

**Гликозилированный гемоглобин.
Расширение диагностических
возможностей.**

**Владивосток
21-22 сентября 2011
Берестовская В.С.
СПб МАПО**

Стандарт ГОСТ Р ИСО15189

«Медицинские лаборатории – специфические требования к качеству и компетентности»

Обеспечение качества постаналитического этапа

- **кроме аккуратного отчета о полученных результатах, лаборатория несет дополнительную ответственность за их корректную интерпретацию в максимально короткий срок, а также за использование результатов лабораторного исследования наилучшим образом в интересах пациента**
- **консультация в отношении выбора исследований и интерпретации результатов исследования – часть услуг лаборатории**

Сахарный диабет

- 171 миллионов людей во всех странах больных диабетом, к 2030 году эта цифра удвоится

- 3,2 миллиона смертей в год связаны с осложнениями диабета

Одна смерть каждые шесть минут

-Десятка лидеров по заболеванию диабетом:
Индия, Китай, США, Индонезия, Япония, Пакистан,
Россия, Италия, Бразилия и Бангладеш

Осложнения сахарного диабета

Нефропатия



* При СД 2 типа **диабетическая нефропатия** развивается у 25 % европейцев и у 50 % азиатов.

**** Диабет - ужасное страдание ... растворяющее плоть и конечности в мочу.**

Сосудистые поражения



* 75% всех случаев смерти больных с СД обусловлены ССЗ. СД увеличивает риск **поражения коронарных артерий** у мужчин в 3-4 раза, а у женщин в 8-11 раз.

**** Жизнь коротка, неприятна и мучительна. ... Пациенты... в течение короткого промежутка времени погибают".**

* Данные ВОЗ

**** Первое описание диабета римским врачом Аретеусом Каппадокийским**

Глюкозотоксичность

- **Гипергликемия – не лабораторный маркер, а патогенетический фактор.**

В норме концентрации глюкозы и инсулина достигают максимума через 1 ч и возвращаются к исходному уровню через 3-4 ч после еды.

Инсулин способствует поступлению глюкозы в клетку.

Глюкагон, кортизол, КА и ГР поддерживают глюкозу в периоды голодания и повышенного потребления.

- **Хроническая гипергликемия снижает способность β -клеток отвечать секрецией инсулина на острую стимуляцию глюкозой.**
- **Утрата индуцированной глюкозой секреции инсулина начинается при уровне глюкозы натощак $\geq 5,5$ ммоль/л, полная утрата – при уровне глюкозы натощак $> 6,4$ ммоль/л.**

Глюкозотоксичность

- Повышенные уровни глюкозы коррелируют с уровнем апоптоза β -клеток.
- Инсулинорезистентность и поражение β -клеток приводят к прогрессированию СД.
- ИР провоцирует изменения, которые наблюдаются до начала гипергликемии, и уровни ИР достигают своих максимальных значений на относительно ранних стадиях прогрессирования заболевания.
- Поражение β -клеток вначале протекают медленно, а затем демонстрируют быстрый прогресс, и уровни эндогенного инсулина значительно снижаются.

Оценка гликемии

- 1980 – ВОЗ предложила критерии СД: глюкоза натощак 7,8 ммоль/л или ГТТ через 2 часа 11,1 ммоль/л
- 2000 – глюкоза натощак 7,0 ммоль/л, ГТТ через 2 часа концентрация глюкозы 11,1 ммоль/л или случайная глюкоза (не учитывая времени предыдущей еды) 11,1 ммоль/л (American Diabetes Association рекомендует преимущественно глюкозу натощак, ВОЗ - ГТТ).
- Ограничения: значимое влияние преаналитических факторов, гликолиз *in vitro*; высокая биологическая вариация; инструментальное смещение.

Влияние метода

- Девушка, 16 лет
- Самочувствие удовлетворительное
- Принимает противоэпилептические препараты
- Глюкоза сыворотки 0 ммоль/л
(глюкозооксидазный метод)
- Глюкоза сыворотки 4,95 ммоль/л
(гексокиназный метод)
- Глюкоза сыворотки через 24 час 4,78 ммоль/л
(глюкозооксидазный метод)

