

血红蛋白病对糖化血红蛋白测定结果的影响

李友琼(综述), 田 矛(审校)

基金项目: 广西卫生健康委科研课题(编号: Z20200076)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院医学遗传与产前诊断中心
作者简介: 李友琼, 医学硕士, 副主任技师, 研究方向: 血红蛋白病的筛查与诊断、产前筛查与产前诊断。E-mail: liyouqiong327@163.com
通信作者: 田 矛, 大学本科, 医学学士, 主任医师, 研究方向: 遗传病筛查与诊断、产前筛查与诊断、胎儿医学。E-mail: catitian@hotmail.com

[摘要] 血红蛋白病是中国南方地区最常见的遗传性疾病之一。临床表现不一, 有的没有表型, 有的可出现不同程度的贫血, 严重类型的患者需要输血或在妊娠期可导致胎儿流产和死胎。糖化血红蛋白是反映近 2~3 个月血糖控制水平的指标, 作为糖尿病筛查和血糖控制情况的指标在临床广泛使用。近年多项研究显示, 血红蛋白病对糖化血红蛋白检测值存在干扰, 与采用的方法学有关。此外, 有研究表明, 毛细管电泳法糖化血红蛋白检测模式是一种新的血红蛋白病筛查方法。该文就血红蛋白病对糖化血红蛋白测定结果的影响作一综述。

[关键词] 糖化血红蛋白; 血红蛋白病; 地中海贫血; 异常血红蛋白

[中图分类号] R 556 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)08-0773-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.08.23

Effect of hemoglobinopathy on the determination results of glycosylated hemoglobin LI You-qiong, TIAN Mao.
Center for Medical Genetics and Prenatal Diagnosis, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Hemoglobinopathy is the most common genetic disease in southern parts of China. The clinical manifestations of the disease vary from no phenotype to varying degrees of anemia, and the patients with severe types of hemoglobinopathy need blood transfusion or severe types of hemoglobinopathy can lead to fetal abortion and stillbirth during pregnancy. Glycosylated hemoglobin(HbA_{1c}) is an indicator reflecting the level of glycemic control in the past 2-3 months. It is widely used in clinical practice as an indicator for screening diabetes mellitus and blood glucose control. In recent years, a number of studies have showed that hemoglobinopathy interferes with the detection value of HbA_{1c}, which is related to the adopted methodology. In addition, studies have showed that the detection mode of HbA_{1c} by capillary electrophoresis is a new screening method for hemoglobinopathy. This paper reviews the effect of hemoglobinopathy on the determination results of HbA_{1c}.

[Key words] Glycosylated hemoglobin(HbA_{1c}); Hemoglobinopathy; Thalassemia; Abnormal hemoglobin

我国糖尿病发病率(11.6%)较高, 如何更好地监控血糖显得尤为重要^[1-2]。血糖测定是糖尿病传统的检测项目, 但是影响因素较多。糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA_{1c})具有生物学变异小、不易受血糖波动的影响、无需空腹或特定时间采血等特点, 已经成为广泛应用于临床的指标^[3]。由于 HbA_{1c} 检测方法种类较多, 结果差异较大, 难以实现标准化, 从而未将其作为糖尿病诊断指标^[4-5]。另外, HbA_{1c} 检测也存在一些干扰因素, 其中最常见的是血红蛋白病, 这种疾病在我国南方比较普遍^[6-8]。血红蛋白病

在 HbA_{1c} 检测中影响如何, 是否与测定方法不同有关, 能否将 HbA_{1c} 测定结果作为血红蛋白病筛查的一种技术手段, 本文就这些问题的研究进展综述如下。

1 HbA_{1c} 的定义及意义

糖基化血红蛋白(glycated hemoglobin, GHb)是葡萄糖与血红蛋白的结合物, 是一类化合物的总称, 包括 HbA_{1ai}、HbA_{1a2}、HbA_{1b}、HbA_{1c}。其中 HbA_{1c} 为主要成分, 占总 GHb 的 60%, 习惯将其等同于 GHb, 它是人体血液中葡萄糖与血红蛋白 β 链 N 末端缬氨酸残基以共价键结合的稳定的化合物^[3]。HbA_{1c} 是监测

