

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOCHEMICKÝCH VĚD

**DIAGNOSTIKA DIABETES MELLITUS
V BIOCHEMICKÉ LABORATOŘI
V MORAVSKÝCH BUDĚJOVICÍCH**

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

Hradec Králové 2017

Dana Kulhánková

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové, 16. 4. 2017

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce prof. MUDr. Jaroslavu Dršatovi, CSc. za záštitu, pomoc a mnoho cenných rad. Dále děkuji Mgr. Alžbětě Pajůrkové a Mgr. Petře Dolanské za poskytnutí odborné literatury a konzultace. Velký dík patří i mým kolegyním Jaroslavě Svitákové, Pavle Jurkové, Janě Horákové a především rodině za podporu a trpělivost.

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Jméno a příjmení autora: Dana Kulhánková

Studijní obor: Zdravotnická bioanalytika

Název práce: Diagnostika diabetes mellitus v biochemické laboratoři v Moravských Budějovicích

Druh práce: Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

Jelikož výskyt onemocnění Diabetes mellitus v dnešní populaci rok od roku stoupá, je důležitá nejen léčba diabetu, ale zejména včasná diagnostika. Právě na určení diagnózy bych se ve své práci chtěla podívat pohledem laboranta v malé laboratoři klinické biochemie. Rutinní vyšetření glukózy na lačno bych zmínila jen okrajově a soustředím se na diagnostiku DM pomocí glukózových tolerančních testů.

V úvodu chci seznámit se základní charakteristikou onemocnění Diabetes mellitus a také vyšetřovací metody, které se v laboratořích k diagnostice používají. Následně seznámím s provozem a především diagnostikou diabetu v laboratoři v Moravských Budějovicích se zaměřením na glukózové toleranční testy. V závěru jsou shrnuty výsledky mého pozorování a sběru dat pacientů, kteří přicházeli do laboratoře k provedení těchto testů v průběhu jednoho kalendářního roku.

Klíčová slova: Diabetes mellitus, glukóza, diagnostika, glukozotoleranční test, laboratoř.

Obsah

Obsah.....	5
1. Úvod.....	6
1.1 Cíl práce.....	7
2. Glukóza.....	8
2.1 Udržování hladiny glukózy v krvi.....	10
3. Diabetes mellitus.....	11
3.1 Diabetes mellitus 1. typu.....	12
3.2 Diabetes mellitus 2. typu.....	13
3.3 Gestační diabetes mellitus.....	14
3.4 Další typy DM.....	14
4. Laboratorní diagnostika diabetu.....	16
4.1 Odběry v laboratoři klinické biochemie – preanalytika.....	16
4.2 Stanovení glukózy v plazmě.....	17
4.3 Metody stanovení glukózy.....	17
4.4 Vyšetření glukózy, ketolátek a bílkovin v moči.....	20
4.5 Mikroalbuminurie v moči.....	21
4.6 Glukózový toleranční test.....	21
4.7 Glukózový toleranční test u gravidních žen.....	23
4.8 Glykovaný hemoglobin a sledování léčby DM.....	24
4.9 C-peptid.....	26
5. Cíl výzkumu.....	27
6. Biochemická laboratoř v Moravských Budějovicích.....	28
7. Průběh vyšetření GTT.....	28
7.1 Preanalytická fáze, postup vyšetření.....	29
7.2 Analýza vzorků.....	31
7.3 Referenční meze laboratoře.....	33
8. Interpretace výsledků.....	34
8.1 Celkový přehled analyzovaných testů v roce 2015.....	34
8.2 Zhodnocení výsledků.....	35
9. Závěr.....	36
10. Seznam literatury.....	37
11. Seznam zkratk.....	40

1. ÚVOD

Diabetes mellitus (DM) je metabolicko–endokrinologické onemocnění postihující celé lidské tělo. Existuje mnoho klinických forem diabetu, od hraniční glykemie na lačno a porušenou glukózovou toleranci, přes gestační diabetes až po diabetes mellitus prvního typu (DM1) a diabetes mellitus druhého typu (DM2).

Glukóza je hlavním zdrojem energie pro buňky našeho těla, a proto musí být v organismu fyziologicky udržována ve velmi úzkém rozmezí. Změny koncentrace v krvi mohou vyvolat okamžité reakce organismu. Pokud k těmto výkyvům dochází často a opakovaně, může dojít k nevratným změnám postihujícím celý organismus [1]. Tyto změny nejčastěji vedou právě ke zmíněnému onemocnění diabetes mellitus.

Výskyt diabetu v dnešní populaci rok od roku stoupá. Podle prognóz IDF (International Diabetes Federation) bude za 25 let touto chorobou trpět každý desátý obyvatel. I když je DM jednou z nejstarších chorob, které lidstvo provází po staletí, dnes se řadí mezi civilizační choroby. Jeho výskyt je spjat zejména s nízkou fyzickou aktivitou, nadváhou, obezitou a dalšími rizikovými faktory, jako jsou vysoký krevní tlak, dlouhodobě zvýšené hladiny cholesterolu v krvi, ischemická choroba srdeční a v neposlední řadě kouření a nezdravý životní styl. Dalšími závažnými důvody pro nárůst DM se jeví stárnutí populace i vyšší výskyt autoimunitních chorob. Statistické údaje o počtu diabetiků v České republice a jejich zvyšujících se počtech dokládá Obr. 1.

Příčinou zlepšení diagnostiky DM je neustálé zkvalitňování lékařské péče a zlepšující se informovanost odborné i laické veřejnosti.

Důležité je věnovat pozornost prevenci, léčbě, ale zejména včasné diagnostice tohoto onemocnění, která bývá zpravidla velmi jednoduchá, avšak jednoznačná. Tou je stanovení hladiny glukózy v krvi na lačno, jako nejdůležitějšího parametru pro potvrzení nebo vyloučení diagnózy DM.

	DM 2. typu	DM 1. typu	Sekundární diabetes	DM celkem
2013	789 900	58 901	12 846	861 647
2012	772 585	56 514	12 128	841 227
2011	758 719	55 542	11 121	825 382
2010	739 859	55 811	10 560	806 230
2009	717 365	55 414	10 542	783 321
2008	708 847	54 474	10 240	773 561
2007	692 074	52 813	10 074	755 000
2006	686 159	51 070	11 299	749 000
2000	599 868	46 446	8 504	654 164
1997	555 883	39 020	5 402	600 306
1975	–	–	–	234 071

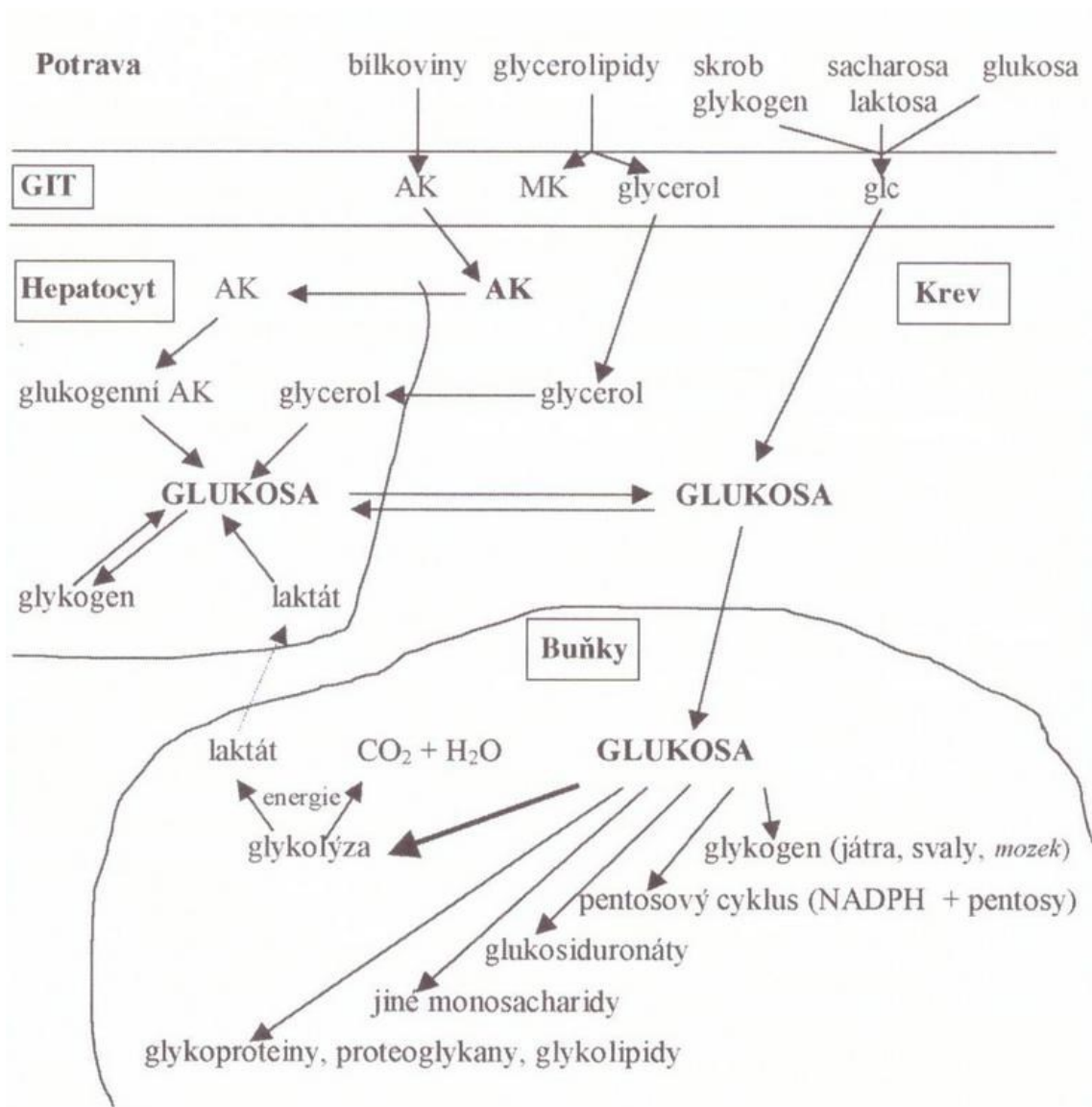
Obr. 1 Statistické údaje o počtu diabetiků v České republice od roku 1975 do roku 2013 [17].

