

## ГЛИКИРОВАННЫЙ ГЕМОГЛОБИН: МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ

*Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского*

---

*С целью разработки нового метода изоэлектрического фокусирования (ИЭФ) в капиллярах для определения гликированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) обследовано 747 больных как с явным, уточненным сахарным диабетом (СД), так и с неуточненной формой заболевания. Сделан вывод, что вновь разработанный метод ИЭФ является альтернативным для определения HbA<sub>1c</sub>, потому что не совпадает с методом катион-обменной хроматографии, но при этом искомый показатель отражает основные клиничко-биохимические нарушения при основных заболеваниях, и может быть применен как для диагностики, так и прогнозирования гипергликемии в клинике внутренних болезней.*

**Ключевые слова:** гемоглобин патологический, методы диагностики.

**V.A. Korolev**

### **GLYCATED HEMOGLOBIN: METHODOICAL ASPECTS OF APPLICATION**

*For purpose of development of new method of the isoelectric focusing (IEF) in capillaries for determination of glycated haemoglobin (HbA<sub>1c</sub>) we investigated 747 patients with specified diabetes mellitus (DM) and without it. The conclusion was formated, that the again developed method of IEF is alternative way for determination of HbA<sub>1c</sub>, because does not relation with the cation-exchange chromatography, but it reflects basic clinical and biochemical interruptions for generap diseases and it can use for diagnosis and prognosis of hyperglycaemia in the clinic of internal diseases.*

**Key words:** *pathological hemoglobin, methods of diagnostics.*

---

**И**нтенсивные исследования гемоглобина (Hb) в течение последних лет привели к тому, что в на-

стоящее время он является одним из наиболее изученных белков. Наибольший интерес при нарушениях угле-

водного обмена вызывает  $HbA_{1c}$ , особенно третья микронная фракция  $HbA_{1c}$ . Американская диабетологическая ассоциация (АДА) в своих стандартах упорно настаивает на признании гликированного гемоглобина ( $HbA_{1c}$ ) золотым параметром в контроле гипергликемии (Пг) и развитии сосудистого риска. А в 2010 году эта же организация АДА впервые в качестве диагностического критерия с целью первичной идентификации сахарного диабета (СД) указала на  $HbA_{1c}$ . При этом предполагается, что определение уровня  $HbA_{1c}$  эффективно для ранней диагностики СД [4]. На сегодняшний день существует более тридцати апробованных методов определения  $HbA_{1c}$ . Существующие методы могут быть условно разделены на способы, основанные на различии электрического заряда молекул гликозилированного и негликозилированного гемоглобина [7]. Например катион-обменная хроматография (КОХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография под высоким давлением (HPLC), электрофорез в агаровом геле, изоэлектрическое фокусирование (ИЭФ). Вторая группа методов включает приемы, основанные на структурном различии между гликированными и негликированными компонентами. Например борнат-аффинная хроматография и иммунологический способ. Третья группа включает методы, которые основаны на химической реактивности  $HbA_{1c}$ . Это фотоколориметрические методы.

Проблема изменения содержания глюкозы в крови издавна привлекает внимание клиницистов, а ее мониторинг является краеугольным камнем проблемы СД. Пг – это повышенное содержание глюкозы, которое является следствием преобладания скорости поступления глюкозы в кровь над скоростью ее утилизации. В отдельных исследованиях показано, что Пг определяет состояние и лучший контроль в клинике внутренних болезней, а ее регулярный контроль обеспечивает снижение ближайшего и отдаленного риска смертности, осложнений заболеваний, продолжительности пребывания больных в госпиталях и стоимости лечения пациентов [5].

К великому сожалению регулярное 4-х кратное измерение уровня  $HbA_{1c}$  проводится далеко не у всех больных СД. При этом рекомендуется отказ от малоспецифических, малочувствительных и малоинформативных лабораторных тестов [1].

Цель работы-разработать новый метод изоэлектрического фокусирования в капиллярах для определения  $HbA_{1c}$  и уточнить клиническую ценность этого показателя при различных заболеваниях внутренних органов.

