

3 VYŠETŘENÍ METABOLISMU GLUKOSY. DIABETES MELLITUS

Naformátováno: Odsazení: Vlevo: 0",
Předsazení: 0.39", Bez odrážek a číslování

Témata k zopakování

~~Metabolismus glukosy. Glykemie a její regulace, glukosový toleranční test (glykemická křivka). Poruchy metabolismu sacharidů, glukosurie a jiné redukující cukry v moči. Neenzymová glykace proteinů.~~

~~Z časových důvodů začněte úkolem 3.3.~~

Vstupní otázky

- ~~1. Uveďte možnosti stabilizace vzorku plné krve před stanovením glukosy.~~
- ~~2. Uveďte hlavní rozdíl mezi průkazem glukosy v moči pomocí diagnostických proužků a zkouškou s Benediktovým činidlem.~~
- ~~3. Uveďte příklady látek, které způsobují a) falešně pozitivní; b) falešně negativní výsledky při vyšetření glukosy v moči pomocí diagnostických proužků.~~
- ~~4. Zdůvodněte, proč lze v moči diabetiků 1. typu prokázat zvýšené množství ketonových látek.~~
- ~~5. Charakterizujte hemoglobin A_{1c}.~~

Úvod

Základní biochemickou hodnotou sacharidového metabolismu je stanovení koncentrace glukosy v krvi, plazmě nebo séru. Nejčastějším typem poruchy sacharidového metabolismu je diabetes mellitus (DM). O této poruše lze uvažovat, je-li hladina glukosy nalačno v plazmě vyšší než 7 mmol/l. Na potvrzení diagnózy, není-li určena přímo z hodnoty glykemie¹, je používán také glukosový toleranční test. Při sledování průběhu diabetu a kontrole terapie využíváme další biochemická vyšetření: kvantitativní stanovení glukosy v moči, ukazatele dlouhodobé glykemie (fruktosamin nebo glykovaný hemoglobin), průkaz mikroalbuminurie a ketolátek v moči.

Diabetes mellitus je onemocnění charakterizované absolutním nebo relativním nedostatkem inzulínu a má několik forem i několik stádií, které je třeba rozlišit jak z důvodů prognostických, tak terapeutických. Podle etiologie se rozlišuje diabetes mellitus 1. typu, diabetes mellitus 2. typu, těhotenský diabetes a další specifické typy diabetu.

Diabetes mellitus 1. typu je polygenní autoimunitní choroba. Je méně častou formou diabetu. Genetická predispozice kombinovaná s určitými vnějšími faktory, jako je virová infekce, toxiny, stres, může navodit prediabetickou fázi onemocnění, která trvá i několik let. V této době dochází k pomalé destrukci β -buněk Langerhansových ostrůvků zprostředkovanou aktivovanými T-lymfocyty a

¹ Přesnějším a správnějším výrazem pro vyjádření hladiny glukosy v krvi je termín *glukosemie*.

cytokiny, která se projevuje jako *insulitis* (lymfocytová infiltrace ostrůvkových buněk, zánět). Inzulitida postupně snižuje počet funkčních β -buněk, což způsobuje poruchy syntézy a sekrece inzulínu. Diabetes se klinicky manifestuje v době, kdy je autoimunitním zánětem zničeno až 60–70 % pankreatických β -buněk.

Diabetes mellitus 2. typu je způsoben rezistencí na inzulín a/nebo relativním nedostatkem inzulínu (abnormální inzulín, protilátky proti inzulínu). Je převažující formou diabetu. Rezistence na působení inzulínu může být výsledkem sníženého počtu plazmatických membránových receptorů na cílových buňkách nebo následkem postreceptorové blokády nitrobuněčného metabolismu glukózy (snížený počet receptorů nebo snížená afinita; snížená aktivita pyruvátdehydrogenázového komplexu; abnormální převod signálu nebo abnormální fosforylační reakce pro nadměrnou tvorbu TNF_{α}).

