

Vybraná biochemická vyšetření u pacientů s diabetes mellitus (1. LF UK, VL, 2. roč.)



Článek byl doporučen ke studiu

x

Tento článek doporučil ke studiu pedagog lékařské fakulty:



MUDr. Martin Vejražka, PhD. (e-mail) -- redakce WikiSkript

Zjednodušili jsme význam „zelené fajfky“! Více se dozvíte v tomto článku.

Poruchy energetického metabolismu, především obezita, diabetes mellitus, stavy, které diabetu předcházejí (prediabetes) a tzv. metabolický syndrom, mají mimořádný medicínský význam. Jen diabetes dnes postihuje kolem 10 % obyvatel vyspělých zemí a jeho incidence stále roste. Přitom jde o onemocnění, které je spojené s velkým množstvím komplikací a dramaticky zvyšuje úmrtnost i nemocnost. Porozumění diabetu a znalost principů jeho diagnostiky a léčby je proto zásadní pro každého zdravotnického profesionála.

Regulace glykémie

Koncentrace glukózy v krvi (**glykémie**) je za fyziologických podmínek udržována v úzkém rozmezí hodnot 3,9–5,6 mmol/l nalačno a po jídle nižší než 10 mmol/l. Je přísně regulována řadou mechanismů: inzulinem, který glykémii snižuje, a antiinzulinárně působícími hormony – glukagonem, katecholaminy, glukokortikoidy a růstovým hormonem, které glykémii zvyšují. Na regulaci glukózové homeostázy se dále významně podílejí játra. Udržení stálé hodnoty glykémie je nezbytné pro činnost CNS a jiných tkání a buněk (např. erytrocytů).

Zdroje glukózy

Exogenním **zdrojem glukózy** pro organismus jsou disacharidy a polysacharidy obsažené v potravě. Glukóza vzniká jejich rozštěpením v tenkém střevě a je využívána v játrech, svalech, tukové a mozkové tkáni jako přímý zdroj energie. Nezoxidovaná glukóza se uskládá ve formě glykogenu, nebo se přeměňuje na mastné kyseliny a triacylglyceroly. Nalačno se normální koncentrace glukózy udržuje štěpením glykogenu glykogenolýzou a tvorbou glukózy z nesacharidových prekurzorů (aminokyselin, glycerolu a laktátu) v procesu glukoneogeneze.

Změny koncentrace glukózy v krvi

- Pokles glykémie pod hodnotu 3,2 mmol/l se označuje jako **hypoglykémie**. Při hypoglykémii je ohroženo zásobování mozkové tkáně glukózou. Může se vyskytovat v průběhu různých onemocnění, nejčastěji při předávkování antidiabetik, vzácněji při dlouhodobém hladovění, u některých endokrinně aktivních nádorů nebo u dědičných metabolických poruch, které zasahují i metabolismus glukózy (např. při glykogenózách). Těžší hypoglykémie je provázána neklidem, opocením a třesem, při dalším poklesu glykémie dochází k poruše vědomí.
- Glykémie zvýšená nad referenční rozmezí se označuje jako **hyperglykémie**. Chronická hyperglykémie je základním projevem *diabetu*. Můžeme se však setkat i s přechodnou **nediabetickou hyperglykémií**. Vedou k ní všechny situace, kdy je zvýšená hladina katecholaminů, glukokortikoidů a dalších stresových hormonů, včetně řady akutních onemocnění. Změna regulace metabolismu glukózy vedoucí k hyperglykémii provází také zánětlivé stavy. Hyperglykémie může být vyvolána i iatrogeně, nejčastěji jako důsledek léčby pomocí steroidních hormonů a jejich analog.



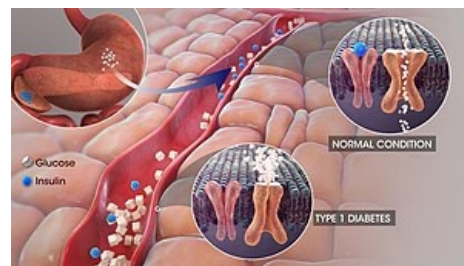
Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM) je chronické metabolické onemocnění s vysokou morbiditou a mortalitou, jehož hlavním a společným projevem je **hyperglykémie** vzniklá v důsledku absolutního či relativního **nedostatku inzulínu**. V posledních desetiletích byl zaznamenáván výrazný a setrvalý nárůst, hovoří se také o epidemii či pandemii diabetu. Příčina tohoto jevu tkví v životním stylu populace ekonomicky rozvinutých zemí (nadměrný energetický příjem, snížená fyzická aktivita).

V současnosti je v Česku evidováno více než 9 % osob s diabetem (1 045 600 v r. 2019^[1]). Předpokládá se, že dalších 5 % populace zůstává nediodagnostikováno. Nejčastěji se jedná o DM 2. typu (93 % případů), DM 1. typu tvoří asi 5 %, a ostatní typy jsou spíše vzácné.^[2]

Klasifikace diabetu

- **Diabetes mellitus 1. typu**
 - autoimunitně podmíněný,
 - typ LADA (rozvíjí se v pozdějším věku, bývá často zaměňován za DM 2. typu),
 - idiopatický.
- **Diabetes mellitus 2. typu**
 - s převažující poruchou sekrece inzulínu,
 - s převažující poruchou působení inzulínu.
- **Ostatní specifické typy DM**
 - pankreatoprivní DM (zničení β -buněk při chronické pankreatitidě, resekci, traumatem, při cystické fibróze, hemochromatóze),
 - DM při endokrinopatiích (akromegalie, glukagonom, feochromocytom, hyperkortizolismus, hypertyreóza atd.),
 - DM vyvolaná léky a chemikáliemi (glukokortikoidy, kyselina nikotinová, hormony štítné žlázy),
 - monogenně podmíněné formy (MODY),



DM 1. typu

Podrobnější informace naleznete na stránce *Specifické druhy diabetu*.

