

УДК 612.111.11/13:542.2

НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА

В.А. Королев

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского

ДП «Клинический санаторий Мисхор» ЗАО Укрпрофздравница

Крымское республиканское учреждение «Территориальный центр экстренной медицинской помощи службы медицины катастроф»

Для лучшего понимания клинико-диагностического значения гликированного гемоглобина нами разработан экспериментальный метод, который включает изоэлектрическое фокусирование с последующей фотоколориметрией (метод ИЭФ+ФК). Проанализированы основные критерии аналитической надежности ИЭФ+ФК. Метод апробирован на 157 больных, из которых 76 больных сахарным диабетом (СД) и 81 больной с отсутствием явного СД.

Ключевые слова: гемоглобин, методы определения.

For the best comprehension of the clinicodiagnostic value of glycated hemoglobin we developed an experimental method which includes isoelectric focusing with subsequent photocolormetry (the IEF+PhC method). The basic criteria of analytical reliability of the IEF+PhC method were analysed. The method was tested on 157 patients, from which 76 had diabetes mellitus (DM) and 81 patients had no obvious DM.

Key words: hemoglobin, methods of determining.

Введение

Различают более 30 апробованных методов для определения гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}). Они начинаются с малоточных лабораторных систем или ручных микроколоночных методов до высокоточных автоматизированных систем для определения. Существующие способы определения HbA_{1c} могут быть разделены на три группы [12, 17]. Первая группа включает методы, основанные на различии электрического заряда молекул гликозилированного и негликозилированного гемоглобина. Например, катион-обменная хроматография (КОХ) и хроматография под высоким давлением [27], электрофорез в агаровом геле [21], изоэлектрическое фокусирование (ИЭФ) [23]. Вторая группа включает приемы, основанные на структурном различии между гликированными и негликированными компонентами. Например, боронат аффинная хроматография [19] и иммунологический способ [9]. Третья группа включает методы, которые основаны на химической реактивности HbA_{1c}. Это фотоколориметрические методы [1].

Несмотря на многообразие способов определения HbA_{1c}, данный показатель все еще остается «экзотическим». Уровень HbA_{1c} регулярно определяют менее 1% больных сахарным диабетом (СД) [5]. Для определения уровня в настоящее время поставлен вопрос о разработке альтернативных, принципиально новых методов определения HbA_{1c} [26]. В последние годы появились данные, свидетельствующие о том, что показатель гликозилированного гемоглобина понимается не должным образом [24].

Цель работы. Для лучшего понимания клинико-диагностического значения гликозилированного гемоглобина нами создан экспериментальный метод, включающий ИЭФ с последующей фотоколориметрией (метод ИЭФ+ФК).

Материалы и методы

Обследовано 157 больных, среди которых 76 больных сахарным диабетом (СД) и 81 больной с различными заболеваниями, которые составляют варианты метаболического синдрома и влияют на СД [3].

Таблица – Условные сокращения, часто встречаемые в тексте статьи

HbA _{1c}	гликозилированный гемоглобин
КОХ	катион-обменная хроматография
ИЭФ	изоэлектрическое фокусирование
СД	сахарный диабет
ИЭФ	метод изоэлектрического фокусирования с последующей фотоколориметрией
ЧДА	чистый для анализов
ХЧ	химически чистый
ТБК	тиобарбитуровая кислота
ТХУ	трихлоруксусная кислота
Е	экстинкция при определенной длине волны
Гл	уровень гликемии
пре Гл	препрандиальная гликемия
Гл 12	гликемия в 12 часов
Гл 17	гликемия в 17 часов
Гл 21	гликемия в 21 час
СГ	гликозурия за сутки
СП	протенинурия за сутки
ИМТ	индекс массы тела
ОХС	общий холестерин сыворотки
ДЗ	длительность заболевания
ВБ	возраст больных
М	молярная концентрация
pI	изоэлектрическая точка

ческого синдрома и влияют на СД [3]. Нормальные значения уровня HbA_{1c} были получены из National Glycohemoglobin Standardization Program [20].

