间HbA1c检测结果的一致性,为HbA1c作为糖尿病的诊断奠定了基础。在上述方法的基础

上,目前已经有HbA1c的即时检测分析方法(point-of-care, POCT),它有方便快捷的特点,可以在院外任何场所进行。且Sánchez-Mora等^[10]通过实验得出即时检测分析方法与传统的实验室检查方法在准确性上是一致的,这将使广大的糖尿病患者监测血糖更为便捷。

2 HbA1c测定的影响因素

影响HbA1c测定的因素主要在于两个方面,一是检测方法,如Hb的变异率、化学修饰了的Hb会由于检测方法不同而对检测结果产生不同程度的影响^[11];二是生理性因素,其中影响最大的是红细胞的更新率。红细胞生存越久,HbA1c值越高。任何能缩短红细胞寿命的因素都可以导致HbA1c值降低。维生素C(VitC)、维生素E(VitE)则通过阻止Hb糖化而降低HbA1c值^[12]。糖尿病和非糖尿病的孕妇由于低糖饮食和红细胞的寿命缩短,使HbA1c值降低^[13]。缺铁性贫血会导致HbA1c值升高^[14]。但是甘油酯的水平是否影响HbA1c值尚有不同意见。2003年,Derr等^[15]试验表明HbA1c值不受甘油酯水平的影响,而2009年,Gallagher等^[16]表明高甘油三酯血症使HbA1c值降低。因此,HbA1c的检测还需排除上述因素所造成的影响,要基于标准参考方法进行校准。

3 HbA1c检测的临床意义

HbA1c可以反映过去8~12周血浆葡萄糖的平均水平^[17]。其检测可随时进行而无需患者进行空腹等任何准备,提高了糖尿病患者检测的依从性。升高的HbA1c值是长期高糖血症的糖尿病患者相当可靠的检测指标,可以诊断糖尿病。在未治疗的个体,正常的HbA1c值临床上可以排除明显的糖尿病。ADA已经将HbA1c作为糖尿病的诊断标准并将诊断切点定为 $\geq 6.5\%$ ^[6]。但是对于尚未达到糖尿病诊断标准而存在糖调节受损(仅空腹血糖高或仅餐后血糖高)的患者,使用HbA1c作为诊断和(或)筛选指标具有一定局限性,需结合血糖的检测以明确诊断;Dong等^[18]在研究我国人群用HbA1c与口服葡萄糖耐量试验(OGTT)诊断糖尿病时,发现HbA1c具有更高的特异性,但敏感性较低,且在诊断上存在不一致性,在对心血管危险事件的预测上两者则是相近的。Heianza等^[19]研究得出在日本人群中,诊断前驱期糖尿病,单用HbA1c筛查存在漏诊现象。HbA1c诊断糖尿病的切入点 $\geq 6.5\%$ 是根据欧美国家人群的特点制定,应该考虑不同种族间存在的差异。且应用HbA1c作为糖尿病的诊断

标准需具备一定条件,即标准化的检测、变异率低而且实验结果可校准至 IFCC 标准。因此,各个国家应该根据本国实际情况决定 HbA1c 诊断标准的切入点是否适合本国人群糖尿病的诊断。虽然 ADA 已经建议将 HbA1c 在 5.7% ~ 6.4% 时作为高度危险范围,但是这一范围准确的低限尚需进一步界定^[20]。Bae 等^[21]用了 4 年时间研究朝鲜人在未来发生糖尿病的风险 HbA1c 的危险范围,得出将 HbA1c 在 5.7% ~ 6.4% 时作为高度危险范围适合朝鲜人。Hawkins^[22]研究显示不同人种 HbA1c 存在差异。英国的前瞻性研究证实,HbA1c 每下降 1%,糖尿病患者发生死亡的几率降低 21%,发生心肌梗死的几率下降 14%,发生中风的几率下降 12%,发生微血管病变的几率下降 37%,需要做白内障手术的几率下降 19%,因周围血管疾病而导致截肢或死亡的几率下降 43%,发生心力衰竭的几率下降 16%。但目前不同种族间 HbA1c 水平对于大血管及微血管并发症的预测性尚有待进一步研究。