1.1 Cíl práce

Cílem mé práce je zachytit problematiku diagnostiky DM z pohledu laborantky v malé biochemické laboratoři. Protože sama pracuji nejen jako laborant, ale zároveň i jako odběrová sestra, setkávám se denně při své práci jak s diabetiky, kteří přichází na pravidelné kontroly krevního cukru, tak i s pacienty odesílanými do naší laboratoře, většinou praktickými lékaři, na vyšetření glukózového tolerančního testu. Mohu se tedy účastnit celého procesu preanalytické, analytické i postanalytické fáze. Chtěla bych tímto způsobem zachytit a zmapovat celý průběh diagnostiky DM v laboratorních podmínkách, zpřehlednit v současnosti používané metody a zaměřit se přitom především na diagnostiku pomocí glukózotolerančních testů (GTT).

2. GLUKÓZA

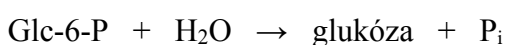
Glukóza patří mezi aldohexózy a představuje prvotní zdroj energie pro činnost mozku a dalších orgánů v těle. Její hladina se proto musí fyziologicky pohybovat okolo 5 mmol/l, koncentrace po jídle nepřevyšuje 9 mmol/l a koncentrace po fyzické námaze nebo během krátkodobého lačnění neklesne pod 3 mmol/l. Glukóza v krvi je buď volná, nebo vzniká štěpením polysacharidů a disacharidů, které jsou přijímány potravou. Její hladinu na lačno zajišťuje jaterní glykogenolýza a glukoneogeneze, kdy je zpracováván pyruvát, laktát, glycerol a většina aminokyselin. Na lačno vstupuje glukóza především do buněk mozku, krevních buněk a dřeně nadledvin. Po jídle nebo po fyzické námaze vstupuje také do svalů, tukové tkáně a jater [12]. Transport glukózy do cytosolu buňky přes buněčnou membránu je zprostředkován bílkovinnými transportéry označovanými GLUT 1, 2, 3, 4 a 5. Obr. 2 ukazuje, z jakých zdrojů je hladina glukózy tvořena a co její koncentraci následně zvyšuje nebo snižuje [19].



Obr. 2 Zevní a vnitřní zdroje glukózy a jejího zpracování [19]. GIT (gastrointestinální trakt), AK(aminokyseliny), MK (mastné kyseliny), glc (glukóza)

2.1 Udržování hladiny glukózy v krvi

Nízká hladina glukózy v krvi vyvolá uvolnění hormonu glukagonu z α -buněk pankreatu do krevního oběhu. V jaterních buňkách přítomné glukagonové receptory aktivují enzym adenylátcyklázu, která zvýší koncentraci cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP). Ta stimuluje rychlost rozkladu glykogenu, a tím se zvyšuje intracelulární koncentrace glukóza-6-fosfátu (glc-6-P). V játrech přítomný enzym glukóza-6-fosfatáza pak hydrolyzuje glc-6-P, uvolní se fosfát (P_i), vznikající glukóza vstoupí do krevního oběhu a její hladina v krvi se zvýší. Tento proces můžeme vyjádřit jednoduchou rovnicí:



Naopak pokud je vyšší hladina glukózy v krvi (většinou bezprostředně po stravení potravy), hladina glukagonu klesá a z β -buněk pankreatu se uvolní hormon inzulín, který zvýší rychlost transportu glukózy přes buněčné membrány do tkání. Účinek inzulinu se uplatní tehdy, jestliže je přítomen na povrchu buněčné membrány specifický inzulinový receptor, což je glykoprotein, složený ze dvou alfa a beta podjednotek. Jednou z hlavních cílových tkání inzulinu jsou játra, kde zvyšuje příjem glukózy z krve, stimuluje tvorbu glykogenu, urychluje glykolýzu, zpomaluje glukoneogenezi, zvyšuje oxidaci glukózy a má vliv i na syntézu mastných kyselin. Další cílovou tkání jsou svaly, kde inzulín také zvyšuje vychytávání a syntézu glukózy a blokuje odbourávání glykogenu. V tukové tkáni pak zabraňuje lipolýze triacylglycerolů (TAG) a blokuje lipázu [12]. Z toho je patrné, že při udržování hladiny glukózy v krvi má inzulín klíčovou úlohu.

Další reakce spojené s hladinou glukózy v krvi jsou také stresové reakce, kdy stresové hormony nadledvin adrenalin a noradrenalin jsou uvolňovány do krevního oběhu. Receptory adrenalinu na povrchu jaterních a svalových buněk pak reagují stejně jako glukagonové receptory na glukagon, takže se aktivuje adenylátcykláza a dojde ke zvýšení koncentrace cAMP v buňkách. Následným rozkladem glykogenu ve svaích vzniká glukóza-6-fosfát, která tak vstupuje do glykolytické dráhy. Vzniká adenosintrifosfát (ATP), který pomáhá svalům vyrovnat se se stresem a současně játra uvolní do krve glukózu sloužící jako zdroj energie pro svaly [18].

3. DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus (DM), českým názvem úplavice cukrová neboli zkráceně cukrovka, je onemocnění charakterizované zvýšenou hladinou krevního cukru vyvolané nesprávnou sekrecí inzulínu. Chronická hyperglykémie poškozuje oči, ledviny, nervy, srdce i cévy.

Rozvoj nemoci způsobují různé patogenní procesy. Jedním z možných procesů je autoimunitní destrukce β -buněk pankreatu. Touto destrukcí dochází k nedostatečnému působení inzulínu na cílové tkáně, a proto je diabetes považován i za endokrinologické onemocnění [4]. Další možností je snížení účinku inzulínu i přes jeho dostatečné množství tzv. inzulínovou rezistencí (IR). V takovém případě je hladina inzulínu v krvi vyšší než u zdravých osob, ale IR brání inzulínu dostat se do cílových tkání [1].

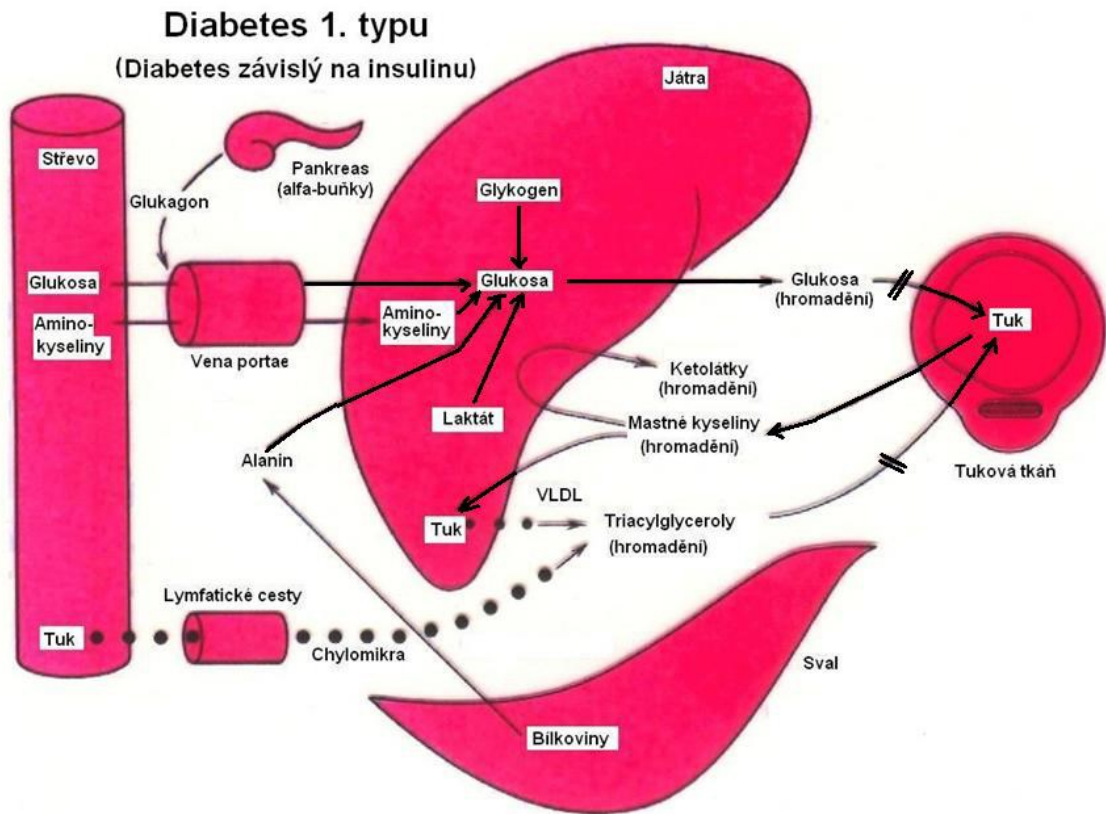
V současnosti rozlišujeme několik typů diabetu a poruch glukózové homeostázy. Mezi tři základní typy patří diabetes mellitus prvního typu (DM1) neboli juvenilní diabetes, diabetes mellitus druhého typu (DM2) a gestační diabetes mellitus (GDM) [1]. Rozdíly v klinickém obrazu u DM1 a DM2 přehledně ukazuje Obr. 3.