Влияние биологической вариации

Analyte	Matrix	CV _I (%) Healthy (median)	CV _I (%) Disease	n	d	s	Disease	Reference	Mean	Units
FT4	S	7.6	5.7	12	0.33	5	Primary hypothyroidism	19	NA	NA
FT3	S	7.9	8.7	12	0.33	5	Primary hypothyroidism	19	NA	NA
GGT	S	14	4.7	27	56	8	Chronic liver disease	29	6.8	ukat/L
GGT	S		9.9	27	56	8	Type I- DM	27	0.37	ukat/L
Glucose	S	5.7	27.4	9	2	11	Impaired renal function	23	5.1	mmol/L
HDL Cholesterol	S	7.1	7.1	128	70	3	Lipid disorders	36	1.36	mmol/L
HDL Cholesterol	S		7.7	27	56	8	Type I- DM	27	1.53	mmol/L
HDL Cholesterol	S		8.7	14	56	8	Hypertension	30	1.07	mmol/L
HDL Cholesterol	S		9.5	17	21	8	Chronic renal failure	28	1.00	mmol/L
Hemoglobin	B	2.8	2.3	14	56	8	Hypertension	30	9.8	mmol/L
Hemoglobin	B		2.9	27	56	8	Type I- DM	27	10.1	mmol/L
Hemoglobin	B		4.2	20	28	7	Chronic liver disease	29	8.9	mmol/L
Hemoglobin A1c	B	1.9	4.3	47	720-1260	4-7	Type II- DM	42	6.5	%
Hemoglobin A1c	B		8.8	214	365	4	Type I- DM	34	11.7	%

5,7

27,4

Клинически значимое изменение (RCV) для ГЛЮКОЗЫ

$$RCV = \sqrt{2} \cdot 1.96 \cdot \sqrt{CV_a^2 + CV_i^2}$$

- 1,96 – двусторонний квантль для 95-% вероятности
- CV_a - аналитическая вариация (данные инструкции по межсерийной воспроизводимости; глюкоза ГК, версия 3, V7 2010-11 для 5,28 ммоль/л – норма и 13,4 ммоль/л - патология)
- CV_i - биологическая вариация индивидуальная (данные сайта Дж. Вестгарда)
RCV $n = 14,6\%$

для глюкозы 5,5 ммоль/л RCV= 0,8 ммоль/л

RCV path =75,6%

для глюкозы 10,0 ммоль/л RCV= 7,58 ммоль/л

для глюкозы 7,0 ммоль/л RCV= 5,29 ммоль/л

Гликированный гемоглобин

- Концентрация HbA1c отражает гликемический статус и согласуется с риском развития микроваскулярных осложнений
- Концентрация HbA1c имеет низкий уровень преаналитической и биологической вариации и зависимости от состояния пациента
- Отсутствует требование сдачи крови натощак.
- Ограничением использования теста для диагностики диабета - недостаток стандартизации методов в 1997 и 2003 гг
- 2009 – Международный экспертный комитет решил, что возможности контрольно-измерительной аппаратуры и стандартизации обладают достаточной точностью и воспроизводимостью.

Биологическая вариация HbA1c в норме и при патологии

Analyte	Matrix	CV _i (%) Healthy (median)	CV _i (%) Disease	n	d	s	Disease	Reference	Mean	Units
FT4	S	7.6	5.7	12	0.33	5	Primary hypothyroidism	19	NA	NA
FT3	S	7.9	8.7	12	0.33	5	Primary hypothyroidism	19	NA	NA
GGT	S	14	4.7	20	28	7	Chronic liver disease	29	6.8	ukat/L
GGT	S		9.9	27	56	8	Type I- DM	27	0.37	ukat/L
Glucose	S	5.7	27.4	9	2	11	Impaired renal function	23	5.1	mmol/L
HDL Cholesterol	S	7.1	7.1	128	70	3	Lipid disorders	36	1.36	mmol/L
HDL Cholesterol	S		7.7	27	56	8	Type I- DM	27	1.53	mmol/L
HDL Cholesterol	S		8.7	14	56	8	Hypertension	30	1.07	mmol/L
HDL Chole	S		9.5	17			Chronic renal failure	28	1.00	mmol/L
Hemoglobi	B	1,9	2.8	14			Hypertension	30	9.8	mmol/L
Hemoglobin	B		2.9	27		8	Type I- DM	27	10.1	mmol/L
Hemoglobin	B		4.2	20	28	7	Chronic liver disease	29	8.9	mmol/L
Hemoglobin A1c	B	1.9	4.3	47	720-1260	4-7	Type II- DM	42	6.5	%
Hemoglobin A1c	B		8.8	214	365	4	Type I- DM	34	11.7	%

Клинически значимое изменение (RCV)