血糖中、长期控制情况的重要指标。美国糖尿病联合会(American Diabetes Federation, ADF)在2010年发布的糖尿病诊断和治疗指南中,正式提出将HbA_{1c}作为糖尿病早期诊断指标^[9]。HbA_{1c}达标既是糖尿病患者血糖控制目标,又是评价血糖管理治疗方案的有效指标。

2 HbA_{1c}的检测方法

2.1 离子交换高效液相色谱(IE-HPLC)法 检测原理是基于糖化与非HbA_{1c}所带电荷不同,从而实现分离,代表仪器是美国Bio-Rad公司的Variant II、Variant II Turbo和D-10等。国际临床化学与医学实验室联盟、美国HbA_{1c}标准化计划将该方法作为参考方法^[10-11]。IE-HPLC法的优点是精密度好,缺点主要是易受异常血红蛋白变异体的干扰导致HbA_{1c}假性升高或降低^[12]。

2.2 亲和层析高效液相色谱(AC-HPLC)法 检测原理是利用葡萄糖和血红蛋白稳定结合会产生能与硼酸盐特异性结合的顺位二醇官能团使HbA_{1c}选择性地结合在柱子上,而非HbA_{1c}先被洗脱,再用不同性质的洗脱液将HbA_{1c}洗脱,从而达到分离测定。该方法测定的是总GHb,代表仪器是美国Primus公司的Ultra2。AC-HPLC法和IE-HPLC法均具有良好的精密度,对Trinity Biotech Premier Hb9210仪器多中心的评价显示,HbA_{1c}的变异系数均小于IFCC推荐的3%上限和NGSP的2%上限^[13]。该方法可将GHb与非GHb分离,与血红蛋白的种类无关,通常不受血红蛋白变异体及其衍生物的干扰,因此可作为存在血红蛋白变异体干扰的参考方法。

2.3 免疫抑制比浊(TINIA)法 检测原理基于糖化与非HbA_{1c}结构的不同,在第一步反应中,样品的HbA_{1c}与抗HbA_{1c}抗体反应形成抗原抗体复合物,HbA_{1c}特异性抗原决定簇仅与β链发生一次反应形成聚合物,再加入载有数个HbA_{1c}抗原决定簇的多簇半抗原,该分子与第一步反应中的过剩抗体反应形成不溶性的三维免疫复合物,在测量光谱范围内测定,如果样品HbA_{1c}浓度增高,则不溶性的三维免疫复合物的形成减少,浊度下降。代表仪器试剂是德国罗氏Modular P全自动生化分析仪及其配套试剂等。该方法的优点是快速简便、易于批量检测,缺点是血红蛋白变异体常常影响检测结果,使得HbA_{1c}值假性降低^[14],脂浊血样、黄疸血样等样本因素也可造成检测结果偏差。

2.4 酶法 检测原理是在蛋白酶的作用下,切断源于HbA_{1c}的β链N末端的糖化甘氨酸谷氨酰胺,同时通过测定不同测量光谱的吸收光度差,求出血红蛋白的浓度,果糖基氨基酸氧化酶作用于糖化甘氨酸谷氨

酰胺,在过氧化物酶的存在下,生成过氧化氢,与显色基团产生显色反应,从而通过测定吸光度求出HbA_{1c}的浓度。代表仪器及试剂是德国西门子ADVIA2400生化分析仪及其配套试剂等。该方法的优点也是快速简便、易于批量检测,缺点是精密度较差,不能排除自身抗体影响检测结果^[15-16]。

2.5 毛细管电泳法 检测原理是根据HbA_{1c}与非HbA_{1c}所带电荷的不同进行分离。该方法也是国际临床化学与医学实验室联盟发布的一级参考方法。代表仪器是法国Sebia公司的Capillarys2 Flex Piercing、Capillarys3 TERA。该方法的优点是精密度好,可以很好地提示存在地中海贫血或血红蛋白变异体,从而排除影响因素,提高准确度^[17-18]。

3 HbA_{1c}与血红蛋白病

血红蛋白病是由于珠蛋白基因发生缺陷,致使珠蛋白分子的结构发生改变或致使珠蛋白肽链合成减少或缺如,从而导致的一组遗传性溶血性疾病。前者称为异常血红蛋白或血红蛋白变异体,后者称为地中海贫血或珠蛋白障碍性贫血。在我国,血红蛋白病主要见于长江以南的人群,其中广西人群血红蛋白病基因携带率最高,达到22.3%^[8]。

