

医学生化

微柱法测定糖化血红蛋白及其临床应用

邱小麟 费政芳 金 霆

(福州市第一医院检验科, 福州 350009)

摘要 糖化血红蛋白 (HbA_{1c}) 作为一项良好的糖尿病 (DM) 患者血糖水平观测及疗效指标, 已被多数临床实验室采用。但由于精确测定 HbA_{1c} 的方法需要贵重的仪器设备, 不适合普通实验室使用。采用微柱法 (离子交换层析, BIO-RAD 试剂) 测定了 80 例正常人群及 65 例胰岛素依赖与非依赖型 DM 患者的全血 HbA_{1c} 含量, 并对该方法进行一般性评价: 5 个非 DM 与 5 个 DM 标本各重复测定 10 次, 平均 CV 值为 1.2%, HbA_{1c} 浓度为 4.8%、8.9%、15.3% 时回复实验均值为 104.2%。该方法不需特殊仪器设备且简便易行。实验结果表明: 正常人群的 HbA_{1c} 范围 4.6% ± 2.3%, 非胰岛素依赖型 DM 患者测定值 8.3% ~ 15.2%, 胰岛素依赖型 DM 患者测定值 8.5% ~ 22.4%。住院治疗的患者 HbA_{1c} 平均水平比非住院治疗者低 5.7%。HbA_{1c} 水平的高低及维持时间的长短与患者的 DM 相关症状有密切关系。

关键词 糖化血红蛋白, 糖尿病, 离子交换层析

学科分类号 R446.1

糖化血红蛋白 (HbA_{1c}) 在糖尿病 (DM) 诊断与治疗中起着重要作用^[1], HbA_{1c} 的糖链结构为 α₂ (β-G)₂, 血液中的葡萄糖浓度越高, 维持时间越长, 红细胞中形成的 HbA_{1c} 百分含量也就越高。由于血红蛋白的平均寿命为 120 d 左右, 因此 HbA_{1c} 的百分含量可反映近两个月来的血糖平均水平, 这对于用药的疗效观察及控制治疗起着重要作用。美国糖尿病控制及康复组织 (DCCT) 在为期 9 年的全美 DM 普查工作中, 采用 DIAMET (BIO-RAD 的 HPLC 分析系统, 用以测定 HbA_{1c}) 测定 HbA_{1c} 为基准, 取得很大的成功^[2]。美国临床化学协会 (AACC), 国际化学标准委员会 (IFCC) 的 HbA_{1c} 标准化工作都在进行, 1997 年 Clinical Chemistry 刊物开辟专栏来讨论 HbA_{1c} 标准化问题^[3], 可见 HbA_{1c} 的重要性已引起广泛关注。现在测定 HbA_{1c} 的方法有多种, 主要应用物理, 化学, 免疫学的手段, 将 HbA_{1c} 与非糖化血红蛋白 (HbA₀) 区别开, 但测定精度可被临床所接受的方法都需要贵重仪器设备如 HPLC、等电聚焦与毛细电泳系统、电泳质谱测定法 (ESMS) 等。本文采用的微柱法 (BIO-RAD 试剂) 不需特殊仪器, 且测定的精确度较为理想。

1 材料及方法

1.1 正常人群: 机关与工厂体检正常, 无糖尿病

史者。各型糖尿病患者为本院门诊及住院病人。

1.2 HbA_{1c} 测定 药盒由 BIO-RAD 提供 (micro-column test), 该药盒由树脂微柱 (内含弱酸离子交换树脂-磷酸盐缓冲液)、洗脱液 (洗液 a: 磷酸盐缓冲液 pH 7.0, 洗液 b: 磷酸盐缓冲液 pH 6.7) 以及溶血素组成, HbA_{1c} 标准品由 BIO-RAD 提供。分光光度计: 岛津 UV730。测定步骤: 所有冷藏试剂及标本均在 25℃ 温箱中预温 20 min。首先将 EDTA-2Na 抗凝全血 0.1 ml 加入溶血素 1.5 ml 中制成血红蛋白溶液, 将此液 0.1 ml 加入预先混匀沉淀好的树脂微柱中, 先用洗脱液 a 1.5 ml 预洗, 然后用洗液 b 洗脱 HbA_{1c} 液并与血红蛋白稀释液一同比色 (波长 505 nm), 每次测定做高、低标准各一份, 计算 HbA_{1c} 占总血红蛋白的百分含量 $HbA_{1c}(\%) = (HbA_{1c} \text{洗脱液吸光度} / \text{血红蛋白稀释液吸光度}) \times \text{患者血红蛋白浓度 (g/L)}$ 。重复性实验: DM 与非 DM 标本各 5 份, 批内重复测定 10 次。回复实验: HbA_{1c} 标志量分别为 4.8%、8.9%、15.3% (BIO-RAD 提供) 各测定 5 次, 计算回复百分值。