- a řada dalších vzácných příčin
- **Gestační diabetes mellitus**
 - se objeví v těhotenství a spontánně odezní v průběhu šestinedělí,

Prediabetes

Klinicky vyjádřenému diabetu mellitu s chronickou hyperglykemií často předchází období označované jako *prediabetes*. Nacházíme v něm již významné biochemické odchylky, avšak ještě nejsou splněna kritéria pro diagnózu diabetu. Mezi stavy označované jako prediabetes patří zejména

- Zvýšená glykémie nalačno (IFG – impaired fasting glucose).
- Porucha glukózové tolerance (IGT – impaired glucose tolerance).

Podrobnější informace naleznete na stránce *Prediabetes*.

Patogeneze

K narušení glukózového metabolismu dochází:

- poruchou tvorby nebo sekrece inzulínu (**deficit inzulínu**),
- poruchou působení inzulínu (**inzulinová rezistence**),
- **kombinací** obou mechanismů,
- nebo vzácně poruchou jiného mechanismu, který reguluje glykémii.

Nedostatečná funkce inzulínu způsobí narušení transportu glukózy z krve do buňky, což vede k hyperglykémii a zároveň nedostatku glukózy intracelulárně. Nedostatečná utilizace glukózy vede ke změně mechanismů pro získání ATP. Dochází ke stimulaci **glukoneogeneze** a **glykogenolýzy**, v adipocytech se zvyšuje **lipolytické štěpení triacylglycerolů** na mastné kyseliny a glycerol. Odbouráváním mastných kyselin β -oxidací vzniká nadbytečný acetyl-CoA, z něhož vznikají v játrech **ketolátky** (acetacetát, 3-hydroxybutyrát a aceton). Acetacetát může sloužit jako zdroj energie pro činnost svalů a mozku místo glukózy.

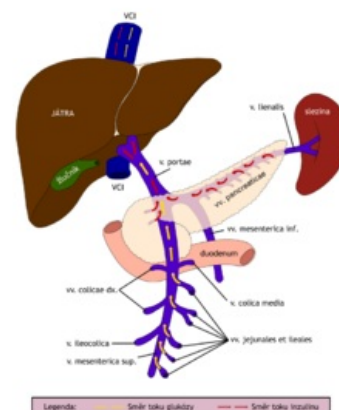
Jestliže tvorba ketolátek překročí jejich utilizaci periferními tkáněmi, rozvíjí se **ketoacidóza**. Vzhledem k tomu, že ketolátky jsou rozpustné ve vodě a vylučují se močí, nastává **ketonurie**. Při překročení **prahové plazmatické koncentrace glukózy** (10-12 mmol/l)^[3], dojde k narušení transportní kapacity proximálního tubulu, a glukóza se tak dostává do finální moči. Glukóza i ketolátky jsou osmoticky aktivní, strhávají tak s sebou do moči i větší množství vody, což je podkladem **polyurie**.

Klinický obraz

Z výše uvedeného vyplývají i **charakteristické příznaky DM** jako je žízeň a polydipsie, osmotická polyurie, nekonstantně přítomné nechutenství a úbytek hmotnosti způsobený ztrátou tekutin, snížením příjmu potravy a negativní energetickou bilancí při velkých ztrátách glukózy močí.

Komplikace

CESTA GLUKÓZY A INZULINU DO SYSTÉMOVÉHO OBĚHU



Produkce inzulínu pankreatem

Diabetes mellitus vede ke zvýšení nemocnosti i úmrtnosti v důsledku svých komplikací. Extrémní vzestup glykémie vede ke změně osmolarity extracelulárního prostředí a tím k selhání řady transportních dějů a k metabolickému rozvratu. Podobně nedostatek glukózy intracelulárně v inzulin-dependentních tkání vede zejména u plně vyjádřeného diabetu 1. typu ke zhroucení metabolických a fyziologických dějů. Tyto komplikace jsou **akutní**, dochází k nim bezprostředně v důsledku výrazné hyperglykémie. Podobně k akutním komplikacím vede těžká hypoglykémie, která vzniká nejčastěji neadekvátní hypoglykemizující léčbou (např. podání nesnížené dávky inzulínu pacientovi, který přestal přijímat potravu). Hypoglykémie postihne především orgány energeticky závislé na glukóze, v první řadě centrální nervový systém, a projevuje se tedy poruchou vědomí.

Nebezpečné jsou i **chronické komplikace** diabetu, které se rozvíjejí mnohdy plíživě v důsledku neenzymové glykace proteinů, tvorby pokročilých produktů glykace (AGE), vstupu glukózy do alternativních metabolických drah a vzniku méně obvyklých produktů (např. sorbitolu) apod. Mezi pozdní, chronické komplikace diabetu patří např. komplikace spojené s makroangiopatií (akutní infarkt myokardu, cévní mozkové příhody, ischemická choroba dolních končetin a další choroby tepen), mikroangiopatií (včetně retinopatie, glomerulopatie apod.) a neuropatií (zejména periferní neuropatie). Postiženy ale mohou být prakticky všechny tkáně.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Komplikace diabetu mellitu.*

Diabetes mellitus 1. typu

Diabetes mellitus 1. typu je charakterizován absolutním nebo téměř úplným nedostatkem endogenního inzulínu a životní závislostí na podávání exogenního inzulínu. Nemocní mají sklon ke ketoacidóze.

Onemocnění vzniká v důsledku **selektivní destrukce β-buněk Langerhansových ostrůvků** pankreatu autoimunitním procesem u geneticky predisponovaných jedinců. Spouštěcím mechanismem autoimunitního děje je pravděpodobně virová infekce či kontakt s jiným exogenním nebo endogenním agens.

Klinický obraz diabetu mellitu 1. typu závisí na agresivitě autoimunitního procesu. *V dětství a dospívání*, kdy se rozvíjí většina onemocnění, bývá poslední fáze destrukce β-buněk velmi rychlá, takže se diabetes manifestuje klasickými **akutními příznaky** (včetně ketoacidózy). *V pozdějším věku* mívá onemocnění podstatně **pomalejší** nástup a až po čase vyústí v úplnou závislost na inzulínu. Sekrece inzulínu může být i několik let sice snižována, ale dostačující k tomu, aby zabránila ketoacidóze. Klinický průběh onemocnění proto připomíná diabetes mellitus 2. typu a uvádí se, že asi každý desátý nemocný původně klasifikovaný jako diabetik 2. typu má pomalu probíhající diabetes 1. typu – **latentní autoimunní diabetes dospělých** (*latent autoimmune diabetes of adults* – **LADA**)^[4].