	DM1T	DM2T
diabetes v rodině	méně častý	častý
věk vzniku	< 30 – 40 let	> 30 – 40 let
tělesná stavba	štíhlý	obézní
nástup choroby	náhlý	pozvolný
endogenní sekrece inzulínu	nízká až nulová	normální až zvýšená
glykémie	zvýšená	zvýšená
glukóza v moči (glykosurie)	ano	ano
sklon ke vzniku ketoacidózy	ano	ne
závislost na zevním podávání inzulínu	ano	ne
frekvence nově diagnostikovaných případů	~ 15 %	~ 85 %
komplikace	časté	časté

Obr. 3 Schéma rozdílů v klinickém obrazu u DM1 a DM2 [10].

3.1 Diabetes mellitus 1. typu

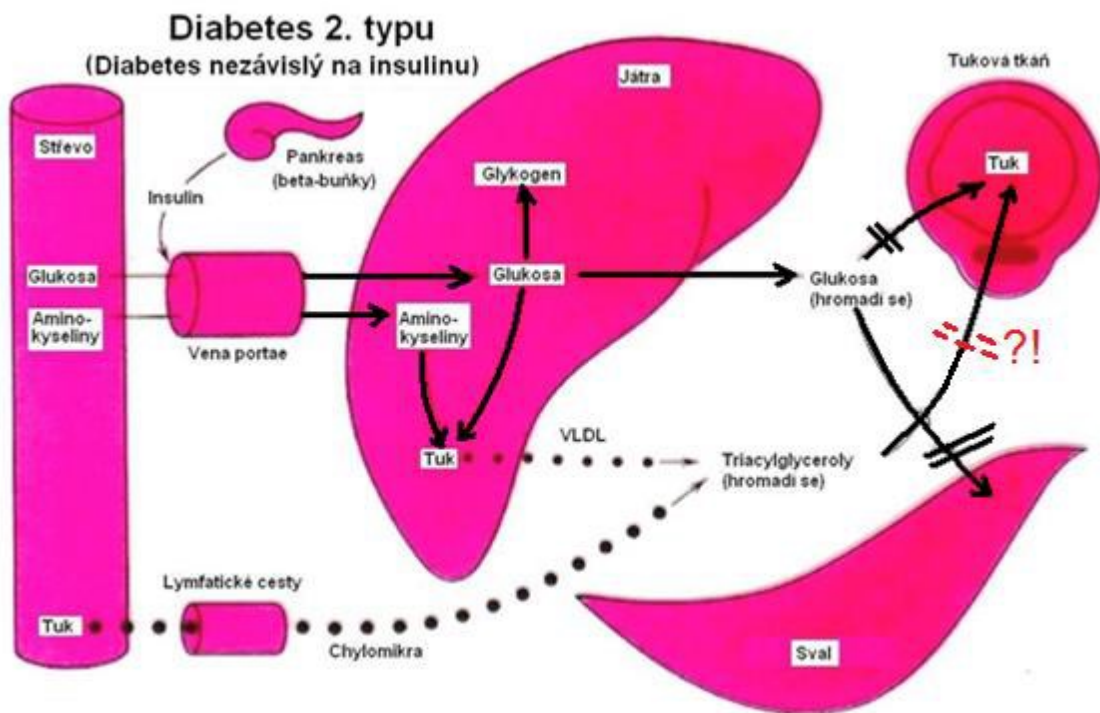
Pro diabetes mellitus prvního typu (DM1) je typické úplné vymizení sekrece inzulínu většinou zánikem β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. Příčinou mohou být genetické dispozice (výskyt nemoci u rodičů nebo sourozenců), autoimunitní reakce organismu, ale i faktory zevního prostředí, které mohou autoimunitní reakce vyvolat, jako např. infekční virová onemocnění a různé toxické či chemické látky [5]. Onemocnění zpravidla postihuje děti a dospělé mladší padesáti let. Jedinou možností léčby u pacientů s DM1 je pak substituční léčba, tedy nahradit sekreci inzulínu. Proto bývá tento typ diabetu označován jako na inzulínu závislý diabetes mellitus (IDDM – insulin dependent diabetes mellitus) a jeho výskyt v populaci diabetiků je 10 – 20 % [1]. Schéma vzniku DM1 popisuje Obr. 4.



Obr. 4 Schéma vzniku Diabetes mellitus prvního typu [11]. Z α -buněk pankreatu se uvolňuje glukagon, který v játrech stimuluje rozklad glykogenu na glukózu a její hladina v krvi se tím zvyšuje. Nepřítomnost inzulínu má za následek hromadění glukózy, mastných kyselin, triacylglycerolů a ketolátek v krvi. Dochází k hyperglykémii, hyperlipémii, ketoacidóze.

3.2 Diabetes mellitus 2. typu

Diabetes mellitus druhého typu (DM2), jehož patogeneze není zcela známá, se objevuje ve dvou formách. Jak jako porucha inzulínové sekrece, tak i jako forma inzulínové rezistence. Je mnohem častější formou onemocnění, které se objevuje převážně u dospělých a starších lidí, většinou vlivem degenerativních změn v organismu dojde k úbytku (ne však k úplnému zániku) β -buněk Langerhansových ostrůvků, což má za následek snížení sekrece inzulínu [5]. Tento typ diabetu tedy označujeme jako neinzulínově závislý diabetes mellitus (NIDDM – non insulin dependent diabetes mellitus). Svou úlohu zde hrají i rizikové faktory, které mohou být příčinou vzniku onemocnění DM2. Mezi hlavní patří obezita, hypertenze, zvýšená hladina cholesterolu a v neposlední řadě diabetes v rodinné anamnéze [1]. Schéma vzniku DM2 popisuje Obr. 5.



Obr. 5 Schéma vzniku Diabetes mellitus druhého typu [11]. Z β -buněk pankreatu je uvolňován inzulín v nedostatečném množství, v důsledku čehož dochází k pozvolnému zvyšování hladiny glukózy v krvi, má vliv i na metabolismus mastných kyselin a tuků, takže se postupně zvyšuje i hladina triacylglycerolů. Postupně tedy opět dochází k hyperglykémii.

3.3 Gestační diabetes mellitus

Gestační diabetes mellitus (GDM) je formou diabetu projevující se u žen v době těhotenství a většinou odeznívající ke konci gestace. Riziko poškození plodu u matek s nekompensovaným diabetem může být až 5x vyšší než u zdravé populace. Takovéto děti se rodí s větší porodní hmotností a většinou první dny po porodu mívají i hypoglykémii, protože β -buňky jejich pankreatu byly zvyklé produkovat vyšší množství inzulínu v období, kdy placentou procházelo větší množství glukózy z matčina těla. Mezi nejčastější embryopatie plodu, ke kterým dochází zpravidla v prvním trimestru u matek s nekompensovaným diabetem, jsou poškození centrálního nervového systému (CNS), kardiovaskulárního systému a urogenitálního traktu [12].

Proto je v období gestace nutné sledovat hladiny glukózy u žen a dnes již standardně patří mezi screeningová vyšetření těhotných i glukózový toleranční test. Předpokládá se, že mezi nejčastější příčiny vzniku GDM patří hormonální změny a také vyšší nároky na metabolismus v tomto období. Někdy může diabetes přetrvávat i po skončení gestace a v takových případech je pak podle příznaků přehodnocen jako DM1 nebo DM2 [6].

3.4 Další typy DM

V dnešní populaci se vyskytují také některé další formy DM, které jsou méně časté. Patří mezi ně Monogenní diabetes mellitus (MODY-maturity onset diabetes of young), který je dědičnou formou diabetu. Je způsoben změnou v jednom z jedenácti genů a vyskytuje se u 2 až 5 % všech případů cukrovky. Tato forma je více podobná DM1, už proto, že bývá diagnostikována u mladých lidí do 25 let věku a je vždy geneticky podmíněna. Rozdíl je však v tom, že nemocný s MODY nemusí být závislý na inzulínu [20].

Další méně častou formou je LADA (latent autoimmune diabetes of adulthood), dnes nazývaný jako **třetí typ** diabetu, nebo také diabetes **mellitus typu 1,5**. Jedná se o formu latentního autoimunitního diabetu dospělých [3]. Důvodem, proč může být LADA mylně považována za DM2, je, že se vyvíjí po delší dobu než diabetes prvního

typu u dětí a mladých lidí. Pomalejší nástup příznaků cukrovky bývá zjištěn u pacientů nad 35 let, a může proto vést lékaře nejprve diagnostikovat LADA jako DM2 [21]. O porovnání některých parametrů všech zmíněných typů diabetu hovoří Obr. 6.

Mezi další méně časté formy diabetu patří také tzv. sekundární DM, který vzniká jako projev a důsledek jiné choroby nebo poruchy, například onemocnění pankreatu, hemochromatóza, choroby endokrinních žláz, cystická fibróza a podobně [1].

	DM1	LADA	MODY	DM2
Věk manifestace	<25 let	>25 let	<25 let	>25 let (většinou více než 40 let)
Přítomnost rizikových faktorů *	ne	ne	ne	ano
Rodinná anamnéza	zřídka	málokdy	několik generací	několik generací
Dědičnost	zřídka	málokdy	monogenní	polygenní
Ketoacidóza	ano	zřídka	ne	někdy
Hyperglykémie jako prvotní projev	ano	ne	ne	ne
Počáteční léčba	inzulín	perorální antidiabetika, nebo inzulín	deriváty sulfonylurey, perorální antidiabetika	dieta, redukce hmotnosti

Obr. 6 Porovnání některých symptomů DM1, DM2, MODY a LADA [22].

* Rizikové faktory: hypertenze, hypertriglyceridemie, obezita, hyperlipoproteinémie, snížené koncentrace HDL-cholesterolu.

4. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA DIABETU

Pro správnou diagnostiku v laboratoři je důležitá nejen samotná analýza biologického vzorku, ale také vše, co tomu předchází, tedy fáze preanalytická a samozřejmě i fáze postanalytická. Při analýze musíme vždy postupovat bezchybně a v souladu s pravidly nastavenými v každé laboratoři. Nezbytné je uvědomit si zodpovědnost za správnost vydaného výsledku, a tudíž nepodcenit ani jednu fázi laboratorní analýzy.

4.1 Odběry v laboratoři klinické biochemie – preanalytika

Preanalytická fáze zahrnuje kromě samotného odběru biologického vzorku také přípravu pacienta před odběrem, úpravu vzorku po odběru a jeho transport do laboratoře (pokud není odběrové místo součástí laboratoře).

Pacient přichází k odběru poučen lékařem, po minimálně osmi hodinovém lačnění, vyloučení větší fyzické aktivity a kouření, tedy nejlépe ráno mezi 6. a 8. hodinou. Po příchodu na odběrové místo by měl pacient před samotným odběrem setrvat minimálně 20 minut v klidu, teprve pak přistoupit k odběru. Zdravotní sestra nebo laborantka odebere vzorek venózní krve do zkumavky s antikoagulační přísadou, kterou je K₂EDTA, heparin, oxalát nebo citronan. Důležitý je ve zkumavce přídavek fluoridu sodného (NaF) jako antiglykolytické přísady, aby nedocházelo k většímu poklesu koncentrace glukózy v první hodině po odběru [6]. Zásadní roli pro další práci v laboratoři hraje správná identifikace vzorku pacienta. Zkumavka se vzorkem musí být čitelně označena jménem a příjmením pacienta, rodným číslem, datem a časem odběru. Stejně iniciály musí mít i žádanka k biochemickému vyšetření, která navíc musí obsahovat základní diagnózu pacienta, IČP a razítko lékaře, který vyšetření indikoval, a kód zdravotní pojišťovny pacienta.

Další důležitou fází je transport do laboratoře. Pokud nedošlo k odběru biologického materiálu přímo na odběrovém místě v laboratoři, musí být vzorek spolu s žádankou dopraven do laboratoře, a to při pokojové teplotě (v rozmezí 18 – 25 °C) a optimálně do 30 minut, protože k separaci plazmy musí dojít maximálně 60 minut po odběru.

Poslední částí preanalytické fáze je samotná příprava vzorku k analýze v laboratoři. Po přijetí do laboratoře musí být žádanka vložena do Laboratorního informačního systému (LIS) a jednotně se zkumavkou označena stejným čárovým kódem, ten navíc musí obsahovat identifikační číslo žádanky, popřípadě jméno nebo rodné číslo pacienta. Zkumavka se vzorkem plné krve se centrifuguje při 1000 – 1500g po dobu 10 minut. Poté je možno separovat plazmu do sekundární zkumavky (označené stejným čárovým kódem, jaký je na primární zkumavce). Tímto krokem končí preanalytická fáze přípravy vzorku a je možné přistoupit k samotné analýze [8].

4.2 Stanovení glukózy v plazmě

Stanovení glukózy je základním prostředkem v diagnostice DM. Nejnovější doporučení České společnosti klinické biochemie (ČSKB) a České diabetologické společnosti (ČDS) doporučují pouze stanovení glukózy v plazmě, kde by se fyziologické rozmezí nalačno mělo pohybovat v intervalu 3,3–5,6 mmol/l [7]. Lze stanovovat hladinu glukózy v séru, kde je fyziologický interval velmi podobný, ale je značně snížena stabilita vzorku díky nepřítomnosti antiglykolytické přísady. Referenční interval pro stanovení glukózy v séru je 3,9–6,1 mmol/l [14].

Interpretace výsledků vyšetření krevní plazmy nalačno je následující:

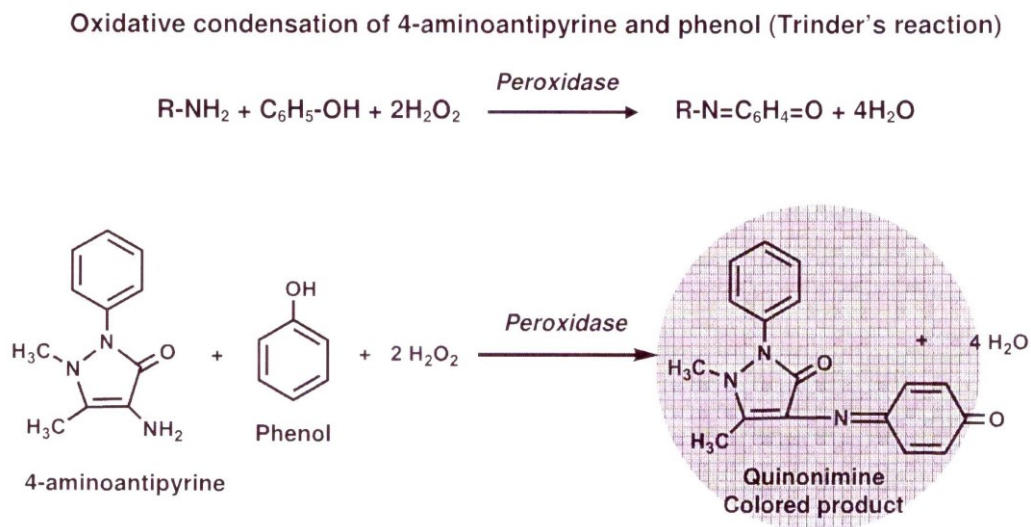
< 5,6 mmol/l.....Diabetes mellitus můžeme vyloučit
5,6 – 6,9 mmol/l.....zvýšená glykemie (prediabetes), nutno provést oGTT
≥ 7,0 mmol/l.....s největší pravděpodobností diagnostikován Diabetes mellitus (nutno vyšetření opakovat) [1].

4.3 Metody stanovení glukózy

V začátcích laboratorní analýzy byly metody stanovení glukózy založeny na jejich oxidoredukčních vlastnostech v alkalickém prostředí. Jednalo se například o oxidaci glukózy roztokem kyseliny pikrové na červený produkt – kyselinu pikraminovou, nebo oxidaci hexakvanoželezitanem a jeho nadbytek pak byl stanovován jodometricky nebo

fotometricky přes berlínskou modř. Tyto metody se ale v současnosti již nepoužívají [14].

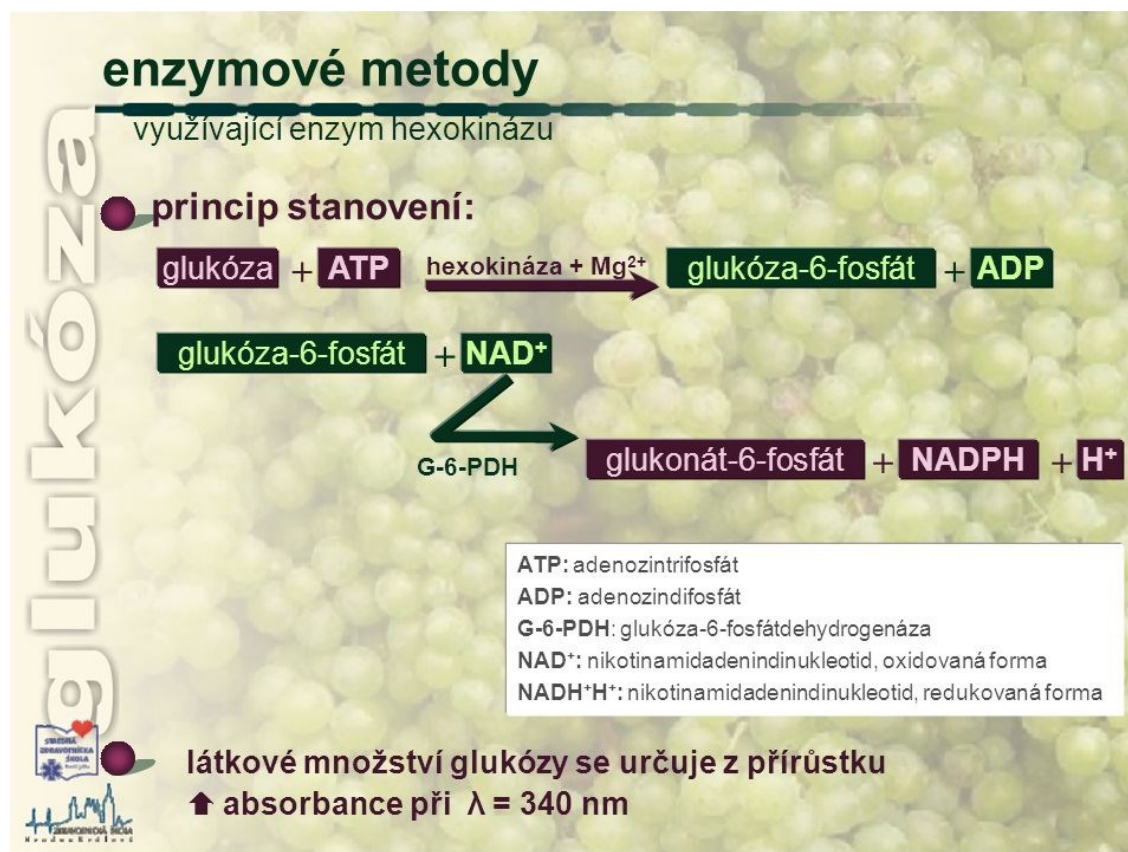
Dnes nejrozšířenější metodou pro stanovení glukózy v plazmě je spektrofotometrické stanovení s glukózaoxidázou (GOD) a peroxidázou (POD) a oxidační kopulací. Princip této metody je založen na oxidaci glukózy na D – glukonolakton a peroxid vodíku, jež se pak využívá k oxidaci některých aromatických diaminů (např. o-dianisidin nebo o-tolidin) nebo k oxidační kopulaci 4-aminoantipyrinu (AAP) s fenolem na chinonmonoiminové barvivo (za katalýzy POD), které se následně měří při 500 nm. Průběh tzv. **Trinderovy reakce** ukazuje Obr. 7. Tuto reakci by mohly rušit redukující látky, ale jelikož je koncentrace glukózy v plazmě poměrně vysoká, endogenní vitamin C ji neruší, a proto je tato metoda jedna z nepoužívanějších [13].