Сущность метода «ИЭФ+ФК» для определения уровня HbA_{1c} заключается в следующем. Сначала готовят градиентные растворы. Для этого создают исходный трис-буфер – к 1 литру дистиллированной воды добавляют 0,01 М борную кислоту (620 мг) и вносят трис (C₄H₁₁O₃N) до pH 7,8-8,0 (примерно 500-700мг). Затем готовят три раствора: раствор N1 – 4 мг рибофлавина и 0,04 мл тетраэтил-метиленамина (темеда) добавляют к 100 мл исходного буфера; раствор N2 – 0,24 мл темеды и 24 мл раствора N1 добавляют к 600 мл исходного буфера, измеряют pH; раствор N3 – 45 мл раствора N2 добавляют к 55 мл глицерина (ЧДА или ХЧ), тщательно перемешивают, измеряют pH. Значения pH растворов N 2 и N 3 являются конечными точками графика, по которым определяли значения pH двух градиентных растворов для ИЭФ

6,9-7,5, соответствующих изоточке HbA_{1c} (рI при ИЭФ в борат-полиольной системе 7,2-7,3). Эти два градиентных раствора готовят путём титрования раствора N 3 в раствор N 2, соответственно, в двух тёмных сосудах (по 50 – 100 мл). К градиентным растворам добавляют акриламид и метиленбисакриламид, соответственно, 68 и 2,03 мг на 1 мл раствора. Тёмные сосуды с градиентными растворами подписывают (номер, рН, дата приготовления) и хранят при температуре +1 +4°C в холодной камере. Перед исследованием берут капилляры – стандартные (диаметр 1 мм, длина 60 мм). Заполняют капилляры сначала градиентным раствором с более щелочным рН, затем с более кислым рН. В начале капилляра оставляют свободное место (примерно 1/5 часть капилляра) для внесения исследуемого материала. Осуществляют фотополимеризацию под лучами дневного света (не менее 5-6 часов) до образования гелей. Капилляры с полиакриламидным гелем вставляют в аппарат для электрофореза (использован аппарат ПЭФ-1 с резиновыми пробками с заранее проколотыми иглой отверстиями). Перед исследованием у пациента берут цельную кровь и готовят гемолизаты любым способом. Гемолизаты вносят в капилляры при помощи шприца на 2,0 или инсулинового, вставляют капилляры в аппарат для электрофореза, последний заполняют трис-боратным буфером, проводят ИЭФ не менее 14 часов при напряжении не менее 20 в/см и температуре +1 +4 С (в холодильной камере). После проведения ИЭФ каждый капилляр извлекают из аппарата и проводят гомогенизацию с 2 мл дистиллированной воды. Помещают 2 мл гомогената в пробирку с притёртой пробкой, приливают 1 мл 0,6 М щавелевой кислоты, перемешивают встряхиванием. Пробы помещают на 1 час на кипящую водяную баню. Охлаждают до комнатной температуры на воздухе. Приливают 1 мл 40% трихлоруксусной кислоты (ТХУ), перемешивают встряхиванием. Через 10 минут центрифугируют в течение 10 минут при 3000 об/мин. К 3 мл центрифугата приливают 0,75 мл 0,05 мл ТБК, перемешивают встряхиванием. Инкубируют 40 минут при 40 градусах С на водяной бане. Колориметрируют на спектрофотометре при длине волны (λ) 443 нм против холостой пробы. Приготовление холостой пробы: 2 мл H₂O + 1 мл 0,3 н щавелевой кислоты + 0,75 мл 0,05 М ТБК – инкубировать вместе с опытными пробами. Расчёт проводят по формуле:

$$\frac{E_{443}}{0,029} * 3,3 = \%HbA1c$$

где E₄₄₃ значение оптической плотности исследуемой пробы; 0,029 – значение оптической плотности, соответствующее 1% гликозилированного гемоглобина, 3,3 – коэффициент, учитывающий, что гидролиз неполный и осуществляется на 30%. Использовали международную классификацию болезней 10 пересмотра, классификацию манифестного (явного) СД [2] и цели лечения этого заболевания, предложенные European Diabetes Policy Group в 1998–1999 [13, 14].

Результаты

Для оценки аналитической надежности метода ИЭФ+ФК изучали воспроизводимость, чувствительность метода, специфичность его, а также сравнивали значе-

Таблица 1 – Воспроизводимость метода ИЭФ+ФК в различных сериях

Показатель	Примеры				
	1	2	3	4	5
HbA _{1c} , %	4,32	3,18	2,62	4,89	2,39
	4,55	3,64	3,40	4,89	2,50
	4,55	3,86	3,41	5,12	2,61
	4,77	3,86	3,76	5,12	2,61
	4,89	3,98	3,98	6,14	2,84
	5,00	4,43	4,10	6,26	3,07
	5,35	4,55	4,20	7,39	3,53
	5,35	5,00	4,67	7,85	
			4,67	8,31	
n	8	8	9	9	7
X _{ср}	4,847	4,063	3,868	6,219	2,793
X _г	4,860	4,098	3,917	6,346	2,817
σ	0,376	0,573	0,658	1,340	0,395
S _х	0,133	0,203	0,219	0,447	0,149
V%	7,763	14,103	17,006	21,543	14,152

Примечание: n – количество показателей, X_{ср} – среднее арифметическое введенных показателей, X_г – среднее геометрическое введенных показателей, σ – среднее квадратическое отклонение, S_х – стандартная ошибка средней арифметической, V% – коэффициент вариации.