DM 1. typu je méně častou formou diabetu, která se vyskytuje asi u 7 % diabetiků. Klasickými příznaky DM 1. typu jsou žízeň, polyurie a úbytek hmotnosti.



Metabolické důsledky nedostatku inzulínu nebo jeho nedostatečné funkce

Srovnání charakteristik DM 1. a 2. typu na počátku onemocnění

Diabetes mellitus 1. typu		Diabetes mellitus 2. typu
	LADA	
chybí sekrece inzulínu	postupný zánik sekrece inzulínu	inzulinová rezistence, porucha sekrece inzulínu
typický začátek v dětství a dospívání	typický začátek v dospělosti	typický začátek po 40 letech
ketoacidóza		
častěji nižší BMI		častěji vyšší BMI
pozitivní autoprotilátky		autoprotilátky chybí
C-peptid chybí	C-peptid snížený	C-peptid normální nebo zvýšený
imunoreaktivní inzulín chybí	imunoreaktivní inzulín snížený	imunoreaktivní inzulín normální nebo zvýšený

Diabetes mellitus 2. typu

Typ 2 je **převažující formou** DM. Nemocní nebývají životně závislí na exogenním inzulínu, protože produkce inzulínu nebývá snižována, nebo je snižována méně než v případě DM 1. typu.

Příčina tohoto typu spočívá v **poruše účinku inzulínu**. Jedná se o tzv. **rezistenci vůči inzulínu (inzulinorezistence)** z důvodů *poruchy inzulínového receptoru* nebo o poruchu v **přenosu inzulínového signálu** do buňky.

Koncentrace inzulínu v krvi bývají zpočátku v důsledku inzulínové resistance **zvýšené**. V dalším průběhu onemocnění nastupuje i **porucha sekrece inzulínu**, β-buňky postupně ztrácejí schopnost reagovat syntézou inzulínu na zvýšenou hladinu glukózy.

Onemocnění se manifestuje převážně v dospělosti, obvykle ve věku nad 40 let. DM 2. typu má vysokou dědivost, takže v anamnéze bývá patrná rodinná zátěž. Na rozdíl od 1. typu nemají nemocní sklon ke ketoacidóze. V 60–90 % je spojen s obezitou.

Gestační diabetes

Gestační diabetes mellitus (GDM) je porucha metabolismu glukózy různého stupně, která se objeví v těhotenství a spontánně odezní v průběhu šestinedělí. V těhotenství může být kromě GDM zachycen také tzv. zjevný diabetes mellitus (dále také DM), který splňuje diagnostická kritéria diabetu platná pro všeobecnou populaci a zpravidla přetrvává i po šestinedělí. Péče o těhotné ženy se zjevným diabetem je shodná s péčí o těhotné ženy s pregestačním diabetem.

U všech těhotných žen s výjimkou těch, které se již s diabetem léčí, je prováděn **dvoufázový screening** GDM, zajišťovaný ambulantním gynekologem. V prvním trimestru těhotenství (do 14. týdne) se stanovuje **venózní glykémie nalačno**. Pokud má těhotná žena glykémii nalačno opakovaně (tzn. 2 dny za sebou) $\geq 5,1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, je u ní diagnostikován GDM, nemusí již dále podstupovat oGTT a je odeslána k diabetologovi. Všechny ženy s negativním výsledkem v 1. trimestru pak mezi 23. + 1 až 27. + 6 týdnem těhotenství podstupují tříbodový **orální glukózový toleranční test** (oGTT) se zátěží 75 g glukózy. Normální glykémie při oGTT jsou $< 10,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ v 60. minutě a $< 8,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ve 120. minutě. Při vyšších hodnotách je diagnostikován GDM a žena odeslána na diabetologii. Ke kompenzaci glykemií se používá podle závažnosti GDM dieta, metformin či inzulin.^[5]



Odběr žilní krve

Základní biochemická vyšetření u pacientů s diabetes mellitus

Stanovení koncentrace glukózy v krvi je vyšetřením, které poskytne základní informaci o sacharidovém metabolismu. Odebírá se kapilární nebo venózní krev a glukóza se stanovuje v plné krvi, plazmě nebo séru. Při stanovení glukózy v plné krvi jsou hodnoty o 10–15 % nižší (v závislosti na hematokritu), v arteriální krvi jsou o 10 % vyšší než ve venózní (arteriovenózní rozdíl). Pro zabránění glykolýzy se do odběrových nádobek přidává NaF (2,5 mg na 1 ml plné krve).

Vyšetření koncentrace glukózy v krvi má potřebnou informační hodnotu pouze tehdy, pokud je znám časový interval mezi odběrem krve a příjmem potravy.

Vyšetření glykémie se provádí:

- **nalačno** (krev se odebírá nejméně 8 hodin po příjmu potravy) – indikováno při vyhledávání diabetiků a určení diagnózy DM;
- **náhodně** naměřená glykémie (krev se odebírá bez udání časového vztahu k příjmu potravy) – provádí se při podezření na hypoglykémii nebo hyperglykémii;
- po jídle – **postprandiální** glykémie (1 hodinu po jídle obsahujícím sacharidy) – indikováno při kontrole účinnosti léčby DM;
- jako **glykemický profil** – glykémie se stanovuje několikrát denně, obvykle před hlavními jídly, někdy i po jídle a v noci.

