

[2] 刘晓玲. 主觉验光[A]. 见: 刘晓玲, 主编. 验光技术[C]. 第1版. 北京: 高等教育出版社, 2005: 31-44.
 [3] Grosvenor T. Subjective refraction[C]. in Grosvenor T(eds): Primary Care

Optometry: Anomalies of Refraction and Binocular Vision[M]. 3rd ed. Butterworth-Heinemann, 1997: 285-306.

(收稿日期: 2008-03-09)

文章编号: 1007-4287(2009)03-0384-03

离子交换 HPLC 法和亲和层析 HPLC 法检测 糖化血红蛋白结果的比较和分析

谢荣荣, 潘素芳, 于 涓, 杨光燃, 杨金奎

(首都医科大学附属北京同仁医院 内分泌科, 北京 100730)

摘要:目的 比较两种不同原理高效液相(HPLC)法测定 HbA_{1c}结果的一致性。方法 采用 Primus 的 PDQ 亲和层析高效液相仪和 Bio-Rad 的 VARIANT 离子交换高效液相仪对 87 例 2 型糖尿病患者、10 例透析的尿毒症患者和 5 例新生儿脐带血测定的糖化血红蛋白进行比较和分析。结果 两种方法的线性试验中离子交换 HPLC 法的平均回收率为 98.9%, 亲和层析 HPLC 法平均回收率为 100.9%; 精密度试验离子交换 HPLC 法的批内 CV < 1%, 批间 CV < 2%, 亲和层析 HPLC 法批内和批间 CV 均 < 2%; 87 例糖尿病患者检测结果比较没有显著性差异, $r = 0.901, P < 0.001$; 尿毒症患者 HbA_{1c}结果离子交换法均高于亲和层析法; 亲和层析 HPLC 法能准确检测新生儿脐带血的 HbA_{1c}, 而离子交换法不能测出。结论 两种方法检测 HbA_{1c}准确度很高, 都能真实的反映患者的糖化血红蛋白和血糖水平, 但检测尿毒症患者和新生儿脐带血的糖化血红蛋白结果有很大差异。

关键词:糖化血红蛋白; 高效液相; 变异血红蛋白

中图分类号: R446.11

文献标识码: A

The Comparison and analysis of HbA_{1c} detection by ion-exchange HPLC system and boronate affinate HPLC system XIE Rong-rong, PAN Su-fang, YU Mei, et al. (Department of Endocrinology, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China)

Abstract: Objective To Compare the results of HbA_{1c} detected by two different HPLC systems. Methods Blood samples of 87 diabetic patients, 10 uremic patients and 5 umbilical cord blood samples of newborns were examined by PDQ boronate affinate HPLC system and Bio-Rad ion-exchange HPLC system. Results The mean recovery rate of ion-exchange HPLC system and boronate affinate HPLC system was 98.9% and 100.9%, respectively. The within-run CV was below 1% and Run to run CV was below 2% in ion-exchange HPLC system. The within-run and Run to run CV were all below 2% in boronate affinate HPLC system; There was no significance in the HbA_{1c} results of 87 diabetic patients by ion-exchange HPLC system and boronate affinate HPLC system; The HbA_{1c} results were higher by ion-exchange HPLC system than those by boronate affinate HPLC system; Boronate affinate HPLC system could measure HbA_{1c} in umbilical cord blood samples of newborns, but ion-exchange HPLC system could not. Conclusion These two HPLC systems are accurate methods to detect HbA_{1c}, can reflect the actual glucose metabolism, but there was significant of HbA_{1c} results in uremic patients and umbilical cord blood samples of newborns by ion-exchange HPLC system and boronate affinate HPLC system.

