

Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V12200902

Brug af glykeret hæmoglobin-måling i praksis

Silje H. Christensen¹, Nete Hornung², Jurgita Janukonyté³, Else Marie Vestergaard⁴ & Mie Samson¹

1) Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital, 2) Klinisk Biokemisk Afdeling, Hospitalsenhed Vest, 3) Blodprøver og Biokemi, Hospitalsenhed Midt, 4) Blodprøver og Biokemi, Regionshospitalet Horsens

Ugeskr Læger 2021;183:V12200902

HOVEDBUDSKABER

- Alle tilstande, der ændrer erythrocytlevetiden, påvirker glykeret hæmoglobin (HbA_{1c})-niveauet.
- En række tilstande kan forårsage fejlagtige HbA_{1c}-resultater pga. analytisk interferens.
- I disse situationer bør glukose i venøst plasma fra fastende patient (fasteglukose) anvendes til diagnostik og evt. monitorering

Niveauet af glykeret hæmoglobin, også kaldet hæmoglobin A_{1c} (HbA_{1c}), afspejler de seneste 2-3 måneders glykæmiske niveau i blodet [1]. Der er lav døgnvariation og derfor intet behov for faste før prøvetagning. Der er desuden en god præanalytisk holdbarhed (tre døgn ved stuetemperatur) [2, 3]. Det er en udbredt og hyppigt anvendt analyse, som er foretaget > 600.000 gange i 2019 alene i Region Midtjylland. Den anvendes til monitorering af diabetes mellitus (DM) og siden 2011 også til diagnostik af type 2-DM. Den diagnostiske skæringsværdi for DM (HbA_{1c} > 48 mmol/mol) er fastlagt ud fra risikoen for udvikling af retinopati – en af de tidligste kliniske komplikationer i forbindelse med DM [1, 4].

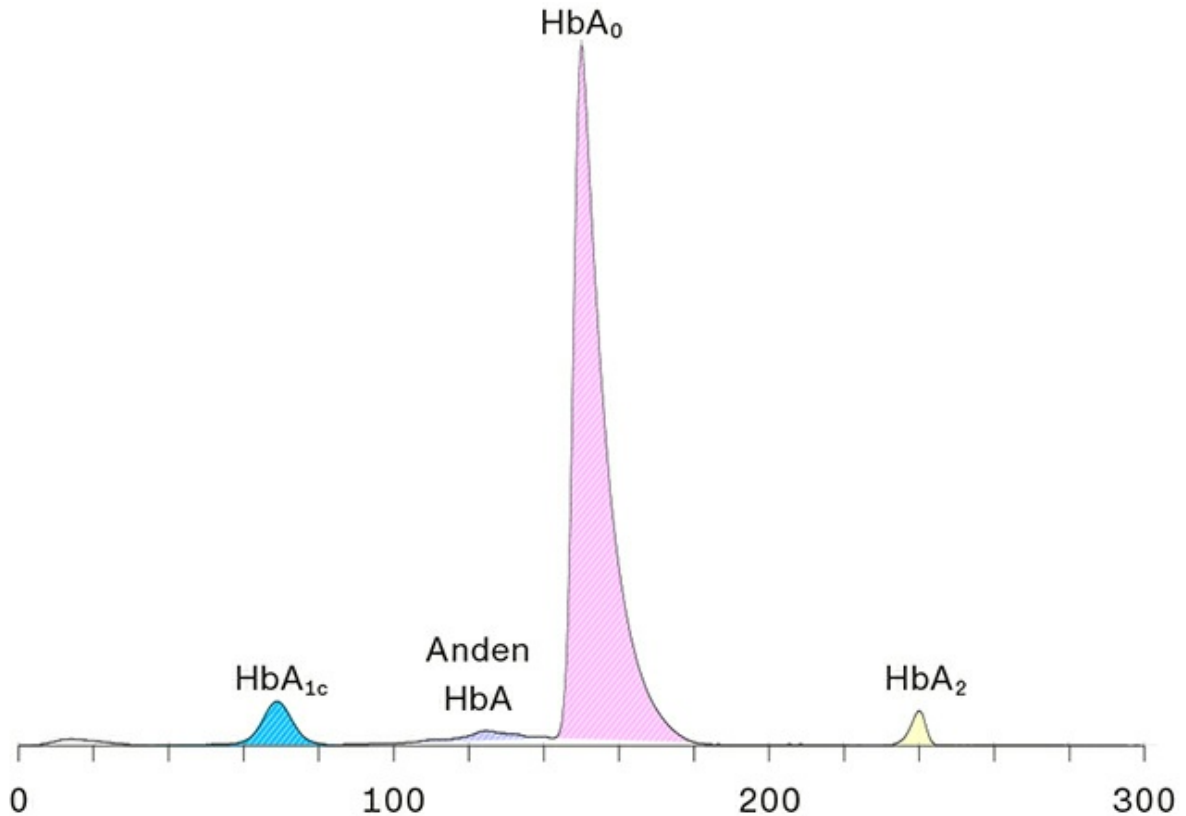
Der er imidlertid omstændigheder, som påvirker patientens HbA_{1c}-niveau i blodet og/eller interfererer med HbA_{1c}-analysemetoderne. I begge tilfælde vil HbA_{1c}-niveauet ikke afspejle patientens »sande« glykæmiske niveau. Det sker derfor, at patienter diagnosticeres med og behandles for DM på baggrund af et forhøjet HbA_{1c}-niveau uden at have DM. Ligeledes kan DM hos en patient blive overset pga. for lavt HbA_{1c}-niveau.