Těhotenský (gestační) diabetes je porucha, která se objevuje během gravidity. Další typy diabetu mohou provázet některá zánětlivá, endokrinní, genetická a jiná onemocnění.

Metody stanovení glukózy

3.1 a) Enzymové stanovení glukózy v plazmě

Glukosa se oxiduje vzdušným kyslíkem za katalýzy glukosaoxidázou (GOD) na δ -lakton glukonové kyseliny a peroxid vodíku.



Vysvětlete princip stanovení. Kterou látku budete stanovovat? Jakou instrumentální metodu použijete? Které enzymy jsou obsaženy v činidle?

b) Stanovení s hexokinásou a glukóza-6-fosfátdehydrogenásou

Glukosa je nejprve fosforylována na glukosa-6-P a ten je oxidován glukóza-6-fosfátdehydrogenásou na glukonolakton-6-fosfát:

$\text{glukóza} + \text{ATP} \rightarrow \text{glukóza-6-fosfát} + \text{ADP}$ (*hexokináza*)

$\text{glukóza-6-fosfát} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{glukonolakton-6-fosfát} + \text{NADPH} + \text{H}^+$ (*glukóza-6-fosfátdehydrogenáza*)

Uveďte, jak budete sledovat průběh reakce.

c) Stanovení speciálními analyzátory

určenými jen pro analýzu glukózy (také některé glukometry). Principem je enzymatické stanovení s GOD kotvené na síťce nebo v reakční zóně nasávkového proužku. Vznikající peroxid vodíku se stanovuje ampérometricky. Měří se elektrodová oxidace peroxidu na platinové elektrodě (Clarkova elektroda):

Naformátováno: Odsazení: Vlevo: 0",
Předsazení: 0.4", Bez odrážek a číslování

Naformátováno: Písmo: není Kurzíva

Naformátováno: Barva písma: Modrá

Naformátováno: Písmo: 14 b.

Naformátováno: Písmo: 14 b.

Naformátováno: Řádkování: Přesně 16 b.



Vzniklý peroxid vodíku za katalýzy peroxidázou (POD) oxiduje chromogenní substrát na červeně zbarvený produkt:



Při dodržení předepsaných podmínek je množství produktu úměrné koncentraci glukosy v analyzovaném vzorku. Reakce je citlivá a rychlá. Výsledné zbarvení se měří po ustálení reakční rovnováhy (metoda *end point*), stanovení však lze provést i kineticky.

Vzorky plazmy oddělené ihned po odběru nesrážlivé krve (s použitím zkumavky nejčastěji s přídavkem EDTA a inhibitoru glykolýzy) se ke stanovení nijak neupravují. Pokud se krev hned nezpracuje, musí se stabilizovat: nejjednodušší způsob je zchlazení krve, nebo přídavek mannosy (alternativní substrát pro hexokinázu, působí okamžitě), případně přídavek NaF (inhibice glykolýzy v erythrocytech, ale až se difúzí dostane do buněk, tj. asi po 2 h).

Materiál: Set GLU GOD firmy Erba-Lachema*: Činidlo glukosa (obsahující 3-methylfenol 10 mol/l, 4-aminoantipyrin 1 mol/l; glukosaoxidázu $\geq 166 \mu\text{kat/l}$; peroxidázu $\geq 16 \mu\text{kat/l}$, fosforečnanový pufr 140 mmol/l, pH 8), kalibrátor glukosa (koncentrace je uvedena na štítku), vzorek krevní plazmy a moči. Mikropipetor 20 μl , 1 ml, vodní lázeň 37 °C, Spektrofotometr Spekol 1300 a software WinAspect, nebo Helios Delta a software VisionLite Fixed nebo Libra S4. *Alternativně lze použít např. testy fy Roche Diagnostics, Human nebo BioVendor, pak složení činidla je odlišné.

