

- [J]. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi, 2011, 25(4): 286-288.
- [19] 孔祥亘, 韩绍磊, 郑昭敏, 等. 高尔基体蛋白 73 联合甲胎蛋白异质体在原发性肝癌诊断中的价值[J]. 山东大学学报: 医学版, 2011, 49(4): 110-114.
- [20] Hayashi M, Shimizu T, Hirokawa F, et al. Clinicopathological risk factors for recurrence within one year after initial hepatectomy for hepatocellular carcinoma[J]. Am Surg, 2011, 77(5): 572-578.
- [21] 高锦, 徐爱芳, 王妙婵, 等. 甲胎蛋白异质体对肝癌患者术后预后价值的应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(7): 1672-

1674.

- [22] 常彬霞, 辛绍杰. 甲胎蛋白及其临床应用研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(6): 576-580.
- [23] 陈燕, 林莺莺, 胡敏华, 等. 甲胎蛋白异质体在肝癌早期诊断和预警作用研究[J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(8): 1652-1654.
- [24] Taketa K, Endo Y, Sekiya C, et al. A collaborative study for the evaluation of lectin-reactive alpha-fetoproteins in early detection of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 1993, 53(22): 5419-5423.

(收稿日期: 2012-09-27)

• 综 述 •

血糖、糖化清蛋白、糖化血红蛋白的检测方法与临床应用

吴弟梅¹综述, 阳 萍²审校

(1. 合川区中医院检验科, 重庆 401519; 2. 重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

关键词: 血糖; 糖化清蛋白; 糖化血红蛋白; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 05. 030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)05-0583-03

近年来糖尿病的发病率逐渐升高, 2007~2008 年的流行病学调查显示: 中国 20 岁以上的成年人糖尿病患病率为 9.7%, 中国已成为发病人数最多的国家^[1]。糖尿病的早期诊断和血糖水平的良好控制非常重要。血糖、葡萄糖耐量实验(OGTT)是国际公认的诊断糖尿病的指标, 2010 年美国糖尿病协会(ADA)又将糖化血红蛋白(HbA1c)纳入了糖尿病的诊断标准^[2]。在评估糖尿病患者血糖控制方面, 血糖、HbA1c、糖化清蛋白(GA)各有优缺点, 它们的检测方法也多种多样。现对血糖、HbA1c、GA 的实验室检测方法及相关特点、在糖尿病诊疗中的应用价值及优缺点进行综述。

1 血糖、GA、HbA1c 的实验室检测方法和测定特点

1.1 血糖的检测方法及测定特点 血糖常用的检测方法从检测原理可分为葡萄糖氧化酶法、己糖激酶法和葡萄糖脱氢酶法, 从常使用的设备类型分为生化分析仪检测法和指血糖仪检测法。己糖激酶法特异性高, 不受胆红素、抗坏血酸等还原性物质的影响; 葡萄糖氧化酶法则易受其干扰, 造成结果假性偏低, 但现在的商品试剂盒中都含有抗干扰成分, 能有效排除以上物质的干扰; 葡萄糖脱氢酶法受脂血、高浓度的胆红素($\geq 342 \mu\text{mol/L}$)和血红蛋白($\geq 1 \text{ g/L}$)影响, 使检测结果增高^[3]。上生化分析仪的试剂多为葡萄糖氧化酶法、己糖激酶法, 并已实现了自动化和标准化。指血糖仪检测法简单、易学、用时少, 出检测结果快, 但存在如下影响因素: 因样本为末梢血, 受血细胞数量的影响, 相同血浆糖水平时, 随着血细胞比容的增加, 全葡萄糖检测值会降低; 受内外源性药物和其他非葡萄糖类物质的干扰, 如受维生素 C、氧气、木糖、高尿酸的影响; 操作不当、血量不足、局部挤压, 影响血糖监测的准确性。正因为指血糖仪检测法有如此多的优点和不足, 所以中华医学会建议: 便携式血糖仪的检测结果可用作糖尿病患者血糖自我监测, 不能用于糖尿病的诊断^[4]。

1.2 GA 的检测方法及测定特点 GA 尚无标准化测定方法, 早在 20 世纪 80 年代日本研发了高压液相离子交换法(HPLC 法), 但因代价高, 处理样本量小, 不适宜临床常规开展而未得到推广。2002 年美国研制了固体酶法, 虽然特异性较高, 但对于输注氨基酸的患者, 测定结果会异常升高。近几年日本研发