ния HbA_{1c}, полученных нашим способом, с методом КОХ. Внутрисерийная воспроизводимость на недиабетическом уровне составила значения, представленные в таблице 1. Чувствительность метода ИЭФ+ФК проверена исследованием жидкостей с различной концентрацией вещества. Для этого мы провели изоэлектрофокусирование физиологического раствора и 50% раствора альбумина. Представляем экстинкции E_{оп} при λ=443нм физиологического раствора, отсортированного в порядке возрастания 0,09 0,10 0,10 0,10 0,10 0,10 0,10 0,11 0,11 0,11 0,11 0,12 0,12 0,13. А чувствительность физиологического раствора можно представить как X_{ср}=0,106±0,0001. Чувствительность 50% альбумина существенно не отличалась от таковой физиологического раствора. Еоп при l= 443 нм, отсортированные в порядке возрастания 0,09 0,09, 0,09, 0,09 0,09 0,09 0,09 0,09 0,10; 0,10; 0,10 0,10 0,11 0,13 0,13 0,14 0,16, чувствительность X_{ср}=0,105±0,00048. При сравнении метода катион-обменной хроматографии (КОХ) с ИЭФ обнаружено, что эти два метода отличаются друг от друга (таблица 2). Специ-

Таблица 2 – Сравнение уровней HbA1c, определенного методами КОХ и ИЭФ+ФК (введенные значения, их разности и ранги, отсортированы в порядке возрастания абсолютных величин разностей)

№ п/п	X	Y	X-Y	Ранг
1	2.02	1.88	0.14	1.00
2	7.50	8.30	-0.80	2.00
3	7.60	6.37	1.23	3.00
4	6.90	8.19	-1.29	4.00
5	9.13	10.89	-1.76	5.00
6	8.80	11.03	-2.23	6.00
7	6.30	9.10	-2.80	7.00
8	9.30	4.67	4.63	8.00
9	11.80	6.94	4.86	9.00
10	12.00	5.23	6.77	10.00
11	10.50	3.18	7.32	11.00
12	18.10	5.57	12.53	12.00
13	24.96	7.74	17.22	13.00
14	28.30	9.78	18.52	14.00
15	27.50	8.88	18.62	15.00

Примечание: критерий T = -3.067; так как абсолютная величина T больше 1,96, то имеются различия этих двух связанных выборок с уровнем значимости P<0,05. X – значения уровня HbA1c (%) при использовании метода КОХ, Y – значения уровня HbA1c при использовании метода ИЭФ.

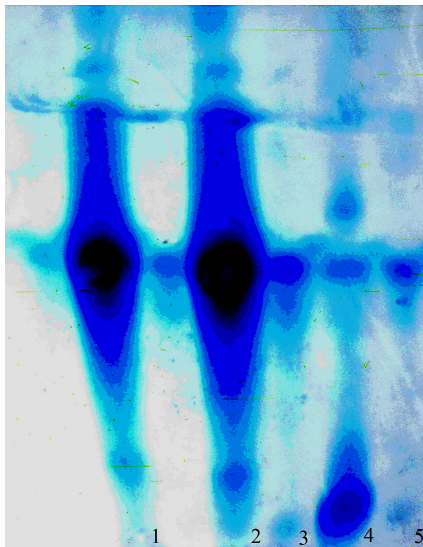


Рисунок 1 – Электрофоретическая миграция (слева – направо) опытных гемолизатов (1, 2), сфокусированного гемолизата (3, 5), стандарта HbA_{1c} (по заряду) («Boehringer mannheim») серии 3c(4). Вверху «-», внизу «+»

фичность изучаемого метода проанализирована нами следующим образом. Для этого в плоском полиакриламидном геле изучили миграцию опытных гемолизатов, сфокусированных гемолизатов при различных типах СД и стандарта HbA_{1c} («Boeringer mannheim»). Опытные гемолизаты были представлены довольно выраженным фоном, а фракция HbA_{1c} в относительно небольшом размере мигрировала до уровня стандарта. И только сфокусированные гемолизаты имели небольшой фон, а фракция HbA_{1c} также мигрировала до уровня стандарта (рис. 1).