#### Материал и методы

Обследовано 747 больных. Уровень  $HbA_{1c}$  у 442 больных СД (228 больных СД 1 типа и 214 больных СД 2 типа) определяли основными методами: **1.** Изоэлектрическое фокусирование в капиллярах с последующей фотоколориметрией (ИЭФ+ФК): вначале готовим исходный трис-боратный буфер — 0,01 М борная кислота и трис (оксиметил) аминометан  $C_4H_{11}O_3N$  до pH 7,8 — 8,0. Потребуется 1,5 — 2 литра данного буфера. Далее готовим два раствора в темных сосудах — раствор № 1: к 100 мл исходного буфера добавляем 4 мг рибофлавина и 0,04 мл темеда, перемешиваем встряхиванием; раствор № 2: к 600 мл исходного буфера добавляем 24

мл раствора № 1 и 0,24 мл темеда, перемешиваем встряхиванием. Затем готовим 2 градиентных раствора объемом 50 – 100 мл в темных сосудах. Для этого производим титрование глицерина (ЧДА или ХЧ) в раствор № 2 до pH 7,3 (градиентный раствор № 1) и pH 7,2 (градиентный раствор № 2). В градиентные растворы добавляем акриламид и метиленбисакриламид из расчета 68 и 2,03 мг на 1 мл раствора, перемешиваем встряхиванием. Храним при температуре +1 – +4° С в холодильной камере. Перед исследованием градиентные растворы согреваем при комнатной температуре. Затем берём капилляры размером 60x1мм и заполняем их поочередно градиентным раствором № 1 и № 2, при этом в начале капилляра оставляем немного места для внесения исследуемого гемолизата. Далее осуществляем фотополимеризацию под лучами дневного света не менее 5 – 6 часов до образования гелей. Капилляры с гелем храним в холодильной камере при температуре +1+4° С. Перед исследованием капилляры вставляем в аппарат для электрофореза — мы приспособили аппарат ПЭФ – 1 с проколотыми резиновыми пробками. В капилляры при помощи шприца объемом 2,0 или инсулинового медленно вносим гемолизаты. В качестве электродного используем исходный трис-боратный буфер. ИЭФ проводим при напряжении 100 вт не менее 12 часов в холодильной камере при температуре +1 – +4 °С. После ИЭФ капилляры вынимаем из аппарата, гомогенизируем с 2 мл дистиллированной воды. Количественное определение и расчет гликированного гемоглобина проводили также как в методе «Диабет-тест». Метод «Диабет-тест». 2 мл гомогената (в методе ИЭФ+ФК) или гемолизата крови (в методе «Диабет-тест») помещают в пробирку с притертой пробкой, приливают 1 мл 0,3 н щавелевой кислоты, перемешивают встряхиванием. Пробы помещают на 1 час на кипящую водяную баню. Охлаждают до комнатной температуры на воздухе. Приливают 1 мл 40% трихлоруксусной кислоты (ТХУ), перемешивают встряхиванием. Через 10 минут центрифугируют в течение 10 минут при 3000 об/мин. К 3 мл центрифугата приливают 0,75 мл 0,05 М ТБК, перемешивают встряхиванием. Инкубируют 40 минут при 40° С на водяной бане. Колориметрируют на спектрофотометре при длине волны (l) 443 нм против холостой пробы. Приготовление холостой пробы: 2 мл  $H_2O$  + 1 мл 0,6 М щавелевой кислоты + 0,75 мл 0,05 М ТБК-инкубировать вместе с опытными пробами. Расчёт проводят по формуле:

$$\frac{E_{443}}{0,029} * 3,3 = \%HbA1c,$$

где  $E_{443}$  значение оптической плотности исследуемой пробы; 0,029-значение оптической плотности, соответствующее 1%  $HbA_{1c}$ , 3,3-коэффициент, учитывающий, что гидролиз неполный и осуществляется на 30%. **2.** Фотометрический метод с неполным гидролизом щавелевой кислотой («Диабет-тест»), стандартизирован в России. **3.** Фотометрический метод с неполным гидролизом  $HbA_{1c}$  фосфорной кислотой (Lachema), производство «Lachema diagnostica» (Словакия). **4.** Метод борнат-аффинной хроматографии (Abbott), производство «Abbott» (США). **5.** Метод КОХ, производство «Sentinel»

**Таблица 1** Внутрисерийная воспроизводимость результатов у обследуемых с отсутствием СД

Показатель	Примеры				
	1	2	3	4	5
HbA <sub>1c</sub> , %	4,32	3,18	2,62	4,89	2,39
	4,55	3,64	3,40	4,89	2,50
	4,55	3,86	3,41	5,12	2,61
	4,77	3,86	3,76	5,12	2,61
	4,89	3,98	3,98	6,14	2,84
	5,00	4,43	4,10	6,26	3,07
	5,35	4,55	4,20	7,39	3,53
			4,67	7,85	
			4,67	8,31	
n	8	8	9	9	7
X <sub>ср</sub>	4,847	4,063	3,868	6,219	2,793
X <sub>г</sub>	4,860	4,098	3,917	6,346	2,817
σ	0,376	0,573	0,658	1,340	0,395
S <sub>х</sub>	0,133	0,203	0,219	0,447	0,149
V%	7,763	14,103	17,006	21,543	14,152
V <sub>хmax</sub>	1,335	1,636	1,220	1,561	1,865
V <sub>хmin</sub>	1,402	1,540	1,897	0,992	1,019