для HbA1c

$$RCV = \sqrt{2} \cdot 1.65 \cdot \sqrt{CV_a^2 + CV_i^2}$$

- 1,65 – односторонний квантль для 95-% вероятности
- CV_a - аналитическая вариация (данные инструкции по межсерийной воспроизводимости; HbA1c, версия 3, V1 2010-07 для 5, 2% – норма и 10, 9% - патология)
- CV_i - биологическая вариация индивидуальная (данные сайта Дж. Вестгарда)

$RCV_n = 8,6\%$

для гликогемоглобина 6% $RCV = 0,5\%$

$RCV_{path} = 13,1\%$

для гликогемоглобина 12,0 % $RCV = 1,57\%$

Пересмотр роли гликированного гемоглобина в диагностике СД 2 типа

- Оценка риска диабета, основанная на уровне гликемии, является континуумом; следовательно, отсутствует нижний гликемический порог, при котором возникает реальный риск.
- Порогом для СД 2 типа является $A1C \geq 6,5\%$ с повторным определением.
- Величины $A1C$ от 5,5% до 6,4% могут расцениваться как скрининговые тесты для предиабета, а пациенты должны получать эффективные профилактические мероприятия
- Использовать только стандартизованные методы анализа $A1C$.

Стандартизация HbA1

- Исследование по контролю за диабетом и его осложнениями (DCCT - Diabetes Control and Complications Trial) установило связь между HbA1c и риском диабетических осложнений.
- После его завершения DCCT в 1993 году были определены общие целевые значения при лечении сахарного диабета как HbA1c <7%.
- При этом средний результат для каждого метода для одного и того же образца по данным Колледжа американских патологов (CAP - College of American Pathologists) варьировал от 10,7% до 17,8% в зависимости от вида гемоглобина и специфичности метода.
- Такая ситуация делала невозможным использование целевых значений DCCT при лечении сахарного диабета как для врачей, так и для пациентов, а лаборатории создавали свои собственные референсные значения для сахарного диабета, просто определяющие результат как "норму" или "не норму".

Стандартизация HbA1c

- Для решения этой проблемы в 1995 году создаётся рабочая группа по стандартизации **HbA1c IFCC**, а в 1996 году учреждена Национальная программа по стандартизации **HbA1c NGSP** (National Glycohemoglobin Standardization Program).
- ВЭЖХ стал «назначается» эталонным методом сравнения как метод применявшийся в DCST с долгосрочным коэффициентом вариации <3% .
- Все основные производители тестов для определения HbA1c могут принимать участие в программе сертификации **NGSP/IFCC**.
- На <http://www.ngsp.org>, <http://www.ifcchba1c.net/> размещается информация о методах, стандартизированных по отношению к первичному стандарту и имеющих CV менее 2,5% (RCV 0,5%)

Способы выражения результатов HbA1c

- Результаты по DCCT/NGSP могут быть пересчитаны в цифры по рекомендации IFCC .
- Однако способ выражения обоих подходов в %% может приводить к ошибкам.
- Результат 7,6% HbA1c по NGSP (норма до 7%) = HbA1c 6,0% по IFCC (норма до 4,3%). Путаница в двух числовых шкалах может ошибочно быть расценена как хороший контроль гликемии и развитию осложнений сахарного диабета. Или переоценка фактического уровня HbA1c вызовет чрезмерно агрессивную стратегию лечения, вызывая гипогликемию.
- В 2007 IFCC и клинические организации согласуют результаты HbA1c в различных единицах и числах (NGSP в %, IFCC ммоль/моль).

Сертифицированное качество IFCC и NGSP


International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine
Working Group on HbA1c Standardization
Network of Reference Laboratories for HbA1c

Certificate

Traceability of Manufacturers to the IFCC Reference Measurement Procedure for HbA1c

This certifies that **Roche Diagnostics GmbH** using **Tina Quant (Integra)**, uses calibrators supplied by the IFCC Network to get traceable to the IFCC Reference Measurement Procedure and participates in the Monitoring Programme to demonstrate traceability. In the Monitoring Programme of 2009 the following performance was seen:

Deviation from IFCC-target	at 30 mmol HbA1c/mol Hb :	3.4
	at 60 mmol HbA1c/mol Hb :	2.2
	at 90 mmol HbA1c/mol Hb :	1.1
Reproducibility, coefficient of variation		2.60
Linearity, correlation coefficient		0.9975