Следует отметить, что уровень HbA_{1c} у больных СД находился в пределах от 5,9 до 44% (таблица 3), что свидетельствовало о существенных сдвигах в компенсаторных возможностях обследованных больных СД. Хотя средний уровень HbA_{1c} был в пределах 13,0% (рис. 2), однако при анализе коробчатой диаграммы существенное количество значений данного показателя было удалено либо на 1/3 (помечено кружками), либо 2/3 (помечено звездочками) длины прямоугольника (то есть средних значений уровня HbA_{1c}) (рис. 3). У этих же больных отмечено повышение уровней других контрольных параметров: гликемии в течение суток (Гл), глюкозурии за сутки (СГ), индекса массы тела (ИМТ), общего холестерина сыво-

Таблица 3 – Представление уровня HbA_{1c} у больных СД

Descriptives		Statistic	Std. Error
Mean		12.9852	.9628
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11.0673	
	Upper Bound	14.9032	
5% Trimmed Mean		11.8512	
Median		9.7850	
Variance		70.448	
Std. Deviation		8.3933	
Minimum		5.90	
Maximum		44.40	
Range		38.50	
Interquartile Range		5.6900	
Skewness		2.220	.276
Kurtosis		4.735	.545

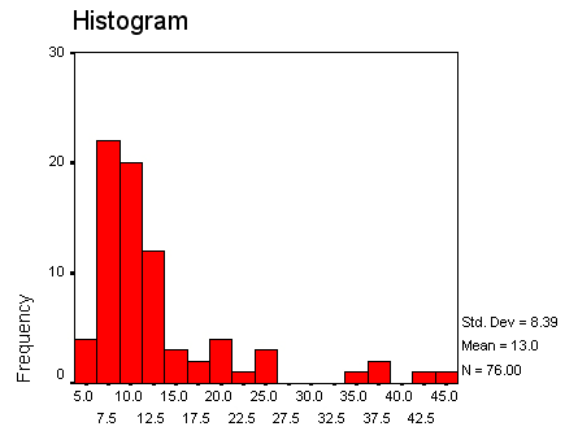


Рисунок 2 – Гистограмма уровня HbA_{1c} у больных СД

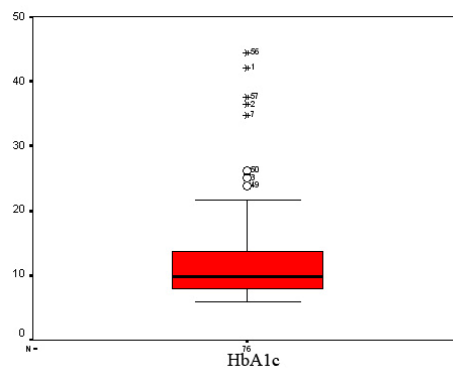


Рисунок 3 – Блочная диаграмма уровня HbA_{1c}

Таблица 4 – Уровни HbA_{1c} у больных стационара и курорта с отсутствием явного СД

Стационар, все взрослые				
Здоровые	Больные:			
	кардиологического отделения	нефрологического отделения	гастроэнтерологического отделения	отделения интенсивной терапии
6,48	7,41	8,19	12,86	3,18
6,82	19,34	7,05	13,88	17,07
6,60	19,69	5,46	3,98	8,76
8,30	5,58	7,62	3,98	6,71
5,91	11,83	5,92	13,09	2,96
1,47	9,2	7,85	11,95	11,26
	10,1	8,86	15,93	8,87
	9,22	5,69		10,10
	19,34	6,19		12,28
	13,2	5,00		7,62
	13,54			13,10
	5,58			
	14,45			
Курорт, взрослые				
Здоровые	Больные:			нейро-циркуляторной дистонией
	гипертонической болезнью	хроническими бронхитами		
7,06;	12,18; 6,14;	12,18;		8,53; 11,38.
7,70;	8,42; 6,37;	7,57;		
7,16;	6,49; 11,38;	8,53;		
7,74;	10,80; 9,10;	13,66;		
8,82;	5,12; 8,53;	8,76;		
6,94.	7,17; 3,41;	6,60.		
	6,37; 19,34;			
	13,20; 8,08;			
	9,44; 11,38;			
	18,21; 14,79.			