Vi vil i det følgende belyse de kliniske situationer, hvor målinger af HbA_{1c}-niveauet enten er fejlbehæftet eller skal bruges med forsigtighed.

HVORNÅR BØR GLYKERET HÆMOGLOBIN-MÅLING IKKE BRUGES?

Alle tilstande, der påvirker erythrocytternes omsætning, vil give anledning til ændret HbA_{1c}-niveau uanset analysemetode [1]. Ved normal erythropoiese og en erythrocytlevetid på ca. 120 dage er der en lineær sammenhæng mellem HbA_{1c} og middelplassmaglukosekoncentrationen [5, 6]. HbA_{1c} dannes ved passiv glykering af hæmoglobin i en langsom irreversibel reaktion, hvorfor unge erythrocytter indeholder mindre HbA_{1c} end ældre erythrocytter [5]. Dermed får aldersfordelingen af erythrocytterne i blodbanen betydning for koncentrationen af HbA_{1c}. Ved en normal celleomsætning er der relativt flest unge erythrocytter, og derfor vil

50% af en given HbA_{1c}-værdi afspejle glykæmien i de seneste 30 dage [7, 8].



Resultatet fra en bestemmelse af den relative mængde af glykeret hæmoglobin (HbA_{1c}) med hæmoglobinfraktionering vha. kapillærelektroforese. HbA_{1c}-svaret angives som arealet af den lyseblå top divideret med total hæmoglobin A (summen af arealerne af den lilla, pink og gule top). HbA_{1c} er her i normalområdet.

HbA_{1c}-målemetoden kan også forårsage afvigende HbA_{1c}-resultater. I de hyppigst benyttede analysemetoder i Danmark adskilles HbA_{1c} fra andre typer af hæmoglobin i fraktioner vha. ladningsforskel (højtryksvæskekromatografi (HPLC) eller kapillærelektroforese (CE) (Figur 1)). I andre metoder udnytter man strukturelle forskelle (enzymatiske assays samt immuno- og affinitetassays), hvilket f.eks. er princippet i patientnært analyseudstyr, som bl.a. bruges i almen praksis. Der er under normale forhold god korrelation mellem metoderne, men de har forskellige analysetekniske begrænsninger [9].