7

Obr. 7 Princip stanovení plazmatické glukózy: Oxidační kopulace 4-aminoantipyrinu a fenolu na chinonmonoiminové barvivo (Trinderova reakce) [15].

Alternativou této metody, také používanou, je stanovení plazmatické glukózy s hexokinázou (Obr. 8) a glukóza-6-fosfátdehydrogenázou. Katalytickou reakcí glukózy a hexokinázy s ATP vzniká glukóza-6-fosfát, která se oxiduje glukóza-6-fosfátdehydrogenázou na 6-fosfoglukonát. Současně se redukuje NADP⁺ nebo NAD⁺ a měří se absorbance jejich přírůstku při 340 nm [13].



Obr. 8 Princíp stanovení glukózy využívající hexokinázu [16].

Existují samozřejmě i další metody stanovení, jako je ampérometrické měření, které vychází z oxidace glukózy, při které se kyslík redukuje na peroxid vodíku a jeho úbytek se pak stanovuje Clarkovou elektrodou, nebo metoda reflexní fotometrie (princíp reakce s glukózaoxidázou nebo peroxidázou). Na druhém zmíněném princípu pracuje většina glukometrů, ale jinak se již tyto metody v laboratorní praxi nepoužívají.

4.4 Vyšetření glukózy, ketolátek a bílkovin v moči

Vyšetření glukózy, bílkovin a ketolátek v moči patří k metodám využívaným zejména jako kontrolní při již diagnostikovaném DM. Zatímco u zdravých lidí by ani jedna z těchto látek neměla být v moči přítomna více než ve stopovém množství, u pacientů s diagnostikovaným DM jakéhokoli typu je nutné pravidelné sledování těchto parametrů. Kvalitativně či semikvantitativně se dají tato vyšetření stanovit pomocí diagnostických proužků, kvantitativně pouze na analyzátoru fotometrickou metodou.

Glykosurie je jedním z nejčastějších nálezů u diabetiků při dlouhodobé hyperglykémii v séru nebo plazmě nad hodnoty vyšší než 10 mmol/l, tedy překročení tzv. renálního prahu, a tedy při nedostatečné kompenzaci diabetu. Vyskytuje se také u těhotných žen, aniž by byl diagnostikován GDM, v důsledku zvýšených nároků organismu a vyššího renálního zatížení v době těhotenství. Toto vyšetření v současné době již není doporučeno ČSKB a ČDS pro sledování pacientů s DM, ale většina diabetologů ho stále používá a po laboratořích požaduje [7].

Stejně tak ketonurie se vyskytuje převážně u dekompenzovaných diabetiků a svědčí o míře diabetické ketoacidózy. Může se ale vyskytnout i jako důsledek hladovění, diety s vyloučením cukrů nebo při dlouhodobé fyzické námaze. Ketolátky by se měly stanovovat u všech diabetiků s hodnotou glukózy vyšší než 16,7 mmol/l nebo pokud jsou přítomny klinické příznaky diabetické ketoacidózy. V moči jsou přítomny tři ketolátky: kyselina acetoctová, aceton a 3-hydroxybutyrát. Testovací proužky, nejčastěji používané k detekci, jsou schopny detekovat pouze kyselinu acetoctovou a aceton (ketony). Při tkáňové hypoxii je kyselina acetoctová redukována na 3-hydroxybutyrát, v důsledku čehož diagnostické proužky podhodnocují celkovou koncentraci ketonů a můžeme takové vyšetření považovat pouze za orientační [7].

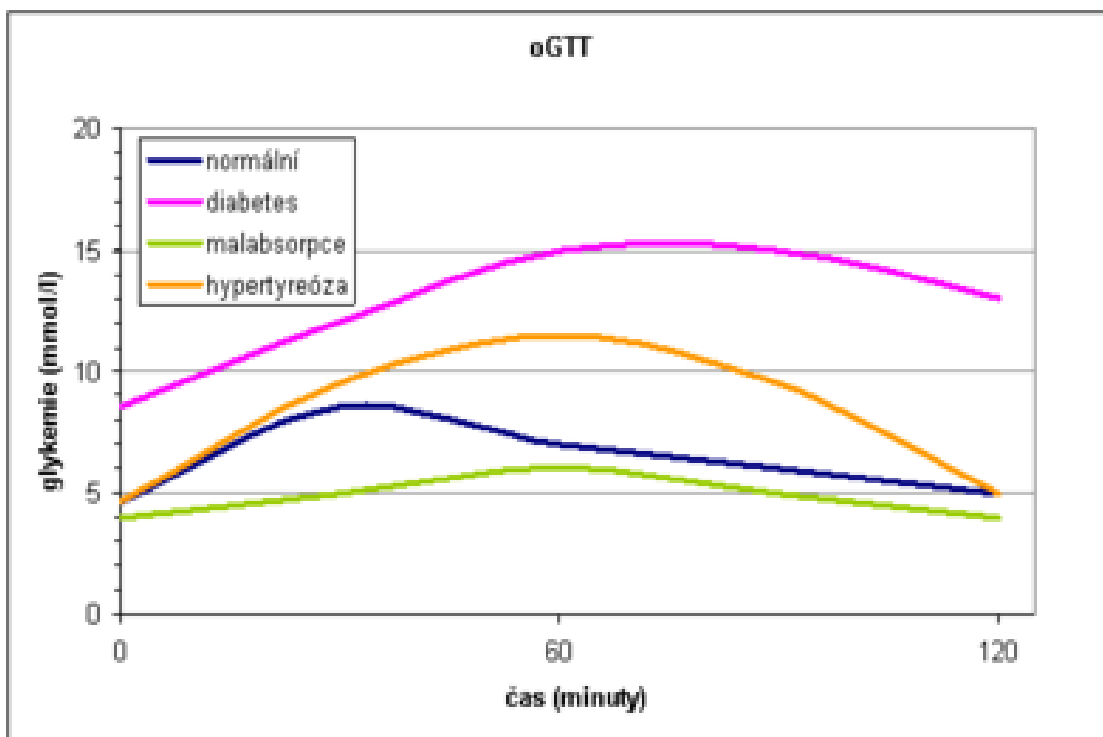
Proteinurie pak bývá nejčastěji prvním příznakem rozvíjející se diabetické nefropatie. Běžné testovací proužky, používané pro kvalitativní detekci proteinů v moči, mají pouze orientační význam a jsou dnes nahrazovány kvantitativním vyšetřením mikroalbuminurie [6].

4.5 Mikroalbuminurie v moči

Molekuly albuminu svou velikostí odpovídají velikosti pórů v glomerulární membráně, a proto se u zdravých osob prakticky nefiltrují, do moči se pak dostane pouze stopové množství. Již nepatrné poškození glomerulární bariéry způsobí zvýšení albuminu v moči. Fyziologické množství je tedy do 3 mg/24 hodin. Mikroalbuminurie (albuminurie) je pak patologicky zvýšené množství albuminu v moči v rozmezí 30–300 mg/24 hodin a svědčí o rozvíjející se diabetické nefropatii. Ze vzorku ranní moče lze stanovit jednorázový poměr albumin/kreatinin a tyto hodnoty se pak pohybují v rozmezí 2,5–25 mg/mmol. Se vzrůstající mikroalbuminurií roste riziko selhání ledvin a klinicky pak progrese do proteinurie [9].

4.6 Glukózový toleranční test

Nejpoužívanější metodou v současné diagnostice pro vyloučení nebo potvrzení DM se jeví provedení tzv. glukózového tolerančního testu. Test začíná stanovením hladiny glukózy nalačno. Pokud ranní glykemie nepřesahuje 7,0 mmol/l, následuje vypití 75 g glukózy rozpuštěné v 300–350 ml vody nebo jiné neslazené tekutiny. V opačném případě (je-li glykemie vyšší než 7,0 mmol/l) bývá test zpravidla ukončen a pacient je s výsledkem vyšetření odeslán z laboratoře k praktickému lékaři nebo specialistovi pro stanovení diagnózy DM. Fyziologicky u zdravého jedince klesne hladina glukózy v krvi zpět na výchozí hodnotu, která byla na lačno po dvou hodinách (Obr. 9). Druhý odběr krve a následné měření proběhne tedy 120 minut po vypití roztoku glukózy.



Obr. 9 Příklad glykemické křivky v 60. a 120. minutě po podání zátěžové látky při GTT [23].