2 结果

2.1 正常人群与胰岛素依赖型、非依赖型患者 HbA_{1c} 测定结果 见表 1。其中 80 例正常人年龄范围

Tel: (0591) 3269975-405

收稿日期: 1999-03-30, 修回日期: 1999-07-10

23~57岁, HbA_{1c}测定范围为3.2%~6.8%, 均值4.8%, 标准差为0.4%。胰岛素依赖型7例, 3例为住院患者, HbA_{1c}测定均值9.2%, 4例为门诊病人, 均值11.4%。其余58例为非胰岛素依赖型, 年龄范围42~78岁, 30例住院患者均值8.3%, 28例门诊病人均值9.7%。

表1 正常人群及糖尿病患者 HbA_{1c}测定结果

	正常人群	胰岛素依赖型		非胰岛素依赖型	
		住院	门诊	住院	门诊
例数 (人)	80	3	4	30	28
$s/\%$	0.4	0.3	0.4	0.5	0.6
$\bar{x}/\%$	4.8	9.2	11.4	8.3	9.7

2.2 重复性实验 非DM标本平均标准差为0.07%, $CV = 1.1\%$, DM标本平均标准差为0.10%, $CV = 1.3\%$ 。HbA_{1c}标准为4.8%、8.9%、15.3%回复率分别为106.3%、102.5%、104.1%。

3 讨论

测定糖化血红蛋白有许多方法可供选择: 离子交换色谱法, 电泳法, 等电聚焦法 (糖结合于血红蛋白 β 链的N端氨基团使其等电点改变) 以及亲和色谱法等。理论上所有的糖类都可与血红蛋白结合, HbA_{1c}并不是一种单纯的化合物, 而且测定过程存在众多的干扰因素 (如甲氨酰化血红蛋白, 乙酰化血红蛋白以及变异血红蛋白及其降解产物等), 不同方法所测定的糖化血红蛋白的值不尽相同, 可比性差^[4]。DCCT与IFCC都采用 $[\beta\text{-N-}(1\text{-脱氧果糖基})\text{血红蛋白}]$ 作为测定的标准, 即本文所测定的HbA_{1c}。

ESMS (electrospray mass spectrometry) 作为HbA_{1c}的可供参比的良好方法, 可同时定量测定 α 链与 β 链结合的HbA_{1c}^[5], 其他如液相色谱仪, 毛细管电泳法都可较好地测定HbA_{1c}, 但都需要贵重仪器设备。微柱法作为一种简易快速的测定方法可被大多数的临床实验室所接受, 从本文测定结果中可见其重复性与精度良好, 在临床观察中, 测定结果与临床表现较为吻合。微柱法受温度的影响较大, 测定环境的室温最好控制在25℃, 每次测定必须做一标准测定管。

从表1中可以看出糖尿病住院患者与门诊就诊患者的HbA_{1c}之间存在差异, 住院患者明显低于门诊病人, 这与住院患者有系统的治疗有关, 而且在糖尿病的许多并发症中, HbA_{1c}测定值的高低与症状的轻重呈正相关。

血液葡萄糖测定只能反映抽血这一时刻的血糖值, 无法判断近一段时间来血糖控制程度, 使得用药量不容易掌握, 患者只好多次测定来纠正用药, 而测定HbA_{1c}可避免这些不必要的麻烦。随着糖尿病患者近年来人数比重不断增多, HbA_{1c}的临床应用将更有意义。

参 考 文 献

- 1 UK Prospective Diabetes Study Group. UK prospective diabetes study (UK-PDS) 8. Study design, progress and performance. *Diabetologia*, 1991, **34** (3): 99~105
- 2 DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complication in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1993, **329** (5): 977~986
- 3 Miedema K. Electrospray mass spectrometry for measurement of glycohemoglobin. *Clin Chem*, 1997, **43** (5): 705~707
- 4 Holzel W, Miedema K. Development of a reference system for the international standardization of HbA_{1c}/glycohemoglobin determination. *J IFCC*, 1996, **9** (3): 62~67
- 5 Roberts N B, Green B N, Morris M. Potential of electrospray mass spectrometry for quantifying glycohemoglobin. *Clin Chem*, 1997, **43** (5): 771~779

Microcolumn Test Determination of Glycohemoglobin. QIU Xiao-Lin, FEI Zheng-Fang, JIN Ting (Red Crossing Hospital of Fuzhou, Fuzhou 350009, China).

Abstract As a good object to observe the level of glucose in the blood, glycohemoglobin (HbA_{1c}) has been accepted by many clinical laboratory. The method of testing HbA_{1c} accurately need expensive equipment, not fit to routine laboratory. The microcolumn test (product of BIO-RAD) was used to determine the percentage of HbA_{1c} in the whole blood of 80 health residents and 65 insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) and non-insulin-dependent diabetes (NIDDM). 5 NIDDM samples and 5 IDDM samples were assayed 10 times each in a single test run, the average value of CV was 1.2%, the concentration of HbA_{1c} was 4.8%, 8.9%, 15.3%. The average value of the repeat runs was 104.2%. The method does not require special equipment and is simple to do. The result of the test demonstrated that the overall ranges of values for the health resident tested was $4.6\% \pm 2.3\%$; that for NIDDM samples was 8.3%~15.2%; the value of IDDM samples was 8.5%~22.4%. The level of HbA_{1c} and the time of maintain is closely associated with DM relative symptom of the patients.

Key words glycohemoglobin, diabete, cation exchange