Таблица 5 – Представление основных параметров у обследованных больных СД

Параметр	95% доверительный интервал		Минимальное	Максимальное	Средняя арифметическая	Ошибка средней арифметической
	нижняя граница	верхняя граница				
НbA1c (%)	11,07	14,90	5,9	44,4	12,99	0,96
Пре Гл (ммл)	9,82	11,52	2,6	27,4	10,66	0,43
Гл 12ч (ммл)	10,86	14,36	2,5	35,6	11,78	0,85
Гл 17ч (ммл)	4,4	20,0	2,0	26,4	10,87	0,80
Гл 21ч (ммл)	2,6	21,5	2,5	27,8	10,37	0,95
СГ (г/л)	1,15	1,90	0,1	7,0	1,66	0,18
СП (г/л)	0,48	0,93	0,02	4,12	0,67	0,11
ОБС (г/л)	67,95	72,79	55,5	85,0	68,84	1,18
ИМТ (кг/м ²)	17,6	38,8	16,18	40,45	25,76	0,95
ДЗ (годы)	0,1	34,0	0	35,0	9,41	1,54
Возраст больных (годы)	18,0	75,0	12,0	77,0	43,73	3,05

Таблица 6 – Уровень гликированного гемоглобина у детей с ювенильным ревматоидным артритом

Больной	Уровень гликированного гемоглобина (НbA1c%)
1	5,69
2	10,81
3	8,65
4	5,69
5	6,83
6	11,38
7	6,69
8	5,12
9	5,92
10	3,41
11	6,94
12	7,97

ротки (ОХС), длительности заболевания (ДЗ) (таблица 4). У обследованных больных СД наблюдалась четко очерченная зависимость между уровнями СГ, протеинурии за сутки (СП), ОХС, ИМТ, ДЗ и НbA_{1c}.

Из обследуемых больных (обоего пола) с отсутствием явного СД мы выделили 69 взрослых и 12 детей. Больные находились на лечении в стационаре (41 человек) – в кардиологическом, гастроэнтерологическом и нефрологическом отделениях, а также в отделении интенсивной терапии. Также обследованы отдыхающие курорта (35 человек), среди которых 12 детей с ревматоидной патологией. Цифры НbA_{1c} у обследуемых с различными заболеваниями были в

большинстве случаев выше, чем у здоровых доноров (таблица 5). Особенно существенно отличались уровни НbA_{1c} у больных кардиологического, гастроэнтерологического отделений и отделения интенсивной терапии. На курорте заметное повышение содержания этого показателя обнаружено у больных с кардиальной и легочной патологией. При этом обнаружен параллелизм между основными биохимическими показателями и уровнем НbA_{1c}. СД представляет собой в отношении определения уровня НbA_{1c} не единственное заболевание, а лишь одно из патологических состояний, наряду с сердечно-сосудистыми заболеваниями, патологией печени, ревматоидной патологией, в экстремальных ситуациях как в стационаре, так и на курорте (рис. 4).