Tilstande med påvirket erythrocytlevetid

Generelt gælder det, at ved tilstande med nedsat erythrocytlevetid vil erytropoisen ofte være ekstra aktiveret og andelen af unge erythrocytter være øget, hvilket vil resultere i et lavere HbA_{1c}-niveau, end hvad patientens glykæmi skulle tilsige. Omvendt vil tilstande med forlænget erythrocytlevetid (f.eks. ved aspleni) medføre et højere HbA_{1c}-niveau, end hvad patientens glykæmi skulle tilsige, da der er en større andel af ældre erythrocytter. I begge situationer afspejler HbA_{1c} ikke den reelle glykæmi.

Graviditet

Et fysiologisk eksempel på nedsat HbA_{1c}-niveau er graviditet, hvor der er nedsat erythrocytlevetid (ca. 90 dage) og øget produktion af erythropoietin (EPO) [5]. Der kan ses stigende HbA_{1c}-værdier i tredje trimester, hvilket muligvis skyldes jernmangel [10].

Anæmi

Ved både akut blødning og hæmolyse vil der være øget erythropoiese med en øget andel af unge erythrocytter og risiko for, at man måler et upålideligt lav HbA_{1c}-niveau [5]. Ved ubehandlet mangelanæmi (jern-, folat- og B₁₂-vitaminmangel) er HbA_{1c}-niveauet derimod forhøjet [7]. Fænomenet skyldes formentlig både en større andel af ældre erythrocytter og et øget niveau af lipidperoxider, der øger glykeringen [11]. Under behandling af mangeltilstanden (f.eks. i form af jerntilskud) vil HbA_{1c}-niveauet falde, da andelen af unge erythrocytter stiger [7]. HbA_{1c}-niveauet afspejler derfor først patientens glykæmi, når anæmien er velbehandlet.

Ved blodtransfusion inden for de seneste tre måneder vil donors HbA_{1c}-niveau påvirke HbA_{1c}-niveauet hos patienten [5].

Kronisk nyreinsufficiens

Patienter med kronisk nyreinsufficiens har afledt anæmi pga. nedsat erythrocytlevetid [12] og evt. nedsat EPO-produktion. Særligt stadiet 4 og 5 kronisk nyreinsufficiens (estimeret glomerulær filtrationsrate < 30 ml/min/1,73 m²) ledsages ofte af nedsat HbA_{1c}-niveau [5, 7]. Ved behandling med EPO falder HbA_{1c}-niveauet pga. en øget andel af unge erythrocytter [7, 13].

Uræmi har tidligere givet anledning til, at der blev målt falsk for højt HbA_{1c}-niveau via analytisk interferens, idet karbamid bindes til hæmoglobin (karbamylering) [5]. Med de nuværende metoder er interferensen fra karbamylet hæmoglobin elimineret [5].

Leverinsufficiens

Patienter med kronisk leversygdom udvikler ofte diabetes, men uden en stigning i HbA_{1c}-niveauet, som svarer til glykæmien [7]. Årsagen er ikke fuldt belyst, men kan være afledt anæmi, nedsat proteinsyntese, behandling af hepatitis C med antivirale midler og alkoholoverforbrug [14]. Alkoholoverforbrug er associeret med et lavere HbA_{1c}-niveau end forventet ud fra andre glykæmiske parametre [15, 16]. Tidligere sås et falsk forhøjet HbA_{1c}-niveau pga. analytisk interferens fra ethanols nedbrydningsprodukt acetaldehyd (HPLC/CE) [5], men ikke med de nutidige metoder.

Farmaka

Følgende præparater kan være associeret med en sænkning af HbA_{1c}-niveauet, formentlig pga. en subklinisk hæmolytisk effekt: dapson, ribavirin, sulfonamider, sulfasalazin, og antiretrovirale stoffer [5, 7, 17, 18]. Som nævnt vil behandling med EPO sænke HbA_{1c}-niveauet.

Formentlig eksisterer der flere endnu ukendte associationer med andre lægemidler.

