

• 个案与短篇 •

不同原理不同方法在测定糖化血红蛋白中的应用比较

刘艺军

(江苏省涟水县人民医院检验科, 江苏涟水 223400)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.08.075

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2013)08-1053-02

糖化血红蛋白(HbA1c)是人体血液中红细胞内的血红蛋白与血糖经共价键结合形成的,这个过程不需要酶的参与,其合成过程比较缓慢、如果一旦形成,就不再解离,是一种不可逆反应,持续存在于红细胞内保持 120 d 左右。合成速度取决于红细胞所处的环境中的葡萄糖的浓度。因此,全血中 HbA1c 占血红蛋白的百分含量反映了 120 d 之前的平均血糖水平,是健康人群中糖尿病普查和糖尿病患者在规定时间内血糖控制水平的良好指标。本院是用 BIO-RAD Diastat 糖化血红蛋白仪检测 HbA1c,同时用 HITACHI 7600 全自动生化仪进行检测糖尿病患者血样中 HbA1c 值,以比较这两种方法的差异程度。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2012 年 1 月 1 日至 6 月 30 日住院或门诊糖尿病患者 120 例。其中男 76 例,女 44 例,年龄 40~69 岁。同份标本用 2 种不同的方法测定其血样中 HbA1c 值。

1.2 仪器与试剂 胶乳增强免疫法试剂由四川迈克生物科技股份有限公司提供。HITACHI 7600 全自动生化分析仪检测。试剂由 BioSystems 提供。

1.3 方法 采用 BIO-RAD Diastat 糖化血红蛋白仪法。方法是利用离子交换层析及梯度洗脱技术从经过溶血处理全血中分离血红蛋白各种变异体及亚型,在 415 nm 处检测、记录、并自动计算结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 11.0 进行统计学分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

120 例糖尿病患者 HbA1c 胶乳增强免疫法与 BIO-RAD Diastat 糖化血红蛋白仪法测定结果,前者为 $(9.93\pm2.42)\%$,后者为 $(8.82\pm2.89)\%$ 。胶乳增强免疫法与微柱法测定血清 HbA1c 比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

目前临床已广泛开展检测患者血糖工作。多数人已意识到空腹和餐后 2 h 血糖监测的重要性,并常常把二者的测定值作为控制血糖的标准。其实不然,空腹和餐后 2 h 血糖是诊断糖尿病的标准,而衡量糖尿病控制水平的标准是糖化血红蛋白。空腹血糖和餐后血糖是反映某一具体时间的血糖水平,容易受到进食和糖代谢等相关因素的影响。糖化蛋白是蛋白质与还原糖之间非酶促的化学反应所形成的产物,当氨基酸与葡萄糖结合时形成不稳定的希夫碱,而后转化成稳定的酮化氨基酸。糖化血红蛋白可以稳定可靠地反映出患者检测前 120 d 内的平均血糖水平,故对血糖或尿糖波动较大的患者来说,采用糖化血红蛋白来诊断或追踪病情的发展有其独特的临床意义^[1],且受抽血时间,是否空腹,是否使用胰岛素等因素干扰不大。因此,国际糖尿病联盟推出了新版的亚太糖尿病防治指

南,明确规定糖化血红蛋白是国际公认的糖尿病监控“金标准”。如果空腹血糖或餐后血糖控制不好,糖化血红蛋白就不可能达标。许多研究发现糖尿病患者发生糖尿病性肾病,动脉硬化,白内障等并发症时,其体内 HbA1c 的浓度远高于没有并发症的患者。因此,有关专家建议,如果糖尿病患者血糖控制已达标,并且血糖控制状态较为平稳,每年至少应该接受 2 次 HbA1c 检测;对于那些需要改变治疗方案,或者血糖控制状态不稳定的患者,及正在进行胰岛素治疗的患者,应该每 3 个月进行 1 次 HbA1c 测定^[2]。