了液态酶法, 减少了溶解处理, 用溴甲酚紫代替了溴甲酚绿, 减少了球蛋白对结果的影响, 具有良好的稀释线性、日内重复性和日间稳定性, 与 HPLC 法有良好的一致性^[5], 且测定不受血清中转氨酶、尿素、肌酐、血脂的影响, 检测快速准确、样本用量少, 能在通用的自动生化分析仪上测定^[6]。2005 年 Yamaguchi 等^[7]报道了应用于化学试剂酶法测定 GA 的检测系统, 该法需血量小, 可在 5 min 之内完成测定, 与液态酶法有较好相关性。

1.3 HbA1c 的检测方法及特点 目前临床实验室中 HbA1c 的检测方法主要有两大类: 一类基于 HbA1c 与非糖化血红蛋白所带的电荷不同, 如阳离子交换色谱、电泳等方法; 另一类基于血红蛋白上糖化基团的结构特点, 如亲和色谱法、离子捕获法和免疫法等^[8]。其中高效液相离子层析法(HPLC)被公认为金标准检测法, 但因设备贵, 中国尚未广泛使用, 有较多实验室使用阳离子交换树脂微柱法、比色法等, 但它们的影响因素较多。近年国外正在对测定 HbA1c 的各种检测方法进行标准化处理, 但过程较复杂, 标化处理者认为经标化的亲和色谱检测值基本与 HPLC 法所得值相似, 因此亲和色谱微柱法也不失为一种 HbA1c 检测的可取方法, 但目前国内生产的亲和色谱微柱法部分试剂尚不合质量要求, 使用者在选择试剂时应首先进行质量检验, 并建立各自参考标准^[9]。也有报道免疫抑制比浊法能上生化仪进行自动化分析, 精密度高, 重复性好, 线性范围宽, 不易受干扰物质影响^[10]。中华医学会糖尿病分会则建议: 临床实验室检测 HbA1c 应该采用 HPLC 法, 并需参加卫生管理部门的质量控制, 尽量避免参考值发生变化。

2 血糖、HbA1c、GA 在糖尿病诊疗中的应用价值

2.1 血糖在糖尿病诊疗中的应用价值 血糖是糖尿病诊断和疗效观察的重要指标之一。空腹或餐后血糖及 OGTT 实验均是根据血糖检测值的高低而诊断糖尿病; 患者的自我血糖监测(SMBG)、动态血糖监测等均是通过对血糖检测值判断糖尿病的疗效。然而血糖波动幅度较大, 空腹时最低, 餐后最高, 它仅代表患者受检时血液中的葡萄糖水平, 因此血糖用于糖代谢分型和诊断糖尿病时, 不同状态下它的参考值不同。

2.2 HbA1c、GA 在糖尿病诊疗中的应用价值

2.2.1 它们均可监测糖尿病患者的平均血糖水平,评估血糖的控制状况。GA 是血液中葡萄糖与清蛋白发生非酶促反应的产物,清蛋白半衰期 17~19 d,所以 GA 可反应患者过去 2~3 周的平均血糖水平^[11],是评价患者短期糖代谢控制的良好指标,尤其对糖尿病患者治疗方案调整后疗效的评价,比如短期住院治疗的糖尿病患者^[12]。HbA1c 是红细胞中的血红蛋白在慢性高血糖作用下,发生的缓慢、持续而不可逆的非酶促糖基化反应产物,可以客观地反映 2~3 个月内机体的平均血糖水平^[13],在临床上已作为评估长期血糖控制状况的金标准,也是临床决定是否需要调整治疗方案的重要依据。无论是 1 型糖尿病的糖尿病控制与并发症研究还是 2 型糖尿病的英国前瞻性糖尿病研究等大型临床试验,均已证实以 HbA1c 为目标的强化血糖控制可降低糖尿病微血管及大血管并发症的发生风险^[14-15]。根据《中国 2 型糖尿病防治指南》的建议,在治疗之初至少每 3 个月检测 1 次 HbA1c,一旦达到治疗目标可每 6 个月检查 1 次^[1]。