Metody stanovení glykémie

Stanovení glykémie v laboratorních podmínkách

Ke stanovení koncentrace glukózy se používají různé metody. Rozšířené jsou metody **enzymové**. Glukózu můžeme stanovit pomocí každého enzymu, který ji metabolizuje. Možnostmi Neinvazivního měření glykémie se zabývá jiný článek

Glukózaoxidázová reakce

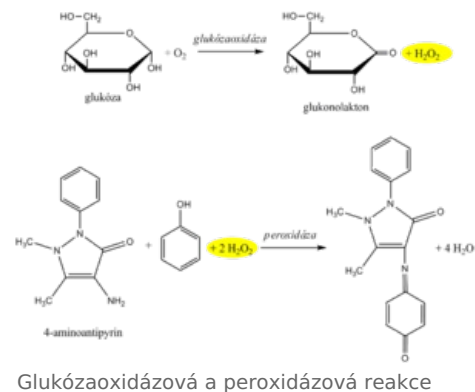
Doporučená rutinní metoda využívá *spřažených enzymových reakcí* **glukózaoxidázy (GOD, EC 1.1.3.4)** (<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC1/1/3/4.html>) a **peroxidázy (POD, EC 1.11.1.7)** (<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC1/11/1/7.html>). V první reakci enzym **glukózaoxidáza** katalyzuje oxidaci glukózy vzdušným kyslíkem za vzniku glukonolaktonu. Je známo, že v roztoku je 36 % glukózy ve formě α -anomeru a 64 % ve formě β -anomeru. GOD je vysoce specifická pro β -D-glukopyranosu. Aby se mohly oxidovat oba anomery, je nutná mutarotace α - na β -anomer, ke které dojde spontánně v průběhu dostatečně dlouhé inkubace. Jako vedlejší produkt glukózaoxidázové reakce se vytváří ekvimolární množství **peroxidu vodíku**.

V další reakci katalyzované **peroxidázou** reaguje vznikající peroxid vodíku s vhodným chromogenem, který se oxiduje na reaktivní meziprodukt, a ten s další látkou kopuluje na stálé rozpustné barvivo. Příkladem může být oxidační kopulace derivátu fenolu se 4-aminoantipyrinem na červené barvivo, jehož absorbance se po ustálení reakční rovnováhy měří.

Jiné metody využívají **měření úbytku kyslíku**, ke kterému dochází v průběhu reakce katalyzované **glukózaoxidázou** a který můžeme sledovat elektrochemicky kyslíkovou elektrodou nebo enzymovou elektrodou.

Hexokinázová reakce

Vysokou specifitou se vyznačuje metoda hexokinázová. **Hexokináza** (EC 2.7.1.1 (<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC2/7/1/1.html>)) fosforyluje glukózu v přítomnosti ATP na **glukóza-6-fosfát**. V dalším kroku se glukóza-6-fosfát oxiduje pomocí **glukóza-6-fosfátdehydrogenázy** proti NADP^+ na 6-fosfoglukonolakton. Redukci NADP^+ na **NADPH** lze vyhodnocovat přímou fotometrií v UV oblasti na principu Warburgova optického testu.



Stanovení glykémie v mimolaboratorních podmínkách

Glykémie patří mezi parametry, které se často vyšetřují i bez laboratorního zázemí. Rychlé orientační stanovení glykémie je běžné v urgentní péči. U pacientů léčených inzulínem se také s výhodou pravidelně sleduje glykémie pomocí osobního **glukometru** a na základě naměřených hodnot se upravuje léčba. Koncentrace glukózy v krvi patří mezi parametry nejčastěji stanovené technikami *vyšetření v místě péče o pacienta (point of care testing, POCT)*. Nutno ovšem mít na paměti, že metody POCT, jakkoli zlepšují kvalitu péče i komfort nemocného, nenahrazují pravidelné lékařské vyšetření ani laboratorní kontroly.

Metody rychlého stanovení glykémie využívají několika principů. Výchozím materiálem je obvykle kapka plné kapilární krve, která se aplikuje na **testovací proužek**.

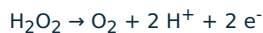
Nejstarší proužky byly založeny na stejných reakcích jako fotometrické měření koncentrace glukózy. Reakční zóna obsahovala *glukózaoxidázu*, *peroxidázu* a vhodný chromogen. Vyhodnocení se provádělo buď vizuálně srovnáním s barevnou stupnicí, nebo pomocí glukometru – jednoúčelového reflexního fotometru.

Většina glukometrů dnes využívá **enzymové elektrody**^{[6] [7]}.

Senzory **první generace** se objevily již v šedesátých letech 20. století. Nejstarší systém byl založen na glukózaoxidázové reakci. Využíval dvou elektrod, jedna byla pokrytá enzymem. Koncentrace kyslíku ve vzorku a rychlost jejího poklesu v průběhu reakce se měřila tzv. Clarkovou metodou: kyslík se redukuje na platinové katodě, intenzita proudu mezi katodou a anodou odpovídá jeho koncentraci:



Později se namísto spotřeby kyslíku stanovovala elektrochemicky produkce peroxidu vodíku. I v tomto případě jde o jednoduchou elektrochemickou reakci, tentokrát probíhající na anodě:



Takto konstruované analyzátoři byly jednodušší a bylo možné je více miniaturizovat. Ampérometrické měření produkce peroxidu vodíku je ovšem ovlivněno řadou látek: askorbátem, kyselinou močovou, mnohými léčivy apod. Jiným problémem mnohých senzorů první generace byla závislost výsledků měření na nasycení vzorku kyslíkem.

Senzory **druhé generace** jsou rovněž založeny na **glukózaoxidázové** reakci, namísto molekulárního kyslíku je však akceptorem elektronů jiná látka – tzv. **mediátor**. Jinou možností je oxidace glukózy na glukonolakton jiným bakteriálním enzymem, **glukózadehydrogenázou**, přičemž elektrony se opět přenášejí na vhodný mediátor. Redukovaný mediátor se v obou případech znovu oxiduje na anodě a měří se buď proud protékající mezi katodou a anodou (ampérometrické stanovení), nebo výsledný náboj anody (coulombometrické stanovení). Používá se řada konkrétních uspořádání testovacích proužků, jako mediátory se využívají různé látky (např. kyanoželezitan, hexamin ruthenia, komplexy osmia, fenantrolinichinon).

