

Glukóza

Analytická část

Petr Breinek

Diabetes mellitus

- 8% v ČR, tj. 800 000 diabetiků
- 7% výskyt ve vyspělých zemích (140 miliónů obyvatel země)
- Předpověď: kolem roku 2030 se počet případů zdvojnásobí na 350 miliónů)
- Asi polovina nemocných zůstává nedagnostikována (riziko rozvoje jiných chorob)

Laboratorní výsledek u DM

má zásadní význam pro:

- Stanovení diagnózy ← glukóza
- Sledování léčby ← HbA1c
 - krátkodobá kompenzace
 - dlouhodobá kompenzace
- Odhalení komplikací diabetu

- Charakteristická je **chronická hyperglykémie** (= zvýšená koncentrace glukózy v krvi)
- Příčina: **organismus nevytváří dostatek inzulínu nebo není schopen inzulín patřičně využít**
- Onemocnění s několika zcela odlišnými mechanismy vzniku

Cíl léčby diabetu

- **Udržet koncentraci glukózy co nejbliže fyziologickým – normálním hodnotám**
- **Snížit riziko diabetických komplikací** (zrak, ledviny, kardiovaskulární a nervové choroby)

Klasifikace diabetu

Typ	Charakteristika
Diabetes 1.typu na inzulínu závislý, imunitní	Autoimunitní destrukce beta-buněk slinivky břišní A. AUTOIMUNITNÍ B. IDIOPATICKÝ (non-imunitní)
Diabetes 2.typu na inzulínu nezávislý	Dochází k poruše sekrece inzulínu a sníženému působení (inzulinová rezistence) A. INZULINREZISTENTNÍ B. INZULINDEFICITNÍ
Gestační diabetes	Zvýšená inzulínová rezistence je dána působením těhotenských hormonů
Specifické typy diabetu	MODY – genetické defekty funkce beta-buněk MIDD – defekt podmíněný poruchou mitochondriální

Gestační diabetes mellitus

- Každá porucha metabolismu glukózy diagnostikovaná u těhotné ženy
- Nebezpečí pro plod (defekty nervové trubice, fetální obezita)
- Při vysokém riziku (v prvním trimestru gravidity se provádí oGTT)
- Ostatní těhotné ženy (oGTT mezi 24.-28.týdnem gravidity)
- Po ukončení gravidity je nutné provést rekvalifikaci gestačního diabetu

Rizikové faktory pro vývoj gestačního diabetu mellitu indikující provedení oGTT v 1.trimestru

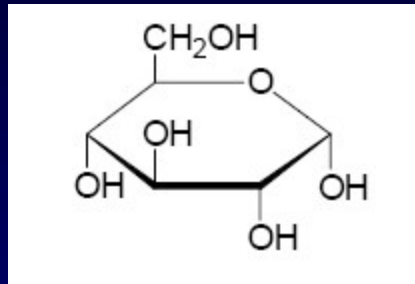
(alespoň dva z devíti rizikových faktorů)

- Pozitivní rodinná anamnéza
- Předešlé těhotenství – novorozenec >4000g
- Obezita
- DM v předešlém těhotenství
- Glykosurie
- Mrtvý plod
- Hypertenze v předešlém těhotenství
- Věk > 30 roků

Kritéria pro nízké riziko gestačního diabetu mellitu (musí být splněny všechny)

- Věk < 25 roků
- BMI < 25 kg/m²
- Bez DM v rodinné a osobní historii
- Bez komplikací v předešlém těhotenství

Glukóza



- Nástroj laboratorní diagnózy diabetu mellitu

Odběr krve na stanovení glukózy

- Žilní krev
pro diagnostiku DM
a pro případ, že jsou potřebná další
laboratorní vyšetření
- Kapilární krev
pro kontrolu léčby, ne pro diagnostiku

Preanalytická fáze

Doporučení ČSKB, ČDS, 2005

- stanovení v plazmě žilní krve (EDTA + NaF)
- zpracování do 60 min po odběru
- odběr nalačno (min. 8h lačnění)

