

# Hemoglobin A1c

## – anvendelse og analysekvalitet

**A**NALYSEN AV HEMOGLOBIN A1c (HbA1c, glykert hemoglobin) er blitt et av våre viktigste verktøy for å sikre god blodsukkerkontroll og redusert risiko for senkomplikasjoner ved diabetes. Hvordan har analysen av en glukosemodifisert hemoglobinvariant fått en slik rolle – og hvilke muligheter er det for at den kan bli brukt også i diagnostikken?

Av JENS P. BERG, Institutt for klinisk medisin, Universitetet i Oslo og Avdeling for medisinsk biokjemi, Oslo Universitetssykehus. E-post: j.p.berg@medisin.uio.no

Diabetes mellitus er en samlebetegnelse på sykdommer som fører til forhøyet blodsukker. Insulin er et hormon som produseres i betacellene i de Langerhanske øyene i bukspyttkjertelen. Det har en rekke metabolske effekter og stimu-

lerer blant annet kroppens celler, spesielt i lever, muskulatur og fettvev, til å ta opp glukose og dermed redusere blodsukkeret. Diabetes skyldes stort sett enten at insulin ikke produseres eller at det ikke virker slik det skal. Manglende produk-

sjon av insulin, som betegnes type 1 diabetes, kan oppstå i alle aldersgrupper, men assosieres med diabetes hos barn. Type 2 diabetes er cirka ti ganger vanligere enn type 1, og starter med en insulinresistens hvor kroppens følsomhet for insulin er redusert. De insulinproduserende cellene forsøker å kompensere ved å øke produksjonen og utskillingen av insulin, men etter hvert klarer ikke produksjonen å holde tritt med det økende behovet, og pasienten får diabetes.

Denne formen for diabetes oppfattes som en livsstilssykdom og forbindes med overvekt, kosthold og lite fysisk aktivitet, men har også en betydelig arvelig komponent på samme måte som type 1. Felles for de ulike årsakene til diabetes er at konsentrasjonen av glukose i blodet er forhøyet, og diagnosen stilles ved å måle blodsukkeret fastende og/eller etter en to timers glukosebelastningstest (Tabell 1). Type 1 diabetes kan utvikle seg relativt raskt i løpet av uker til noen måneder og gir klassiske symptomer som tørste og økt vannlating. Det kan også oppstå øyeblikkelig hjelp-situasjoner med diabetisk ketoacidose hvor blodsukkeret er kraftig forhøyet og pasienten lager store mengder ketonlegemer. Type 2 har et mer snikende forløp med vage symptomer som fører til at det tar tid før pasienten oppsøker lege og det blir stilt riktig diagnose.

### Senkomplikasjoner

Langvarig forhøyet nivå av glukose i kroppens ekstracellulære væsker er skadelig og fører til økt risiko for diabe-

Tabell 1 Diagnostiske kriterier for diabetes

DIABETES MELLITUS <sup>1</sup>	GRENSEVERDIER
Fastende p-glukose (venøst)	≥ 7,0 mmol/L
Og/eller to timer etter inntak av 75 g glukose	≥ 11,1 mmol/L
Og/eller tilfeldig p-glukose sammen med symptomer	≥ 11,1 mmol/L
ADA <sup>2</sup> : HbA1c	≥ 6,5 %
<b>NEDSATT GLUKOSETOLERANSE</b>	
Fastende p-glukose	< 7,0 mmol/L
Og to timer etter inntak av 75 g glukose	≥ 7,8 og < 11,1 mmol/L
<b>ØKT RISIKO FOR DIABETES</b>	
ADA: HbA1c	≥ 5,7 og < 6,5 %

- 1) Det er egne grenser og tester for påvisning av svangerskapsdiabetes. Dersom pasienten ikke har symptomer eller det foreligger klinisk mistanke om diabetes må det være to glukoseverdier over de diagnostiske grensene før diagnosen stilles.
- 2) American Diabetes Association. ADAs kriterier gjelder ikke i Norge.