Orální glukózový toleranční test

Orální glukózový toleranční test (oGTT) odráží reakci organismu na podání glukózy fyziologickou cestou a hodnotí, zda je organismus schopen po zátěži glukózou udržet její hladinu v krvi v normálním rozmezí. Je sumou informací nejen o účincích hormonů regulujících glykémii, ale též o procesech v gastrointestinálním traktu (rychlost vyprazdňování žaludku, pasáž střevem a resorpce) a jaterních funkcích.

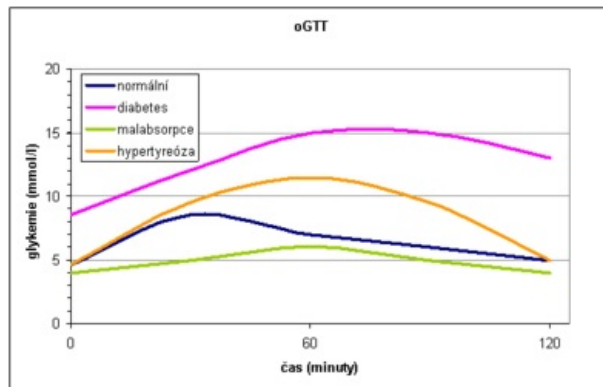
Orální glukózový toleranční test se používá především pro včasnou **diagnózu gestačního diabetu**. V tomto případě se používá jako rutinní skríninkové vyšetření, prováděné u všech těhotných na přelomu druhého a třetího trimestru (při vysokém riziku navíc i co nejdříve po zjištění těhotenství).

U ostatních osob se orální glukózový toleranční test doporučuje jako doplňující diagnostická zkouška pro **diagnostiku DM**, pokud nelze rozhodnout podle hodnot glykémie nalačno a náhodné glykémie (zejména pokud je glykémie na lačno mezi 5,6–7,0 mmol/l)^[8]. Pokud jsou hodnoty glykémie nalačno nebo náhodné glykémie průkazné pro diagnózu DM, byl by oGTT zbytečnou zátěží pro pacienta, a je proto kontraindikován. Dále se neprovádí u akutně nemocných a imobilizovaných pacientů ani u nemocných na redukční dietě.

Provedení oGTT

- 3 dny před testem neomezujeme příjem sacharidů (nejméně 150 g/den) a nemocný vykonává obvyklou tělesnou námahu;
- po 8–14hodinovém lačnění se odebere **vzorek krve nalačno**;
- pacient vypije 75 g glukózy rozpuštěné ve 250–300 ml čaje nebo vody během 5–10 minut;
- během vyšetření zůstává pacient sedět a nekouří;
- další vzorek krve se odebírá u těhotných v **60. a 120. minutě**, u všech ostatních pacientů jen ve **120. minutě** po zátěži glukózou.^[9]

Kromě výše uvedeného způsobu oGTT se může provádět ještě podrobnější tzv. **glykemická křivka, kdy se krev odebírá vícekrát, zpravidla ve 30 minutových intervalech.**



Příklady glykemických křivek

V průběhu glykemické křivky můžeme popsat tři úseky:

1. Glukóza se po podání *per os* vstřebává ve střevě a glykémie se zvyšuje – vzestupná část. Po gastrektomii bývá strmá, při malabsorpci plochá. V důsledku zvýšení glykémie se podněcuje oxidace glukózy ve svalech a v játrech se tvoří glykogen.
2. Funkci jater a účinky inzulínu v játrech odráží další – vrcholová část glykemické křivky. U *začínajícího DM* není glukóza v játrech dostatečně přeměňována na glykogen, a proto vrchol glykemické křivky přesahuje hodnotu 11,1 mmol/l a maximum nastává i později než za 60 minut. Při *onemocnění jater* je vrcholová část křivky rovněž změněna. Hepatocyty nestačí vstřebanou glukózu zmetabolizovat, takže do periferie přechází více glukózy. Vrchol rovněž převyšuje hodnotu 11,1 mmol/l a zvýšení přetrvává déle než 60 minut, ale na rozdíl od DM se ve 120. minutě vrací k normě (zvonový tvar křivky). U *hypertyreózy* je v důsledku rychlého vstřebávání také překročena hladina 11,1 mmol/l, ale pokles je rychlý (gotický tvar křivky).
3. Sestupná část je závislá na účincích inzulínu a fyziologicky je charakterizována poklesem hladiny glukózy. Zpomalený a nedostatečný návrat glykémie k normě je klasickým *projevem DM*.

Normálně pozorujeme maximální vzestup za 30–60 minut, nedochází ke glykosurii a po 2 hodinách se glykémie vrací k hodnotám nalačno.

Obecně je oGTT zatížen velkou náhodnou chybou a nízkou reprodukovatelností.

Hodnocení glykémie a oGTT

Zdravé osoby mají plazmatickou glykémii nalačno < 5,6 mmol/l, při oGTT mají glykémii ve 120. minutě < 7,8 mmol/l. Pro diagnózu DM svědčí

- glykémie nalačno > 7,0 mmol/l
nebo
- náhodná glykémie > 11,1 mmol/l
nebo
- glykémie > 11,1 mmol/l ve 120. minutě oGTT



společně s klasickými klinickými příznaky (žízeň, polyurie, hubnutí).

Pro potvrzení diagnózy DM je zapotřebí opakované vyšetření z dalšího odběru v některém z příštích dnů.

Glykované proteiny

Přímým důsledkem zvýšené hladiny cukru v krvi je jeho intenzivní vazba na proteiny, jež je podstatou **neenzymové glykace**. Proces glykace je podmíněn přítomností volných aminoskupin v molekule proteinů.

Rychlost glykace je ovlivňována především koncentrací glukózy a dobou jejího působení. Probíhá i u zdravých jedinců. Glykace se uskutečňuje na všech sérových proteinech a vede ke vzniku glykovaných derivátů. Glykované jsou jak rozpustné, tak strukturní bílkoviny.

Neenzymová glykace probíhá v několika fázích tzv. **Maillardovy reakce**.