*n* – число обследованных, *X*<sub>ср</sub> – средняя арифметическая введенных показателей, *X*<sub>г</sub> – средняя геометрическая введенных показателей, *σ* – среднее квадратическое отклонение, *S*<sub>х</sub> – стандартная ошибка средней арифметической, *V*% – коэффициент вариации, *V*<sub>хmax</sub> – показатель для максимальной величины ряда, *V*<sub>хmin</sub> – показатель для минимальной величины ряда.

(Италия). 6. КОХ-HPLC, производство «Bio-Rad» (США, Франция, Германия)[2]. Кроме этого обследованы доноры и больные с различными хроническими заболеваниями с отсутствием явного СД (всего 305 человек). Среди обследованных были доноры со станции переливания крови, стационарные больные с различными хроническими заболеваниями, отдыхающие санаториев, а также обследованы больные с нарушением регуляции глюкозы как в стационаре, так и в санатории. Среди обследованных больных в стационаре были больные кардиологического отделения (с ишемической болез-

нью сердца (ИБС), гипертонической болезнью (ГБ)), в отделении интенсивной терапии с критическими состояниями и тяжелыми формами заболевания (септический миокардит, сепсис на фоне криминального аборта, подпеченочный абсцесс, отравление фосфорорганическими соединениями, внутрисерийная гематома, туберкулезный менингит, висцеропатическая форма ревматоидного артрита, цирроз печени), в нефрологическом отделении с гломерулонефритами и пиелонефритами, в отделении хронического гемодиализа (больные с иммунными, метаболическими и воспалительными нефропатиями и терминальной почечной недостаточностью, получающие ацетатный и бикарбонатный гемодиализ). На курорте обследованы как взрослые, так и дети с хроническими заболеваниями в стадии ремиссии: 66 больных, среди которых 54 взрослых и 12 детей обоего пола. Взрослые в возрасте от 18 до 70 лет пребывали в санаториях курорта «Мисхор»: ИБС, ГБ, хроническим obstructивным бронхитом (ХОБ). Дети до 15 лет находились в евпаторийском санатории «Здравница» с ювенильным ревматоидным артритом, реактивным артритом и ревматоидным артритом.

### Результаты

1. Вначале мы модифицировали ИЭФ в борат-полиольной системе для определения HbA<sub>1c</sub> в клинике. Для этого использовали узкий градиент pH, изоточку (pI) HbA<sub>1c</sub>, ИЭФ проводили в капиллярах, а содержание HbA<sub>1c</sub> определяли фотометрически (ИЭФ+ФК). 2. Затем оценили аналитическую надежность метода ИЭФ. **Внутрисерийную воспроизводимость** изучали в различных сериях как у здоровых, так и у больных СД. В таблице 1 представлены данные внутрисерийной воспроизводимости у обследуемых людей с отсутствием явного СД. У больных СД воспроизводимость представлена следующим образом: коэффициент вариации *V*% = 6,074, число обследованных *N*=8 отсортированные в порядке возрастания 13,90 14,57 15,02 15,24

**Таблица 2** Значения тестов Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилкса для проверки формы распределения уровня HbA<sub>1c</sub>, определенного различными методами

Показатель-метод	Тест Колмогорова-Смирнова	Количество обследуемых больных (n)	Вероятность ошибки (p)	Тест Шапиро-Уилкса	Вероятность ошибки (p)
HbA <sub>1c</sub> (%) Аффинная хроматография	0,533	22	=0,939	0,961	0,498
HbA <sub>1c</sub> (%) Фотометрия с неполным гидролизом HbA <sub>1c</sub> щавелевой кислотой	0,997	95	=0,273		
HbA <sub>1c</sub> (%) ИЭФ в капиллярах + фотометрия	2,015	76	=0,001		
HbA <sub>1c</sub> (мкмоль фруктозы на 1г гемоглобина) Фотометрия с неполным гидролизом HbA <sub>1c</sub> фосфорной кислотой	0,886	141	=0,412		
HbA <sub>1c</sub> (%) Ионно-обменная хроматография	0,847	9	=0,471	0,780	0,016