Hæmoglobinopati

Ved hæmoglobinopati har patienten en genetisk variant, der bevirker nedsat syntese af hæmoglobin og/eller syntese af en afvigende hæmoglobintype (f.eks. HbS ved seglcelleanæmi). Dette kan give anledning til både for høje og for lave HbA_{1c}-værdier [4] pga. ændret erythrocytomsætning eller ændret evne til glykering [1, 7]. Det er relevant at skelne mellem bærertilstand (heterozygote) og syge (homozygote) [9]. Førstnævnte vil i de fleste tilfælde ikke være påvirkede af hæmolyse, og selvom HbA_{1c}-niveauet ikke bør anvendes til diagnosticering, kan analysen ofte anvendes til monitorering.

Derudover kan der ses analytisk interferens (se nedenfor).

Tilstande, hvor der kan være analytisk interferens

Hæmoglobinvarianter

De mest hyppige hæmoglobinvarianter (HbS, HbC og HbD) interfererer ikke med de analysemetoder, som anvendes i Danmark, men HbE og sjældne varianter, herunder ikkeklinisk betydende varianter, kan interferere [19, 20]. F.eks. vil HbA_{1c}-niveauet overestimeres, hvis hæmoglobinvarianten udskilles i samme fraktion som HbA_{1c} ved HPLC/CE [9]. På laboratorier, hvor man anvender HPLC/CE, vil man ofte erkende hæmoglobinvarianten og kan gøre rekvirenten opmærksom på problemstillingen [1, 9].

Føtalt hæmoglobin

Under de sidste måneders fosterliv er føtalt hæmoglobin (HbF) dominerende og falder efter fødslen gradvist til < 2%. Hos børn kan måling af HbA_{1c}-niveauet derfor først anvendes efter seks måneders alderen [21].

Ved manglende produktion af hæmoglobin A (visse hæmoglobinopatier) vil HbF forblive høj efter fødslen eller opreguleres [9]. Derudover tilstræber man i behandlingen af nogle af disse tilstande at øge HbF-niveauet. Høje HbF-niveauer (> 30%) interferer med HPLC og giver et falsk forhøjet HbA_{1c}-niveau [20]. Patientnært udstyr er mere følsomt for HbF-interferens (HbF > 10-15%), og HbA_{1c}-niveauet kan dermed underestimeres [9].

Farmaka

Antimetabolitten hydroxycarbamid øger mængden af HbF og giver et højere HbA_{1c} [22].

Acetylsalicylsyre (ASA) kan reagere med hæmoglobin (acetylering). Acetyleret hæmoglobin interfererer med HPLC-metoden, da det udskilles med HbA_{1c}, som bliver falsk forhøjet [23]. Dette er ikke et problem ved lave doser ASA (< 300 mg/dag) [24], men kan være et problem ved længerevarende højdosis ASA på 3-4 g dagligt over måneder [23, 25]. C- og E-vitamin er i nogle studier fundet at mindske HbA_{1c}-niveauet [26], mens det ikke genfindes i andre studier [5, 7, 27].

Bilirubinæmi og triglyceridæmi

Hyperbilirubinæmi og hypertriglyceridæmi nævnes ofte som analytiske interferenser ved målinger af HbA_{1c}-niveauet, men ved brug af HPLC er der først fundet analytisk interferens ved meget høje niveauer (513 µmol/l hhv. 16,9 mmol/l) [28].

Påvirkning af genetik, etnicitet, alder, køn og livsstil

Det er påvist, at der er en høj grad af arvelighed i det individuelle niveau af HbA_{1c}, idet genetiske forskelle påvirker glykeringsrate, erythrocytlevetid m.m. Ligeledes er køn og race påvist at give anledning til små forskelle i HbA_{1c}-niveauet. Disse forskelle regnes dog ikke for at være klinisk relevante, idet HbA_{1c}-niveauet som diagnostisk og prognostisk markør er vist at være brugbar i store befolkningsundersøgelser på tværs af etnisk oprindelse og køn [1, 4, 6, 7].

HbA_{1c}-niveauet stiger med alderen [7, 26, 29]. Årsagen er uafklaret, og der er endnu ikke udviklet aldersafhængige skæringsværdier for DM. Ved diagnosticering af hhv. børn/unge og ældre patienter bør det dog have in mente, at HbA_{1c}-niveauet kan være misvisende (lavere hos unge og højere hos ældre) [7, 30].