- Sled glykačních reakcí zahajuje aldehydová skupina redukujícího cukru, která se váže na aminoskupinu proteinu. Vzniká **labilní aldimin** typu **Schiffovy báze** (*časné produkty glykace*). Tvorba Schiffovy je rychlá, rovnováhy dosáhne během několika hodin. Tato reakce je reverzibilní.
- Schiffova báze pak pomalu, během několika dní, podléhá chemickému přesmyku. Vzniká stabilnější *přechodný produkt glykace*, tzv. **Amadoriho produkt**, který má charakter **ketoaminu**. Vzniká přitom ketoskupina na druhém uhlíku cukru, která je charakteristická pro fruktózu. Koncentraci vzniklých **fruktózaminů** můžeme stanovit reakcí s nitrotriazoliovou modří (viz níže). Amadoriho produkty jsou rovněž **do jisté míry reverzibilní**, i když rovnováha je značně posunuta ve směru jejich tvorby. Ustáleného stavu je dosaženo za několik týdnů. Množství ketoaminů lze snížit normalizací glykémie.
- Ze Schiffovy báze se také může odštěpit aldóza, která je o dva uhlíky kratší než původní cukr navázaný na

- Amadoriho produkty jsou reaktivní látky. Za týdny a měsíce nezávisle na přítomnosti glukózy vznikají z Amadoriho produktů reakcemi především s proteiny s dlouhou životností (např. kolagen, elastin, myelin nervů) **pokročilé produkty glykace** (*advanced glycation end-products*, **AGE**). Tyto procesy jsou **ireverzibilní**.

Stanovení produktů glykace Amadoriho typu je vhodným ukazatelem dlouhodobé koncentrace glukózy a poskytuje **nepřímou informaci o průběhu glykemií v časovém období, které odpovídá biologickému poločasu bílkoviny**. Běžně se stanovuje **glykovaný hemoglobin a glykované proteiny**.

The diagram illustrates the Maillard reaction pathway starting from Lysine. The initial reactant is Lysine, shown as $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R})-\text{CH}_2-\text{CHO}$. It reacts to form a Schiff base (aldimine), $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{H}$. From this Schiff base, two pathways are shown:

- Amadori rearrangement:** The Schiff base rearranges to form the Amadori product, $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{H}$ (where the CH_2 group is now part of a different structure). This product then undergoes **Zersetzung** (decomposition) to form a Zersetzung product, $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{H}$ (where the CH_2 group is now part of a different structure).
- Oxidation and Zersetzung:** The Schiff base is oxidized (ox.) to form a Schiff base (aldimine) with a $\text{C}=\text{N}$ bond and a CH_2 group. This intermediate then undergoes **Zersetzung** to form a Zersetzung product, $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{H}$ (where the CH_2 group is now part of a different structure).

The final product shown is Glyoxal, $\text{O}=\text{CH}-\text{CHO}$.

Glykovaný hemoglobin (HbA_{1c}) je považován za **nejlepší způsob dlouhodobé kontroly koncentrace glukózy u diabetiků**. Koncentrace glykovaného hemoglobinu informuje o hodnotách glykémie v předchozích 2–3 měsících (doba životnosti erytrocytu). Stanovuje se chromatografickými nebo imunochemickými metodami.

Princip stanovení glykovaných proteinů (fruktózaminu)

Vyšetření glykovaných proteinů využívá redukčních vlastností fruktóзамinu v alkalickém prostředí. Fruktosamin se v přítomnosti uhličitanového pufru přeuspořádává na svůj tautomer – eneaminol, reaguje s nitrotetrazoliovou modří (NBT). Při redukci dochází k otevření heterocyklických kruhů NBT a vzniku barevného formazanu. Rychlost vzniku formazanu je přímo úměrná koncentraci fruktóзамinu.

Jako každá metoda, využívající redukčních vlastností některých součástí séra, je toto vyšetření nespecifické. Zahajuje se proto několikaminutovou inkubací, která má odstranit vliv rychle reagujících redukujících látek. V komerčních soupravách je součástí činidla enzym urikáza, která eliminuje redukci NBT kyselinou močovou.

Glukóza v moči

Glukóza filtrovaná do primární moči z plazmy se aktivním transportem zpětně resorbuje v proximálních tubulech. Organismus si chrání glukózu před zbytečnými ztrátami, proto mají ledvinné tubuly značnou rezervní kapacitu – za fyziologických okolností je transportní systém vytížen jen asi z jedné třetiny. Při hyperglykémii využití transportního systému stoupá, a překročí-li glykémie hodnoty kolem 10 mmol/l (tzv. **ledvinný práh pro glukózu**), je kapacita tubulární resorpce překročena a glukóza přechází do moči. Ztráty glukózy močí větší než 0,72 mmol / 24 hodin označujeme jako **glykosurii (glukosurii)**. Glykosurie je nejčastějším nálezem vedoucím k odhalení diabetes mellitus. Negativní nález glukózy v moči však toto onemocnění nevylučuje. Stanovení glukózy v moči proto nepatří mezi základní biochemické parametry používané pro diagnózu a sledování DM.

Nález glykosurie je nutno hodnotit společně s výší glykémie nalačno. Na základě glykémie rozlišujeme:

- **Hyperglykemickou glykosurii**, která je typickým nálezem při diabetes mellitus. Při déletrvajícím onemocnění se ale zvyšuje renální práh pro glukózu a glykosurie může dokonce vymizet. Proto jde pouze o orientační vyšetření, na jehož základě nelze řídit terapii DM. Přechodně se může vyskytnout i tzv. „alimentární glykosurie“ jako důsledek stravy bohaté na sacharidy nebo v průběhu oGTT.
- **Normoglykemická renální glykosurie**, při níž koncentrace glukózy v krvi není zvýšená. Je důsledkem poruchy ledvinných tubulárních buněk, které zajišťují zpětnou resorpci glukózy. Může být projevem autosomálně recesivního onemocnění, častěji se vyskytuje např. při toxickém či zánětlivém poškození ledvin postihujícím funkci proximálního tubulu.