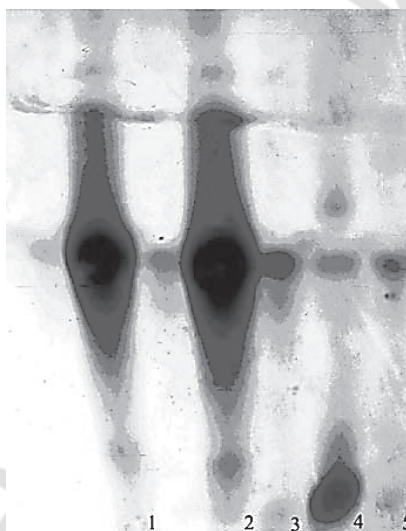
15,93 16,30 16,30 16,50. **Межсерийная воспроизводимость** была представлена так: коэффициент вариации  $V\% = 20,505$ , число обследованных  $N = 6$ , порядковые данные 4,55 6,03 7,51 7,51 7,62 8,53.

Далее мы сравнили разработанный метод с КОХ. Для этого мы применили корреляционно-регрессионный анализ. Приводим результаты сравнения у всех пациентов (здоровых и больных СД) ( $n=15$ ). Средняя арифметическая уровня  $HbA_{1c}$  при определении искомого показателя методом КОХ ( $X_a$ )  $12,674 \pm 2,087\%$  не отличалась от такового при применении метода ИЭФ+ФК ( $Y_a$ )  $9,218 \pm 0,939\%$  ( $t=1,509$ ,  $p>0,1$ ). При проведении корреляционного анализа  $X_a/Y_a$  не обнаружено линейной связи  $r=0,1292$  ( $t=0,464$ ,  $p>0,5$ ) и умеренная нелинейная корреляция  $R=0,4944$  ( $t=0,242$ ,  $p<0,05$ ), а обратная нелинейная корреляция  $Y_a/X_a$  отсутствовала  $R=0,4747$  ( $t=1,978$ ,  $p>0,05$ ). У больных СД ( $n=10$ ) также отсутствовала связь как прямая  $X_a/Y_a$   $r = 0,1372$  ( $t=0,4$ ,  $p>0,5$ ),  $R = 0,3216$  ( $t= 0,94$ ,  $p>0,2$ ), так и обратная  $Y_a/X_a$   $R = 0,3645$  ( $t=1,09$ ,  $p>0,2$ ). У доноров в отсутствии СД ( $n=5$ ) также не обнаружено прямой  $r = -0,0377$  ( $p>0,5$ ),  $R = 0,0787$  ( $p>0,5$ ) и обратной  $R=0,3438$  ( $t=0,67$ ,  $p>0,5$ ) корреляционной связи. При проведении регрессионного анализа обнаружен параболический вид функции: как КОХ/ИЭФ+ФК, так и ИЭФ+ФК/КОХ. Однако данный анализ был недостоверен как у всех обследуемых ( $p>0,05$ ), так и у больных СД ( $p>0,05$ ) и доноров с отсутствием СД ( $p>0,05$ ). Для сравнения уровней  $HbA_{1c}$ , определенного этими двумя методами, мы применили также непараметрический парный критерий Вилконсона (критерий Т). Обнаружено, что имеются различия между двумя выборками у всех больных (критерий Т=3,067; так как абсолютная величина Т больше 1,96, то имеются различия этих двух связанных выборок с уровнем значимости  $p<0,05$ ), у больных СД (критерий Т=-2,446; так как абсолютная величина Т больше 1,96, то имеются различия этих двух связанных выборок с уровнем значимости  $p<0,05$ ). У доноров с отсутствием СД подобного различия не обнаружено.

