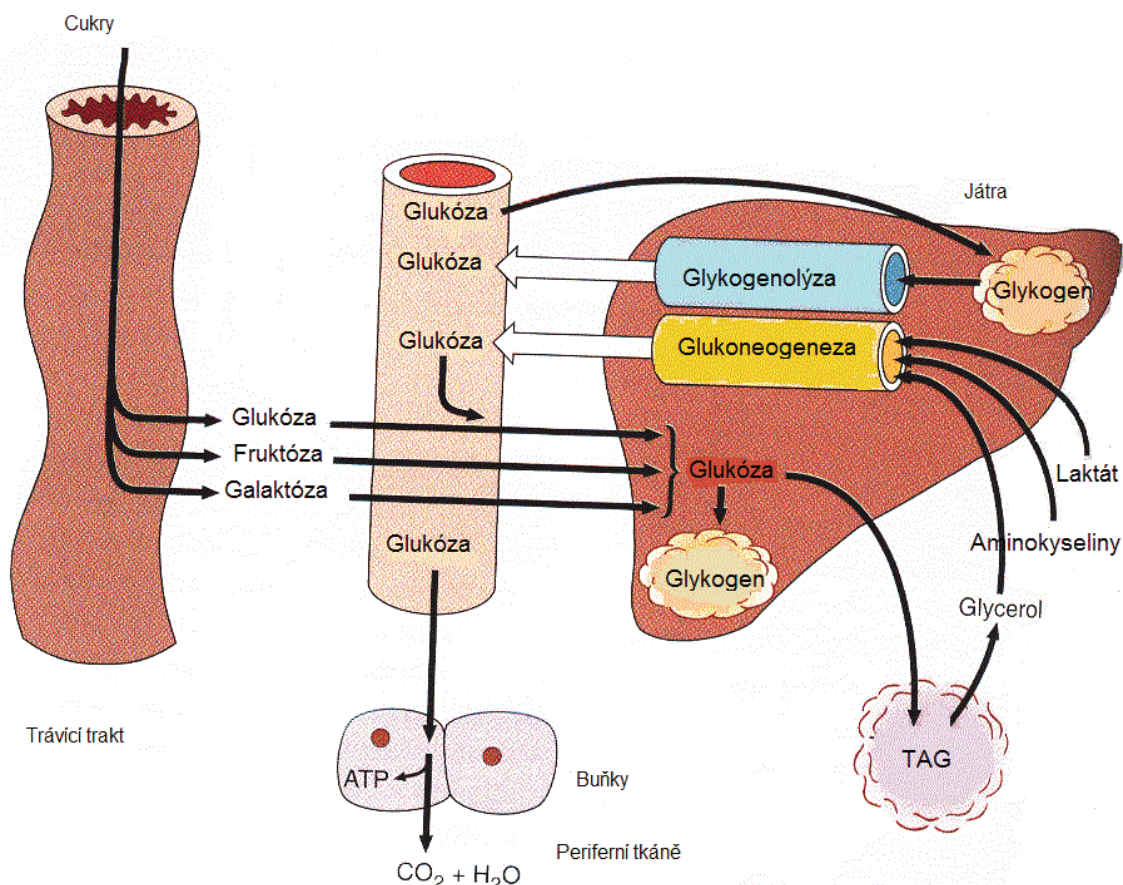


GLUKÓZA a DIABETES MELLITUS

Udržování stálé hladiny glukózy je nutné pro plynulé zásobení buněk energií. Při jejím nedostatku získává organismus glukózu z glykogenu nebo ji tvoří z nesacharidových zdrojů, kterými jsou aminokyseliny a mastné kyseliny – glukoneogeneza (obrázek č.1).



Obrázek č. 1. Upraveno dle *Clinical Biochemistry, An Illustrated Colour Text, 5th edition, Gaw A a kol., 2008*).

Klinický význam:

Hyperglykémie:

- Diabetes – při absolutním či relativním nedostatku inzulínu.
- Stresové situace
Ve všech stresových situacích se hyperglykémie vyskytuje jako následek vyplenění katecholaminů a glukokortikoidů.