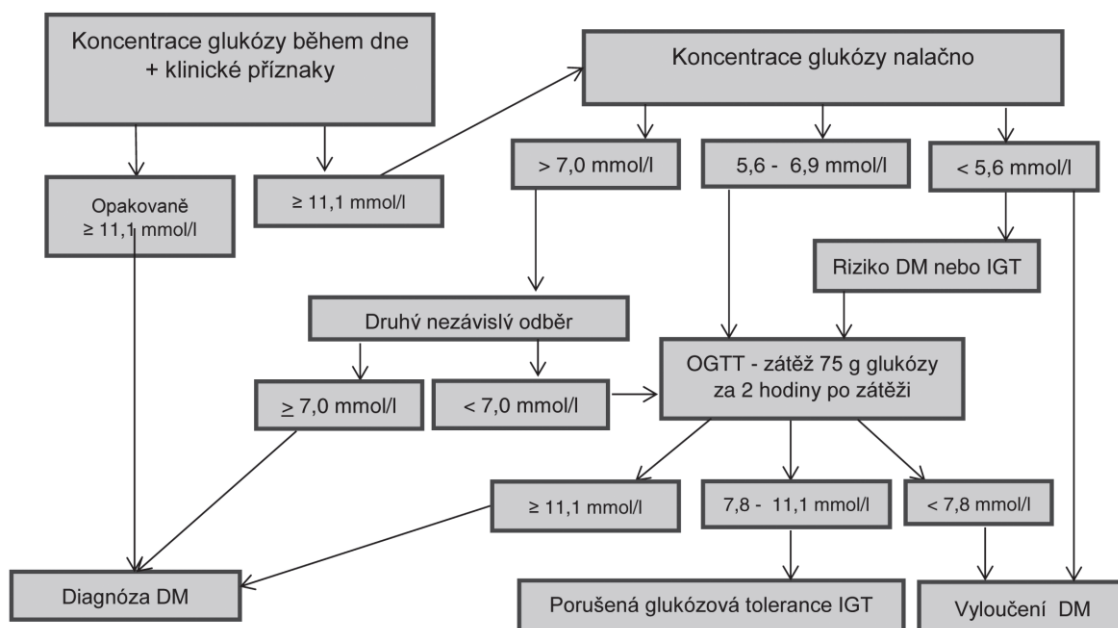
Interpretace testu je pak následující:

>11,1 mmol/l.....s největší pravděpodobností diagnostikován DM

< 7,8 mmol/l.....DM můžeme vyloučit

7,8 – 11,1 mmol/l.....porušená glukózová tolerance (nutné opakovat oGTT každé dva roky a pacienta sledovat) [6,7].

K interpretaci výsledků samotné glykemie i výsledků oGTT je zpravidla používáno stejného algoritmu (Obr. 10) doporučeného ČSKB a ČDS.



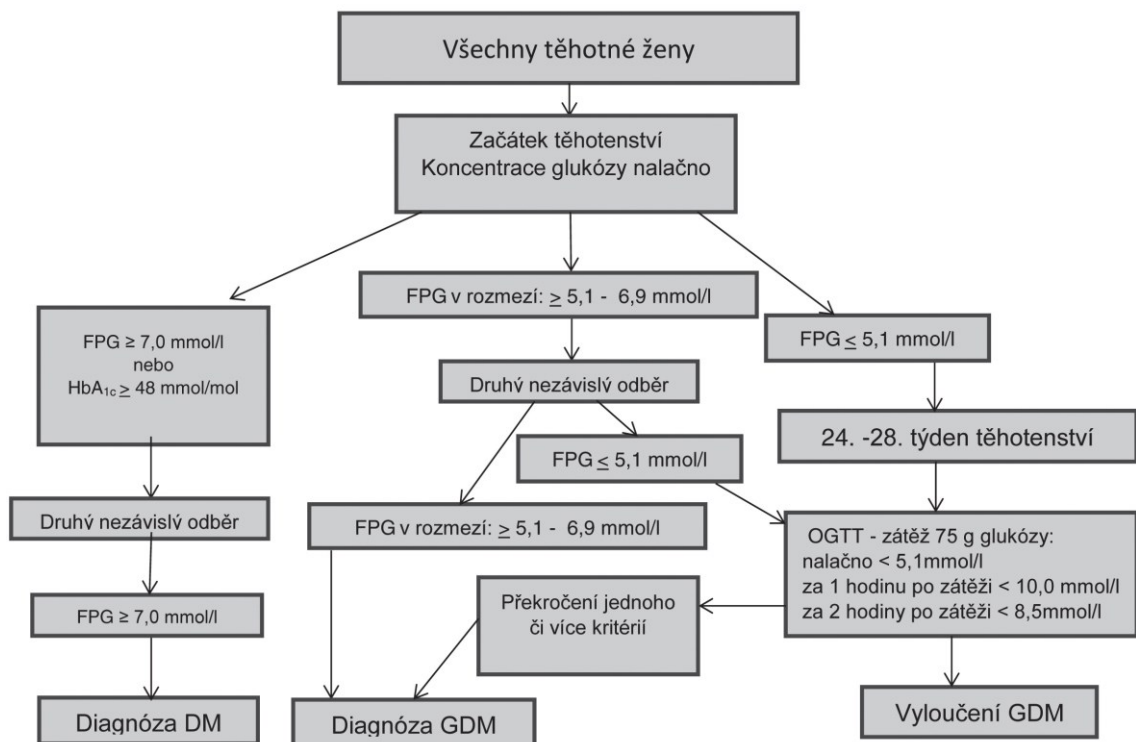
Obr. 10 Algoritmus pro laboratorní screening DM u dospělých pacientů [7]

4.7 Glukózový toleranční test u gravidních žen

Jak jsem již zmínila, dnes se screeningově provádí GTT u všech těhotných žen v 24.–28. týdnu těhotenství. Test se na doporučení ČSKB provádí stejným způsobem jako u ne gravidních pacientů s jedním zásadním rozdílem. Beze změny se odebírá krev na lačno, ale následně se měří hladina glykemie v 60. minutě a znovu ve 120. minutě od vypití zátěžové látky. Z glykemické křivky (Obr. 9) jasně vyplývá, že po jedné hodině po zátěži dosahuje glykemie v krvi maxima. Pro přesnější diagnostiku u těhotných žen je proto tato hodnota velmi důležitá. GDM pak proto bývá diagnostikován již pokud je zvýšena hodnota glukózy **alespoň v jednom** ze tří sledovaných kritérií:

Glykemie na lačno..... $\geq 5,1$ mmol/l
 Glykemie po 1 hodině..... $\geq 10,0$ mmol/l
 Glykemie po 2 hodinách..... $\geq 8,5$ mmol/l

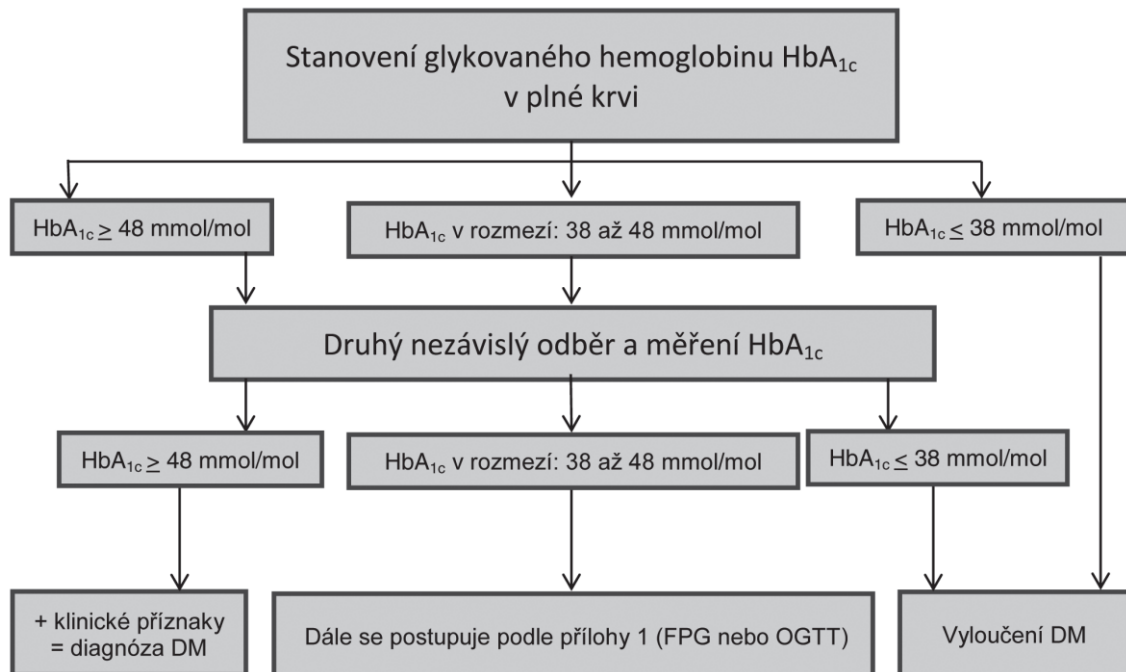
Algoritmus pro interpretaci výsledků oGTT u gravidních je pak odlišný (Obr. 11).



Obr. 11 Algoritmus pro laboratorní screening GDM [7].

4.8 Glykovaný hemoglobin a sledování léčby DM

Vyšetřovací metody, zásadní pro diagnostiku DM, jsou, jak jsem zmínila, vyšetření hladiny glukózy na lačno a glukózotoleranční test. Jsou ale i další metody, velmi důležité nejen v diagnostice, ale především pro sledování kompenzace diabetu po stanovení diagnózy a zavedení léčby. Jednou z takových metod je stanovení Glykovaného hemoglobinu, tedy jeho frakce A1c (HbA1c). Hemoglobin u dospělého člověka je z 97% tvořen hemoglobinem A, který v krvi podléhá glykaci za vzniku tří frakcí označovaných jako HbA1a, HbA1b a HbA1c. Přibližně 80% celkového HbA1 tvoří frakce HbA1c, jež proto stanovujeme. Hladina tohoto hemoglobinu stanovovaného v periferní krvi vypovídá o glykaci erytrocytů po dobu jejich života, tedy asi 120 dní. Vyšetření HbA1c má svůj význam jednak v diagnostice DM, ale hlavně při sledování kompenzace DM, protože vypovídá o hladinách glukózy v krvi až 3 měsíce zpětně [6]. Pro diagnostiku se používá algoritmu vyobrazeného na Obr. 12.