Сравнивали пять методов определения  $HbA_{1c}$  (Abbott, Диабет-тест, ИЭФ+ФК, Lachema, КОХ). Для этого проверили закон распределения уровней  $HbA_{1c}$ , определенного этими методами. Мы применили тест Колмогорова-Смирнова и тест Шапиро-Уилкса. Обнаружено нормальное распределение уровней данного параметра



**Рис. 1.** Электрофоретическая миграция в полиакриламидном геле – слева направо: исследуемый гемолизат (1), стандарт  $HbA_{1c}$  (по заряду) серии 3d (2), сфокусированный гемолизат (3)



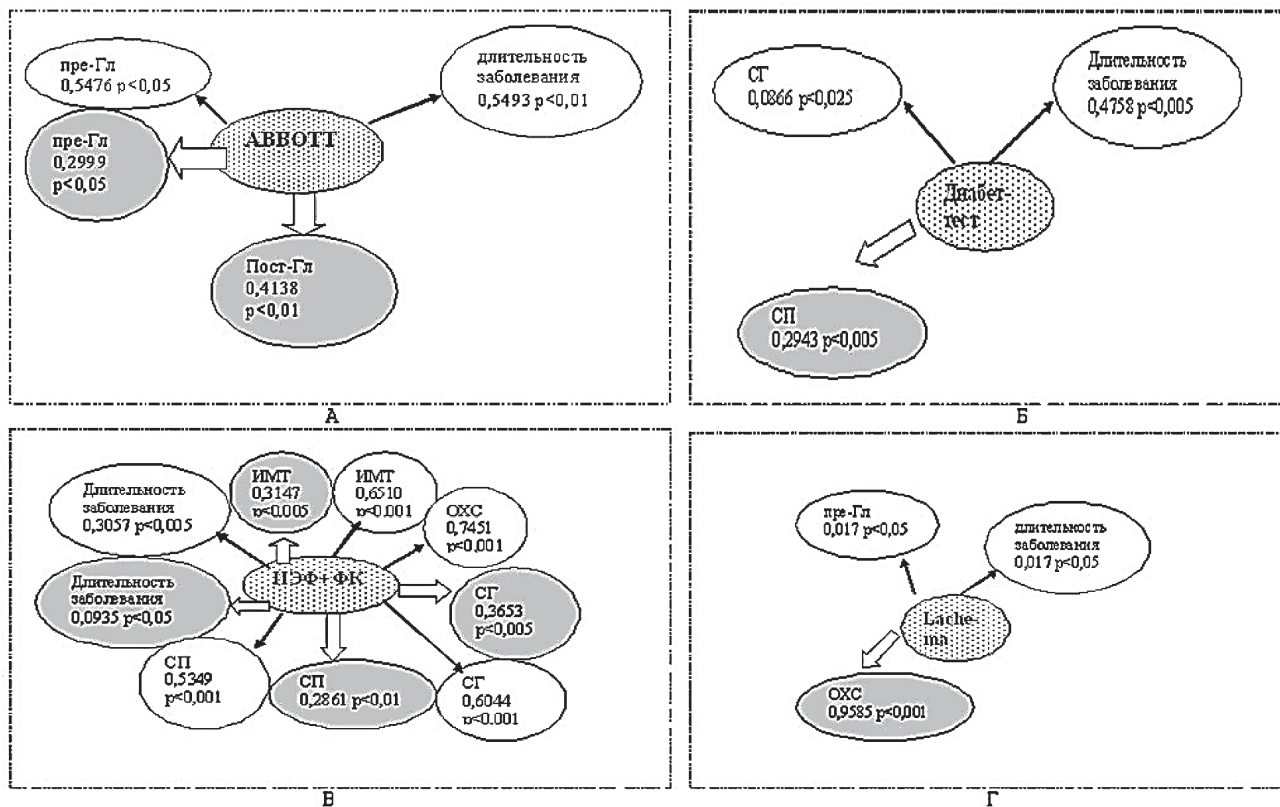
**Рис. 2.** Электрофоретическая миграция (слева — направо) исследуемых гемолизатов (1, 2), сфокусированного гемолизата (3, 5), стандарта  $HbA_{1c}$  (по заряду) ("Boehringer mannheim") серии 3с(4). Вверху "-", внизу "+"

при использовании четырех (из пяти) методов, потому что вероятность ошибки ( $p$ ) для большинства методов значительно выше 0,05. В то же время распределение значений  $HbA_{1c}$  у больных СД, определенных методом изоэлектрического фокусирования в капиллярах, значимо отличалось от нормального, потому что критерий Колмогорова-Смирнова был равен 2,015, а вероятность ошибки ( $p$ ), была значительно меньше 0,05 (в данном исследовании =0,001) (таблица 2).

**Специфичность** определения  $HbA_{1c}$  была подтверждена при помощи электрофореза в полиакриламидном геле. Для этого на пластинку с гелем вносили исследуемые гемолизаты, сфокусированные гемолизаты и стандарт  $HbA_{1c}$  (по заряду) фирмы «Boehringer mannheim» (рис.1,2). Как видно из обоих рисунков изучаемые гемолизаты представлены довольно выраженным фоном, а фракция  $HbA_{1c}$  в относительно небольшом размере мигрировала до уровня стандарта. И только сфокусированные гемолизаты имели небольшой фон, а фракция  $HbA_{1c}$  также мигрировала до уровня стандарта (по заряду).