Provedení

Ke stanovení v nehemolytické krevní plazmě není nutná deproteinace. Do čistých, označených zkumavek odměřte podle schématu:

Reagencie (μl)	Slepý pokus	Vzorek	Standard
Činidlo glukosa	1-000	1-000	1-000
Demi voda	20	-	-
Plazma	-	20	-
Kalibrátor glukosa	-	-	20

Obsah všech zkumavek dobře protřepejte (nasyčení kyslíkem).

Inkubujte 30 min při laboratorní teplotě (nebo 15 min ve vodní lázni při 37 °C).

Inkubační směs musí být chráněná před přímým světlem!

Změřte absorbance* vzorků A_x a standardu A_{STD} při 500 nm proti slepému pokusu během 40 minut.

*Při měření absorbance postupujte podle přiložených návodů ke spektrofotometru, použijte příslušný software.

Naformátováno: Písmo: 14 b.

~~Výpočet koncentrace glukosy v krevní plazmě: $c_x = \frac{A_x}{A_{STD}} \times c_{STD}$~~

~~kde c_{STD} je koncentrace glukosy v kalibračním roztoku (je uvedena na štítku).~~

Hodnocení

Referenční interval koncentrace glukosy nalačno v plazmě (FPG – fasting plasma glucose) u zdravých dospělých: **3,9–5,5 mmol/l**.

Pro správné hodnocení glykemie je třeba si uvědomit, že referenční hodnoty se liší podle typu zpracovaného materiálu. Koncentrace glukosy v plazmě jsou přibližně o 10–15% vyšší než v plné krvi. Dále jsou rozdíly mezi kapilární krví a žilní krví, v kapilární krvi jsou hodnoty vyšší než v žilní krvi – nalačno o 5 %, postprandiálně až o 10–15 %.

Nižší hodnoty ve srovnání s referenčním intervalem se označují jako **hypoglykemie**. Je to patologický stav, při němž organismus nedokáže udržet homeostázu glukosy. Klinické příznaky hypoglykemie se objevují, když hladina glukosy u dospělých klesá pod 2,8 mmol/l. Hlavním nebezpečím hypoglykemie je nedostatečné energetické zásobení mozku s příznaky jako je pocit hladu, bolesti hlavy, usínání, mentální zmatenost, halucinace a konečně křeče a kóma. Druhá skupina příznaků pramení z aktivace adrenergního systému a zvýšení sekrece katecholaminů (palpitace, úzkost, chvění, pocení). z klinického hlediska se rozlišují hypoglykemie vznikající po lačnění a hypoglykemie postprandiální (vzniká po jídle). Hypoglykemií může vyvolávat řada patologických stavů, např. tumory pankreatu, poruchy v produkci antiinzulinových hormonů, jaterní cirhóza, defekty enzymů metabolizujících glukosu. Příčinou hypoglykemie může být také nepřiměřená dávka inzulínu nebo perorálních antidiabetik.

Vyšší hodnoty v porovnání s referenčními se označují **hyperglykemie**. Nejčastější a současně nejzávažnější příčinou hyperglykemie je DM.

Hodnota koncentrace glukosy v plazmě na lačno (FPG) je vhodným parametrem pro určení diagnózy DM a také pro vyhledávání osob se zvýšeným rizikem DM.

Stanovení diagnózy diabetu z hodnoty glykemie

Diabetes je potvrzen, jestliže glykemie přesáhne:

- kombinace klinických symptomů s náhodným stanovením glukosy v plazmě $\geq 11,1$ mmol/l
- koncentrace glukosy na lačno v plazmě ≥ 7 mmol/l
- koncentrace glukosy při orálním glukosovém tolerančním testu $\geq 11,1$ mmol/l

Pro vyslovení diagnózy diabetu je nezbytné potvrdit výsledek opakovaným měřením z dalšího odběru v následujících dnech.

Změněn kód pole

Naformátováno: Písmo: 14 b.