2.2.2 鉴别应激性高血糖 急性应激如外伤、感染以及急性心脑血管事件等发生时,非糖尿病个体出现的高血糖,难以与糖尿病鉴别。陈浩等^[16]研究显示,颅脑外伤时糖尿病组与非糖尿病组的血糖明显高于正常,且两组无显著性差异,仅凭血糖的检测值无法区别是应激性高血糖或糖尿病所致,而通过联合检测血糖和 GA 发现,11 例患者 GA 高于正常,提示外伤前 2~3 周已有血糖升高,30 例患者 GA 处于正常水平,提示为应激性高血糖。联合检测 GA 和 HbA1c 有助于判断高血糖的持续时间,可作为既往是否患有糖尿病的辅助检测方法,从而客观评估糖代谢紊乱发生的时间及严重程度。

2.2.3 诊断糖尿病 2010 年 ADA 将 HbA1c $\geq 6.5\%$ 纳入糖尿病的诊断标准。2011 年 WHO 正式发布“应用糖化血红蛋白诊断糖尿病”的咨询报告,推荐有条件的地方将 HbA1c 检测作为糖尿病的辅助诊断手段,6.5% 为诊断糖尿病的临床阈值。同时,HbA1c $< 6.5\%$ 并不能排除经血糖检测诊断的糖尿病患者。近年国内学者也开展了相应研究,探讨在中国人群中应用 HbA1c 筛查及诊断糖尿病及糖尿病前期的价值。因 HbA1c 6.5% 的切点是否适合我国人群尚未得到验证,且我国 HbA1c 检测方法的标准化程度不够,因此目前暂不推荐应用 HbA1c 诊断糖尿病^[17]。然而上海糖尿病研究所研究提示,GA 与 HbA1c 一样适合于糖尿病的筛查,GA $\geq 17.1\%$ 可以筛查出大部分未经诊断的糖尿病患者。同时检测空腹血糖和 GA 可以提高糖尿病筛查率^[18]。GA 异常是提示糖尿病高危人群需行 OGTT 检查的重要指征,尤其对于空腹血糖正常者。

3 GA、HbA1c 在临床应用中的优缺点

3.1 共同的优点 均不需空腹,不受运动、药物等影响,可任意时间采血,与空腹血糖相比 GA 能反映患者 2~3 周的平均血糖水平,HbA1c 能反映 2~3 个月的平均血糖水平。

3.2 HbA1c 的不足及 GA 的优点 溶血性疾病患者 HbA1c 水平可能低于血糖的真实水平,缺铁性贫血(IDA)患者的 HbA1c 水平可能高于血糖的真实水平。妇女绝经前多数处于铁缺乏状态,妊娠中期妇女对铁的需求极高,也易出现铁缺乏症,因此 HbA1c 水平高于血糖真实水平的情况在绝经前和妊娠中期的妇女中极为常见^[19-20]。另一方面,当 IDA 患者接受铁剂治疗,因红细胞生存周期存在缩短的可能,因此 HbA1c 水平可出现一过性降低^[21-22],尿毒症患者接受透析治疗时,红细胞寿命缩短,HbA1c 的检测值也会降低^[23]。脾切除等致红细胞寿命延长的患者 HbA1c 的检测值会增高,而 GA 不受上述因素的影响,所以更适合用于评价易出现铁缺乏症和红细胞寿

命缩短患者的血糖水平。还有 HbA1c 检测结果对患者调整治疗方案后的疗效评估存在“延迟效应”,不能精确反映患者低血糖的风险和血糖波动的特征。而 GA 对短期内血糖变化比 HbA1c 敏感,是评价患者短期糖代谢控制情况的良好指标。

3.3 GA 的不足 血清蛋白更新速度加快的个体 GA 水平较低,血清蛋白更新速度降低的个体 GA 水平较高。甲状腺素促进清蛋白的分解,因此甲亢患者 GA 的检测值会降低;甲减患者 GA 的检测值会升高^[24]。慢性肝病患者清蛋白代谢速度减慢,半衰期延长,GA 水平可能不随患者血糖降低而下降^[25]。GA 水平受体质因素的影响,肥胖个体因清蛋白的更新速度加快,使得在同样的血糖水平下,肥胖者较非肥胖者 GA 水平低^[26-27]。

