

Glykovaný albumin v krevním séru/plasmě. Stručný přehled současného stavu.

Friedecký B.^{1,2}, Kratochvíla J.²

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky FN Hradec Králové, Sokolská 581, Hradec Králové

²SEKK s.r.o., Pardubice

SOUHRN

Cíl: Přehled údajů o současném stavu měření a klinickém významu glykovaného albuminu v séru.

Metoda: Analýza recentních literárních dat.

Výsledky: Enzymatické metody stanovení glykovaného albuminu vykazují dobrou úroveň analytické kvality, reference a srovnatelnosti a jsou použitelné se srovnatelnými výsledky na běžných analytických platformách, používaných v rutinních klinických laboratořích.

Diskuse: Stanovení glykovaného albuminu by mohlo sloužit jako střednědobý marker sledování diabetu zejména tam, kde jsou v důsledku chorobných stavů, způsobených změnami doby života erytrocytů, zpochybnitelné výsledky stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}.

Klíčová slova: Glykovaný albumin, enzymatické metody, přehled, glykovaný hemoglobin HbA_{1c}.

SUMMARY

Friedecký B., Kratochvíla J.: Glycated albumin in blood serum/plasma. Brief overview of the current state.

Objective: Minireview on the current state in measurement and interpretation of glycated albumin.

Method: Publication is based on the current literature.

Results: Enzymatic photometric methods for measurement of glycated albumin show good analytical quality and can be realized in routine clinical laboratories by using standard laboratory equipment.

Discussion: Determination of glycated albumin in serum is candidate marker for management of diabetes in patients with changes of half-life erythrocytes.

Keywords: Glycated albumin, enzymatic method, minireview, glycated haemoglobin HbA_{1c}.

Problémy při stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}

Glykovaný hemoglobin HbA_{1c}, spolehlivý, dobře standardizovaný ukazatel dlouhodobé koncentrace glukózy, je považován za zlatý standard diagnózy a sledování diabetu mellitu. Nicméně při významných změnách doby života erytrocytů se spolehlivost stanovení HbA_{1c} výrazně snižuje a v těchto případech může být klinická efektivita výsledků měření omezená. Jedná se zejména o:

- chronickou renální chorobu
- nedostatek železa a vitamínu B12
- hemolytické anémie
- gestační diabetes (GDM)
- jaterní chronické choroby
- a mnohé další, méně frekventované klinické situace.

O klinických aspektech měření glykovaného albuminu

Standardní, obecně užívaná a respektovaná doporučení pro laboratorní diagnostiku a management diabetu se v současné podobě o glykovaném albuminu (GA) a glykovaných proteinech (fruktosaminu) v podstatě vůbec nezmiňují [1-3]. To platí i pro poslední verzi doporučení American Diabetes Association ADA 2017

[2], i pro doporučení DGKL- DDG (Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V. – Deutsche Diabetes Gesellschaft) z roku 2016 [3]. Je tedy otázka, proč se stanovením glykovaného albuminu (GA) vůbec zabývat?

Důvodem je již zmíněná existence možnosti problematické interpretace výsledků stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} při diagnostice a sledování diabetu v případech, vyznačujících se změnou obvyklé střední doby života erytrocytů [4-7]. V těchto případech se stále častěji objevují názory o výhodnosti používat jako střednědobého ukazatele hodnoty koncentrace glukózy, glykovaného albuminu nebo glykovaného proteinu - fruktosaminu [5]. Faktory, ovlivňující klinickou interpretaci výsledků stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} jsou uváděny stručně na portálu NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) USA [6] a podrobněji na portálu NIH NIDDK (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease) [7]. Informace NGSP [6] o interferencích hemoglobinu C, S, E, D, F jsou seřazeny podle použitých metod a ukazují jejich významný úbytek při použití nových generací chromatografických metod a také v podstatě nulovou frekvenci interferencí u nových imunochemických, elektroforetických a enzymatických metod. Informace z portálu NIH-NIDDK obsahují i data o etnických diferencích hodnot stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}.

Dobrou a jednoduchou pomůckou k potvrzení věrohodnosti, nebo problematičnosti stanovené hodnoty HbA_{1c} u pacienta je určení vypočtené hodnoty eAG, tedy odhadnutého průměru koncentrace glukózy, vypočteného pomocí jednoduchého vzorce z hodnoty HbA_{1c} zadáním do software počítače. Aktuální hodnoty plazmatické glukózy na lačno a eAG by měly být za normálních okolností v souladu. Pokud nejsou, je možné předpokládat, že hodnota stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} může být z některého z výše uvedených důvodů ovlivněna.

Současná situace kolem použití glykovaného albuminu a glykovaného proteinu byla shrnuta v práci autorů z NIH - National Institute of Health [8].