Naformátováno: Písmo: Tučné

Vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu mellitu

Zvýšené riziko diabetu je charakterizováno hodnotou koncentrace glukosy v plazmě nalačno v rozmezí 5,6–6,9 mmol/l. Tento stav (IFP – impaired fasting glucose) se označuje také jako **prediabetes**.

Rozhodovací meze pro koncentraci glukosy v plazmě nalačno

FPG (mmol/l)	Interpretace
< 5,6	Vyloučení diabetu mellitu
5,6–6,9	Prediabetes (zvýšená FPG, IFG)
≥ 7,0	Diabetes mellitus

~~3.2 Stanovení glykemie osobním glukometrem~~

~~Pro rychlé a snadné sledování glykemických profilů samotnými pacienty (*self-monitoring*) nebo přímo u lůžka pacientů (*bed-side diagnostics*) se využívá velký počet nejrozličnějších typů glukometrů. V současné době jsou upřednostňovány glukometry s rozšířenými funkcemi jako je např. označení naměřených hodnot pre- a postprandiální, nastavení zvukového signálu pro připomenutí dalšího stanovení glukosy, ukládání dat do paměti glukometru, což je výhodné při monitorování glykemie u diabetu. Dále jsou preferovány glukometry, které jsou kalibrovány přímo na plazmu, čímž se umožňuje porovnat naměřené výsledky v kapilární krvi přímo s laboratorními hodnotami. Odběr plné kapilární krve se provádí z prstu, u některých proužků je deklarována i možnost alternativního odběru (předloktí, paže, lýtko, atd).~~

~~Glukometry nejčastěji pracují na principu reflektanční fotometrie: sekvence reakcí s glukosaoxidázou a peroxidázou probíhá na nosiči indikační zóny diagnostického proužku určeného k danému typu glukometru. Koncentrace vzniklého barevného produktu se stanovuje reflexní fotometrií. Novější typy glukometrů využívají elektrochemické metody, kdy se detekuje slabý elektrický proud vznikající při oxidaci glukosy.~~

Materiál: Osobní glukometr s diagnostickými proužky, odběrová souprava na krev.

Provedení

- ~~☞ Přísně dodržujte zásady správného odběru kapilární krve a podrobné návody ke glukometru.~~
- ~~☞ Odběr kapilární krve:~~
 - ~~• umýt ruce v teplé vodě~~
 - ~~• dezinfikovat místo vpichu~~
 - ~~• vpich lancetou směřovat ze strany do bříška prstu~~
 - ~~• první kapku otřít, lehkým tlakem v okolí vpichu podpořit tvorbu kapek~~
 - ~~• po odběru přiložit na místo vpichu vatou smočenou dezinfekčním prostředkem~~

- ~~☞ Na indikační zónu testovacího proužku přímo aplikujte jednu kapku krve.~~
- ~~☞ Proužek zasuňte do glukometru a po patřičné době odečtěte naměřenou hodnotu na displeji.~~

Hodnocení

Pomocí osobních glukometrů si pacient může sledovat a zaznamenávat glykemický profil v průběhu dne, což je důležité pro správnou léčbu. Za uspokojivé se považují hodnoty, které během dne nepřekročí 7 mmol/l. Stanovení glykemie pomocí glukometrů je možno využít v rámci depistážních programů na vyhledávání diabetu a prediabetu.

Nález zvýšené náhodné glykemie (kdykoli během dne, nezávisle na příjmu potravy) v kapilární krvi nad 7 mmol/l je pak zapotřebí ověřit v ordinaci lékaře a diagnózu potvrdit na základě rozboru klinické symptomatologie společně s vyšetřením glykemie v žilní plazmě standardní metodou v laboratoři.

