

Možná interference paraproteinů při stanovení glykovaného hemoglobinu u dvou pacientů*

Friedecký B.¹, Tichý M.^{1,5}, Šolcová L.², Špirková J.¹, Maisnar V.^{3,5}, Kudlej J.⁴, Vávrová J.¹

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN, Karlova univerzita, Hradec Králové

²Oddělení klinické biochemie, Nemocnice Trutnov

³2. interní klinika LF a FN, Karlova univerzita, Hradec Králové

⁴Interní oddělení, Nemocnice Trutnov

⁵Česká myelomová skupina

SOUHRN

Popisujeme dva případy léčených kompenzovaných diabetiků s prokázanou přítomností paraproteinů v krevním séru. U obou z nich byly nalezeny výsledky HbA1c, neodpovídající jejich klinickému stavu a hodnotám plazmatické glukózy. Výsledky HbA1c byly porovnány s použitím dvou metod (obou na principu HPLC) měřením ve dvou různých laboratořích. U prvního pacienta s přítomností IgA kappa paraproteinů (48 g/l) poskytlo měření na přístroji DC-5 výsledky odpovídající dekompenzovanému diabetikovi a pacientovi bez diabetu v případě přístroje Variant II Turbo. U druhého pacienta s přítomností IgM lambda paraproteinů (27 g/l) byly oběma metodami opakovaně zjištěny neadekvátně nízké hodnoty HbA1c. Protože byla popsána řada interferencí paraproteinů při stanovení několika analytů krevního séra, považujeme za vhodné na tyto případy upozornit a pokračovat v podrobnějším studiu v budoucnosti na větším souboru diabetiků s prokázanou přítomností některého paraproteinů.
Klíčová slova: diabetes mellitus, plazmatická glukóza, glykovaný hemoglobin, IgA kappa, IgM lambda.

SUMMARY

Friedecký B., Tichý M., Šolcová L., Špirková J., Kudlej J., Vávrová J.: Possible interference of paraprotein in HbA1c determination observed at two diabetic patients

We describe two causes of treated diabetic patients with paraproteinemia. In both cases the results of HbA1c show strong discrepancies with clinical statement and with plasma glucose concentrations. HbA1c results were controlled by repeated measurements by other method in other laboratory. Different results were obtained. In case of first patient with IgA kappa paraprotein (48 g/l) show results of HbA1c obtained by method DC-5 picture of decompensated diabetes, results of Variant II Turbo picture of non-diabetes person, while glucose and clinical state indicated well compensation of diabetes. In case of the second patient with IgM lambda paraprotein (27 g/l) there were very low and improbable results in both HbA1c methods, while clinical statement and plasma glucose were in entire concordance with picture of well compensated diabetes. Interferences of paraproteins are very often observed in some biochemical analyses, but interference of paraprotein in HbA1c measurement is unusual. We wish to alert on this possibility, because in old diabetic patients increases number of persons with paraprotein.
Key words: diabetes mellitus, plasma glucose, glycated hemoglobin, IgA kappa, IgM lambda.

Úvod

U dvou léčených diabetických pacientů s prokázanou monoklonální gamapatií jsme zjistili nesouhlas mezi klinickým stavem, hodnotami plazmatické glukózy a hodnotami HbA1c. Při ověřování hodnot HbA1c byl zjištěn další nesouhlas mezi výsledky dosaženými ve dvou klinických laboratořích.

V literatuře byly některé interference paraproteinů již popsány. Obvykle se předpokládá vysvětlení jejich vzniku precipitací paraproteinů v reakční směsi během průběhu analytické reakce. Interference byly popsány u měření bilirubinu [1, 2, 3], HDL-cholesterolu [1], elektroforetického hodnocení sérových proteinů [4], plazmatické glukózy [5].

Při stanovení glykovaného hemoglobinu jsme zatím žádnou informaci o interferenci paraproteinů v literatuře nenalezli. Jsou však popsány interference patologických hemoglobinů [6], labilních frakcí glykovaného hemoglobinu [7], lipoperoxidáz [8], karbamylovaného hemoglobinu u uremických pacientů [9].

Materiál a metody

Pacient 1

Muž ve věku 75 let. Diabetes mellitus II. typu léčený perorálními antidiabetiky s klinickým obrazem kompenzovaného diabetu. Monoklonální gamapatie s koncentrací IgA kappa = 48 g/l.

Pacient 2

Žena ve věku 67 let. Diabetes mellitus II. typu léčený konvenční inzulinoterapií s klinickým obrazem kompenzovaného diabetu. Diagnostikovaná Waldenströmova choroba s paraproteinem IgM lambda o koncentraci 27g/l.

Metody

Glukóza v plazmě byla stanovena fotometricky na přístroji Hitachi 911 (Roche). Glykovaný hemoglobin byl stanoven na OKB v Trutnově metodou HPLC na přístroji DC-5 (dodává Bio Vendor). Kontrolní měření byla provedena na přístroji Variant II Turbo (Bio Rad) na ÚKBD v Hradci Králové. Obě metody využívají principu kapalinné vyso-
koučinné chromatografie na bázi iontové výměny.

* Předneseno na Pracovní konferenci MGUS, Hradec Králové 14. 10. 2008.