4 小 结

血糖、GA、HbA1c 是糖尿病诊断和评估患者血糖水平控制的常用指标。血糖代表患者血液中即刻葡萄糖水平,GA 反映患者受试前 2~3 周的平均血糖水平,HbA1c 反映患者受试前 2~3 月的血糖平均水平,联合检查空腹血糖、GA、HbA1c 可提高糖尿病的筛查率。HbA1c 是评估糖尿病患者血糖控制状况的金标准,但在多种病理状态下它不能反映血糖控制的真实水平,GA 可以弥补这一不足,但 GA 在某些病理状态下,用于血糖控制状况的观察也存在弊端。因此医生在糖尿病的诊治过程中应充分了解它们的检测方法、影响因素,具体病例具体分析,使血糖、GA、HbA1c 的临床应用价值得到充分的发挥,更好的为糖尿病患者服务。

参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2011: 1-14.
- [2] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diab Car. 2013, 34(Suppl 1): S62-S69.
- [3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 359-362.
- [4] 中华医学会检验分会, 卫生部临床检验中心, 中华检验医学杂志编辑委员会. 糖尿病诊断治疗中实验室检测项目的应用建议[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(1): 8-15.
- [5] 李青, 贾伟平. 糖化血清蛋白检测的临床应用及研究进展[J]. 药品评价, 2009, 6(3): 99-101.
- [6] 沈霞, 王连升, 黎明. 酶法测定糖化清蛋白及其临床意义[J]. 检验医学, 2006, 21(2): 132-135.
- [7] Yamaguchi M, Kambe S, Eto T, et al. Point of care testing system via enzymatic method for the rapid, efficient assay of glycated albumin[J]. Biosens bioelectron. 2005, 21(3): 426-432.
- [8] 索艳, 李强. 糖化血红蛋白测定方法及影响因素的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2010, 23(2): 210-213.
- [9] 陈吉虎. 糖化血红蛋白的测定方法及临床应用[J]. 内蒙古中医药, 2011, 30(6): 109-110.
- [10] 杨玉霞. 糖化血红蛋白检测方法评价[J]. 中外健康文摘: 临床医师, 2008, 5(7): 69.
- [11] 艾艳琴, 邓华聪. 糖化清蛋白与糖尿病[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2010, 30(3): 177-179.
- [12] 李青, 吴松华, 潘洁敏, 等. 住院糖尿病患者的糖化血清清蛋白水平及其影响因素[J]. 中华医学杂志, 2007, 87(42): 2994-2996.
- [13] 易向民, 李庆丰. 糖化血红蛋白在妊娠糖尿病筛选诊断中的价值评估[J]. 国际医药卫生导报, 2010, 16(15): 1889-1892.
- [14] Reichard P, Nilsson BY, Rosenqvist U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus[J]. N Engl J Med, 1993, 329(5): 304-309.
- [15] UKPDS Group. Intensive blood-glucose control with sulphony-

- lureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group [J]. Lancet, 1998, 352(9131): 837-853.
- [16] 陈浩, 田恒力, 戎伯英, 等. 脑外伤急性期空腹血糖、血清糖化清蛋白和乳酸脱氢酶联合检测的意义[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2007, 27(12): 1478-1480.
- [17] 中华医学会糖尿病学分会. 中国血糖监测临床应用指南(2011 年版)[J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2011, 3(4): 62-72.
- [18] Ma XJ, Pan JM, Bao YQ, et al. Combined assessment of glycated albumin and fasting plasma glucose improves the detection of diabetes in Chinese subjects[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(10): 974-979.
- [19] Kim C, Bullard KM, Herman WH, et al. Association between Iron deficiency and A1C Levels among adults without diabetes in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999—2006 [J]. Diabetes Care, 2010, 33(4): 780-785.
- [20] Koga M, Saito H, Mukai M, et al. Influence of Iron metabolism indices on glycated haemoglobin but not glycated albumin levels in premenopausal women[J]. Acta Diabetol, 2010, 47(Suppl 1): 65-69.
- [21] Gram-Hansen P, Eriksen J, Mourits-Andersen T, et al. Glycosylated haemoglobin (HbA1c) in iron- and vitamin B12 deficiency [J]. J Intern Med, 1990, 227(2): 133-136.
- [22] Koga M, Hashimoto K, Murai J, et al. Usefulness of glycated albumin as an indicator of glycemic control status in patients with hemolytic anemia[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(3-4): 253-257.
- [23] Saudek CD, Herman WH, Sacks DB, et al. A new look at screening and diagnosing diabetes mellitus[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(7): 2447-2453.
- [24] 梁国威, 贾玫, 徐旭, 等. 糖化清蛋白在甲状腺功能紊乱患者中的水平变化及其影响因素[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(1): 95-98.
- [25] 黄田海, 毛雁飞, 马兰花. 糖化清蛋白检测临床意义研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(18): 2226-2229.
- [26] Koga M, Matsumoto S, Saito H, et al. Body mass index negatively influences glycated albumin, but not glycated hemoglobin, in diabetic patients[J]. Endocr J, 2006, 53: 387-391.
- [27] 李青, 吴松华, 潘洁敏, 等. 住院糖尿病患者的糖化血清清蛋白水平及其影响因素[J]. 中华医学杂志, 2007, 87(42): 2994-2996.