tiske senkomplikasjoner som reduserer pasientens livskvalitet og leveutsikter. Risiko for kardiovaskulære sykdommer som hjerteinfarkt og slag er økt to – tre ganger sammenlignet med personer uten diabetes. Det er økt forekomst av øyesykdom (retinopati) som kan føre til blindhet, og nyresykdom (nefropati) hvor første tegn er økt utskilling av albumin i urinen. Pasienten kan få nedsatt følsomhet i nerver (nevropati), spesielt til bena, noe som igjen fører til nedsatt smertefølelse og sår. Slike sår som gror dårlig kan bli kroniske og i verste fall føre til amputasjoner. Flere banebrytende studier, blant annet Oslo-studien fra 1986 (1), viste en tydelig sammenheng mellom intensivt behandling av diabetes og forebygging av senkomplikasjoner. Det ble klart at ikke bare fastende blodsukker, men nivået gjennom hele døgnet har betydning for risiko for senkomplikasjoner.

### HbA1c – et amadoriprodukt

Mekanismene for hvordan høyt blod-sukker fører til senkomplikasjoner er ikke fullstendig klarlagt. En av konsekvensene av dårlig regulert blodsukker er at glukose og metabolitter av glukose danner forbindelser med andre organiske forbindelser i kroppen. Når det blir en kovalent binding mellom amino-grupper i proteiner og glukose, skjer det

en Maillard-reaksjon og det dannes amadoriprodukter (Figur 1). Ved videre rearrangering av forbindelsene kan det dannes "advanced glycation end products" som kan føre til kryssbinding av proteiner og endring av deres funksjoner.

HbA1c er et amadoriprodukt hvor hemoglobin har reagert med glukose. Midt på 1950-tallet fant man at det var mulig å separere fem ulike varianter av hemoglobin ved hjelp av ionebytterkromatografi (2). De ble gitt navn fra hemoglobin A1a (HbA1a) til HbA1e. Det viste seg at konsentrasjonen av HbA1c-fraksjonen korrelerte med forekomsten av senkomplikasjoner hos pasienter med diabetes. HbA1c-fraksjonen inneholdt store mengder av et amadoriprodukt. Det var dannet mellom glukose og sidekjeden til en aminosyre av type valin i den aminoterminale enden av hemoglobinet betakjede.

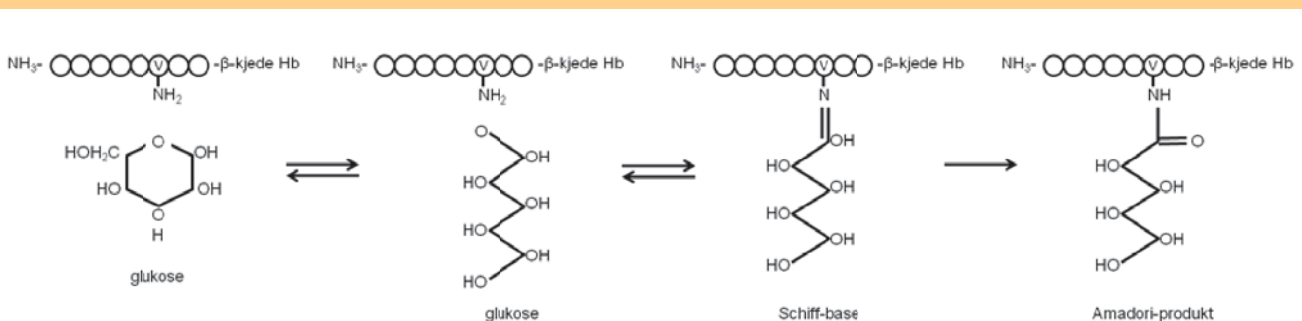
HbA1c utgjør cirka 60 % av alt glukosemodifisert (glykert) hemoglobin og 4-6 % (referanseområdet) av alt hemoglobin i blodet. HbA1c er et godt mål for hvordan gjennomsnittlig konsentrasjon av glukose har vært i blodet de siste 5-12 ukene. Glukose binder seg også til albumin, immunglobuliner og andre proteiner, men måling av disse produktene har vist seg å være mindre egnet til å følge opp blodsukkerkontroll ved diabetes.