(přiměřená hydratace, v posledních 3 dnech vyloučit fyzickou aktivitu a kouření, stravování bez restrikce sacharidů-min. 150g denně)

Metody stanovení

1. REFERENČNÍ metoda

ID-GC/MS

standardní přidání značené glukózy C¹⁴ (izotopová diluce) do analyzovaného vzorku, následné rozdělení plynovou chromatografií a stanovení glukózy hmotnostní spektrometrií

Certifikovaný referenční materiál (CRM)

(SRM 909b NIST, SRM 917 NIST)

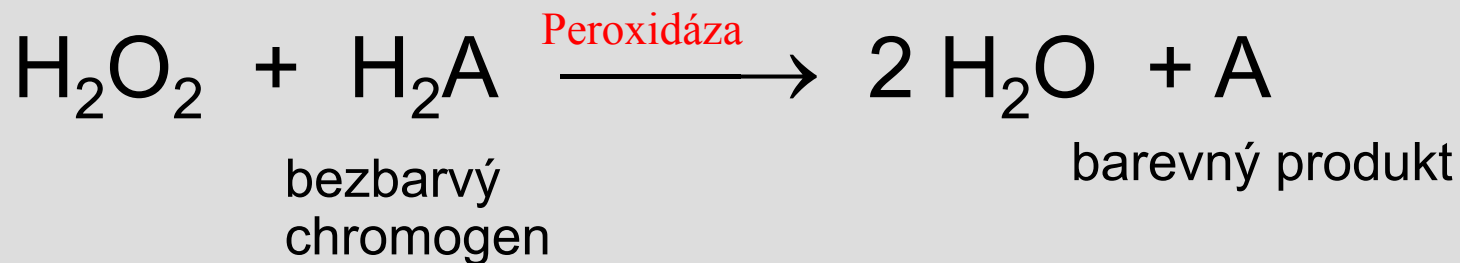
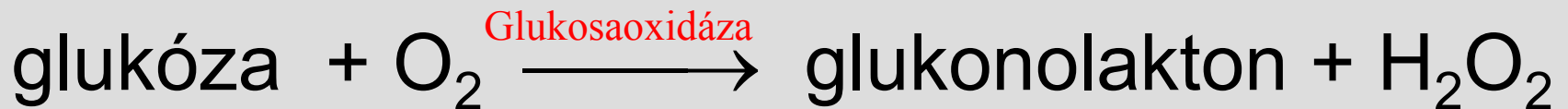
2. Doporučené rutinní metody (enzymové)

a) (GOD/ PAP)

glukózaoxidasá/peroxidáza



Enzymové stanovení glukózy



Chromogen: nejčastěji 4-aminoantipyrin + subst.fenol → chinonimin (barevný)

b) (HK/ G6PD)

hexokináza /glukóza-6-fosfátdehydrogenáza

GLUKÓZA + ATP → glukózo-6-fosfát + ADP

HK



spektrofotometricky - vzrůst absorbance NADPH při 340 nm

c) (GDH)