Obr. 12 Algoritmus pro diagnostiku DM pomocí stanovení HbA_{1c} [7]

Rozhodovací meze při **diagnostice** DM:

HbA_{1c} [mmol/mol].....Interpretace

- <38.....diabetes nepřítomen
- 38 až 48.....hraniční hodnoty
- >48.....diagnóza DM

Rozhodovací meze při **sledování kompenzace** DM:

HbA_{1c}[mmol/mol].....Interpretace

- 20 až 42Referenční interval (dospělí, negruvidní).
- 43 až 53.....Kompenzovaný diabetes (dospělí, negruvidní).
- > 53.....Dekompenzovaný diabetes. Signál k změně terapie a režimu.

Analytických metod pro stanovení glykovaného hemoglobinu je v dnešní době více než 30. Jsou to metody založené na separačních postupech, rozdělení podle náboje nebo na kombinaci obou. Jsou to hlavně HPLC (high performens liquid chromatography – vysoceúčinná kapalinová chromatografie), iontově-výměnná chromatografie, elektroforéza nebo izoelektrická fokusace [26].

4.9 C-peptid

Mezi další metody, které již nespádají do základní diagnostiky či sledování DM, ale jsou neméně důležité, patří vyšetření hladiny C-peptidu jako koncového produktu uvolňovaného při tvorbě inzulinu z proinzulinu. Prohormon proinzulin je syntetizován beta-buňkami pankreatu jako prekursor inzulinu. Zde se proinzulin pomocí specifických enzymů štěpí na inzulin a C-peptid. Veškerý inzulin je vylučován do portálního oběhu, a proto musí projít játry, která ho 50–70 % vychytají. Množství tohoto jaterního inzulinu se mění v závislosti na koncentraci inzulinu a glukózy, jeho metabolismus je velmi rychlý (biologický poločas 4–10 minut). C-peptid v plazmě má poločas delší (11–33 minut) a játra konstantně zachytí asi 12 % z celkového množství C-peptidu. Zbytek se ledvinami vyloučí do moči. Nicméně stanovení C-peptidu v plazmě nebo v séru nám podává spolehlivější informaci o funkci β -buněk pankreatu než stanovení inzulinu.

Charakteristické pro DM1, který je na inzulinu závislý, je snížená sekrece inzulinu a C-peptidu. U těchto pacientů můžeme ze stanovení C-peptidu na lačno a po jídle usuzovat na poškození beta-buněk pankreatu [24]. Výsledek stanovení C-peptidu pak může potvrdit či vyvrátit zanikající syntézu inzulinu v beta buňkách pankreatu i při DM2.

Stanovení se provádí v séru nebo v plazmě, nejlépe po zátěži. Nejčastější metodou je ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay – imunoanalýza s navázaným enzymem), založená na sendvičovém principu, kdy se na monoklonální protilátku naváže C-peptid obsažený ve vzorku, po promytí se na jiné místo C-peptidu připojí druhá monoklonální protilátka značená peroxidázou, po dalším promytí se přidá substrát tetrametylbenzidin a barevná reakce se stanoví fotometricky při 450 nm. Dalšími metodami jsou například chemiluminiscenční analýza (založená na sendvičové imunochemické reakci a detekci vzniklého záblesku), nebo metoda CLIA, kdy se

jednostupňově měří záblesk na C-peptid navázané monoklonální protilátky značené izoluminolem. Intenzita takového záblesku je přímo úměrná hladině C-peptidu ve vzorku [25].

V rámci časně diagnostiky DM je v současnosti možné vyšetřovat autoprotilátky typu anti-IA2, ICA, anti-GAD nebo protilátky proti inzulinu či proti transportérům glukózy (GLUT), které jsou přítomny ještě před prvními příznaky diabetu. Vzhledem k finanční náročnosti těchto vyšetření však musí být vážné indikace k jejich stanovování, tzn. genetické predispozice, nestandardní a nespecifické příznaky atd. [6].

5. CÍL VÝZKUMU

V roce 2015 navštívilo naši biochemickou laboratoř v Moravských Budějovicích celkem 157 pacientů na vyšetření glukózového tolerančního testu. U většiny z nich jsem se účastnila preanalytické fáze - tedy odběrů a podání roztoku glukózy, analytické fáze - měření glukózy na analyzátoru i postanalytické fáze - hodnocení a vydání výsledků.

Mým cílem bylo v horizontu jednoho roku sbírat analytická data těchto pacientů a vyhodnotit procento nově diagnostikovaných diabetiků spádově v okolí naší laboratoře, což je asi 6 obvodů praktických lékařů s cca 10 000–12 000 osob navštěvujících pravidelně svého praktického lékaře.

6. BIOCHEMICKÁ LABORATOŘ V MORAVSKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Laboratoř v Moravských Budějovicích je laboratoř patřící soukromé společnosti Synlab czech – laboratorní služby, se sídlem v Praze a je jedním z odloučených pracovišť pobočky této společnosti ve Znojmě, kam také zasíláme veškeré odebrané vzorky (kromě statimových) k vyšetření. V naší laboratoři provádíme pouze statimová vyšetření, a to: stanovení glukózy, c-reaktivního proteinu (CRP), vyšetření močového sedimentu, protrombinový test (Quick) pro kontrolu pacientů léčených kumariny a vyšetření krevního obrazu. Součástí laboratoře je i odběrová místnost, kde provádíme odběry krve a moče (denně 60 – 80 odběrů), a místnost pro příjem materiálu, kde se vzorky odebrané nebo přijaté do laboratoře zadávají do laboratorního informačního systému (LIS) a dále třídí podle druhu požadované analýzy. Náplní mé práce je tedy odběr materiálu, editace žádank a analýza statimových vzorků na analyzátořech.

7. PRŮBĚH VYŠETŘENÍ GTT

Vyšetření GTT v naší laboratoři provádíme podle instrukcí a doporučení ČSKB a ČDS a v souladu s vnitřními standardy laboratoře. Jsou však také možná určitá specifika vycházející z požadavků lékařů nebo různých handicapů pacientů, které musíme brát v potaz a být na ně připraveni. Myslím tím například bezbariérový vstup do laboratoře pro tělesně postižené pacienty nebo polohovací křeslo, pomocí něhož provádíme odběr v poloze vleže u pacientů, kteří odběry krve ne příliš dobře snáší. Většinou ale postupujeme standardně nebo se alespoň snažíme standardnímu postupu přiblížit co nejvíce.

7.1 Preanalytická fáze, postup vyšetření

Pacient přichází do laboratoře předem objednan a poučen (Obr. 13), většinou v 7 hodin ráno po předchozím minimálně osmihodinovém odpočinku a lačnění, s vyloučením jakékoli fyzické námahy a kouření. Při odběru musí být pacient v klidové poloze (v sedě) na odběrovém křesle. Nejprve odebereme žilní krev pacientovi na lačno, do zkumavky s antikoagulačním činidlem a fluoridem sodným (NaF). Zatímco pacient vyčká v čekárně, zadáme žádanku do LIS a zkumavku s krví pacienta pak centrifugujeme při 1500 g po dobu 10 minut. Zátěžovou látku můžeme podat pacientovi, až když známe hodnotu ranní glykemie, která musí být nižší než 7,0 mmol/l. Pokud hodnota koncentrace glukózy v plazmě před zátěží přesahuje tuto hodnotu, je nutné konzultovat podání zátěže s příslušným lékařem, který vyšetření indikoval. Ten také rozhodne, jestli budeme v testu pokračovat, nebo jej ukončíme. V případě, že lékař souhlasí s pokračováním testu nebo pokud je hladina glukózy na lačno nižší než 7,0 mmol/l, podáváme jako zátěžovou látku 75g glukózy ve 250 ml Glucosum solutio naředěného do 0,5 l vodou a pacient setrvává v klidovém režimu v čekárně po dobu 120 minut. Po uplynutí této doby v odběrové místnosti opět odebereme žilní krev a po separaci plazmy měříme hladinu glukózy. Pokud lékař požaduje, je možnost navíc změřit koncentraci glukózy v plazmě i po 60 minutách po podání zátěžové látky.

Jak jsem již zmínila, jsou dle aktuálního doporučení odborných společností rozdíly u testů prováděných v rámci screeningu GDM u **gravidních žen**, a to:

- je-li glykemie těhotné ženy na lačno **< 5,1 mmol/l**, je test dokončen podáním 75 g glukózy a odběry žilní krve se provádí v 60. minutě a 120. minutě (u netěhotných pacientů může být glykemie na lačno nižší než 7,0 mmol/l).
- je-li tato první glykemie **≥ 5,1 mmol/l**, je gravidní žena pozvána k vyšetření následující den a test se opakuje od začátku. Pokud je i následující den glykemie na lačno **≥ 5,1 mmol/l**, v testu se nepokračuje a je stanovena diagnóza GDM.
- je-li druhý den glykemie na lačno **< 5,1 mmol/l**, můžeme test dokončit podáním 75 g glukózy a odběrem žilní krve v 60. a 120. minutě.

Pokyny pro pacienty k vyšetření glykemické křivky – OGTT

Co je OGTT?

Orální glukózo toleranční test, pro odhalení onemocnění cukrovkou (Diabetes mellitus). Prosíme Vás o spolupráci a důsledné dodržení všech uvedených pokynů. Na toto vyšetření se prosím objednejte na pracovišti, které Vám nejlépe vyhovuje (viz seznam odběrových pracovišť / www.synlab.cz)

Postup vyšetření:

- Odběr krve nalačno
- Podání zátěžové dávky cukru (vypití testačního nápoje)
- Odběr krve za 2 hodiny po požití tohoto nápoje

U těhotných:

- Odběr krve nalačno
- Podání zátěžové dávky cukru (vypití testačního nápoje)
- Odběr krve za 1 hodinu po požití testačního nápoje
- Odběr krve za 2 hodiny po požití testačního nápoje

Pokyny:

Na odběrové pracoviště se prosím dostavte včas a nalačno. Pít můžete samotnou vodu či neslazený čaj. Léky, které pravidelně užíváte, si vezměte – zapijte. Během celého vyšetření je zakázáno jíst a pít a je nutné setrvat v klidu bez fyzické zátěže. Jakékoliv potíže (zvracení, průjem, závrať, mdlobu apod.) hlaste ihned sestře. S sebou přineste toto poučení, kartičku pojišťovny a žádanku od lékaře.