- Nadprodukce hormonů adrenalin (feochromocytom), glukokortikoidy (Cushingův syndrom), tyreoidální hormony (růstový hormon, prolaktin) atd.
- Zvýšená absorpce ve střevě
Stavy po gastrektomii.
- Onemocnění pankreatu s destrukcí Langerhansových ostrůvků
Akutní či chronická pankreatitida, karcinom.

Hypoglykémie:

- Při diabetu – předávkování inzulínem, při běžné dávce inzulínu a vynechání potravy nebo při běžné dávce inzulínu a vyšší spotřebě glukózy (nadměrná fyzická námaha).
- Nedostatečné zásoby glykogenu v játrech
Osoby s jaterní cirhózou. Nedonošení novorozenci.
- Neschopnost štěpit glykogen
- Intolerance fruktózy
- Galaktosémie a jiné enzymové defekty
- Endokrinní poruchy: hypotyreóza, nedostatečnost nadledvin, nedostatek α buněk pankreatu
- Poruchy adsorpce glukózy ve střevě

Fyziologický pokles glykémie zaznamenáváme v těhotenství, ve spánku, po značné fyzické námaze, při hladovění.

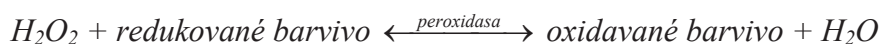
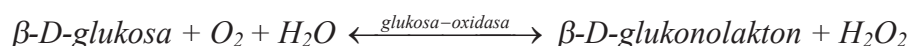
Orientační referenční hodnoty (sérum): 3,6 – 5,5 mmol/l

Možnosti stanovení glukózy:

- Enzymové metody



1) Metoda s GO - glukosooxidase



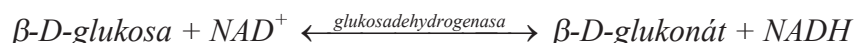
Jako barvivo se používá např. toluidin.

Úprava koncové reakce dle Trindera: peroxidasa katalyzuje oxidační kopulaci 4-aminofenazonu a fenolu, při které vzniká červené barvivo. Časté použití.

Stanovení pomocí biosensoru – enzymovou elektrodou: elektroda má na svém povrchu připevněnou vrstvu s glukosooxidazou. Tento enzym katalyzuje oxidaci glukózy vzdušným kyslíkem na glukonolakton a peroxid vodíku. Měříme buď úbytek O_2 např. Clarkovou kyslíkovou elektrodou nebo stanovujeme přírůstek H_2O_2 na platinové elektrodě amperometricky.

Výhody použití malé náklady na analýzu, rychlé měření, citlivost, možnost automatizace. Použití biosensoru se doporučuje pro rutinní stanovení.

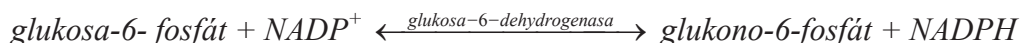
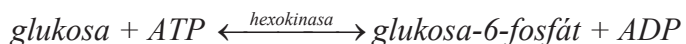
2) Metoda s glukosadehydrogenasou:



fotometruje se při 340 nm

3) Metoda s hexokinasou:

Bývá považována za referenční metodu.



fotometrujeme při 340 nm, nejběžněji užívaná metoda, velmi citlivá a specifická, doporučuje se pro rutinní stanovení

- Hmotnostní spektrofotometrie s izotopovým zředěním.

Ke vzorku se přidá známé množství glukózy, značené C^{14} . Hmotnostní spektrometrií se určí poměr glukózy C^{12} a C^{14} . Tento poměr a známý přírůstek nám potom umožní výpočet glukózy ve vzorku. Vzhledem k nárokům na přístrojové vybavení je metoda používána velmi omezeně.



ORÁLNÍ GLUKÓZOVÝ TOLERANČNÍ TEST

Sledujeme složitou reakci organismu na podání glukózy a zjišťujeme, zda je organismus po této dávce schopen udržet glykémii.