Livsstilsfaktorer såsom rygning, BMI, og moderate mængder alkohol påvirker muligvis også HbA_{1c}-niveauet, men viden på området er begrænset [26].

Hvordan håndteres mistanke om afvigende glykeret hæmoglobinresultater?

Hvis en af de ovenstående nævnte kliniske tilstande gør sig gældende, bør HbA_{1c}-niveauet aldrig anvendes til diagnosticering – se **Tabel 1** for opsummering.

TABEL 1 Oversigt over hvordan glykeret hæmoglobin forventes påvirket ved forskellige tilstande og medikamenter.

Tilstande med nedsat HbA_{1c}-niveau

Debut af diabetes mellitus type 1
 Graviditet
 Behandling af mangelanæmi: jern, B₁₂-vitamin, folat
 Hæmolytisk anæmi
 Akut blødning
 Svær nyreinsufficiens
 Lav alder: børn
 Alkoholoverforbrug
 Leverinsufficiens
 Ved behandling med: dapson, ribavirin, sulfasalazin, trimetoprim-sulfametoxazol, antiretrovirale stoffer, EPO
 Evt. ved høje doser af C- og E-vitamintilskud

Tilstande med forhøjet HbA_{1c}-niveau

Aspleni
 Ubehandlet mangelanæmi: jern, B₁₂-vitamin, folat
 Højt niveau af føtalt hæmoglobin: børn < 6 mdr., behandling med hydroxyurea
 Hypertriglyceridæmi: triglyceridniveau > 16,9 mmol/l
 Hyperbilirubinæmi: bilirubinniveau > 513 µmol/l
 Anden etnicitet end kaukasisk
 Høj alder
 Evt. ASA-overforbrug: 3-4 g/dag

Tilstande med uforudsigeligt HbA_{1c}-niveau

Hæmoglobinopati
 Blodtransfusion inden for 3 mdr.

ASA = acetylsalicylsyre; EPO = erythropoietin; HbA_{1c} = glykeret hæmoglobin.

Hos patienter, hvor der er stor uoverensstemmelse mellem HbA_{1c}-niveauet og andre glykæmiske parametre (gentagne målinger af blodglukose, glukose målt i venøst plasma fra fastende patient (fremover benævnt fasteglukose), fruktosamin eller glukosebelastningstest (OGTT)) bør HbA_{1c}-niveauet analyseres med en anden metode (via kontakt til det lokale biokemiske laboratorium) til vurdering af, om det kan skyldes analytisk interferens, og samtidig bør der foretages måling af fasteglukose.

Der kan overvejes udredning for hæmoglobinvarianter, hvis patienten har relevant etnisk afstamning. Ved mistanke vil laboratorier, der anvender HPLC/CE ofte gøre rekvirenten opmærksom på, at der kan være en hæmoglobinvariant.

Hos patienter, hvor HbA_{1c}-niveauet vurderes at være stabilt over tid på trods af tilstedeværelsen af fejlkilder, kan HbA_{1c}-niveauet anvendes til monitorering af DM. Det kan f.eks. være tilfældet hos bærere af hæmoglobinopati.

Hos patienter med kendt DM, hvor HbA_{1c}-niveauet pludselig ændres på trods af selvrapporterede uændrede forhold (blodglukose og/eller livsstil), må det overvejes, om ændringen udelukkende skyldes ændringer i glykæmien, eller om patienten kan have udviklet f.eks. jernmangel, påvirket nyrefunktion eller andet [5].

Alternativer til måling af glykeret hæmoglobin

Fasteglukosemåling, alternativt OGTT, bør bruges som erstatning ved diagnosticering af DM hos patientgrupper, hvor HbA_{1c}-niveauet må forventes at være misvisende. Begge analyser kræver otte timers faste forud for test. Der er dog ikke perfekt overensstemmelse mellem HbA_{1c}-, fasteglukose- og OGTT-niveauet, således at man ved brug af de forskellige test kun delvist diagnosticerer de samme patienter [3, 7, 26]. HbA_{1c} korrelerer bedre til fasteglukose end til OGTT [3].