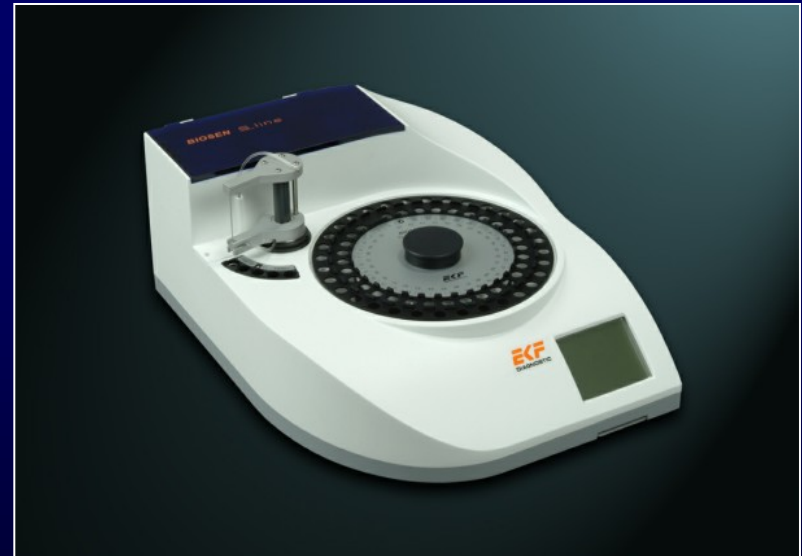
glukózadehydrogenáza



spektrofotometricky -vzrůst absorbance NADH při 340nm

3. Elektrochemické metody

- Clarkova kyslíková elektroda
- Biosenzory s membránou se zakotvenou GOD
- Glukometry (POCT)



Princip: přímé elektrochemické stanovení



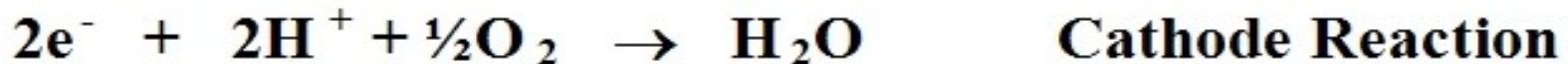
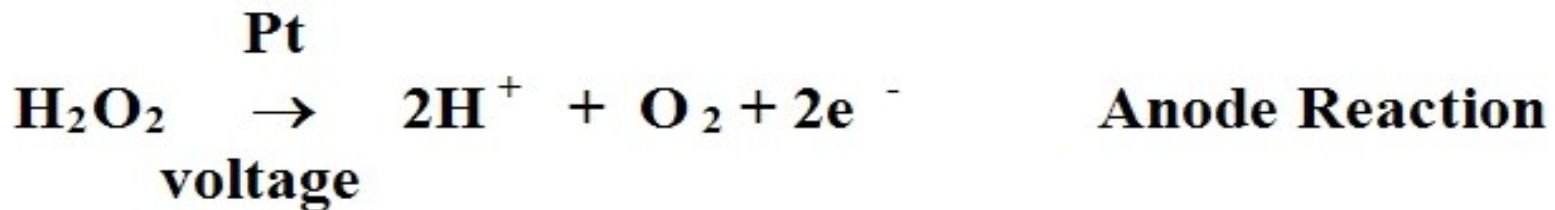
(glukózaoxidáza)



3. Vzniklý elektrický proud nebo náboj je úměrný

koncentraci glukózy (**amperometrické** nebo

coulometrické stanovení)



4. Jiné možnosti stanovení (starší metody)

- Reflexní fotometrie
- chemické
 - reakce glukózy s o-toluidinem v kyselém prostředí po zahřátí modrozelené zbarvení

Kontinuální monitorování koncentrace glukózy

- Transkutánní senzory
- Mikrodialýza kůže
- Reverzní iontoforéza

- **Neinvazivní** kožní a oční přístroje
- Fluorescenční metody
- Infračervená spektroskopie

Referenční rozmezí:

S,P-Glukóza	3,9-5,6 mmol/l
CSF-Glukóza	2,8-3,9 mmol/l
dU-Glukóza	0 -1,7 mmol/24h
P-Glukóza (oGTT) nalačno	3,9-5,6 mmol/l
P-Glukóza (oGTT) po 2h	3,9-7,8 mmol/l

DM - diagnóza

- Klinické symptomy
- P-Glu (náhodný odběr) $\geq 11,1$ mmol/l
- P-Glu (nalačno) $\geq 7,0$ mmol/l
- P-Glu (oGTT) po 2h $\geq 11,1$ mmol/l
- Opakované vyšetření
- Přesnost $< 2,5\%$
- Správnost (bias) $< 2,0\%$

Glukózový toleranční test (oGTT)

- Diagnóza diabetu
- Verifikace zvýšené hodnoty FPG