

Добавляет
ценность диагнозу



СИНЭВО
медицинская лаборатория

ЭКСПЕРТ В ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ

Л.А. Луценко, Киевский городской клинический эндокринологический центр

Роль гликированного гемоглобина в диагностике и мониторинге сахарного диабета

Сахарный диабет (СД) в настоящее время является серьезной медицинской и социальной проблемой. Согласно прогнозам ВОЗ, к 2030 г. количество больных СД превысит 592 млн. Проблема заключается не только в распространенности СД, но и в быстром развитии осложнений, которые приводят к снижению качества жизни больного, инвалидизации и смерти.

Для этой популяции больных характерны раннее развитие и высокая частота сосудистых осложнений: при СД 2 типа – макро- (поражение церебральных, коронарных и периферических сосудов) и микроваскулярных (ретинопатия, нефропатия, нейропатия); при СД 1 типа – микроваскулярных. Особенностью течения СД 2 типа является наличие хронических осложнений на момент установления клинического диагноза, что усугубляет течение заболевания и затрудняет возможности компенсации.

В настоящее время в Украине зарегистрировано 1,3 млн больных СД. При этом данные эпидемиологических исследований указывают, что количество пациентов с недиагностированным СД в 2-2,5 раза превышает количество выявленных случаев заболевания. Таким образом, для эндокринологов, терапевтов, семейных врачей важна проблема скрининга латентного СД.

Одним из методов выявления нарушений углеводного обмена является определение уровня гликемии. При этом необходимо учитывать, что полученный результат отражает концентрацию глюкозы только на момент взятия крови, а значения гликемии существенно варьируют в течение суток. Поскольку корреляция между единично определенным уровнем глюкозы и реальным уровнем гликемии слабая, сделать вывод о достоверном наличии или отсутствии нарушения углеводного обмена у пациента между измерениями не представляется возможным. В рекомендациях ВОЗ (2006) указано, что в 30% случаев диагностировать СД, используя определение гликемии натощак, не представляется возможным.

Показателем, который дает интегрированное представление об уровне гликемии на протяжении длительного промежутка времени, является гликированный гемоглобин (HbA_{1c}). Многие исследования подтверждают взаимосвязь HbA_{1c} и уровня гликемии пациента.

В научной литературе в последние годы сложилось представление о двух, казалось бы, сходных процессах, таких как гликозилирование и гликирование. Гликозилирование, точнее трансгликозилирование, – это перенос остатка моносахарида на другой моносахарид с образованием гликозидной связи, который является ферментативным процессом. Гликирование (неферментативное гликозилирование) – это неферментативное присоединение к аминокислоте моносахаридного остатка с образованием основания Шиффа, а затем кетамина. Для данного процесса необходимы следующие условия: наличие свободных и незкранированных NH₂-групп у белка; наличие альдегидов; достаточное время контакта; способность белка быстро менять конформацию и возвращаться в исходное состояние. Таким образом, термин «гликированный гемоглобин» более точно отражает процесс специфического соединения гемоглобина эритроцитов с глюкозой. Для обозначения неферментативного присоединения сахара к белку объединенная комиссия IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) по биохимической номенклатуре рекомендует использовать термин «гликирование», который предпочтительнее определения «неферментативное гликозилирование». Существуют разные варианты

гликированных гемоглобинов: HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}. Корреляцию со степенью выраженности СД дает только вариант HbA_{1c}. Процесс гликирования необратим, его скорость (а также концентрация HbA_{1c}) прямо пропорциональна уровню гликемии.

У здоровых лиц концентрация HbA_{1c} в крови колеблется в пределах от 4 до 5,9%, у больных СД его уровень зависит от степени гипергликемии. Образовавшийся HbA_{1c} аккумулируется внутри эритроцитов и сохраняется в течение всего срока жизни эритроцита. Поскольку эритроциты, циркулирующие в крови, имеют разный возраст, рекомендуется ориентироваться на полупериод их жизни – 60 сут. Таким образом, концентрация HbA_{1c} отражает уровень гликемии пациента в среднем за 60 (до 90) дней до исследования. Наибольшее влияние на уровень HbA_{1c} оказывают последние 30 дней перед взятием анализа. Уровнем гликемии за это время обусловлено 50% величины HbA_{1c}. Таким образом, ценность определения HbA_{1c} состоит в том, что данный показатель характеризует средний уровень глюкозы в крови на протяжении длительного промежутка времени, то есть состояние углеводного обмена на протяжении последних 2-3 мес.

С точки зрения клинической ценности определение HbA_{1c} обладает рядом преимуществ в сравнении с определением гликемии:

- результат HbA_{1c} не зависит от приема пищи (возможно определение не натощак), физических нагрузок, психоэмоционального состояния пациента;
- забор крови может проводиться в любое время – HbA_{1c} стабилен в широком диапазоне температур и временном интервале;
- возможность хранения образца крови для определения HbA_{1c} при 2-8 °С до 7 сут;
- обладает существенно более низкой биологической вариабельностью.

Существует прямая зависимость между значениями HbA_{1c} и уровнем гликемии (пре- и постпрандиальным), которая представлена в таблице 1.

Интерпретация результатов HbA_{1c} может быть затруднена. Разброс значений HbA_{1c} у двух людей с одинаковым средним показателем уровня глюкозы в крови может достигать 1%, что обусловлено наличием разницы

в лабораторных технологиях и индивидуальных различиями пациентов. Это подтверждает важность стандартизации методов исследования HbA_{1c}.