3.1 地中海贫血影响HbA_{1c}检测结果 轻型β地中海贫血可使HbA_{1c}的检测结果偏低,当然这也与检测仪器和检测系统有关。β地中海贫血对Bio-Rad Variant II Turbo检测结果产生一定的影响,对酶法、免疫投射比浊法、AC-HPLC法、毛细管电泳法、IE-HPLC法和化学发光微粒子法的检测结果无影响^[19]。重型β地中海贫血由于两条β肽链已经发生突变,无法合成Hb A和HbA_{1c},使用不同的系统检测得出不一样的结果。Bio-Rad的Variant II Turbo检测系统提示存在变异窗口,检测结果超出可测量范围;罗氏的Modular P和Primus Ulter2检测系统的检测结果分别为5.1%和4.0%,说明出现了错误的检测结果,容易误报和误导治疗^[20]。当中间型/重型β地中海贫血合并α地中海贫血时,Variant II Turbo检测系统检测HbA_{1c}无结果,图谱显示异常;而用罗氏的Modular P和Primus Ulter2检测系统的检测结果分别为11.2%和4.7%,显然是错误的检测结果^[20]。中间型α地中海贫血(Hb H病)时,Variant II Turbo检测系统图谱出现C窗口,检测结果偏高,但尚在测量范围,易被检测人员忽视,给出异常结果的报告单,导致临床用药可能造成低血糖昏迷风险。改用罗氏的Modular P和Primus Ulter2检测系统时,检测结果显示正常^[20]。唐娟等^[21]的研究也证实,不同的检测仪器和系统,其HbA_{1c}检测结果

差异有统计学意义($P < 0.05$)。另外有一种特殊的地贫遗传性持续性胎儿血红蛋白增多症(hereditary persistence of fetal hemoglobin, HPFH),其特点是高水平的 Hb F,由于 Hb F 所带电荷与 HbA_{1c}相近,所以在 HbA_{1c}处出现明显的高峰,严重影响微柱法测定 HbA_{1c},使得检测结果无法解释,为失真的检测结果。改用 TINIA 法时,虽然可以获得检测结果,但是由于 HbA_{1c}部分以 HbA_{1c} F 的形式存在,使得 HbA_{1c}所占百分比相对减少,不能正确反映体内的葡萄糖水平(即患者血糖控制不好,但是 HbA_{1c}结果却是正常的)^[22]。以此类推,凡是导致 Hb F 水平高的生理状态或疾病,比如新生儿、孕妇等,大部分检测方法的 HbA_{1c}检测结果可靠性差。

3.2 异常血红蛋白影响 HbA_{1c} 的检测结果 对于异常血红蛋白样本(含 Hb D、Hb S、Hb Q、Hb G、Hb J),IE-HPLC 测定 HbA_{1c}结果与 AC-HPLC 比较,差异有统计学意义,主要是 IE-HPLC 受到异常血红蛋白的干扰导致检测结果偏低或者偏高,而 AC-HPLC 几乎不受干扰,且与血糖相关性好^[23]。另外,我国人群常见的 Hb E 和 Hb J-Bangkok 对 HbA_{1c}检测结果也产生影响^[24-25]。对于 Hb Andrew-Minneapolis 不同的携带者,两者葡萄糖耐量水平和参考范围内的糖化白蛋白, HPLC(标准模式)检出是高水平的 HbA_{1c}值(分别是 6.8% 和 6.5%),而通过免疫测定法,结果却是偏低,均为 4.6%。HPLC 色谱图显示了多个异常峰,除了变异体血红蛋白和变异血红蛋白的糖基化产物外,还有两个未知峰,推测可能是与变异血红蛋白相关的修饰血红蛋白,影响了检测结果^[2]。另一类异常血红蛋白即不稳定血红蛋白,如 Hb Aalesund 由于其蛋白的不稳定性,因此使用阳离子交换的 HPLC 检测,其 HbA_{1c}结果也造成假性升高,虽然这类异常血红蛋白比较罕见,但是也应该引起注意^[26]。Hb E 是中国人群里最常见的 β 基因突变生成的异常血红蛋白,用 5 种不同的 HbA_{1c}检测系统(包含 2 个 IE-HPLC、AC-HPLC、TINIA 和酶法)进行评价其对 HbA_{1c}结果的干扰,结果发现酶法检测系统具有明显临床干扰作用,而同是 IE-HPLC 检测系统的不同机型,Bio-Rad Variant II 没有明显干扰作用,Bio-Rad Variant II Turbo 却有明显干扰作用^[24]。总的来说,异常血红蛋白可影响 HbA_{1c}检测结果,影响的程度取决于所采用的测定方法。