Indikace k provedení Orálního glukózového tolerančního testu (OGTT)

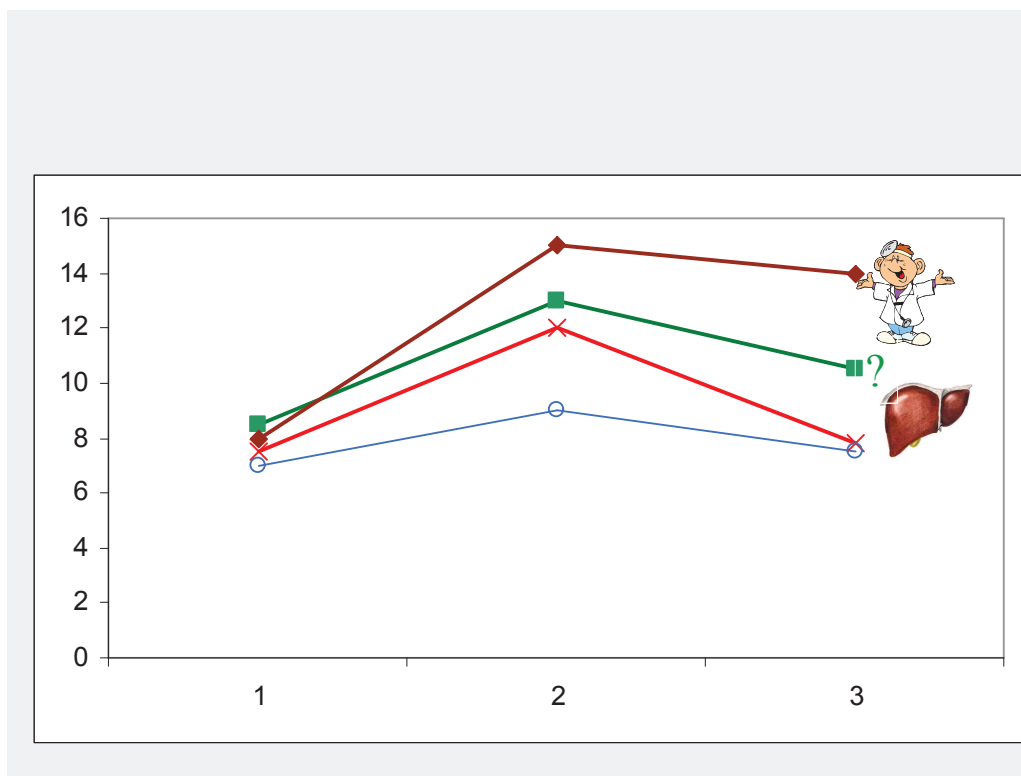
V případech, kdy je třeba upřesnit diagnózu, protože z naměřených hodnot glykémie nelze jednoznačně určit, zda je pacient zdravý či nikoliv. Je-li hodnota glykémie 6-7 mmol/l v žilní plazmě či séru.

Podmínky provedení

Před pokusem pacient jí stravu bez omezení sacharidů. Před odběrem lační 10-14 hodin. Po odběru krve se podá nápoj - glukóza rozpuštěná ve 300 ml vody (dávka: 75g), kterou musí pacient vypít během 5 – 10 minut. Další odběry následují za 1 a za 2 hodiny. Během vyšetření není pacientovi dovoleno kouřit, jíst, pít a vystavovat se fyzické námaze.

Vyhodnocení a interpretace OGTT

Získáme glykemickou křivku, z jejíhož průběhu lze určit, zda se jedná či nejedná o porušenou toleranci glukózy nebo dokonce diabetes či jaterní poruchu (obrázek č.2).



Obrázek č. 2. Příklady průběhu glykemických křivek. Modrá – z hlediska metabolismu glukózy zdravý člověk, hnědá – diabetik, zelená – prediabetik a červená – porucha jaterní funkce. Osa x: 1(odběr na lačno), 2 (odběr 1 h po vypití roztoku glukózy) a 3 (odběr 2h po vypití roztoku glukózy). Osa y: koncentrace glukózy.