Způsobilost laboratoří k měření HbA1c

Obě laboratoře se v letech 2006–2007 účastnily šesti kontrolních cyklů (12 kontrolních vzorků) v programu EHK SEKK. Toleranční limit je $\pm 18\%$ a rozsah cílových hodnot byl 3,1–9,1%. Obě pracoviště dosáhla 100% úspěšnosti.

Výsledky

Výsledky stanovení glukózy a HbA1c prováděné současně u obou pacientů jsou uvedeny v tabulce 1. U obou pacientů odpovídají hodnoty plazmatické glukózy klinickému stavu. Hodnoty HbA1c jsou jednak naprosto rozdílné u dvou použitých analytických systémů, jednak ani u jednoho pacienta neodpovídají klinické situaci. Analýzy HbA1c byly ve všech případech opakované a výsledky nebyly významně rozdílné.

Table 1. Plasma glucose and HbA1c values in two diabetic patients with paraproteinemia

	Patient 1	Patient 2
P-glucose	6.1–7.5 mmol/l	6.5–8.8 mmol/l
HbA1c DS-5	9.4–10.3%	0.1 %
HbA1c Variant II Turbo	3.3%	1.1

Diskuse

Interference při měření koncentrací HbA1c jsou poměrně časté. Nejlépe jsou popsány interference patologických forem hemoglobinu. Little et al. zjistili v roce 2008, že četnost a intenzita těchto interferencí je velmi odlišná u různých metod a že v pracovních dokumentacích výrobců je informacím o nich věnována neadekvátně malá pozornost.

Prokázané a popsány jsou interference paraproteinů při měření základních analytů krevního séra. Četnost a intenzita interferencí paraproteinů jsou silně závislé na typu použité instrumentace a často se také řádově liší i u systémů měření používajících totožných principů metod. Stejně metody mohou vykazovat naprosto různé interference v závislosti na použitých diagnostických kitech a instrumentaci různých výrobců. Z toho důvodu nelze očekávat tvorbu systematického přehledu očekávaných interferencí. Spíše je nutné individuální sledování každého pacienta s přítomností paraproteinu a na možné interference u něj pomýšlet.

Interference paraproteinů při stanovení HbA1c metodou HPLC však doposud v literatuře zmiňovány nebyly. Projevily se opakovanými dramatickými rozdíly mezi výsledky HbA1c získanými na dvou různých přístrojích pracujících na stejném analytickém principu a nesouhlasem výsledků HbA1c s klinickým stavem obou pacientů. O případném mechanismu těchto interferencí lze jen spekulovat.

Odstraňování interferencí patologických hemoglobinů, labilních frakcí a karbamylovaného HbA1c je dosahováno zlepšováním předseparačních kroků a

separačních postupů. K důkladnému ověření případného vlivu paraproteinů v krvi na stanovení HbA1c plánujeme vyhodnocení výsledků širšího souboru diabetiků se současnou přítomností paraproteinů.

Závěry

K potlačení rizika případného ovlivnění výsledků HbA1c paraproteiny lze doporučit zkvalitnění postana-lytické fáze vyšetření:

- Sledovat souvislosti mezi glukózou, HbA1c a klinickým stavem pacienta (možno i pomocí vztahů naprogramovaných v LIS, NIS).
- Provádět vizuální inspekci chromatografických záznamů podezřelých výsledků.
- Být si vědom možnosti interference při monoklonální gamapatii.

Literatura

1. **Yang, Y., Howanitz, P. J., Howanitz, J. H. et al.** Paraproteins are a common cause of interferences with automated systems. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2008, 132, p. 217–223.
2. **Oliver, M., Ragot, C., Sarini, H. et al.** *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, 2007, 65, p. 577–580.
3. **Šolcová, L., Friedecký, B., Radocha, J., Tichý, M. et al.** Abnormální hyperbilirubinémie u pacientky s mnohočetným myelomem. *Klin. Biochem. Metab.*, 2008, 16 (37), p. 203–203.
4. **Pantanowitz, L., Hoprovitz, G. L., Uolakalin, J. N., Beckwirth, B. A.** Artfactual hyperbilirubinemia due to paraprotein interference. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2003, 127, p. 55–59.
5. **Bakker, A., Mucke, M.** Gammopathy interference in clinical analysis: mechanism, detection and prevention. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2007, 9, p. 1240–1243.
6. **Little, R. R., Rohlfing, C. L., Conolly, S. et al.** Effects of hemoglobin HbE and HbD traits on measurement of HbA1c by 23 methods. *Clin. Chem.*, 2008, 41, p. 1277–1282.
7. **Saymenak, J., Leroy, N., Lavalard, E., Gilley, P.** Interference of labile glycated hemoglobin on HbA1c assay. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, 2008, 66, p. 459–463.
8. **Selvaray, N., Bobby, Z., Koner, B. C., Das, A. K.** Reassessing the increased glycation of hemoglobin in nondiabetic chronic renal failure patients: a hypothesis on the role of lipid peroxides. *Clin. Chim. Acta*, 2005, 360, p. 108–113.
9. **Thoma, J., Stirn, F., Kutter, D.** Influence of urea on HbA1c determination by Menarini HA 8140 and on the difference between immunoturbidimetric and HPLC HbA1c results. *Clin. Lab.*, 2000, 46, p. 261–268.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906 MZČR.

Do redakce došlo 9. 3. 2009.

Adresa pro korespondenci:
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
ÚKBD LF UK a FN
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: friedecky@sekk.cz