### Standardisering av HbA1c

Det ble utviklet en rekke forskjellige metoder og analyseinstrumenter for å måle HbA1c. Et viktig arbeid for å standardisere analysen ble gjort i forbindelse med studien Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) (3) hvor en intensivt behandling av type 1 diabetes ble sammenliknet med konvensjonell behandling. Det ble laget et referansepreparat og referansemetoder som laboratoriene kalibrerte instrumentene sine med. Studien viste at intensivt behandling hvor HbA1c ble redusert til gjennomsnittlig 7 %, reduserte forekomsten av senkomplikasjoner.

For å kunne overføre konklusjonen av studien til konkrete behandlingsmål i den kliniske hverdag, måtte analyseinstrumentene kalibreres slik at de var sammenlignbare med DCCT-nivå. I USA ble HbA1c-analysene harmonisert gjennom det såkalte National Glycohemoglobin Standardization Programme (NGSP). For å få til en global løsning etablerte The International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) en arbeidsgruppe for å standardisere HbA1c (4). Det ble laget et primært referansepreparat og referansemetoder slik at man kunne gi "fasitsvar" på sekundære referansematerialer. Dermed hadde man etablert en ubrutt kjede av sporbarhet fra resultatet av en HbA1c-analyse i et laboratorium

Figur 1



Skjematisk fremstilling av dannelsen av HbA1c. Aminoterminale aminosyre nr 6 (valin) i hemoglobinet betakjede reagerer med glukose og danner en schiffbase. Dette produktet kan deretter rearrangeres slik at det dannes et mer stabilt amadoriprodukt som har fått betegnelsen HbA1c.

eller i en allmennpraksis og til det primære referansepreparatet.

### Felles enhet?

Referansepreparatene lages ved å blande kjente molare mengder av HbA1c og HbA0. Mengden oppgis som mmol HbA1c/mol HbA1c + HbA0.

Harmoniseringen av analysen gjorde det mulig å få en felles enhet. Til nå har det vært tre forskjellige programmer på litt forskjellige nivåer: DCCT, Mono-S (Sverige) og JDS (Japan). De har alle angitt svar i prosent. En uttalelse fra IFCC og flere internasjonale diabetesorganisasjoner anbefalte at HbA1c-svar utgis som IFCC-verdi (mmol/mol), prosent (i Norge relatert til DCCT-nivå) og gjennomsnittlig glukose (mmol/L) (se omregningsformler i Tabell 2). I Norge har en arbeidsgruppe etablert av Norsk Selskap for Medisinsk Biokjemi og Norsk Selskap for Endokrinologi (sammensatt av representanter fra allmennmedisin, pediatri og Diabetesforbundet) anbefalt at norske laboratorier fortsetter å rapportere HbA1c-svar kun som prosent relatert til DCCT-nivå ved hjelp av en omregningsformel. Denne formelen har vist seg å være stabil i forhold til referansepreparatene. Alle HbA1c-svar som utgis i Norge er derfor direkte sammenlignbare med verdiene fra DCCT-studien (3) og til United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) (5), en senere studie som undersøkte intensivt behandling av type 2 diabetes. Arbeidsgruppen vurderte det slik at

rapportering av svar på én analyse med mange ulike verdier ville skape forvirring. Beregning av gjennomsnittlig blodglukose har mange forbehold, og kan blant annet ikke brukes hos barn og ved graviditet. Svar utgitt som mmol/mol er foreløpig lite utbredt. Dersom mange land som vi sammenligner oss med går over til å bruke kun mmol/mol, bør også norske laboratorier vurdere å skifte resultatenheter for HbA1c. Anbefalingen skal uansett revurderes i løpet av 2012.

### Diagnostisering

Diagnosen diabetes stilles ved å måle forhøyet nivå av glukose i plasma eller serum fastende, og/eller etter en oral glukosebelastningstest (Tabell 1). Det betyr at pasienten enten må møte fastende til prøvetakning eller gjennomføre en test som tar to timer. Det er en god korrelasjon mellom gjennomsnittlig konsentrasjon av glukose i plasma og HbA1c når man undersøker dette i en befolkning. Spørsmålet har derfor vært reist med jevne mellomrom om måling av HbA1c kan brukes som diagnostisk kriterium for diabetes. Tidligere har dette blitt avvist med at kvaliteten på HbA1c-målingene har vært for dårlige. Kvaliteten har imidlertid gradvis blitt mye bedre, og siden det også er etablert referansemetoder og -materialer, er diagnostisk bruk blitt anbefalt av flere diabetesorganisasjoner, blant annet den amerikanske American Diabetes Association (ADA).