由此可见,HbA1c 作为糖尿病的诊断和血糖监测的指标,使糖尿病的诊断和血糖的监测更为便捷,但要根据不同国家的实际情况、患者的不同血糖代谢情况,必要时还需结合即时血糖的检测合理应用。在我国,糖尿病患者 HbA1c 的检测尚未普及,并且还需要大量的研究找到适合我国人群的糖尿病诊断的 HbA1c 切入点。

参考文献

- Weykamp C, John WG, Mosca A. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c[J]. *Diabetes Sci Technol*, 2009, 3(3):439-445.
- Rahbar S, Blumenfeld O, Ranney HM. Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1969, 36(5):838-843.
- Diabetes Mellitus: Report of a WHO study Group. Technical Report Series 727[R]. Geneva, World Health Organization, 1985.
- Massi-Benedetti M. Changing targets in the treatment of type 2 diabetes[J]. *Curr Med Res Opin*, 2006, 22 (Suppl 2):S5-S13.
- Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia[R]. Geneva, World Health Organization, 2006.
- International Expert Committee. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2009, 32(2):1327-1334.
- Weykamp C, John WG, Mosca A. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c[J]. *Diabetes Sci Technol*, 2009, 3(3):439-445.
- Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, et al. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study[J]. *Clin Chem*, 2004, 50(2):166-174.
- Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, et al. The national glycohemoglobin standardization program: a five-year progress report[J]. *Clin Chem*, 2001, 47(3):1985-1992.
- Sánchez-Mora C, S Rodríguez-Oliva M, Fernández-Riegos P, et al. Evaluation of two HbA1c point-of-care analyzers[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49(4):653-657.
- Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of haemoglobin variant and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin[J]. *Clin Chem*, 2001, 47(6):155-163.
- Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS. Effect of vitamin C on glycosylation of proteins[J]. *Diabetes*, 1992, 41(2):167-173.
- Nielsen LR, Ekblom P, Damm P, et al. HbA1c levels are significantly lower in early and late pregnancy[J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(4):1200-1201.
- Tarim O, Kucukerdogen A, Gunay U, et al. Effects of iron deficiency anaemia on haemoglobin A1C in type1 diabetes mellitus[J]. *Pediatr Int*, 1999, 41(5):357-362.
- Derr R, Garrett E, Stacy GA, et al. Is HbA1c affected by glycemic instability? [J]. *Diabetes Care*, 2003, 20(5):2728-2733.
- Gallagher EJ, Bloomgarden ZT, Le Roith D. Review of hemoglobin A1c in the management of diabetes[J]. *Diabetes*, 2009, 1(1):9-17.
- Nathan DM, Turgeon H, Regan S. Relationship between glycosylated hemoglobin levels and mean glucose levels over time[J]. *Diabetologia*, 2007, 50(3):2239-2244.
- Dong XL, Liu Y, Sun Y, et al. Comparison of HbA1c and OGTT criteria to diagnose diabetes among Chinese[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2011, 119(6):366-369.
- Heianza Y, Hara S, Arase Y, et al. HbA1c 5.7-6.4% and impaired fasting plasma glucose for diagnosis of prediabetes and risk of progression to diabetes in Japan (TOPICS 3): a longitudinal cohort study[J]. *The Lancet*, 2011, 378(9786):147-155.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33 (Suppl 1):S62-S69.
- Bae JC, Rhee EJ, Lee WY, et al. Optimal range of HbA1c for the prediction of future diabetes: a 4-year longitudinal study[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 93(2):31-35.
- Hawkins R. Differences in HbA1c between Caucasians, Chinese, Indians, Malays and Eurasians[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412 (11/12):1167.

[收稿日期 2012-08-06][本文编辑 谭毅 蓝斯琪]