3.3 应用 HbA_{1c}测定模式筛查血红蛋白病 近年来,毛细管电泳作为一种先进的电泳技术,在蛋白分离方面有较大优势,特别是在血红蛋白组分检测时^[27-28]。它有多种电泳检测模式,包括血红蛋白、HbA_{1c}、同工

酶、血清蛋白等。虽然毛细管电泳法血红蛋白检测模式和 HbA_{1c}模式是分开的,但是 HbA_{1c}检测模式有特别的优势,不仅可以检测 HbA_{1c},而且能检测 HbA₂。而 HbA₂是血红蛋白病筛查的指标,因此可以作为血红蛋白病筛查的技术手段。血红蛋白检测模式 HbA₂测定值略高于 HbA_{1c}模式,但是 HbA_{1c}检测模式和血红蛋白检测模式的 HbA₂测定值具有良好的相关性(相关系数为 0.993),另外,毛细管电泳 HbA_{1c}检测模式筛查 β 地中海贫血的截距值设定为 3.38 时,敏感度为 98.2%,特异度为 100%,适用于广东人群^[19]。

4 结语

综上所述,地中海贫血有地区和人群分布的特点。广西地中海贫血的基因突变携带率几乎高于广东一倍,目前未见有广西 HbA_{1c}筛查地中海贫血的研究报道。国内外的研究报道主要集中于地中海贫血和异常血红蛋白对 HbA_{1c}检测结果的影响因素,建立适用于地区人群的 HbA_{1c}筛查地中海贫血的截距值是今后的研究热点。毛细管电泳法的 HbA_{1c}检测作为一种新的血红蛋白病筛查技术手段,进行糖尿病筛查或血糖控制评估并能同时进行血红蛋白病的筛查,一次检测可反映两种疾病状况,将大大方便血红蛋白病高发区患者的诊断并减轻经济负担,值得临床推广。

参考文献

- [1] 桂子彦,徐明明. 缺铁性贫血和地中海贫血对糖化血红蛋白测定的影响[J]. 湘南学院学报(医学版),2015,17(2):32-34.
- [2] Kuramoto N, Koshibu M, Ishibashi M, et al. Two cases with Hb Andrew-Minneapolis showing high or low-normal HbA_{1c} levels depending on the measurement method[J]. Clin Chim Acta, 2020,501:229-233.
- [3] 糖化血红蛋白测定专家共识委员会. 糖化血红蛋白测定专家共识[J]. 中华糖尿病杂志,2014,6(12):853-858.
- [4] 居漪,李卿,唐立萍. 中国糖化血红蛋白标准化之路有多远[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(11):804-807.
- [5] 张传宝,张天娇. 迎接我国糖化血红蛋白检测标准化的新挑战[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(11):797-799.
- [6] 高冉,程歆琦. 血红蛋白变异体对解读糖化血红蛋白结果的影响[J]. 中华检验医学杂志,2019,42(11):899-903.
- [7] Xu J, Zhong Z, Deng Y. Unexpected HbA_{1c} results in the presence of three rare hemoglobin variants[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2021,81(1):59-64.
- [8] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China[J]. Clin Genet, 2010,78(2):139-148.
- [9] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010[J]. Diabetes Care, 2010,33(Suppl 1):S11-S61.
- [10] Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, et al. The National Glycohemoglobin Standardization Program: a five-year progress report[J]. Clin Chem, 2001,47(11):1985-1992.
- [11] Lee JH, Kim S, Jun SH, et al. Analytical performance evaluation