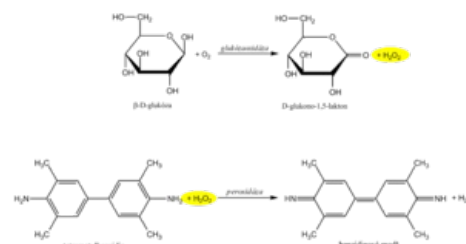
Metody stanovení glykosurie

Ke stanovení glykosurie lze použít **nespecifické chemické reakce** nebo **testovací proužky**.

Nespecifické chemické reakce jsou založené na **redukčních vlastnostech monosacharidů**. **Fehlingova a Benedictova** zkouška využívají nespecifické redukce chelátového komplexu Cu^{II+} s citrátem nebo tartarátem na Cu^{I+} . Při **Nylanderově** zkoušce se v přítomnosti redukujících látek redukuje dusičnan-oxid bismutitý $\text{BiNO}_3(\text{O})$ na černý kovový bismut. Tyto reakce jsou pozitivní nejen pro glukózu, ale i další redukující sacharidy, popř. látky s redukčními vlastnostmi (např. kyselinu askorbovou). Vyšetřovaná moč nesmí obsahovat bílkoviny.

Stanovení glukózy v moči diagnostickým proužkem

Diagnostické proužky pro průkaz glukózy v moči jsou založeny na principu enzymových reakcí s glukózaoxidázou a peroxidázou (stejný princip jako stanovení glykémie). D-glukóza je pomocí glukózaoxidázy oxidována kyslíkem a vzniká D-glukono-1,5-lakton a peroxid vodíku. V následné peroxidázové reakci peroxid vodíku oxiduje tetrametylbenzidin či jiný chromogen na barevný produkt. Světle žluté zbarvení reakční plošky se při pozitivitě mění na modrozelené. Test je specifický pro D-glukózu, jiné cukry neposkytují pozitivní reakci.



Glukózaoxidázová a peroxidázová reakce

Vysoké koncentrace redukujících látek jako je kyselina askorbová zpomalují vývin zbarvení a mohou vést k falešně nižším výsledkům. V těchto případech se doporučuje opakovat analýzu minimálně 10 hodin po vysazení vitamínu C. Naopak falešně pozitivní výsledky mohou být způsobeny přítomností substrátů peroxidázy či oxidačních činidel v odběrové nádobě (např. H_2O_2 , Persteril®, chloramin B). Stanovení glukózy v moči je nutno provést rychle, aby se zamezilo kontaminaci bakteriemi, nebo moč uchovávat při 4 °C.

Interference s kyselinou askorbovou je častým zdrojem falešných negativit. Diagnostické proužky pro vyšetření moči od některých výrobců jsou proto upraveny tak, aby reakční zóna byla vůči kyselině askorbové alespoň do určité míry odolná. Některé diagnostické proužky také mají detekční zónu pro askorbát, která na možnost falešné negativity upozorní.

Pozitivní glykosurie je naléhavou indikací k vyšetření glykémie na lačno.

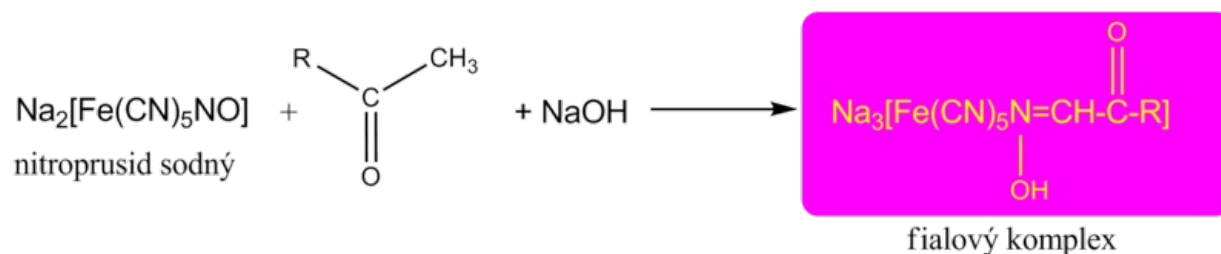
Ketolátky v moči

Termínem „ketolátky“ rozumíme **kyselinu acetoctovou, aceton a kyselinu β-hydroxymáselnou**. Zvýšené vylučování ketolátek močí ukazuje na zvýšenou lipolýzu a zvýšenou tvorbu acetyl-CoA, který v důsledku nedostatečné utilizace glukózy při nedostatku inzulínu není metabolizován normálně v Krebsově cyklu. Výsledkem je hromadění acetyl-CoA, který kondenzuje na kyselinu acetoctovou. Větší část kyseliny acetoctové je v játrech redukována na kyselinu β-hydroxymáselnou, menší část spontánně dekarboxyluje na aceton^[13].

Stanovení ketoláték v moči má význam především u diabetiků 1. typu. U správně léčeného diabetika ketolátky v moči nenacházíme. Jejich přítomnost svědčí pro metabolickou ketoacidózu a je provázána hyperglykemií. Malé množství ketoláték v moči se může objevit při redukci tělesné hmotnosti nebo při hladovění a v těhotenství. Ketonurie může svědčit i pro poruchu tubulárních funkcí, kdy je nedostatečná resorpce ketoláték.

Hlavním představitelem ketoláték v moči je kyselina β -hydroxymáselná, která tvoří asi 60–70 %, kyselina acetocetová je zastoupena asi 30–35 % a aceton se podílí pouze několika procenty.

Průkaz ketoláték je založen na reakcích kyseliny acetocetové a acetonu s nitroprusidem sodným v alkalickém prostředí, kdy vzniká červenofialově zbarvený komplex^[14]. Tento princip využívá Legalova a Lestradeova zkouška, stejně tak jsou na něm postaveny i diagnostické proužky. Kyselina β -hydroxymáselná (tedy nejhojněji zastoupená ketolátka) reakci neposkytuje, a proto negativní výsledek ketoacidózu zcela nevylučuje^[15].