SLEDOVÁNÍ DLOUHODOBÉ KOMPENZACE DIABETU

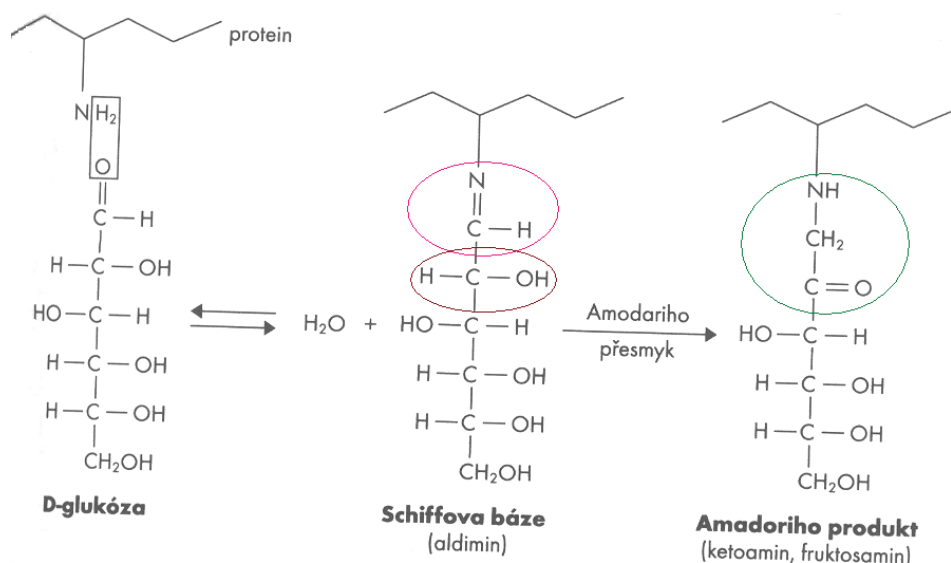
Glykovaný hemoglobin:

Klinický význam:

Hemoglobin může podléhat neenzymovým glykacím – vazbě glukózy na volné aminoskupiny bílkovin (obrázek č.3). Vznikají přitom 3 deriváty (HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}). Stanovuje se HbA_{1c}, který je stabilním ketoaminem. Hodnoty glykovaného hemoglobinu se vyjadřují v procentech celkového hemoglobinu. Hodnota glykovaného hemoglobinu nás informuje o průměrné glykémii za posledních asi 6 týdnů.

Orientační referenční rozmezí: 4 - 6% (HbA_{1c}).

Kompensace diabetu při hodnotách 6 – 8% je dobrá, 8 – 9% uspokojivá, 9 – 12% špatná a >12% velmi špatná.