- of the Norudia HbA_{1c} assay[J]. J Clin Lab Anal, 2020,34(11): e23504.
- [12] Xu A, Lei J, Li J, et al. Falsely high HbA_{1c} value due to a novel α 1-globin gene mutation: Hb Shantou[α 127(H10)Lys > Glu; HBA1: c.382 A > G][J]. Scand J Clin Lab Invest, 2018, 78(7-8):621-625.
- [13] John WG, Little R, Sacks DB, et al. Multicentre evaluation of the Premier Hb9210 HbA_{1c} analyser[J]. Clin Chem Lab Med, 2015, 53(2):319-327.
- [14] 孙利谦,金春林,张志杰,等.免疫比浊法和高效液相色谱法测定糖化血红蛋白一致性的 Meta 分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2016,24(10):885-891.
- [15] Nitta T, Yamashiro Y, Hattori Y, et al. The interference by Hb F on HbA_{1c}(BM Test HbA_{1c}) measurement in enzymatic method[J]. Ann Clin Biochem, 2015,52(Pt 5):569-575.
- [16] Lee J, Kim M, Chae H, et al. Evaluation of enzymatic BM Test HbA_{1c} on the JCA-BM6010/C and comparison with Bio-Rad Variant II Turbo, Tosoh HLC 723 G8, and AutoLab immunoturbidimetry assay[J]. Clin Chem Lab Med, 2013,51(11):2201-2208.
- [17] Xu A, Chen W, Xia Y, et al. Effects of common hemoglobin variants on HbA_{1c} measurements in China: results for α - and β -globin variants measured by six methods[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(8):1353-1361.
- [18] Chao Y, Wan Z, Wu X, et al. Identification of haemoglobin New York by haemoglobin A_{1c} measurement using the Sebia Capillarys 2 Flex Piercing system[J]. Ann Clin Biochem, 2017,54(1):178-182.
- [19] 徐安平,夏勇,纪玲,等.毛细管电泳法在 β 地中海贫血患者 HbA_{1c}和 HbA₂检测中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(5):329-332.
- [20] 索明环,温冬梅,张秀明,等.警惕糖化血红蛋白 A1c 在地中海贫血患者中误用[J]. 临床检验杂志,2014,32(2):151-152.
- [21] 唐娟,李卿,邓爽,等.对 α 地中海贫血 Hb H 病糖化血红蛋白不同检测方法结果的分析[J]. 中国糖尿病杂志,2018, 26(3):193-196.
- [22] 孙长伟,谭戈,李兴阳. HPFH 合并糖尿病 1 例 HbA_{1c}测定分析[J]. 中国冶金工业医学杂志,2006(6):729.
- [23] 陈雨,胡莹莹,郝英英,等.变异血红蛋白对糖化血红蛋白检测的影响与分析[J]. 中华医学杂志,2014,94(6):438-441.
- [24] 温冬梅,张秀明,索明环,等.血红蛋白变异体对 5 种糖化血红蛋白检测系统测定结果的干扰评价[J]. 中华医学杂志,2016, 96(2):113-117.
- [25] 凌艳英,邓家德,张锦华,等.血红蛋白异常对高效液相色谱法检测糖化血红蛋白的影响[J]. 检验医学与临床,2009,6(10): 748-750.
- [26] Grimholt RM, Fjeld B, Selsås H, et al. Hb Aalesund(HBA2: c.400_406delAGCACC), an unstable α -globin variant found in a Norwegian patient causing moderate hemolytic anemia and falsely high HbA_{1c} using ion exchange high performance liquid chromatography[J]. Hemoglobin, 2019,43(2):122-125.
- [27] You-Qiong L, Hui-Ping H, Zhi-Zhong C, et al. Comparison of capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography for detection and quantification of hemoglobin New York[J]. Clin Chem Lab Med, 2016,54(1):91-95.
- [28] 韦金花,李友琼,谭春艳,等.毛细管电泳与高效液相色谱法在 HbQ-Thailand 检测中的比较研究[J]. 中国临床新医学,2017, 10(1):21-24.

[收稿日期 2020-12-07][本文编辑 韦颖]

本文引用格式

李友琼,田矛. 血红蛋白病对糖化血红蛋白测定结果的影响[J]. 中国临床新医学,2022,15(8):773-776.