**Чувствительность** метода ИЭФ+ФК проверена исследованием жидкостей с различной концентрацией вещества. Для этого мы провели изоэлектрофокусирование физиологического раствора и 50%-альбумина. Представляем экстинкции  $E_{op}$  при  $\lambda=443$ нм физиологического раствора, отсортированного в порядке возрастания 0,09 0,10 0,10 0,10 0,10 0,10 0,10 0,10 0,11 0,11 0,11 0,11 0,11 0,11 0,11 0,12 0,12 0,13. А чувствительность физиологического раствора можно представить как  $X_{cp}=0,106 \pm 0,0001$ . Чувствительность 50% альбумина существенно не отличалась от таковой физиологического раствора.  $E_{op}$  при  $\lambda=443$  нм, отсортированные в порядке возрастания 0,09 0,09 0,09 0,09 0,09 0,09 0,09 0,09 0,09 0,10; 0,10; 0,10 0,10 0,11 0,13 0,13 0,14 0,16, чувствительность  $X_{cp}=0,105 \pm 0,00048$ .

3. У больных СД уровень  $HbA_{1c}$ , который был определен методом ИЭФ+ФК, устанавливал больше корреляционно-регрессионных связей с основными клинико-лабораторными параметрами, чем при использовании фотометрических и хроматографических методик. При этом следовало бы отметить выраженную зависимость уровня  $HbA_{1c}$  и таких важных показателей метаболизма как глюкозурия и протеинурия за сутки, индекс массы тела, длительность заболевания (рис.3.).



**Рис.3.** Корреляционная (белый оттенок) ® и регрессионная (серый оттенок) ] зависимость между основными показателями СД и уровнем HbA<sub>1c</sub>, определенного методами А. АBBOTT, Б. Диабет-тест, В. ИЭФ+ФК, Г. Lachema

А также смоделировали диагностическое значение HbA<sub>1c</sub>, определенного различными методами, по его уровню, линейной и нелинейной корреляции, а также по влиянию (регрессивного анализа) основных показателей СД. Установлено, «основная масса» гликированного гемоглобина находится на уровне таких параметров как СГ, СП, ИМТ (рис.4).

### Заключение

HbA<sub>1c</sub> представляет собой продукт конденсации глюкозы и гемоглобина. При этом следовало бы отметить, что HbA<sub>1c</sub> является патологическим белком (хотя и встречается в здоровом организме), потому что не может нести на себе функции здорового гемоглобина. Образование гликированного гемоглобина непосредственно связано с процессом гликирования в организме. То есть HbA<sub>1c</sub> фактически является ведущим гликоконъюгатом. Уровень гликемии на момент обследования, как правило, не может отражать степень нарушения патогенетических механизмов в развитии СД. Требуется частое измерение глюкозы крови, то есть особую ценность приобретает мониторинг гликемии. Мониторинг гликемического статуса, как обеспечение заботы за больными СД и здоровыми, в настоящее время рассматривается краеугольным камнем проблемы диабета. Результаты мониторинга используются для определения степени эффективности терапии, регулирования диеты, медикаментозных назначений и физических упражнений как ордер возможного достижения лучшего гликемического контроля [7]. Значение мониторинга гликемии особо важно для предупреждения сосудистых осложнений. Хорошо