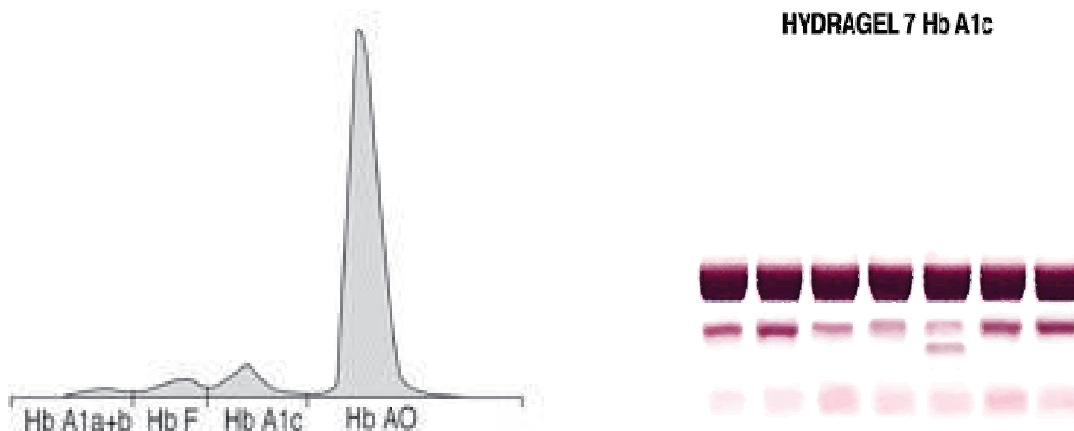


Obrázek č. 3. Upraveno dle *Klinická biochemie, Racek J a kol. 2006.*



Metody stanovení glykovaného hemoglobinu:

- Elektroforéza na agarosovém gelu (obrázek č.4)



Obrázek č. 4a. Jednotlivé frakce hemoglobinu po rozdělení elektroforézou – denzitometrický záznam.

1 2 3 4 5 6 7
sebia

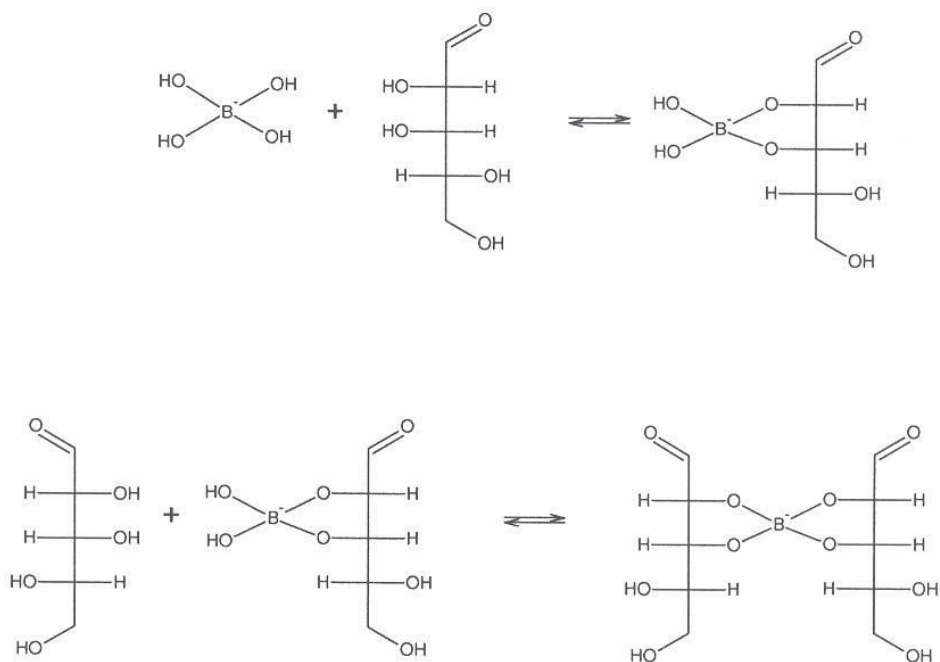
Obrázek č. 4b. Jednotlivé frakce hemoglobinu po rozdělení elektroforézou – záznam gelu.

- Iontově výměnná chromatografie

Glykovaný hemoglobin získá reakcí glukózy s borátem záporný náboj (obrázek č.5). Neglykovaný hemoglobin se zachytí na katexu (iontová výměna) a po odseparování katexu přímo stanovujeme vykovaný hemoglobin.

- Afinitní chromatografie
- Imunochemické metody





Obrázek č.5. Upraveno dle analyt.wz.cz/cukry/cukry.pdf

Použitá literatura

Clinical Biochemistry, 8 th edition, Beckett G a kol., 2010.

Clinical Biochemistry, An Illustrated Colour Text, 5 th edition, Gaw A a kol., 2008.

Clinical Biochemistry: Techniques and Instrumentation, A Practical Course, Varcoe JS, 2001.

Klinická biochemie, Racek J a kol. 2006.

Laboratorní technika v klinické biochemii a toxikologii, Doležalová V a kol., 1995.



Univerzita
Pardubice