3.33.1 Orální glukosový toleranční test (oGTT)

Pokud byla zjištěna zvýšená koncentrace glukosy v krevním séru/plazmě na lačno v rozpětí 5,6–7 mmol/l, která je označovaná jako prediabetes, je nutné ověřit účinnost regulace přeměny glycidů funkční zkouškou. Orální glukosový test se provádí avšak i tehdy, kdy je glykemie v plazmě na lačno menší než 5,6 mmol/l, a sice v těch případech kdy se jedná o jedince se zvýšeným rizikem diabetu či je-li podezření na poruchu tolerance glukosy z předchozích měření.

Při glukosovém tolerančním testu se hodnotí změny glykemie po zátěžovém podání standardní dávky glukosy perorálně, méně často intravenózně. Při vyšších koncentracích glukosy, zvláště má-li nemocný současně charakteristické příznaky cukrovky, se oGTT neprovádí.

Standardní postup oGTT u dospělých. Tři dny před testem se neomezuje množství glycidů ve stravě. Po nočním lačnění trvajícím 10–14 h se ráno odebere vyšetřovanému vzorek krve. Pak se podá 75 g glukosy v 300 ml čaje a odebere se krev za 2 h po vypití čaje. Během testu se zachovává tělesný klid, je zakázáno kouřit, jíst a pít.

Materiál: 75 g glukosy rozpuštěné v 300 ml slabého čaje. Osobní glukometr s diagnostickými proužky, odběrová souprava na krev.

Provedení

~~Vzhledem k časové a laboratorní náročnosti úkolu provádíme oGTT pouze teoreticky.~~

~~Přesto pro porozumění regulačních mechanismů glukosy provedte pouze orientačně prakticky tento zátěžový test a glykemii stanovujte pomocí glukometru.~~

- ~~☞ U zdravého dobrovolníka ihned na začátku praktického evičení stanovte použitím osobního glukometru koncentraci glukosy v kapilární krvi.~~

- ~~☞ Po vypití cca 300 ml čaje, obsahujícího 75 g glukosy, znovu stanovte koncentraci glukosy za 2 hodiny. Pro lepší pochopení regulačních mechanismů u zdravých jedinců doporučujeme stanovit navíc i koncentraci glukosy za 30 minut po vypití čaje.~~

Hodnocení

Glykemie v plazmě venózní krve po 2 hodinách zátěže po podání 75 g glukosy (mmol/l)

Glukosová tolerance	2 h po zátěži
Normální (vyloučení diabetu mellitu)	< 7,8
Porušená glukosová tolerance	7,8–11
Diabetes mellitus	≥11,1

Pro vyslovení diagnózy musí být výsledek testu potvrzen opakovaným měřením. Při nálezu porušené glukosové tolerance se oGTT opakuje ve dvouletých intervalech.

- ~~► Vyhodnoťte teoretické údaje oGTT zadané asistentem.~~
- ~~► Vyhodnoťte získané údaje a zaznamenejte trend změn glykemie v čase.~~

3.43.2 Důkaz glukosy v moči

Za normálních okolností se v moči vyskytuje v závislosti na složení a příjmu potravy jen nepatrné množství glukosy (případně jiných cukrů: galaktosa, fruktosa, laktosa, maltosa a některé pentosy), které nejsme schopni běžně používanými zkouškami prokázat. O **glukosurii** hovoříme při hodnotách glukosy v moči > 0,8 mmol/l. Glukosurie vzniká při hyperglykemii takového stupně, kdy je překročena maximální schopnost buněk proximálního tubulu resorbovat glukosu z glomerulárního filtrátu. Tato hodnota se obvykle udává kolem 10 mmol/l (tzv. *renální glukosový práh*), může však kolísat v poměrně značném rozmezí (2,8–18 mmol/l). Vzácněji se objevuje *renální glukosurie*, vznikající při nezvýšené glukosemii důsledkem porušené zpětné tubulární resorpce.