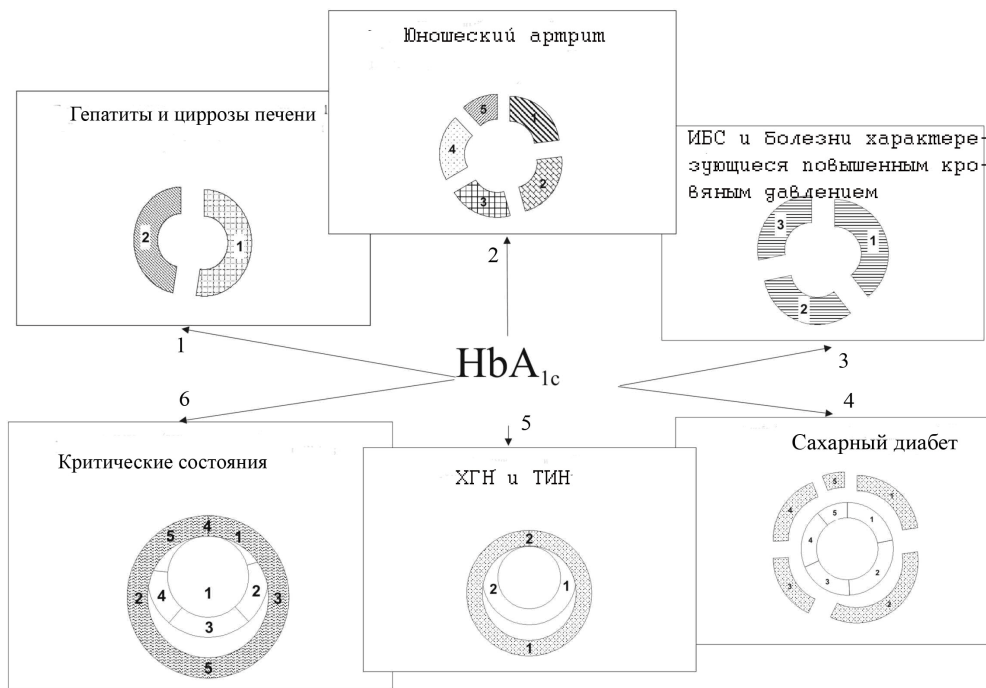


Рисунок 4 – Области применения НbA_{1c} (наличие штриховки – корреляционный анализ, отсутствие штриховки – регрессионный анализ): 1. Болезни печени (взаимоотношения НbA_{1c} (%) – СА (%); НbA_{1c} (%) – ЩФ (ед/л)); 2. Юношеский артрит (взаимоотношения: а₁-гл(%) – НbA_{1c} (%); 2. а₂-гл(%) – НbA_{1c} (%); 3. g-гл(%) – НbA_{1c} (%); 4. С-рб – НbA_{1c} (%); 5. гаптоглобин – НbA_{1c} (%)); 3. ИБС и болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением (взаимоотношения: 1. ПТИ (%) – НbA_{1c} (%); 2. НbA_{1c} (%) – ФВ (%); 3. ОХС (ммоль/л) – НbA_{1c} (%)); 4. Сахарный диабет (взаимоотношения: 1. СГ (г) – НbA_{1c} (%); 2. ОХС (ммоль/л) – НbA_{1c} (%); 3. ИМТ (кг/м²) – НbA_{1c} (%); 4. длительность СД (годы) – НbA_{1c} (%)); 5. ХГН и ТИН (взаимоотношения: 1. НbA_{1c} (%) – СП (г/л); 2. Длительность ХПН – НbA_{1c} (%)); 6. Критические состояния (взаимоотношения: 1. КК (моль/л) – НbA_{1c} (%); 2. Na⁺ – НbA_{1c} (%); 3. Фн (г/л) – НbA_{1c} (%); 4. СП (г/л) – НbA_{1c} (%); 5. ССЭ – НbA_{1c} (%))

Обсуждение

Вновь разработанный метод определения HbA_{1c} имел существенные преимущества как перед стандартным ИЭФ, так и по сравнению с фотоколориметрическим способом. Во-первых, за счёт использования микрообъёма в 8,3 раза уменьшается количество реактивов по сравнению с таковым для ИЭФ. Во-вторых, уменьшается количество градиентных растворов с 6 в методе предшественнике до 2 в новом методе. В предлагаемом способе, как было уже отмечено, достаточно иметь только те градиенты, которые соответствуют изоточке HbA_{1c} , а в классическом методе необходимо чёткое отделение фракции HbA_{1c} от других фракций гемоглобина для проведения денситометрии, что возможно только при большом количестве градиентов (минимально 6). В-третьих, укорачивается время общего проведения опыта (до 1 сут). В-четвертых, предлагаемый способ может быть использован практически в любой клинико-биохимической лаборатории, так как не требует специального оборудования, а классический метод ИЭФ – только в специализированных лабораториях, в которых есть денситометр. Нами установлены преимущества капиллярного метода определения HbA_{1c} по сравнению с фотоколориметрическим способом. Важным преимуществом первого метода перед вторыми является отсутствие необходимости измерения оптической плотности фона каждой пробы, так как подобраны градиенты, в которых происходит ИЭФ HbA_{1c} , а остальные основные белки крови, изоточка которых иная, переходят в раствор. Весьма важным и существенным фактом является то, что если предварительно перед фотоколориметрией проводить выделение фракции HbA_{1c} , то уровень этого показателя станет в 3 раза меньше, чем при фотоколориметрии без фокусировки. Причиной сниженного уровня HbA_{1c} является неполный гидролиз, который проходит на 30 % [4]. Если мы используем неочищенный гемолитат от других белков (не проводим ИЭФ), то фон других протеинов создаёт «ложный уровень HbA_{1c} ».