Стандартизация методов исследования гликированного гемоглобина

При исследовании HbA_{1c} необходимо учитывать метод его определения и аналитическую надежность используемого способа. Еще несколько десятилетий назад отсутствовала стандартизация методов измерения HbA_{1c}, что снижало клиническую эффективность использования данного теста. В 1993 г. Американской ассоциацией клинической химии была разработана Национальная программа по стандартизации исследований HbA_{1c} (NGSP – The National Glycohemoglobin Standardization Program). В настоящее время производители тест-систем для измерения HbA_{1c} обязаны проходить проверку и получить сертификат соответствия DCCT (DCCT – Diabetes Control and Complications Trial). Американской диабетической ассоциацией рекомендовано всем лабораториям использовать тесты, сертифицированные NGSP. Основное требование, предъявляемое NGSP к методам определения HbA_{1c}, – воспроизводимость с коэффициентом вариации (CV) менее 4%. К сожалению, методы, используемые в лабораториях, далеко не всегда отвечают этим требованиям. Низкий CV является критически важным, если уровень HbA_{1c} в крови пациента близок к установленным границам компенсации СД. Значение CV выше 5% не позволяет использовать определение HbA_{1c} с диагностической целью, поскольку имеет место вероятность установления ложноотрицательного диагноза.

На сегодня известно более 20 методов определения HbA_{1c}. Условно их можно разделить на хроматографические (жидкостная хроматография,

аффинная хроматография), электрофоретические, иммунохимические, колориметрические. У каждого метода есть свои преимущества и недостатки (табл. 2).

При всем многообразии методов, предлагаемых для определения HbA_{1c}, наиболее полно соответствует современным требованиям метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), утвержденный NGSP в качестве референсного и использующийся в большинстве ведущих лабораторий мира. Суть метода состоит в сорбции всех вариантов гемоглобина на ионообменной смоле колонки с последующим их разделением по различным фракциям под действием градиента pH буфера и детектированием.

Таким образом, при выборе лабораторией анализатора для исследования HbA_{1c} преимущество следует отдавать оборудованию, поддерживающему референтный метод DCCT, каким является ВЭЖХ. Использование стандартизированных методов исследования дает лаборатории возможность получать максимально достоверные результаты исследований. Следствиями отсутствия стандартизации лабораторного метода являются высокая ненадежность и разброс результатов HbA_{1c}, что приводит к гипо- или гипердиагностике СД. Поэтому в повседневной клинической практике при получении результата HbA_{1c} врач должен выяснить, проведено ли исследование HbA_{1c} в стандартизированной лаборатории. Чрезвычайно важно, чтобы врач использовал в своей работе результаты исследований, полученные только в тех лабораториях, которые проводят исследование HbA_{1c} методами, сертифицированными NGSP. Результаты измерения HbA_{1c} должны быть выражены в предложенных IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) единицах (ммоль/моль) и соответствующих показателях NGSP (%).

Роль HbA_{1c} в оценке гликемического контроля у больных СД подтверждена результатами United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) и DCCT. HbA_{1c} – достоверный предиктор микро- и макрососудистых осложнений диабета, показатель рисков патологии беременности и плода. Согласно данным исследований, проводимых DCCT, риск развития и прогрессирования отдаленных осложнений СД 1 типа коррелирует со степенью эффективности контроля уровня гликемии, выраженное в содержании HbA_{1c} в крови. Достижение целевых показателей HbA_{1c} является ключевым моментом в предотвращении развития хронических осложнений.

Продолжение следует.

Таблица 1. Соответствие целевых значений HbA_{1c} пре- и постпрандиальному уровню глюкозы плазмы

HbA _{1c} %	Глюкоза плазмы натощак, ммоль/л	Глюкоза плазмы через 2 ч после еды, ммоль/л
<6,5	<6,5	<8,0
<7,0	<7,0	<9,0
<7,5	<7,5	<10,0
<8,0	<8,0	<11,0

Таблица 2. Основные лабораторные методы определения HbA_{1c}

Используемый метод	Преимущества	Недостатки
Ионообменная хроматография	<ul style="list-style-type: none"> • Полностью автоматический метод • Высокая воспроизводимость • Результаты не требуют подтверждения 	<ul style="list-style-type: none"> • Необходимость использования специализированного оборудования
Аффинная хроматография	<ul style="list-style-type: none"> • Сертифицированный метод • Возможность выполнения единичных исследований в кабинете врача 	<ul style="list-style-type: none"> • Высокая стоимость расходных материалов • Непрямое определение фракции HbA_{1c}
Иммунотурбидиметрия	<ul style="list-style-type: none"> • Сертифицированный метод • Возможность выполнения анализа на биохимическом анализаторе, установленном в лаборатории 	<ul style="list-style-type: none"> • Необходимость ручной пробоподготовки • Клинически значимая интерференция в присутствии гемоглобинов F (>10%), C и S
Ионообменная хроматография низкого давления	<ul style="list-style-type: none"> • Хорошая корреляция с методом ВЭЖХ 	<ul style="list-style-type: none"> • Необходимость пробоподготовки • Низкая производительность, интерференция в присутствии гемоглобина F
Аффинная хроматография с использованием микроколонок	<ul style="list-style-type: none"> • Относительно низкая стоимость 	<ul style="list-style-type: none"> • Не отвечает требованиям NGSP • Высокие трудозатраты