Zjištění glukosurie často vede k odhalení diabetu, avšak negativní nález glukosy v moči toto onemocnění nevyklučuje. Kvantitativnímu stanovení glukosurie se v poslední době přikládá menší význam, používá se jako doplňkové vyšetření. Má význam pro určení denních ztrát glukosy močí.

Ke zjištění glukosurie lze využít *nespecifickou* zkoušku s Benedictovým činidlem (průkaz redukujících látek; v moči kromě všech monosacharidů pozitivní reakci poskytuje např. askorbová kyselina). Tato zkouška se však používá již jen výjimečně. *Specifický* důkaz glukosy v moči lze provést diagnostickými proužky, např. glukofAN.

Ke kvantitativnímu stanovení glukosy v moči se používají stejné metody jako pro stanovení glukosy v séru.

Princip důkazu glukosy pomocí diagnostických proužků je stejný jako u kvantitativního enzymového stanovení glukosy (viz úloha [03-1](#)). Indikační zóna proužku obsahuje enzymy (glukosaoxidázu a peroxidázu) a vhodný substrát, který se v přítomnosti vzniklého peroxidu oxiduje na barevný produkt.

Materiál: Diagnostické proužky glukoPHAN.

Provedení

- ☞ Proužek ponořte asi na 1 s do moči, potom jej položte na nádobu s močí.
- ☞ Po 1 minutě srovnajte zbarvení indikační zóny se stupnicí na pouzdře s proužky.
- ☞ Ověřte si možnost falešně pozitivního výsledku tak, že zopakujete zkoušku diagnostickým proužkem s močí (ve které jste neprokázali glukosu), kterou odpipetujete do zkumavky, kterou jste předtím vypláchli malým množstvím 3% peroxidu vodíku nebo 0,5% Persterilu.

Hodnocení

Zkouška je dosti citlivá, výsledek je zřetelně pozitivní přibližně od koncentrace 2 mmol/l. Zároveň je velmi specifická, jiné cukry než D-glukosa nereagují.

Falešně negativní výsledky vznikají při vysokých koncentracích redukujících látek (askorbová kyselina nebo některá spazmolytika zpomalují vývin zbarvení).

Falešně pozitivní výsledky může způsobit přítomnost substrátů peroxidázy v nádobách na moč (běžný dezinfekční prostředek Persteril /peroxooctová kyselina/ nebo peroxid vodíku). Nádoby se proto po dezinfekci musí důkladně vypláchnout čistou vodou.

Využití redukční zkoušky s Benedictovým činidlem

Při podezření na některou z dědičných metabolických poruch sacharidů (např. galaktosemii) požadují novorozenecká oddělení orientační zjištění přítomnosti jiného cukru v moči než glukosy. V laboratoři se provede porovnání glykosurie vyšetřenou enzymovou a redukční zkouškou. Při zjištěném rozdílu je třeba provést specifické stanovení na přítomnost jiných monosacharidů.

3-53.3 Důkaz ketolátek v moči

Průkaz ketolátek v moči má význam především u diabetiků 1. typu. U správně léčeného diabetika ketolátky v moči nenacházíme. Jejich přítomnost společně s nálezem výrazné hyperglykemie a glukosurie svědčí pro diabetickou ketoacidózu.

Ketolátky reagují s nitroprusidem sodným v alkalickém prostředí za vzniku fialového zbarvení. Tentýž princip je využit u diagnostických proužků. Používáme některý z proužků se zónou na důkaz ketolátek např. diaPHAN. Zkouška dokazuje v čerstvé moči zvláště acetoacetát, který při delším stání spontánně dekarboxyluje na aceton (na něj je zkouška méně citlivá).

Materiál: Diagnostické proužky ketoPHAN či DiaPHAN.

Provedení

- ☞ Proužek krátce namočte do analyzované moči a otřete přebytek moči o okraj nádoby.

☞ Po 1 minutě porovnejte zbarvení indikační zóny s barevnou stupnicí na pouzdru a odhadněte množství ketolátek v moči.