Несмотря на то, что референтным методом определения HbA_{1c} , по мнению Исследовательской группы по испытанию диабетического контроля и осложнений, считается [10] высокоэффективная жидкостная катион-обменная хроматография под высоким давлением, ряд исследователей полагают наиболее специфическими методами определения минорной фракции A_{1c} электрофоретические приемы, особенно ИЭФ [6]. Уникальностью ИЭФ в отношении гликозилированного гемоглобина считается то, что его основная фракция A_{1c} четко отделяется от основной фракции HbA , тогда как другие минорные фракции HbA_{1a} , HbA_{1b} не отделяются [23]. Однако использование ИЭФ в натуральных рН-градиентах (амфолитах) затруднительно из-за того, что при использовании их расстояние между фракциями HbA и HbA_{1c} настолько незначительно (до 1 мм), что требуется применение микроденситометра. Этот недостаток нивелируется при ИЭФ в искусственных рН-градиентах, при котором более четкое отделение искомой фракции. Считается, что ИЭФ в искусственных рН-градиентах (в частности, в борат-полиольной системе) является наиболее тонким методом разделения молекул [7]. Специфичность определения

HbA_{1c} позволяет считать его референтным по отношению к катион-обменной хроматографии и применять для повышения точности ее [25]. Считается, что коэффициент вариации классических методов определения HbA_{1c} не должен превышать 6 % [8]. Однако при неопределённом числе вариаций коэффициент может повышаться до 17%. Согласно литературным данным, чем ниже коэффициент вариации, тем точнее метод определения HbA_{1c} (для ионообменной хроматографии под высоким давлением коэффициенты вариации могут достигать 2%). Однако наши исследования показали, что коэффициенты вариации как внутрисерийной, так и межсерийной воспроизводимости для гликогемоглобина могут варьировать от 6 до 20%. Точность определения HbA_{1c} , на наш взгляд, должна в первую очередь определяться не столько правильностью, воспроизводимостью, чувствительностью, сколько специфичностью определения искомой фракции (это может отличать HbA_{1c} от других параметров). Мониторинг гликемического статуса, как обеспечение заботы за больными СД и здоровыми, в настоящее время рассматривается краеугольным камнем проблемы диабета. Результаты мониторинга используются для определения степени эффективности терапии, регулирования диеты, медикаментозных назначений и физических упражнений как ордер возможного достижения лучшего гликемического контроля [11]. Значение мониторинга гликемии особо важно для предупреждения сосудистых осложнений. Появление гипергликемии, СД связано с развитием кардиальной патологии, заболеваниями печени, ревматическими заболеваниями [22]. Будучи прогностическим показателем у больных СД, уровень HbA_{1c} остается таким же предиктором обменных нарушений (в первую очередь углеводного обмена) при других патологических состояниях внутренних органов. Имеются данные о том, что HbA_{1c} у диабетических и недиабетических субъектов является маркером критических состояний и летального исхода [18]. То есть определение данного показателя может иметь значение для обнаружения именно риска при угрожающих состояниях. Изучение HbA_{1c} в реанимационной практике представляется актуальным. Ведь возможное отражение HbA_{1c} оксидантного стресса, что особенно важно при сепсисе, доказывает прогностическое значение этого белка. Доказано, что в отсутствии СД уровень HbA_{1c} ассоциируется с ОХС, индексом массы тела [15]. В наших исследованиях обнаружена также взаимосвязь между HbA_{1c} и некоторыми лабораторными и инструментальными данными у больных с отсутствием явного СД.

Вывод

Капиллярный метод определения HbA_{1c} , включающий ИЭФ HbA_{1c} в узком градиенте рН, соответствующем рI HbA_{1c} , с последующей фотоколориметрией с 2-ТБК после неполного гидролиза со щавелевой кислотой, является альтернативным способом определения HbA_{1c} , так как значения данного параметра, определенного вышеуказанным приемом, отличаются при сравнении со значениями HbA_{1c} , определенного методом КОХ. А коэффициенты вариации при определении внутрисерийной и межсерийной воспроизводимости метода ИЭФ+ФК существенно отличаются от общепринятых

норм. В то же время уровень HbA_{1c} является важным прогностическим показателем как на диабетическом, так и недиабетическом уровнях.