HbA1c 检测方法很多,国内以比色法、离子交换层析法及电泳法较常用^[3]。本院用 2 种方法对 120 例糖尿病患者的 HbA1c 检测,结果表明,除 3 例离子交换层析法的 HbA1c 高于胶乳增强免疫法外,其他全部低于胶乳增强免疫法。两者测定 HbA1c 差异有统计学意义($P<0.05$)。虽然离子交换层析法与胶乳增强免疫法在测定 HbA1c 上有高度的相关性($r=-0.95$)但两者差异有统计学意义($P<0.05$)。原因为 BIO-RAD Diastat 糖化血红蛋白仪法采用的是 HbA1C 四梯度洗脱法,即是针对 HbA1C 采用 4 种对应浓度试剂梯度洗脱法来分离糖化血红蛋白。其结果的精确度会受到影响,同时层析柱中树脂的效能会影响测试结果的准确性。溶解性气体对测试结果也有影响。该法操作受到人工因素影响,可能会洗脱不完全或过度洗脱,并受外界环境温度的影响,而某些血红蛋白如 HbF、HbH、HbBart's 异常增加时,也会与 HbA1 C 同时洗脱而使结果产生偏差,抗凝剂 EDTA 和氧化物不影响结果,肝素可使结果增高,标本放置室温 24 h 可使结果偏高,贮 4℃ 冰箱可稳定 5 d,层析时要求在 28℃ 进行,如果温度过高或过低,则结果误差也较大。胶乳增强免疫法的原理是利用抗原抗体反应直接测定总血红蛋白中 HbA1c 的百分含量。即样品中 HbA1c 与胶乳有相同的非特异性吸附而固相化,当加入 HbA1c 的特异性单克隆抗体后形成胶乳 HbA1c 鼠抗人 HbA1c 单克隆抗体的复合物而形成凝集,凝集量因胶乳表面固相化的 HbA1c 量的不同而不同。通过测定其吸光度并与 HbA1c 百分浓度的标准曲线比较后,可求出样品中的 HbA1c 占总血红蛋白的百分含量。用 HITACHI 7600 全自动生化分析仪上进行测定。操作简便、快速;适合于大批量标本的检测;特异性和敏感性较好,且不受非糖化血红蛋白和不稳定的糖化血红蛋白的中间产物的影响。因其实验参数恒定、实验条件可控制等优点,从而改变手工操作带来的误差,使测定结果稳定、可靠^[4-5],大大提高了反应的灵敏度。为临床提供了一种快速、准确、可靠、简便的常规方法。

参考文献

[1] 何玲,陈廷福.尿糖、血糖糖化血红蛋白关系探讨[J].中国医药指

南, 2011, 9(14): 240-241.

[2] 龙淑芳, 谢妮. 糖化血红蛋白测定在 62 例糖尿病患者控制血糖水平中的作用[J]. 中国社区医师, 2006, 22(12): 28-29.

[3] 齐为民, 朱文芳. 单克隆抗体乳胶增强免疫法检测 HbA1c 的评价[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(2): 215-217.

[4] 李龙平, 汤建华, 谭亮南. 胶乳增强免疫透射比浊法测定全血糖化

血红蛋白 A1c[J]. 现代检验医学杂志, 2004, 19(6): 1-2.

[5] 林岚, 彭必江, 杜红心, 等. 离子交换高效液相色谱法测定糖化血红蛋白的初步评价[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(30): 7377-7378.

(收稿日期: 2012-12-29)

• 个案与短篇 •

CK-MB 假性增高的诱因探讨(附 2 例报道)

朱 峰¹, 代荣琴², 张金彪¹

(1. 沧州中西医结合医院实验诊断科, 河北沧州 061001; 2. 沧州医专检验教研室, 河北沧州 061001)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.08.076 文献标识码: C 文章编号: 1673-4130(2013)08-1054-01

血清肌酸激酶(CK)有三种同工酶:(CK-MM、CK-BB、CK-MB)。CK-MB 是临床诊断心肌损伤的常用指标, 一般情况下 CK-MB 值会小于 CK 值, 但由于方法学局限, 在临床工作中常会遇到 CK/CKMB 倒置现象。

1 临床资料

1.1 病例 1 患儿, 男, 3 周, 因腹泻、呕吐, 发热, 抽搐 2 次入院诊治, 经查体及相关检查后诊断为病毒性脑炎。其中无心音异常、心脏病理性杂音及心律失常等心脏异常体征, 心电图未见 ST 段异常, 超声心动图检查大致正常。化验肌红蛋白及肌钙蛋白均正常, 而心肌酶谱表现 CK 80 U/L, CK-MB 113 U/L。CK-MB 大于 CK。

1.2 病例 2 患者, 女, 56 岁, 长年咳嗽, 胸闷, 偶咳血, 因加重 1 个月入院诊治。经查体及相关辅助检查诊断为肺癌, 血型为 O 型, 无心悸、心前区疼痛等心脏病临床症状, 其中化验心肌酶谱表现 CK-MB 1 023 U/L, 检测值远大于 CK, 肌红蛋白及肌钙蛋白均正常。