(收稿日期: 2012-10-09)

• 综 述 •

表面等离子共振生物传感技术及其在临床实验诊断中的应用

林钟劝 综述, 张 波 审校

(第三军医大学西南医院全军检验医学专科中心, 重庆 400038)

关键词: 生物传感技术; 表面等离子共振; 实验室技术和方法; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 05. 031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)05-0585-03

表面等离子体共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 是指由电磁波在金属和电介质交界面上激励而形成的影响电磁波传播的谐振波的现象。即光以大于全反射角角度入射到交界面时, 一部分光被反射, 另一部分光被耦合进表面等离子体内, 在表面等离子体中存在光的消失场。当入射光的波矢量沿平行界面的分量和表面等离子体波的波矢量相等时, 表面等离子体在光的消失场中发生谐振, 光波在传输过程中发生能量损失, 宏观上表现为某些光谱被强烈吸收, 该现象被称为等离子体共振^[1]。1900 年, Wood 发现了光波通过光栅后光频谱发生了小区域损失, 并首次对表面等离子体波进行了描述。1968 年, Kretschmann 建立了用可见光激发表面等离子体的方法, 并发表了具有里程碑性质的文章。激发了人们将 SPR 应用于传感机制的热情, 同时 Kretschmann 结构也为 SPR 型传感器奠定了硬件基础。

表面等离子体波对介质折射率的微小变化非常敏感, 如果被测样品与发生表面等离子体共振的金属薄膜接触, 由于出现吸附或化学反应, 导致薄膜的介电常数发生变化。因此, 该特性适合应用于生物传感。1983 年, Liedberg 等^[2]把 SPR 技术应用于抗原抗体相互反应的测定。1990 年, 瑞典 Pharmacia 公司开发出世界上首台商业化 SPR 传感器——BIAcore^[3]。由于 SPR 传感器具有不需标记, 检测准确性高, 响应速度快, 体积小, 抗干扰能力强以及实时在线检测等优点, 近 20 年来发展迅速, 具有代表性的 SPR 传感器产品有瑞典 BIAcore 公司的 BI-

Acore 系列、美国 Texas Instrument 公司的 SPREETA 系列和荷兰 Windsor Scientific Limited 公司的 IBIS 系列以及国内北京赛德创公司的 UMPHOTM 系列^[4]。SPR 生物传感器现已广泛应用于生命科学研究、化学、食品安全与环境监测等诸多领域。

1 表面等离子共振生物传感器的工作原理

SPR 生物传感器是基于在某些金属 (特别是金、银) 界面上, 光能够激发产生表面等离子体波这一原理而研制的应用技术。当入射光以大于临界角的角度入射到金属界面上, 发生全反射。如在合适的角度下, 入射光的平行矢量与表面等离子体波的频率相匹配时, 发生等离子共振, 能量从入射光转移到表面等离子体波中, 反射光的反射率会表现出急剧衰减, 当反射光强度衰减到最低时, 此时入射光的入射角称为“谐振角”。发生谐振时的入射角高度依赖于金属界面的折射率, 而金属界面上生物分子的结合或生物反应会改变此处金属界面的折射率, 从而引起谐振角的相应改变。通过监测谐振角的变化, 可以实现对金属表面生物分子的结合与分离状态的监测, 实时检测生物分子之间相互作用的特异性信号^[5]。基于这一原理, SPR 生物传感技术能够对分子间的相互作用实现无标记、实时动态和快速检测。

2 表面等离子共振生物传感器的分类

根据光耦合方式的不同, SPR 传感器在结构上可分为: (1) 棱镜耦合式 SPR 传感器。棱镜耦合具有结构简单、易于实