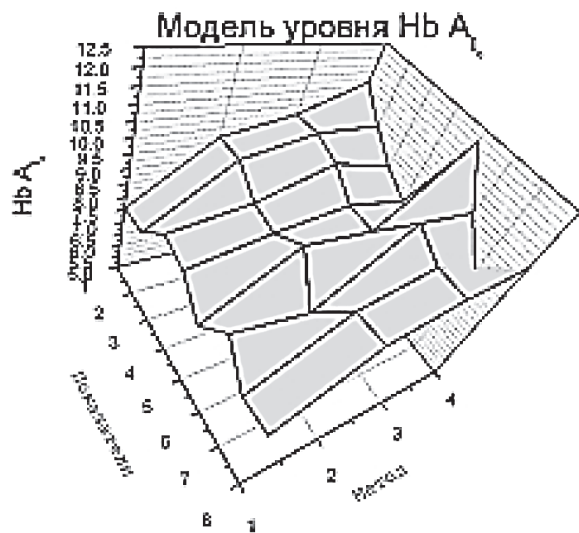
документированными исследованиями, демонстрирующими отрицательный краткосрочный эффект гипергликемии конечно занимали лидерство два выдающихся исследования: the Diabetes Control and Complications Trial [6] и the United Kingdom Prospective Diabetes Study [13], оба которые демонстрировали общий положительный эффект длительного гликемического контроля. А центрально важным в мониторинге гликемического контроля является определение HbA<sub>1c</sub>. Использование HbA<sub>1c</sub> для контроля СД необходимо, а для определения этого показателя в настоящее время поставлен вопрос о разработке альтернативных, принципиально новых методов определения HbA<sub>1c</sub> [14]. При этом следовало привести сравнительные данные коэффициентов вариации HbA<sub>1c</sub> при использовании различных методов определения. Так, например коэффициент вариации при использовании метода HPLC равен 2-3% [9], боронат-аффинной хроматография от 6 до 9% [11]. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) рекомендует использовать методы определения HbA<sub>1c</sub> <4% (идеально <3%) [7;10]. В то же время автор David Goldstein считает, что коэффициенты вариации V%>5% для HbA<sub>1c</sub> требуют изучения [12]. Фотокolorиметрические методы имеют, как правило, коэффициент вариации выше 6%. При неопределенном количестве исследований V% для гликогемоглобина может повышаться до 20 % [3]. В то же время следовало бы учесть и то, что электрофоретические методы для определения уровня гликогемоглобина плохо поддаются стандартизации [8].

Таким образом ИЭФ в капиллярах с последующей

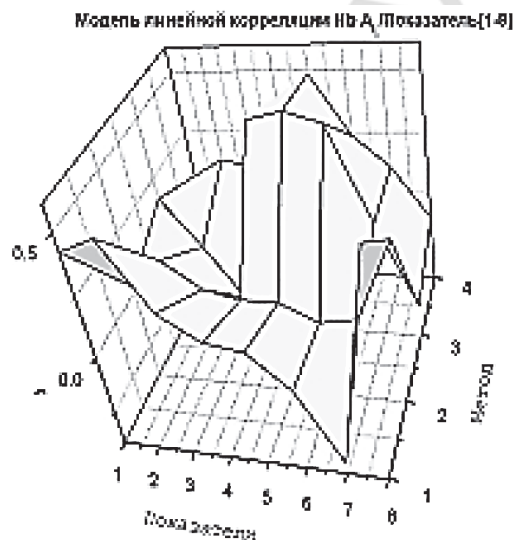
фотоколориметрией является альтернативным способом определения  $HbA_{1c}$ . Значения данного параметра отличаются от значений  $HbA_{1c}$ , определенного методом КОХ. А коэффициенты вариации при определении внутрисерийной и межсерийной воспроизводимости метода ИЭФ в капиллярах также отличаются от общепринятых норм.

## Литература

1. Дедов, И. И. Современные технологии лабораторной диагностики эндокринных нарушений. В кн.: Лаборатория в современной клинике. Взгляд ведущих клиницистов России / И. И. Дедов [и др.]. М.: Лабор, 2010. С. 82 – 107.
2. Королёв, В. А. Опыт и методология определения