2 讨 论

目前, 国内实验室对 CK-MB 的检测广泛应用免疫抑制法, 该方法原理是建立在 M 亚基能被抗 M 亚基抗体有效的抑制, 不表现其活性, 同时由于血清 CK-BB 含量非常低, 而被忽视的基础之上检测亚基 B 的活性, 结果再乘以 2 得到 CK-MB 的活性。但当患者血清中 CK-BB 含量增高或者产生巨 CK 时, CK-MB 的检测值会假性增高, 甚至 MB/CK 出现倒置。方法的局限性是导致 MB 假性增高的根本原因。病例 1 是病毒性脑炎患儿, 病毒对脑组织细胞的严重损伤导致脑组织分泌 CK-BB 增加, 此时患儿血清中的 BB 含量不能被忽视, 检测 MB 时其实含有了 BB 的成分, 最后再乘以 2 倍, 结果造成 MB 明显假性高于 CK 总值。病例 2 是 1 例肿瘤患者, 有资料报道 CK-MB 检测值大于 CK 的病例 95% 多发于 O 型或是 B 型血的恶性肿瘤患者中^[1], 其主要原因可能是部分恶性肿瘤患者免疫系统紊乱, 由于癌细胞刺激产生的免疫球蛋白可作为底物或辅酶与试剂发生反应, 其反应的方向速度及曲线与 CK-MB 的反应大致相同。导致 CK-MB 的测定值大于 CK 的测定值, 也可以将其视为鉴别恶性肿瘤的指标之一。另有文献表示恶性肿瘤患者血中出现了巨 CK(蛋白电泳时, CK 和 CK-MB 之间会出现深带, 即为巨 CK)。巨 CK 包括巨 CK1 和巨 CK2, 巨

CK1 是脑组织长期缺氧, 释出的 CK-BB 在血中与 IgG 或 IgA 聚合的产物; 巨 CK2 是线粒体 CK 在细胞严重损伤后, 释放至血中聚合而成的巨分子酶, 它与恶性肿瘤密切相关, 可作为肿瘤标志物。因为巨 CK 分子是聚合物不能被抗 M 亚基抗体有效的抑制, 所以在检测 B 亚基活性的同时 M 亚基没有被抑制, 结果 CK-MB 的检测水平会假性增高。

总之, 在检验工作中遇到 CK-MB 比例增高或者是 MB/CK 出现倒置的现象时要分析原因, 虽然是方法学缺陷造成的, 但也有其临床诊断价值。要善于总结经验, 归纳这种现象出现时的临床意义, 才能够更有价值的提示临床对疾病正确诊断。结合笔者两例患者, 如果是婴幼儿或儿童, 出现 CK-MB 假性增高时, 首先要排除患儿无心脏疾病, 无感染等, 除外标本溶血以及患儿生理个体差异^[2], 因为由于生理差异, 有的健康幼儿脑组织分泌的 CK-MB 水平高于成人, 但不至于 MB/CK 出现倒置现象。此时应该考虑是不是脑组织损伤或存在恶性肿瘤, 及时的提示临床进行排查诊断。如果 CK-MB/CK 倒置遇到成人尤其是老年人, 再排除心脏疾病、感染、标本溶血、脑组织疾病等情况下, 无原因的 CK-MB 明显增高, 出现比例倒置, 应该高度怀疑患者恶性肿瘤的可能^[3-4]。有时候临床医生对这样的结果疑惑不解, 认为是检测错误, 其实不然。应该耐心的与临床沟通, 帮助临床准确诊断。

参考文献

[1] 姬登成, 屈晓威, 纪霞. CK-MB 检测值大于 CK 检测值的原因分析及解决方法初步探讨[J]. 延安大学学报: 医学科学版, 2009, 7(4): 158.

[2] 吕礼应, 张敏, 杨九华, 等. 婴幼儿血清 CK 正常而 CK-MB 活性增高的临床意义[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(3): 177-178.

[3] 庞丹凤, 冯献光, 林芝锋, 等. CK、MB/CK 比值倒置 56 例 CK、MB 质量检测结果分析[J]. 临床合理用药杂志, 2012, 5(10): 59-60.

[4] 陈建芸, 石玉玲, 李林海, 等. CK-MB/CK 倒置 22 例 CK-MB 质量检测结果分析[J]. 实用医学杂志, 2009, 38(18): 3148-3149.

(收稿日期: 2012-08-09)