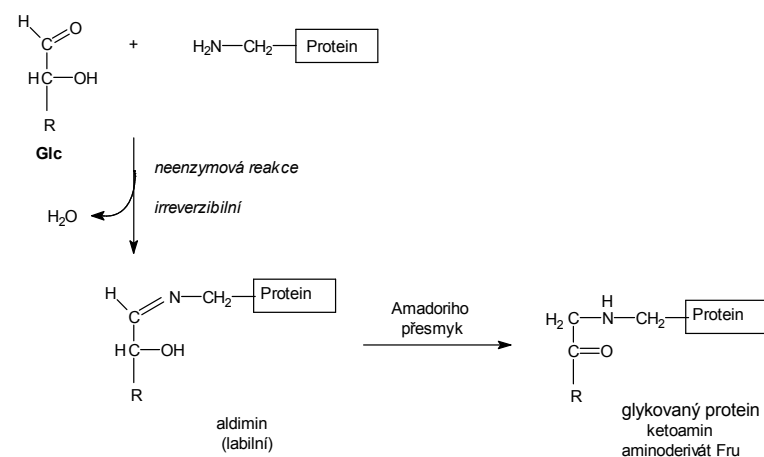
Hodnocení

Za normálních okolností je vylučování ketolátek nepatrné, nedosahuje hodnoty 0,5 mmol/den. Ke zvýšené produkci ketolátek dochází v důsledku zvýšené utilizace tuků a při současné poruše nedostatečnosti utilizace glukosy (např. při vyčerpávající fyzické námaze bez dodávky glycidů, několikadenním hladovění, redukční dietě s převahou proteinů, u diabetes mellitus). V těchto případech se zvyšuje koncentrace ketolátek v krvi nad 200 μmol/l a moči se jich vylučuje i více než 100 mmol/den. Aceton je poměrně těkavý a je poměrně rychle vylučován expirací.

Ketonurie se současnou glukosurií je odrazem metabolické dekompenzace diabetiků. Proto je nezbytné provádět zkoušky na ketonurii zvláště při každém zjištění glukosurie.

3.63.4 Stanovení glykovaného hemoglobinu A_{1c}

Glykovaný hemoglobin vzniká neenzymovou reakcí mezi hemoglobinem a glukosou v krvi. Ke sledování dlouhodobé kompenzace diabetu se využívá stanovení glykovaného hemoglobinu nebo glykovaného albuminu (fruktosaminový test). Principem stanovení je děj označovaný jako neenzymová glykace proteinů. Aldehydové skupiny glukosy jsou schopny navazovat se na aminokupiny proteinů za vzniku glykovaného proteinu. Množství glykovaného proteinu je závislé na množství glukosy, s nimž je bílkovina v kontaktu. Stanovení glykovaného podílu hlavních krevních bílkovin tak umožňuje posoudit průměrnou glykémii za delší časové období.



Používá se následující terminologie:

Glykovaný hemoglobin – suma sacharidových aduktů na *N*-terminálním konci nebo ϵ -aminoskupinách lysinu v hemoglobinu.

HbA_{1c} – suma různých minoritních frakcí hemoglobinu (glykovaných), včetně HbA_{1c}, HbA_{1a1/a2}, HbA_{1b1/b2/b3}, HbA_{1d1/d2/d3} a HbA_{1e}.
glykovaný protein
aminoderivat Fru

HbA_{1a1/a2}, HbA_{1b1/b2/b3}, HbA_{1d1/d2/d3} a HbA_{1e}.

HbA_{1c} – glukosový adukt valinu na *N*-terminálním konci β -globulinu; odpovídá tzv. stabilnímu ketoaminu (*N*-[1-deoxyfruktosyl]hemoglobinu).