WHO's kriterier (som brukes i Norge) har ennå ikke implementert HbA1c til diagnostisk bruk. ADA har satt grensen for diabetes til HbA1c  $\geq$  6,5 % (6). Hvis man undersøker en stor befolkning for diabetes og legger til grunn diagnostiske kriterier som enten fastende plasma-glukose  $>$  7,0 mmol/L, totimersverdi for plasmaglukose etter oral glukose toleransetest  $>$  11,1 mmol/L, eller HbA1c  $\geq$  6,5 %, gir glukosebelastningen flest pasienter med diabetes, mens fastende glukose og HbA1c gir omtrent like mange, men ikke eksakt de samme. De diagnostiske kriteriene som velges har stor betydning for hvem som får diagnosen. HbA1c-kriteriet ser ut til å være strengere enn glukosebelastningskriteriet.

Epidemiologiske studier har vist at det er en gradvis økende risiko for diabetiske senkomplikasjoner ved økende HbA1c, og det er vanskelig å sette en eksakt grense mellom høy og lav risiko. Derfor har ADA bestemt at HbA1c-verdier fra 5,7 % til 6,4 % skal betegnes som "prediabetes". Det innebærer at pasienten må følges opp.

Norsk Selskap for Endokrinologi og Norsk Selskap for Medisinsk Biokjemi har gitt en arbeidsgruppe i oppdrag å se på diagnostisk bruk av HbA1c i forhold til diabetes. Arbeidsgruppen er den samme som anbefalte enheter, men er supplert med flere klinikere. Den vil komme med en anbefaling i løpet av våren 2011.

### Kvalitetskrav

En viktig forutsetning for diagnostisk bruk av HbA1c er at den analytiske kvaliteten forbedres. I eksterne kvalitetskontroller er grensene for maksimal tillatt totalfeil satt til  $\pm$  10 % i forhold til fasitverdi bestemt av et internasjonalt referanselaboratorium. Det betyr at akseptable resultater for en prøve med fasitverdi på 6,5 % kan variere fra 5,9 % til 7,2 % mellom ulike laboratorier. De aller fleste laboratorier befinner seg innenfor dette. Den analytiske variasjonskoeffisienten befinner seg ofte på ca 2-3 % for hvert enkelt instrument, men

Tabell 2 Omregningsformler<sup>1</sup>

<b>HbA1c</b>
Til % (DCCT <sup>2</sup> ) fra mmol/mol (IFCC <sup>3</sup> -verdi): % (DCCT) = 0,09148 * mmol/mol (IFCC) + 2,152
<b>Gjennomsnittlig p-glukose (AEG<sup>4</sup>)</b>
Til p-glukose (mmol/L) fra HbA1c (%): mmol/L (glukose) = 1,59 * % (HbA1c) - 2,59

- 1) Omregningen fra IFCC til DCCT-verdi for HbA1c skjer automatisk i alle norske analyseinstrumenter for HbA1c.
- 2) Diabetes Control and Complications Trial
- 3) International Federation of Clinical Chemistry
- 4) Average estimated glucose

systematiske avvik kan føre til at man likevel beveger seg ut mot yttergrensene for tillatt totalfeil. Siden analytisk variasjon for HbA1c er relativt liten, kan vi med et kvalitetsmål på  $\pm 10\%$  komme til å akseptere relativt store systematiske avvik. Dette kan føre til lokale forskjeller i diabetesforekomst. NGSP som blant annet administrerer eksterne kvalitetsprogrammer for HbA1c i USA, har gradvis skjærpet kvalitetsmålene fra  $\pm 15\%$  i 2007 til  $\pm 8\%$  i 2010. For neste år og 2012 skal resultatene være innenfor  $\pm 7\%$  i forhold til fasit. Hvis HbA1c skal inkluderes i diagnostikk av diabetes, må vi også vurdere hvilke krav som skal settes til analysekvaliteten. Dette inngår i oppdraget til den norske arbeidsgruppen som skal se på diagnostisk bruk av analyse.