Литература

1. Викторова Л.Н., Городецкий В.К. Колориметрический метод определения неферментативно гликозилированного альбумина и гемоглобина // Лаб. дело. - 1990. - № 5. - С. 15-18.
2. Ефимов А.С., Зуева Н.А., Тронько Н.Д., Скробонская Н.А. Малая энциклопедия врача-эндокринолога. - К.: Мед книга, 2007. - 360 с.
3. Корнеева О.Н. Клинические варианты метаболического синдрома. Дисс. ... канд. мед. наук. - М. 2007.
4. Лукичева Т. И. Гликозилированный гемоглобин. Методы определения: Обзор литературы // МРЖ. - 1988. - № 11. - С. 16-19.
5. Пархоменко А.Д. Клинико-экономическая эффективность внедрения структурированной программы обучения пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Дисс. канд. наук. Москва. - 2000.
6. Ригетти П. Изoeлектрическое фокусирование: Теория, методы и применение: Пер. с англ. - М.: Мир, 1986. - 398 с.
7. Троицкий Г.В., Ажицкий Г.В. Изoeлектрическое фокусирование белков в самоорганизующихся и искусственных pH-градиентах. - Киев: Наукова думка. - 1984. - 220 с.
8. Управление качеством клинических лабораторных исследований / Под ред. В.В. Меньшикова. - М., 2000.
9. Boz M., Gerard P., Scheen A. et al. Rapid determination by immunoassay of glycosylated hemoglobin in capillary blood compared to an affinity method for boronate and ion capturing on venous blood // Ann. Biol. Clin. - 1997. - V. 55(2). - P. 183-144.
10. Diabetes Control and Complications Research Group // N. Engl. J. Med. - 1993. - V. 329. - P. 977-986.
11. Goldstein D.E., Little R.R., Lorenz R.A. et al. Tests of glycemia in diabetes // Diabetes care. - 2004. - V. 27. - P. 1763-1773.
12. Goldstein D., Little R., Wiedmeyer H. et al. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications // Clin. Chem. - 1986. - V. 32. - P. B64-B70.
13. Guidelines for Diabetes Care. A desktop Guide to type 2 Diabetes Mellitus. European Diabetes Policy Group. 1998-1999.
14. Guidelines for Diabetes Care. A Desktop Guide to Type 1 Diabetes Mellitus. EDPG, 1998.
15. Herold D., Boyd J., Bruns D. et al. // Ann. Clin. Laboratory Science. - 1983. - V. 13. - P. 482-488.
16. Iso H., Kiyama M., Naito Y. et al. The relation of body fat distribution and body mass with haemoglobin A1c, blood pressure and blood lipids in urban Japanese men // Int. J. Epidemiol. - 1991. - Vol. 20. - P. 88-94.
17. Little R.R., Goldstein D.E. Measurements of glycated haemoglobin and other circulating glycated proteins. In: Mogensen CE, Standl E (eds). Research methodologies in human diabetes. Part I, 1994. - P. 299-317.
18. Menon V, Greene T, Pereira A.A., Wang X., Beck G.J., Kusek J.W., Collins A. J., Levey A.S., Sarnak M.J. Glycosylated Hemoglobin and Mortality in Patients with Nondiabetic Chronic Kidney Disease // J. Am. Soc. Nephrol. - 2005. - Vol. 16. - P. 3411-3417.
19. Middle F.A. et al. Separation of glycosylated Haemoglobins using immobilized phenylboronic Acid // Biochem. J. - 1983. - Vol. 209. - P. 771-779.
20. National Glycohemoglobin Standardization Program (web site) <http://www.missouri.edu/diabetes/ngsp.html>.
21. North M., Piffaut M., Blicke J., Cottreau P. Assay of glycosylated hemoglobin by agar gel electrophoresis in an acid pH. Value of the determination of the stable fraction in clinical biology // Pathol. Biol. - 1984. - V. 32. - P. 779-784.
22. Selvin E., Coresh J., Golden S.H. et al. Glycemic control and coronary heart disease risk in persons with and without diabetes: the atherosclerosis risk in communities study // Diabetes Care. - 2005. - V. 28. - P. 1965-1973.
23. Spicer K.M., Allen R.C., Buse M.G. A simplified assay of hemoglobin A1c in diabetic patients by use of isoelectric focussing and quantitative microdensitometry // Diabetes. - 1978. - V. 27, N4. - P. 384-388.
24. Skeie S., Thue G., Sandberg S. Interpretation of hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) values among diabetic patients: implications for quality specifications for HbA_{1c} // Scand. J. Clin. Lab. Invest. - 2000. - V. 60. - N. 5. - P. 349-356.
25. Vidal P., Dechert T., Hansen B., Welinder B.S. High-performance liquid chromatofocusing and column affinity chromatography of in vitro C-14-glycated human serum chromatography of in vitro C-glycated human serum albumin // J. Chrom. - 1989. - V. 476. - P. 467-475.
26. Vincenzi Jager A., Franco Maggi Tavares M. Novel approach for the analysis of glycated hemoglobin using capillary focusing with chemical mobilization // J. Chromatogr. - 2003. - V. 785(2). - P. 285-292.
27. Willis A., Tobitt C., Jones S. et al. Measuring glycated hemoglobin // BMJ. - 1992. - V. 305. - P. 1020.

Поступила 15.11.2010