Nejčastěji se stanovuje forma stabilní frakce HbA_{1c}. Jeho tvorba je ireverzibilní. Množství HbA_{1c} odráží koncentraci glukosy v krvi po celou dobu existence erytrocytu, tj. asi 120 dní, a využívá se proto k posouzení úspěšnosti léčby/kompenzace diabetu v období 4–8 týdnů před vyšetřením.

Glykovaný a neglykovaný hemoglobin mají rozdílný náboj, čehož se často využívá pro jeho stanovení. Glykovaný hemoglobin je stanovován pomocí HPLC, případně se používají ELISA nebo elektroforetické techniky.

Provedení a hodnocení

~~Vzhledem k časové náročnosti provádíme úlohu pouze teoreticky.~~

~~☞ Hodnoty HbA_{1c} zadané asistentem vyhodnoťte dle referenčních hodnot udaných níže.~~

Podíl látkové koncentrace HbA_{1c} na celkovém hemoglobinu krve je v současné době pokládán za rutinní a nejvíce efektivní nástroj sledování průběhu DM. Představuje nejlepší způsob kontroly koncentrace glukosy u diabetika, neboť je považován za její vážený průměr.

Ve shodě s celosvětovou standardizací stanovení HbA_{1c} doporučuje Česká společnost klinické biochemie a Česká diabetologická společnost udávat množství glykovaného hemoglobinu v jednotkách mmol HbA_{1c} / mol celkového Hb a stanovila následující rozhodující meze pro HbA_{1c}:

Referenční meze zdravých dospělých (95% interval): **20–42 mmol/mol**

Kompenzovaný diabetes: 43–53 mmol/mol

Tyto meze jsou platné pouze za předpokladu, že použité metody měření, přístroje a pracovní kalibrátory mají certifikovanou návaznost na příslušný referenční systém.

Glykovaný hemoglobin se vyšetřuje 1krát za 3 měsíce u diabetiků 1. typu a nejméně 2krát za rok u stabilních diabetiků 2. typu.

~~ **Pozdní komplikace diabetu – mikroalbuminurie**~~

Kvantitativní stanovení výdeje albuminu močí je zařazeno u diabetiků jako základní metoda informující o rozvíjející se diabetické nefropatii. U zdravých jedinců nepřekročí obvykle vylučování albuminu močí hodnotu 30 mg/den. Při malém zvýšení permeability bazální membrány glomerulů dochází ke zvýšené exkreci proteinů se střední molekulovou hmotností, nejvíce albuminu (M_r 68 000). Toto malé množství albuminu (**mikroalbuminurie**) ještě není prokazatelné běžnými testy na proteinurii (citlivost nad 100 mg/l). Včasné zjištění mikroalbuminurie je však velmi důležité, poněvadž odhalí počáteční fázi nefropatie, která je ještě reverzibilní. Intenzifikací terapie lze snížit vylučování albuminu močí a oddálit vznik diabetické mikroangiopatie, včetně glomerulosklerózy. Stanovení mikroalbuminurie – viz 9. cvičení.

Problémy související s tímto tématem

- ▶ 1. U paní P. (56 let) byla při běžné preventivní prohlídce zjištěna hodnota glykemie nalačno 6,5 mmol/l (plazma).

Zvažte, zda je u pacientky indikován oGTT, popište jeho provedení.

- ▶ 2. Pan S. (58 let) během dvou měsíců ztratil na váze 7 kg, stěžuje si na časté močení a pocity žízně. Při vyšetření glukosy v kapilární krvi přímo v ordinaci (pacient uvádí, že lehce snídal před dvěma hodinami) byla zjištěna hladina 14 mmol/l.

O jakou poruchu se s největší pravděpodobností jedná? Co je její příčinou?

- ▶ 3. Pan R. (40 let) je od svých 33 let léčen na DM typu 1. Podle pokynů svého lékaře dochází pravidelně do diabetologické poradny. Zde je u něj sledována glykemie nalačno, glukosurie a ketonurie.

Které další ukazatele sacharidového metabolismu by měly být zjištěny?