Falešnou pozitivitu zkoušek na ketolátky v moči poskytují sloučeniny s volnými sulfhydrylovými skupinami (např. antihypertenzivum kaptopril či uroprotektivum užívané v některých chemoterapeutických schématech mesna)^[14]. Poměrně často poskytují podobnou reakci také produkty bakterií při infekcích močových cest.

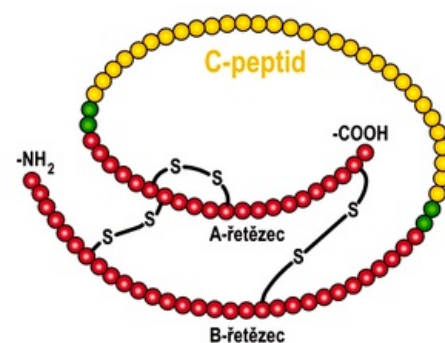
Falešné negativitu kromě již uvedené necitlivosti zkoušek ke kyselině β -hydroxymáselné nejsou významné.

Další laboratorní vyšetření nemocných s diabetem

Inzulin (vzhledem ke způsobu stanovení též **imunoreaktivní inzulin, IRI**). Vzhledem k velkému kolísání hladin v průběhu dne, interferenci s případnými autoprotilátkami a nemožnosti rozlišit endogenní inzulin od inzulinu podaného léčebně se zpravidla stanovuje během zátěžových testů (oGTT). Hodnoty jsou snižované u diabetiků 1. typu, při syndromu inzulinové rezistence bývají naopak zvýšené.

C-peptid *C-peptide* je část molekuly **proinzulinu**, která se odštěpuje před sekrecí inzulinu. Jeho koncentrace v séru odpovídá sekreci inzulinu. Není vychytáván játry a vzhledem k tomu, že v injekčně podávaném inzulinu C-peptid není, nejsou výsledky ovlivněny léčbou. Prochází **glomerulární membránou**, a proto se jeho koncentrace zvyšuje při renální insuficienci.

S diabetem 1. typu bývá také spojena pozitivita **autoprotilátek** proti Langerhansovým ostrůvkům (**ICA**), proti inzulinu (**IAA**) a zejména proti jedné izoformě glutamátdekarboxylázy (**GAD 654**).



C-peptid

Odkazy

Související články

- Glukóza v krvi
- Diabetes mellitus
- Diabetes mellitus 1. typu
- Diabetes mellitus 2. typu
- Gestační diabetes
- Hraniční poruchy glykoregulace
- Glykémie/stanovení
- Orální glukózový toleranční test
- Glykované proteiny
- Glukóza v moči
- Ketolátky v moči
- C-peptid

Reference

- Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. . *Zdravotnická ročenka České republiky 2019* [online]. - vydání. 2020. 203 s. s. 37. Dostupné také z <<https://www.uzis.cz/res/f/008381/zdrroccz2019.pdf>>.
- ČEŠKA. Richard. et al. *Interna*. 3. vydání. Praha : Triton. 2020. 970 s. ISBN 978-80-7553-780-5.

3. ČEŠKA, Richard, et al. *Interna*. 3. vydání. Praha : Triton, 2020. 970 s. ISBN 978-80-7553-780-5.
4. NAIK, Ramachandra G, Barbara M BROOKS-WORRELL a Jerry P PALMER. Latent autoimmune diabetes in adults. *J Clin Endocrinol Metab* [online]. 2009, vol. 94, no. 12, s. 4635-44, dostupné také z <<https://academic.oup.com/jcem/article/94/12/4635/2596267>>. ISSN 0021-972X (print), 1945-7197.
5. Česká gynekologická a porodnická společnost. Gestační diabetes mellitus. - [online]. 2019, roč. -, vol. -, s. -, dostupné také z <<http://www.gynultrazvuk.cz/data/clanky/6/dokumenty/2019-05-gestastacni-diabetes-mellitus-dp-cgps-cls-jep-revize.pdf>>.
6. JOSEPH, Wang. Electrochemical glucose biosensors. *Chemical reviews* [online]. 2008, vol. 108, no. 2, s. 814-825, dostupné také z <<https://pubs.acs.org/action/cookieAbsent>>. ISSN 0009-2665.
7. HELLER, Adam a Ben FELDMAN. Electrochemical glucose sensors and their applications in diabetes management. *Chemical reviews* [online]. 2008, vol. 108, no. 7, s. 2482-2505, dostupné také z <<https://pubs.acs.org/action/cookieAbsent>>. ISSN 0009-2665.
8. Doporučený postup. *Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů*. 2015. Dostupné také z URL <http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/DM/DM_dop_201601.pdf>.
9. Doporučený postup. *Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře*. 2020. Dostupné také z URL <<https://www.svl.cz/files/files/Doporucene-postupy/2020/DIABETES-MELLITUS-2020.pdf>>.
10. KAREN, Igor a Štěpán SVAČINA. *Diabetes mellitus : doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře 2018*. - vydání. Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, 2018. ISBN 9788086998992.
11. Doporučený postup. *Doporučený postup péče o diabetes mellitus 2. typu*. 2016. Dostupné také z URL <http://www.diab.cz/dokumenty/doporuceni_DM_2015-2.pdf>.
12. Doporučený postup. *Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů*. 2015. Dostupné také z URL <http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/DM/DM_dop_201601.pdf>.
13. MURRAY, Robert K, Daryl K GRANNER a Victor W RODWELL. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 27. vydání. New York : Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2006. 692 s. a Lange medical book; s. 190-194. ISBN 978-0-07-125300-0.
14. HOHENBERGER, E.F. a H KIMLING. *Compendium urinalysis. Urinalysis with test strip* [online] . 1. vydání. Mannheim : Roche Diagnostics, 2008. 105 s. Dostupné také z <<http://www.diavant.info/diavant/servlet/MDBOutput?fileId=1392>>.
15. PLIVA-Lachema Diagnostika. *PHAN® diagnostické proužky k vyšetření moče* [online]. Poslední revize 2009-12-04, [cit. 2010-03-21]. <<https://www.erbalachema.com/cz/>>.