Derudover er fruktosamin en mulighed. Fruktosamin (glykerede plasmaproteiner, hvoraf albumin udgør hovedparten) kan bruges til vurdering af de seneste to ugers glykæmi, idet albumins omsætningshastighed er ca. 20 dage. Tilstande, der ændrer albumins levetid, vil imidlertid påvirke analysen [3, 5] og modsat HbA_{1c}-niveauet er analysen er ikke standardiseret, hvilket begrænser udbredt anvendelse.

Der findes også analyser af glykeret albumin og 1,5-anhydroglucitol [3, 5], men analyserne er ikke implementeret til rutinebrug i Danmark.

Andre muligheder er, at patienten selv måler blodglukoseniveauet hyppigt, f.eks. semikontinuerlig måling af blodglukoseniveauer over to dage, eller at der laves kontinuerlig glukosemonitorering (CGM) [3, 5].

KONKLUSION

Ved brug af HbA_{1c}-måling, særligt til diagnostik, bør de hyppigste fejlkilder kendes, så der kan tages højde for dem.

Det er vigtigt at være kritisk ved uventede HbA_{1c}-analyser og erkende, når HbA_{1c}-værdier ikke passer med anamnese og klinik. I disse tilfælde er det vigtigt at kende og anvende alternativer til måling af HbA_{1c}-niveauet – først og fremmest måling af fasteglukose.

Korrespondance *Silje H. Christensen*. E-mail: siljhovd@rm.dk

Antaget 20. januar 2021

Publiceret på Ugeskriftet.dk 15. marts 2021

Interessekonflikter ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på ugeskriftet.dk

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk

Artikelreference Ugeskr Læger 2021;183:V12200902

SUMMARY

Haemoglobin A_{1c} measurements when to use and when not

Silje H. Christensen, Nete Hornung, Jurgita Janukonyté, Else Marie Vestergaard & Mie Samson

Ugeskr Læger 2021;183:V12200902

Haemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) reflects the glycaemic status of the latest 2-3 month and is used in both diagnosing and monitoring diabetes. Different circumstances may lead to spurious HbA_{1c} results as summarised in this review. HbA_{1c} is susceptible to changes in erythrocyte turnover (e.g. anaemia) regardless of measurement method, and to analytical interference (e.g. haemoglobin variants) depending on the method. The laboratory may detect and warn of suspected analytical interference. However, if the clinical presentation and glycaemic measures are incoherent, spurious HbA_{1c} should be suspected and fasting glucose should be measured.