Glykovaný albumin může mít význam v diagnostice a managementu diabetu, pokud jeho stanovení bude náležitě standardizováno a podloženo větším počtem důkladnějších klinických studií a studií reference. Zatím byl GA přednostně studován asijskými autory a v poslední době se zejména italské studie dost intenzivně věnují studiu metrologických analytických parametrů jeho měření. Na evropském kongresu laboratorní medicíny 2017 (Athény, Řecko) bylo glykovanému albuminu věnováno firmou Werfen sponzorované sympóziu.

Glykace albuminu a princip enzymatické fotometrické metody

Lidský sérový albumin je glykován neenzymatickou reakcí glukózy s ε-aminoskupinou lyzinu na 12 vazebných místech molekuly albuminu rychlostí 4x až 5x vyšší, než glykace valinových reziduí hemoglobinu u HbA_{1c} [9,10].

Doba, po kterou GA reflektuje průměrnou hodnotu glukózy, se udává na 2 až 4 týdny [9-11].

Enzymatická fotometrická metoda stanovení GA přitom probíhá následovně:

- Hydrolyza GA specifickou proteázou na glykované aminokyseliny
- Oxidace aminokyselin kyslíkem za katalýzy ketoaminoxidázou
- Stanovení peroxidu vodíku barevnou reakcí na bázi Trinderovy reakce
- Stanovení celkového albuminu metodou na bázi vazby na BCP (bromkresolový purpur)
- Výpočet GA v % [10, 11].

Na tomto principu je i založena enzymatická metoda Lucica GA-L (Asahi Kasei Pharma) a nově i metoda quantILab IL-Werfen.

Preciznost, referenční interval, linearita, vzorky, platformy

Testovací soupravy Lucica Asahi Kasei a IL Werfen byly validovány s pozitivním výsledkem na platformách Abbott Architect, Siemens Advia 1800, 2400 a 2400XPT, Roche Cobas 6000, Ilab Taurus, ILab Aries, a Beckman AU [11-13].

Hodnota intra-individuální biologické variability GA je CV_i = 2,1 % a u fruktosaminu pak CV_i = 2,3 %. Hodnota RCV byla stanovena pro GA na 7,5 %, u fruktosaminu pak na 10 % (14).

Horní mez linearity měření je v různých pracích uváděna v dostačujícím intervalu 68 až 92 % GA.

Nejsou pozorovány rozdíly mezi výsledky měření v séru a plazmě [11], žilní a kapilární krvi [15]. Vzorky nemění koncentraci GA ani po 10 opakovaných rozmrazení a zamrazení [15].

Fruktosamin, glykovaný protein může být považován za alternativu stanovení glykovaného albuminu. Z metaanalýzy analytických a klinických dat však většina citovaných autorů usuzuje, že stanovení GA je analyticky spolehlivější a klinicky efektivnější, než stanovení fruktosaminu [16]. Vykazuje i lepší preciznost a podstatně lepší úroveň standardizace a reference. Jednou z výhod je vyjádření výsledku měření jako % GA, snižující závislost výsledků např. u hypoalbuminémie. Výsledky stanovení fruktosaminu jsou uváděny v μmol/l a nejsou korelovány s koncentrací proteinu ve vzorku.

Data o preciznosti a o prozatímních referenčních intervalech vytvořená z dat prací [9-17] jsou shrnuta v Tabulce 1, a vyznačují se dobrou úrovní vzájemné shody mezi sebou.

Reference stanovení glykovaného albuminu

V roce 2016 publikovala Japonská společnost klinické chemie (JSCC) referenční metodu stanovení GA a ustavila certifikovaný referenční materiál k stanovení glykovaného albuminu [18]. Referenční metoda je založena na principu měření ID-LC-MS/MS (isotopové zředování, kapalinová chromatografie a tandemová hmotnostní spektrometrie). Směs lyzinu a fruktosolyzinu představuje vnitřní standard, preciznost metody vyjádřená variačním koeficientem je CV = 1,2 až 1,4 %. Korelace s enzymatickou metodou Lucica Asahi Kasei je vysoká s hodnotou korelačního koeficientu $r > 0,99$.

Table 1: Published data of precision and reference intervals determination of glycated albumin (GA)

Method	CV (%)*	reference interval (% GA)
Lucica	< 1.0 - 1.7	11.9 - 15.8
Lucica	1.7	
Lucica	1.2 - 1.6	
IL Werfen (quantILab)	1.0 - 3.1	≤ 14.5 (9.0 - 16.0)
Diazyme	1.2 - 2.3	10.5 - 17.5

* Data CV obtained from literary quotations

Referenční materiál JCC RM 611 je vytvořen na bázi směsí lidských sér s hodnotami, určenými referenční metodou. Italsí autoři již použili tento referenční materiál JCC RM 611 k posouzení pravdivosti a metrologické návaznosti enzymatické metody Lucica Asahi Kasei a získali příznivou hodnotu recovery 97 až 102 % [18].