Date of issue: 18 December 2009 Certification expires: 31 December 2010


IFCC Network Coordinator


Harmonizing Glycated Hemoglobin Testing
A better A1C test means better diabetes care

Certificate of Traceability

Manufacturer Certification

This certifies that **Roche Diagnostics**, using **TO HbA1c Gen.2 (ME) on Cobas c501** has participated in and successfully completed the NGSP certification for manufacturers and is traceable to the **Diabetes Control and Complications Trial** Reference method. The comparison was performed with: **University of Missouri SRL#7**

The system evaluated was:

Instrument:	Calibrator Lot:	Application:
Cobas c501	154534	HbA1c/Hb*91.5+2.15
Reagent Lot:	Calibrator Assigned Values:	
616825, 617526	0.667, 1.140, 1.459, 1.781, 2.759, 3.299 g/dL HbA1c; 2.46, 12.31 g/dL Hb	

Date of Certification: December 1, 2009 Certification Expires: December 1, 2010


NGSP Steering Committee Chair


NGSP Network Coordinator


SRL director/ supervisor

Результаты могут быть представлены на всех анализаторах и в соответствии с рекомендациями IFCC (ммоль/моль) и по требованиям NGSP (% HbA1c)

Интерференция для методов определения HbA1c

Method	Interference from			
	Hb AS	Hb AC	Hb AE	HbA D
Abbott Architect/Aeroset	Yes	Yes	-	-
Bayer (Metrika) A1cNOW	Yes	Yes	No	No
Bio-Rad Variant A1c	No	No	No	Yes
Bio-Rad Variant II Turbo A1c	No	No	Yes	Yes
Olympus AU system	Yes	Yes	No	No
Roche Cobas Integra Gen.2	No	No	No	No
Roche/Hitachi (Tina Quant II)	No	No	No	No
Siemens (Bayer) Advia HbA1c (original version)	Yes	Yes	-	-

IFCC или DCCT?



Network

HbA_{1c}

EQAS organizers collaborating with the Network

NORWAY	NOKLUS	Sverre Sandberg	Sverre.sandberg@isf.uib.no
PORTUGAL	Poruguese Eqas	Maria Adelina Gomes	M.Adelina.Gomes@insa.min-saude.pt
ROMANIA	EQA organizer	Constanta Popa	obbcssr@yahoo.co.uk
RUSSIAN FEDERATION	Russian NEQAS	Vladimir Malakhov / Ergeny Zaikin	Vmalakhov@fsvok.ru
SPAIN	SECC	Carmen Ricós / Francisco Ramon / Angel Salas	Cricos@ng.vhebron.es Asalas@cscdt.es
SWEDEN	EQUALIS	Gunnar Nordin	Gunnar.nordin@equalis.se

Качество исследований гликозилированного гемоглобина по данным ФСВОК

- Число участников возросло с 118 (2004 год) до 225 (2010 год)
- Результаты предоставляют 85% лабораторий
- Иммунохимические методы используют 58% КДЛ
- *«Несмотря на рекомендации ВОЗ, более 20% участников раздела оперируют показателем HbA1, используя в основном ручной метод с ионообменной смолой HUMAN» - не стандартизирован.*

Стандартизация методов HbA1c для оценки содержания глюкозы

- В 2008 опубликованы результаты исследования по взаимосвязи значения гликозилированного гемоглобина и средней концентрации глюкозы
- 2009 ААСС рекомендует в результатах наряду с HbA1c сообщать среднюю концентрацию ГЛЮКОЗЫ.

Стандартизация по IFCC⁸

- Средняя величина глюкозы в плазме (ммоль/л) = $1,73 \times \text{HbA1c (\%)} + 0,20$
- Средняя величина глюкозы в плазме (мг/дл) = $31,2 \times \text{HbA1c (\%)} + 3,51$

Стандартизация по DCCT/NGSP⁸

- Средняя величина глюкозы в плазме (ммоль/л) = $1,98 \times \text{HbA1c (\%)} - 4,29$
- Средняя величина глюкозы в плазме (мг/дл) = $35,6 \times \text{HbA1c (\%)} - 77,3$

Радикальное излечение СД 2 типа – вопрос будущего, а сегодня диабет является неизлечимым заболеванием

- Глюкоза через два часа 7,8 ммоль/л против 4,2 ммоль/л
увеличение риска ССЗ на 58%.
- Ежегодно у 5–10% лиц с нарушениями толерантности к
глюкозе (НТГ) развивается СД типа 2, за пятилетие эта
цифра составляет 20–34%.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!