Key words: HbA_{1c}; HPLC system; variant hemoglobin

(Chin J Lab Diagn, 2009, 13: 0384)

糖化血红蛋白测定作为糖尿病流行病学研究和判定糖尿病长期控制情况的有效监测指标, 在临床上得到广泛的应用^[1]。离子交换高效液相法检测糖化血红蛋白一直以来以其良好的准确性和稳定性在临床上得到广泛的应用, 并被认为是国际化的检测方法。近年来临床上又新出现了另外一种高效液相法检测糖化血红蛋白即亲和层析高效液相法,

本文通过用两种不同原理的方法同时检测患者的糖化血红蛋白并进行比较分析, 探讨两种方法在检测结果上的一致性。

1 材料和方法

1.1 对象 2007年12月至2008年1月在北京同仁医院门诊就诊2型糖尿病患者37例, 住院的2型糖尿病患者50例, 除外尿毒症、贫血患者, 其中男性

41例,女46例,年龄30-79岁。糖尿病的诊断标准符合WHO(1999年)^[2]诊断标准。选门诊透析的尿毒症患者10例,并采集新生儿脐带血5例。门诊患者空腹取静脉血测糖化血红蛋白,病房患者在入院第二天取静脉血测糖化血红蛋白,所有标本都当天检测。

1.2 试剂 美国Bio-Rad公司VARIANT糖化血红蛋白仪专用试剂;美国Primus公司PDQ糖化血红蛋白仪专用试剂,糖化血红蛋白校正液、低高质控液购自美国伯乐公司代理商东南公司。

1.3 仪器 美国Bio-Rad公司VARIANT糖化血红蛋白仪、美国Primus公司PDQ糖化血红蛋白仪。

1.4 检测方法 严格按仪器和试剂标准操作规程检测标本,按要求进行室内质控。VARIANT仪是离子交换高效液相法,PDQ仪是亲和层析高效液相法。

1.5 统计学处理 所有资料应用SPSS11.5软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 线性试验 将两份标准品糖化血红蛋白高值12.5%和低值5.0%按线性递增的比例关系稀释。高值:低值从0:5;1:4;2:3;3:2;4:1;5:0的比例混合后测定HbA_{1c},每个比例标本检测3次,线性结果见图1。计算实测平均值,实测均值与理论值相比较得回复率,VARIANT仪为97.5% - 99.7%,PDQ仪为100% - 102%,平均回复率分别为98.9%和100.9%。

2.2 精密度试验 取低、高质控品用两种方法在一次实验中重复测定20次,得批内精密度,每日上午检

测1次,连续测定15天,得批间精密度,结果见表1。

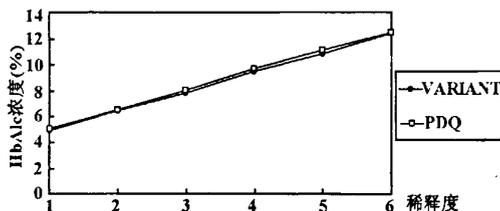


图1 两种方法测定糖化血红蛋白线性图

表1 离子交换HPLC法和亲和层析HPLC法的批内及批间精密度结果

测定方法	批内精密度				批间精密度			
	次数	\bar{x}	s	CV(%)	次数	\bar{x}	s	CV(%)
离子交换								
低值	20	5.62	0.05	0.89	15	5.58	0.10	1.79
高值	20	9.61	0.06	0.63	15	9.61	0.10	1.00
亲和层析								
低值	20	5.34	0.06	1.12	15	5.33	0.09	1.69
高值	20	9.64	0.07	0.73	15	9.59	0.07	0.73

2.3 对比实验1 将87例患者静脉血于取血当天同时用VARIANT仪和PDQ仪检测糖化血红蛋白,糖化血红蛋白均值分别为(8.63 ± 2.28)%和(8.58 ± 2.22)%,对比研究:(1)两种方法总的相关性很好,相关系数r = 0.901 P < 0.001,(2)两种方法在不同HbA_{1c}水平范围内的相关性按离子交换高效液相法测定HbA_{1c}值的分布取四分位数,比较两种方法HbA_{1c}均值在不同四分位象限内的相关性,结果见表2。