REFERENCER

1. Little RR, Rohlfing C, Sacks DB. The national glycohemoglobin standardization program: over 20 years of improving hemoglobin a1c measurement. *Clin Chem* 2019;65:839-48.
2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes – 2020. *Diabetes Care* 2020;43(suppl 1):S14-S31.
3. Bergman M, Abdul-Ghani M, DeFronzo RA, et al. Review of methods for detecting glycemic disorders. *Diabetes Res Clin Pract* 2020;165:108233.
4. Selvin E. Are there clinical implications of racial differences in HbA1c? *Diabetes Care* 2016;39:1462-7.
5. Radin MS. Pitfalls in hemoglobin A1c measurement: when results may be misleading. *J Gen Intern Med* 2014;29:388-94.
6. Nathan DM, Kuenen J, Borg R et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008;31:1473-8.
7. Campbell L, Pepper T, Shipman K. HbA1c: a review of non-glycaemic variables. *J Clin Pathol* 2019;72:12-19.
8. Tahara Y, Shima K. The response of GHb to stepwise plasma glucose change over time in diabetic patients. *Diabetes Care* 1993;16:1313-4.
9. Little RR, Roberts WL. A review of variant hemoglobins interfering with hemoglobin A1c measurement. *J Diabetes Sci Technol* 2009;3:446-51.
10. Hashimoto K, Noguchi S, Morimoto Y et al. A1C but not serum glycated albumin is elevated in late pregnancy owing to iron deficiency. *Diabetes Care* 2008;31:1945-8.
11. Guo W, Zhou Q, Jia Y et al. Increased levels of glycated hemoglobin A1c and iron deficiency anemia: a review. *Med Sci Monit* 2019;25:8371-78.
12. Ly J, Marticorena R, Donnelly S. Red blood cell survival in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 2004;44:715-9.
13. Uzu T, Hatta T, Deji N et al. Target for glycemic control in type 2 diabetic patients on hemodialysis: effects of anemia and erythropoietin injection on hemoglobin A(1c). *Ther Apher Dial* 2009;13:89-94.
14. Nadelson J, Satapathy SK, Nair S. Glycated hemoglobin levels in patients with decompensated cirrhosis. *Int J Endocrinol* 2016;2016:8390210.
15. Hong JW, Noh JH, Kim DJ. Association between alcohol intake and hemoglobin A1c in the Korean adults: The 2011-2013 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *PLoS One* 2016;11:e0167210.
16. Inada S, Koga M. Alcohol consumption reduces HbA1c and glycated albumin concentrations but not 1,5-anhydroglucitol. *Ann Clin Biochem* 2017;54:631-5.
17. Mitchell K, Mukhopadhyay B. Drug-induced falsely low a1c: report of a case series from a diabetes clinic. *Clin Diabetes* 2018;36:80-4.
18. Unnikrishnan R, Anjana RM, Mohan V. Drugs affecting HbA1c levels. *Indian J Endocrinol Metab* 2012;16:528-31.
19. Little RR, La'ulu SL, Hanson SE, et al. Effects of 49 different rare Hb variants on HbA1c measurement in eight methods. *J Diabetes Sci Technol* 2015;9:849-56.
20. Wu X, Chao Y, Wan Z et al. A comparative evaluation of the analytical performances of Capillarys 2 Flex Piercing, Tosoh HLC-723 G8, Premier Hb9210, and Roche Cobas c501 Tina-quant Gen 2 analyzers for HbA1c determination. *Biochem Med (Zagreb)* 2016;26:353-64.
21. Furuya A, Suzuki S, Koga M et al. HbA1c can be a useful glycemic control marker for patients with neonatal diabetes mellitus older than 20 weeks of age. *Clin Chim Acta* 2014;436:93-6.

22. Kim-Shapiro DB, King SB, Shields H et al. The reaction of deoxy-sickle cell hemoglobin with hydroxyurea. *Biochim Biophys Acta* 1999;1428:381-7.
23. Nathan DM, Francis TB, Palmer JL. Effect of aspirin on determinations of glycosylated hemoglobin. *Clin Chem* 1983;29:466-9.
24. Camargo EG, Pedrini RO, Gross JL et al. Lack of interference of aspirin in HbA1c measured by ion-exchange HPLC in type 2 diabetic patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clin Chim Acta* 2008;391:120-2.
25. Gils C, Reinholdt B, Andreassen BD et al. False increase of glycosylated hemoglobin due to aspirin interference in Tosoh G8 analyzer. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:e118-e120.
26. Wisgerhof W, Ruijgrok C, den Braver NR et al. Phenotypic and lifestyle determinants of HbA1c in the general population – The Hoorn Study. *PLoS One* 2020;15:e0233769.
27. Camargo JL, Stiff J, Gross JL. The effect of aspirin and vitamins C and E on HbA1c assays. *Clin Chim Acta* 2006;372:206-9.
28. Terreni A, Paleari R, Caldini A et al. Evaluation of the analytic performances of the new HPLC system HLC-723 G7 for the measurement of hemoglobin A1c. *Clin Biochem* 2003;36:607-10.
29. Pani LN, Korenda L, Meigs JB et al. Effect of aging on A1C levels in individuals without diabetes: evidence from the Framingham Offspring Study and the National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2004. *Diabetes Care* 2008;31:1991-6.
30. Vajravelu ME, Lee JM. Identifying prediabetes and type 2 diabetes in asymptomatic youth: should HbA1c be used as a diagnostic approach? *Curr Diab Rep* 2018;18:43.