### Konklusjon

En av de største utfordringene ved diabetes er at mange har sykdommen uten å være klar over det. Innføring av HbA1c som diagnostisk kriterium kan gjøre det lettere å stille diagnosen. Man kan nøye seg med en tilfeldig tatt prøve, og pasienten trenger ikke å møte opp fastende eller gjennomføre glukosebelastningstest.

HbA1c kan imidlertid ikke benyttes ved graviditet, ved raskt utviklende diabetes hos barn, ved enkelte hemoglobin sykdommer og andre tilstander som

fører til økt omsetning av røde blodlegemer. I disse tilfellene er det ikke nødvendigvis samsvar mellom gjennomsnittlig glukosekonsentrasjon og HbA1c. Måling av plasmaglukose vil derfor fortsatt ha en plass ved diagnostikk av diabetes.

HbA1c er en markør som er assosiert med økt risiko for diabetiske senkomplikasjoner, men den er ikke en direkte årsaksfaktor. Det kan derfor tenkes at man i fremtiden kommer til å oppdage andre markører som er enda tettere assosiert med selve årsaken til senkomplikasjoner. Inntil videre vil imidlertid HbA1c-resultater være en av våre viktigste veiledere i behandlingen av diabetes og vil kanskje i fremtiden bli viktig i diagnostiseringen også. Høy kvalitet på HbA1c-analysen er én av flere viktige forutsetninger for å kunne lykkes i arbeidet med å redusere forekomsten av diabetiske senkomplikasjoner. ■

### Referanser

- 1) Dahl-Jørgensen K, Brinchmann-Hansen O, Hanssen KF, Ganes T, Kierulf P, Smeland E, Sandvik L, Aagaens O. Effect of near normoglycaemia for two years on progression of early diabetic retinopathy, nephropathy, and neuropathy: the Oslo study. *Br Med J* 1986; 293(6556):1195-9.
- 2) Weykamp C, John WG, Mosca A. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c. *J Diabetes Sci Technol*. 2009 3:439-45.
- 3) The effect of intensive treatment of

diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993;329:977-86.

- 4) Consensus Committee. Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1c measurement: the American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation. *Diabetes Care*. 2007;30(9):2399-400.
- 5) Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998;352:837-53.
- 6) American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33 (Supplement 1):S62-S69.

### Siste!

I det Bioingeniøren gikk i trykken ble det kjent at WHO's ekspertgruppe for diabetes har akseptert at HbA1c kan brukes diagnostisk og grensen er satt til 6,5%. I Norge er dette ennå ikke inkludert i de nasjonale kriteriene.  
Se: [www.who.int/chp/media/news/releases/2011\\_1\\_diabetes/en/index.html](http://www.who.int/chp/media/news/releases/2011_1_diabetes/en/index.html)

## Imagine... High quality glass coverslipping linked to full flexibility

### Dedicated to Histopathology

Sakura Finetek, again, improves the laboratory. By offering a true walk away, fully automated, glass coverslipping workstation, delivering high quality slides linked to full flexibility. As the innovative company in histopathology, Sakura Finetek is continuously looking for possibilities to improve the laboratory...and succeeds in offering solutions for problems found in the histopathology laboratory.



**Tissue-Tek® Prisma® & Glas™ g2**  
Automated Slide Stainer & Coverslipper

#### The Tissue-Tek® Prisma® & Glas™ g2 offer you:

- Interfaced Automated Slide Stainer and Glass Coverslipper
- An air bubble free result through the Mechatronics™ mechanism
- Manual loading possibility of slide baskets in Glas™ g2, when linked to Tissue-Tek® Prisma®
- Improved workflow, with unloading capacity up to 240 slides
- Decreased drying time of slides

First we understand.  
Then we innovate.



**Sakura Finetek Norway AS**  
Telefon: +47 90 96 88 87  
Fax +47 33 35 79 46  
Norway@sakura.eu  
[www.sakura.eu](http://www.sakura.eu)

Møt oss på våres stand på  
Holmekollen den 10. og 11 mars