表2 两种方法测定HbA_{1c}不同四分位象限内的均值和相关性

组别	HbA _{1c} 值	例数	离子交换HPLC法	亲和层析HPLC法	相关系数
P25	< 7.1%	21	6.1% ± 0.7%	6.2% ± 0.6%	0.798**
P50	7.1% - 8.2%	21	7.6% ± 0.3%	7.5% ± 0.5%	0.599**
P75	8.3% - 9.7%	21	8.9% ± 0.4%	8.9% ± 0.5%	0.682**
P100	≥ 9.8%	24	11.5% ± 1.7%	11.3% ± 1.8%	0.962**

* P < 0.05; ** P < 0.01

2.4 对比实验2 10例尿毒症患者用两种方法检测的糖化血红蛋白进行对比,结果表明离子交换HPLC法检测结果都高于亲和层析HPLC法(见表3)。

2.5 对比实验3 5例顺产新生儿在出生时采集脐带血,用两种方法检测糖化血红蛋白结果对比(见表4)。

3 讨论

糖化血红蛋白的测定是糖尿病患者长期血糖评

估的最重要指标,治疗方案确定总是要参考一定的糖化血红蛋白水平^[3,4]。为保证糖尿病医疗质量和临床试验的合理性,必须要求有良好的实验室间结果,因此实验室里应用不同糖化血红蛋白测定方法所产生的结果可比性是非常重要的。本文通过用两种不同原理的高效液相仪测定的糖化血红蛋白进行比较,来研究两种方法之间检测结果的一致性。线性试验中离子交换HPLC法的平均回复率为98.9%,亲和层析HPLC法平均回复率为100.9%,

表 3 两种仪器测定透析的尿毒症患者结果对比

例数	离子交换 HPLC 法(A)	亲和层析 HPLC 法(B)	A-B
1	7.4%	6.0%	+1.4
2	7.1%	6.0%	+1.1
3	9.4%	8.7%	+0.7
4	5.1%	4.9%	+0.2
5	7.0%	5.6%	+1.4
6	5.9%	5.6%	+0.3
7	5.7%	4.6%	+1.1
8	6.2%	5.4%	+0.8
9	5.2%	5.0%	+0.2
10	5.9%	5.0%	+0.9

表 4 两种方法检测 5 例新生儿 HbA_{1c} 的对比

例数	离子交换		HbF	新生儿 平均血糖(mg/dl)
	HPLC 法(A)	HPLC 法(B)		
1	0.8%	3.4%	72.1%	44
2	0.9%	3.5%	65.0%	47
3	1.5%	3.8%	60.0%	58
4	0.7%	4.0%	68.5%	65
5	0.9%	4.2%	76.4%	72

线性关系很好;精密密度试验离子交换 HPLC 法的批间 CV < 2%, 批内 CV < 1%, 亲和层析 HPLC 法批间和批内 CV 都 < 2%, 精密密度试验表明两种仪器的准确度都很高。对比实验 1 中两种原理的高效液相仪测定的结果相近, 两者没有显著性差异 $r = 0.901$, 当糖化血红蛋白值 $\geq 7.1\%$ 时, 相关性逐渐增高, 当 $\geq 9.8\%$ 时相关性更好。对比实验 2 中尿毒症患者糖化血红蛋白水平 VARIANT 仪检测结果都高于 PDQ 仪, 分析原因与两种方法的检测原理有关, 离子交换高效液相是利用 HbA_{1c} 与其他血红蛋白带电性的不同, 通过离子交换的管柱达到分离目的, 故受与 A1C 带电性相似的变异血红蛋白和血红蛋白衍生物的影响^[5], 而亲和层析高效液相则是利用葡萄糖和血红蛋白稳定结合产生 cis-diol 官能基与硼酸盐进行特异性结合, 利用管柱层析来分析所有被糖化的血红蛋白, 不受异常血红蛋白和血红蛋白衍生物的影响, 特异性强^[6]。尿毒症患者由于肾功能严重受损, 血红蛋白含量较低, 患者体内有过多的尿素生成, 其代谢产物结合于 Hb 的 α 链及 β 链 N 端的氨基, 形成氨基甲酸 Hb (carbamylHb), 由于它的等电点和糖化血红蛋白相似, 在离子交换方法中会极大影响 HbA_{1c} 值的准确性^[7], 对比实验 2 结果与有关报道的在离子交换高效液相系统中检测尿毒症病人的 HbA_{1c}, 其值将会增高 0.47% - 1.1%^[8] 一致。对比实验 3 中, 亲和层析 HPLC 法检测的 HbA_{1c} 结果和新生儿平