Závěr

Při sledování stavu diabetika poskytne hodnota koncentrace glukózy v séru (plazmě, krvi) informaci o jeho okamžitém stavu. Stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} pak dává informaci o dlouhodobé hodnotě (asi tři měsíce) koncentrace glukózy v krvi. Množství glykovaného albuminu v krvi je považováno za ukazatel střednědobého stavu koncentrace glukózy u pacienta (asi dva až čtyři týdny). Význam stanovení glykovaného albuminu pak spočívá hlavně v měření GA u pacientů s chorobami, při nichž se mění (zejména snižuje) střední doba života erytrocytů. V současnosti roste zájem o takový marker, nicméně zatím není součástí současných světových standardních lékařských doporučení.

Literatura

- Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Ed D.B.Sacks. NACB 2011 (dostupné na: www.aacc.org).
- American Diabetes Association Standards of medical care in diabetes 2016. *Diabetes Care* 2016,39: Suppl 1.
- Müller-Wieland, D., Petermann, A., Nauck, M., Heinemann, W., Kerner, U., Müller, A., Landgraf, R.** Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Diabetologie*, 2016,11,Suppl 2, S78-S81.
- Little, R. R.** Usefulness of glyated albumin assay for diabetes monitoring. *J Diabetes Sci. Technol.*, 2011, 5, p. 1463-1465.
- Hare, M. J. L., Shaw, J. E., Zimmet, P. Z.** Current controversies in the use of haemoglobin A_{1c}. *J Intern. Med.*, 2012, 271, p. 227-236.
- HbA_{1c} Interferences. Dostupné na: <http://www.ngsp.org>
- Sickle Cell Trait and other hemoglobinopathies and diabetes. NIH. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease. Dostupné na: <https://www.niddk.nih.gov>
- Welsh, K. J., Kirkman, M. S., Sacks, D. B.** Role of glyated proteins in the diagnosis and management of diabetes: research gaps and future directions. *Diabetes Care*, 2016, 39, p. 1299-1306.
- Ueda, Y., Matsumoto, H.** Recent topics in chemical and clinical research on glyated albumin. *J Diabetes Sci. Technol.*, 2015, 9, p. 177-182.
- Kohzuma, T., Yamamoto, T., Uematsu, Y., Shihabi, Z. K., Freedman, B. I.** Basic performance of an enzymatic method for glyated albumin and reference range determination. *J Diabetes Sci. Technol.*, 2011, 5, p. 1455-1462.
- Testa, R., Guerra, E., Bonfigli, A. R., Di Gaetano, N., Santini, G., Cerriotti, F.** Analytical performances of an enzymatic assay for the measurement of glyated albumin. *J Appl. Lab. Med.*, 2016, 2/1, p. 162-171.
- Paleari, R., Bonetti, G., Calla, C., Carta, M., Cerriotti, F., Di Gaetano, N. et al.** Multicenter evaluation of an enzymatic method for glyated albumin. *Clin. Chim. Acta*, 2017, 469, p. 81-86.
- Bellia, C., Zanimotto, M., Cosma, C., Angello, L., Lo Sasso, B., Bivona, G. et al.** Definition of the upper reference limit of glyated albumin in blood donors in Italy. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2017, 56/1, p. 120-125.
- Montagnana, M., Paleari, R., Danese, E., Salvagno, G. L., Lippi, G., Guidi, G. C., Mosca, A.** Evaluation of biological variation of glyated albumin (GA) and fructosamin in healthy subjects. *Clin. Chim. Acta*, 2013, 23/423, p. 1-4.
- Reynolds, A. N., Harper, M., Venn, B. J., Mann, J.** Glyated albumin is stable in plasma when exposed to common laboratory conditions and comparable when drawn from venous and capillary sites. *J Clin. Lab. Anal.*, 2018, 32/2. doi:10.1002/jcla.22236.
- Danese, E., Montagnana, M., Nouvenne, A., Lippi, G.** Advantages and pitfalls of fructosamine and glyated albumin in the diagnosis and treatment of diabetes. *J Diabetes Sci. Technol.*, 2015, 9, p. 169-176.
- Testa, R., Guerra, E., Bonfigli, A. R., Boemi, M., Cucchi, M., Di Gaetano, N. et al.** Glyated albumin: correlation to HbA_{1c} and preliminary reference interval evaluation. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2017, 55/2, e31-e33.
- Takei, I., Hoshino, T., Tominaga, M., Ishibashi, M., Kuwa, K., Umamoto, M. et al.** Committee on diabetes mellitus of the Japan Society of Clinical Chemistry -recommended reference measurement procedure and reference materials for glyated albumin determination. *Ann. Clin. Biochem.*, 2016, 53, p. 124-132.

Střet zájmů: Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 4. 9. 2017

*Adresa pro korespondenci:
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
Střelnická 1680
182 00 Praha 8
e-mail: friedecky@sekk.cz*