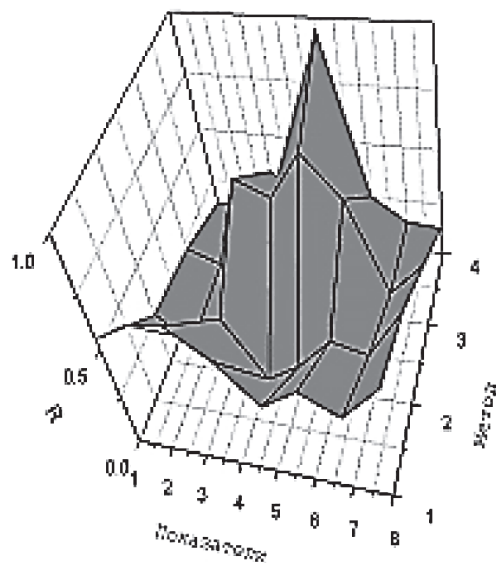


**А**



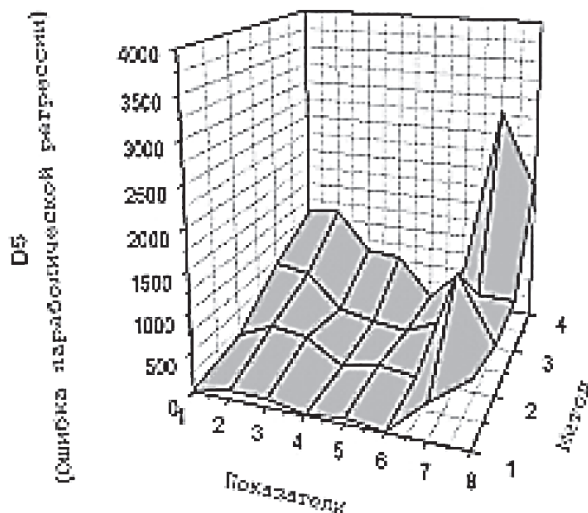
**Б**

Модель нелинейной корреляции Hb A<sub>1c</sub> Показатель(1-8)



**В**

Модель влияния (параболическая регрессия) Показатель(1-8) Hb A<sub>1c</sub>



**Г**

**Рис.4.** Модель гликированного гемоглобина: А. Модель уровня  $HbA_{1c}$ ; Б. Модель линейной корреляции между уровнем  $HbA_{1c}$  и показателями (1 – 8); В. Модель нелинейной корреляции между уровнем  $HbA_{1c}$  и показателями (1 – 8); Г. Модель влияния показателей (1 – 8) на уровень  $HbA_{1c}$ . Показатели: 1 – гликемия натощак (ммоль/л), 2 – гликемия после еды ((ммоль/л), 3 – глюкозурия за сутки (%), 4 – протеинурия за сутки (г/л),

5 – общий холестерин сыворотки (ммоль/л), 6 – индекс массы тела(кг/м<sup>2</sup>), 7 – возраст больных (годы), 8 – длительность диабета (годы). Метод: 1. Метод боронат-аффинной хроматографии, 2. Фотометрический метод «Диабет-тест» с неполным гидролизом  $HbA_{1c}$  щавелевой кислотой, 3. Метод изоэлектрического фокусирования в капиллярах с последующей фотоколориметрией (ИЭФ+ФК), 4. Фотометрический метод «Lachema» с неполным гидролизом  $HbA_{1c}$  фосфорной кислотой.

гликированного гемоглобина / В. А. Королёв // Лікарська справа/Врачебное дело. 2010. № 1 – 2. С. 57 – 69.

3. *Управление качеством клинических лабораторных исследований* / под ред. В. В. Меньшикова. М.: Лабпресс, 2000. 152 с.

4. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus // *Diabetes care*. 2010. Vol. 33. S62 – S69.

5. Conner, T. M. Hyperglycemia in the hospital setting: the case for improved control among non-diabetics / T. M. Conner // *Ann.Pharmacotherapy*. 2005. Vol. 39, № 3. P. 492 – 501.

6. Diabetes Control and Complications Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus / *N. Engl. J. Med.* 1993. Vol. 329. P. 977 – 986.

7. Goldstein, D. E. Tests of glycemia in diabetes / D. E. Goldstein [et al.] // *Diabetes care*. 2004. Vol. 27. P. 1763 – 1773.

8. Harmening, D. M. Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis / D. M. Harmening. 4th ed. Philadelphia, PA: FA Davis; 2002. 2004. Vol. 27. P. 1763 – 1773.

9. Luraschi1, P. Monitoring analytical quality in routine glycohemoglobin measurements / P. Luraschi1 [et al.] // *Clin. Chem.*

2002. Vol. 48. P. 1594 – 1597.

10. National Glycohemoglobin Standardization Program (web site) <http://www.missouri.edu/diabetes/ngsp.html>.

11. Roberts, W. L. Effects of hemoglobin C and S traits on eight glycohemoglobin methods / W. L. Roberts [et al.] // *Clin. Chem.* 2002. Vol. 48. P. 383 – 385.

12. Sacks, D. B. Guidelines & Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis & Management of Diabetes Mellitus/ Analytical Issues / D. B. Sacks [et al.] // *Clin. Chem.* 2002. Vol. 48. P. 436 – 472.

13. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33) // *Lancet*. 1998. Vol. 352. P. 837 – 853.

14. Vincenzi Jager, A. Novel approach for the analysis of glycated hemoglobin using capillary focusing with chemical mobilization / A. Vincenzi Jager, M. Franco Maggi Tavares // *J.Chromatogr.* 2003. Vol. 785(2). P. 285 – 292.

Поступила 16.02.2011 г.