均血糖, 与文献^[9]中报道的新生儿脐血糖值大约为孕母血糖的 59%, 范围在 (54 - 108)mg/dl 大致符合, 亲和层析高效液相法能正常检测出新生儿的 HbA_{1c} 值, 反映其平均血糖浓度, 而离子交换高效液相法不能真实检测其浓度, 分析原因是新生儿脐带血中含有大量 HbF, 大约为 70%, 它的等电点与 HbA_{1c} 比较接近, 在检测过程中, HbA_{1c} 的峰大部分叠加在 HbF 峰中, 所以 HbA_{1c} 的值大大偏低或根本检测不出, 故离子交换 HPLC 法不能真实反映其浓度, 而亲和层析 HPLC 法不受其影响, 此结果与王虹, 高颖等文献^[6]的结论一致。

综上所述亲和层析高效液相仪和离子交换高效液相仪测定糖化血红蛋白都能很好的反映患者的血糖水平, 但亲和层析高效液相法不受变异血红蛋白和糖化血红蛋白衍生物的影响, 更能客观的反映所有被糖基化的血红蛋白, 此结论在 Seung-Tae Lee, Cas W. Weykamp 等的文献^[10]中也有报道, 故亲和层析高效液相法适用检测人群的范围要比离子交换高效液相法广泛, 应该得到更广泛的应用。

作者简介: 谢荣荣 (1975 -), 女, 主管技师, 主要从事同仁医院内分泌科实验室检验工作。

参考文献:

- [1] 纪立农. 糖化血红蛋白在糖尿病诊断和治疗中的意义及其控制目标 [N/OL]. 中华医学信息导报, 2005, 7.
- [2] 万士林, 陈林, 庄俊华. 糖尿病的诊断标准与实验室检测 [J]. 国外医学临床生物化学与检验分册, 2001, 22(2): 104.
- [3] Stratton IM, Alder AJ, Nell HA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study [J]. Br Med J, 2000, 321(7258): 405.
- [4] Krishnamurti U, Steffes MW. Glycohemoglobin: a primary predictor of development or reversal of complications of diabetes mellitus [J]. Clin Chem, 2001, 47(7): 1157.
- [5] 王 剑, 张 森. 糖化血红蛋白的检测进展 [J]. 中国血液流变学杂志, 2005, 15(2): 340.
- [6] 王 虹, 高 颖, 纪立农. Primus Ultra2 亲和层析 HPLC 系统在糖化血红蛋白检测上的临床应用 [J]. 中国医学检验杂志, 2006, 7(3): 185.
- [7] 王 笠, 李 琳, 王 达, 等. 糖化血红蛋白的检测和临床应用 [J]. 上海医学检验杂志, 2003, 18(2): 119.
- [8] Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin [J]. Clin Chem, 2001, 47: 153.
- [9] 李 晖, 朱忠良, 李桂林, 等. 新生儿血糖动态变化的探讨 [J]. 临床儿科杂志, 2001, 19(2): 84.
- [10] Seung-Tae Lee, Cas W Weykamp, Yong-Wha Lee, et al. Effects of Hemoglobin Variants on the Measurement of Glycohemoglobin by 14 Analytical Methods [J]. Clin Chem. 2007, 53(12): 2202.

(收稿日期: 2008 - 05 - 19)