PROSÍME VYPLŇTE:

Prohlašuji, že jsem byl řádně poučen o vyšetření a souhlasím s jeho provedením.

Jméno a příjmení:

Číslo pojištěnce:

Datum:

Podpis:

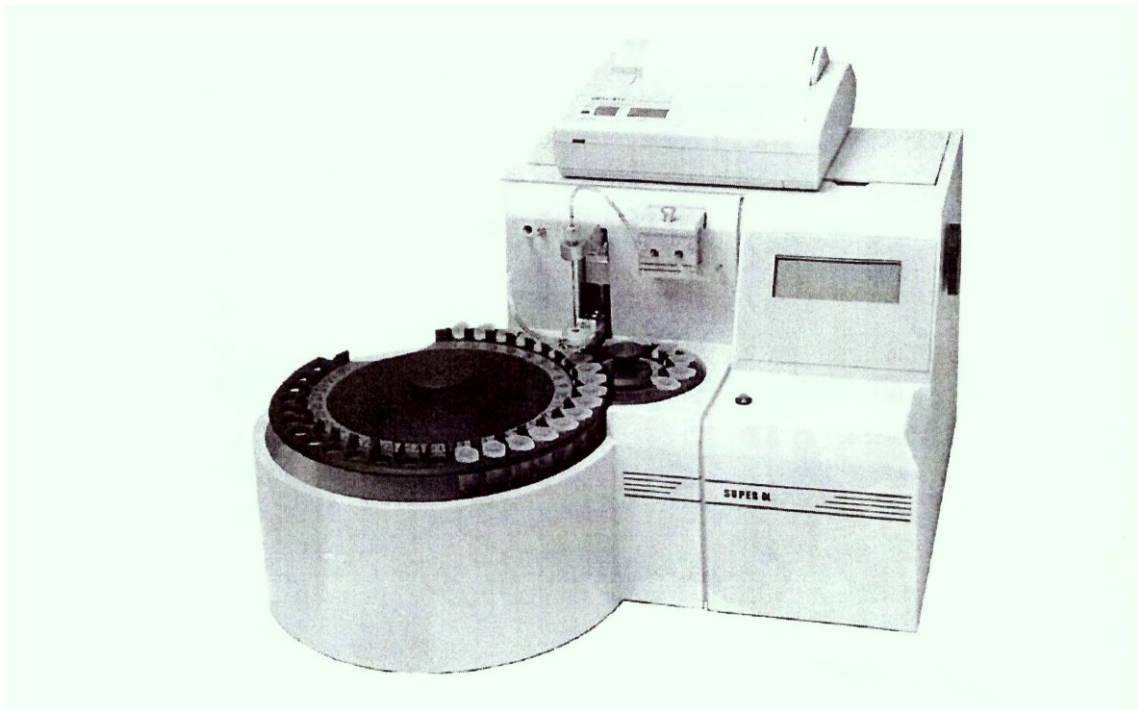
Call centrum: 800 800 234

www.synlab.cz

Obr. 13 Pokyny pro pacienty k vyšetření glukózového tolerančního testu. Tento dokument dostává pacient při objednání do laboratoře. Před provedením testu vyplní prohlášení na konci formuláře, že byl řádně poučen o vyšetření a svým podpisem stvrdí souhlas s jeho provedením.

7.2 Analýza vzorků

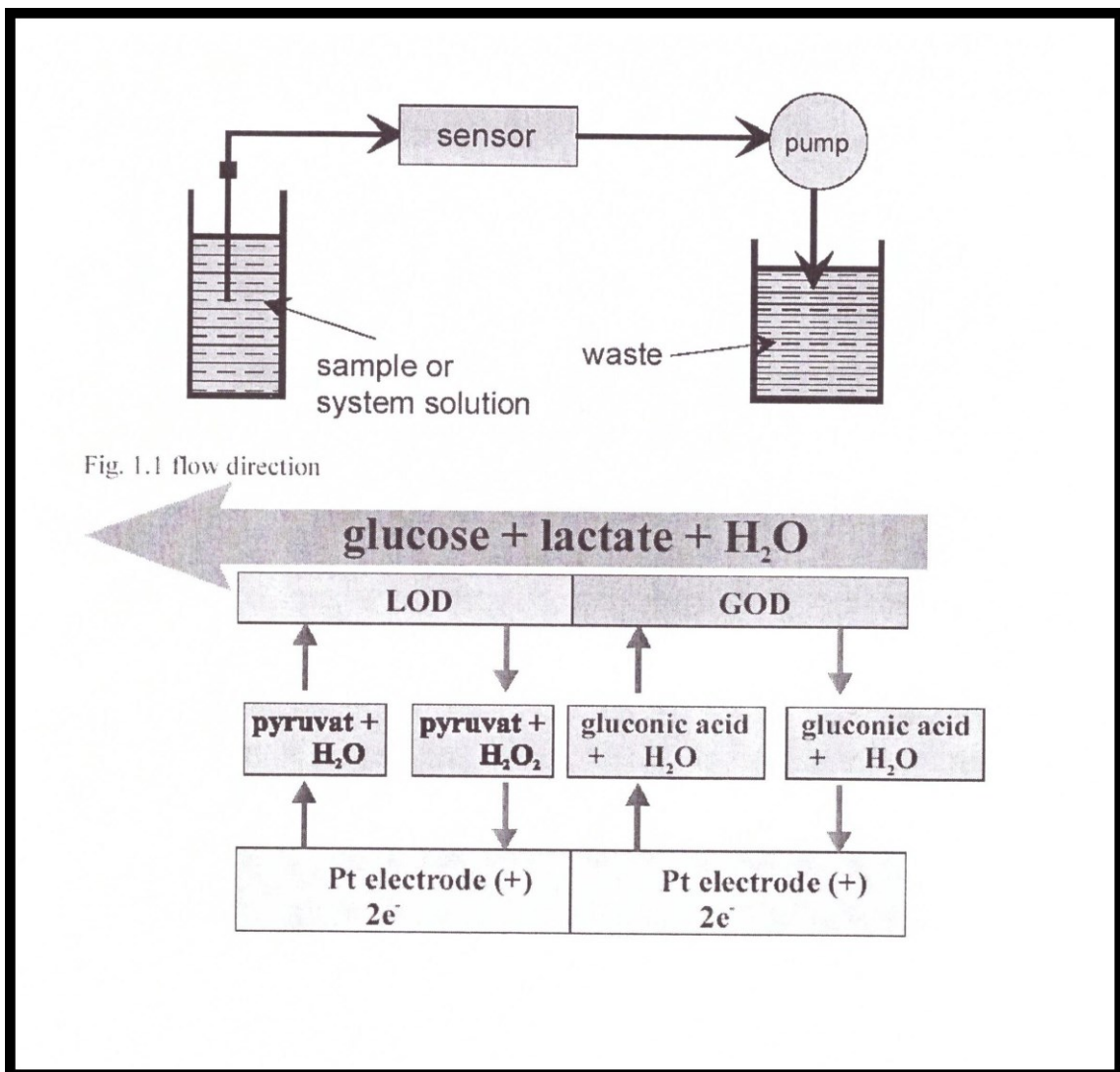
V Biochemické laboratoři v Moravských Budějovicích je prováděna analýza vzorků pro stanovení glukózy na analyzátoru Super GL (Obr. 14), dodaného společností Eurolab Lambda a.s. Je to typ malého analyzátoru, na kterém je možno měřit kromě glukózy i laktát. Stanovení laktátu však v naší laboratoři neprovádíme, a proto na něj přístroj ani nekalibrujeme.



Obr. 14 Analyzátor Super GL

Měření plazmatické glukózy na Super GL je založeno na elektrochemickém principu pomocí kompaktního biosenzoru. Přes senzor za pomoci pumpy proudí systémový roztok, kalibrátor, kontrolní nebo patientské vzorky. Elektrody v senzoru

jsou od roztoků oddělené membránou, obsahující imobilizované enzymy (Obr.15). Kalibrace tohoto přístroje se provádí automaticky, pouze je nutné vložit kalibrátor do měřicího kruhu do polohy pro kalibrátor. Ten je dodáván stejně jako kontrolní vzorky přímo výrobcem. Kalibrace a kontrolní měření se provádí vždy po spuštění analyzátoru a několikrát během provozu. Zatímco kalibraci provádí přístroj sám a automaticky, měření kontrolních vzorků provádí laborant. Pro analýzu vzorků (kontrolních i patientských) je nutné každý vzorek nejprve naředit do systémového roztoku v poměru 1: 50, my ředíme 20 μl plazmy a 1000 μl hemolyzátu (systémového roztoku). Takto naředěný vzorek se pak v uzavřené mikrozkušavce vkládá do analyzátoru a měří. Dolní a horní limit detekce analyzátoru Super GL se pohybuje v rozmezí 0,6 – 50 mmol/l.



Obr. 15 Princip měření analyzátoru Super GL. Na obrázku je zobrazený směr proudění a reakce uvnitř senzoru.

7.3 Referenční meze laboratoře

Referenční rozmezí v naší laboratoři je dáno doporučeními odborných společností. U nediabetiků je fyziologické rozmezí glykemie na lačno 3,3–5,6 mmol/l. Odlišná je interpretace u GTT. Abychom mohli podat zátěžovou látku, nesmí glukóza na lačno přesáhnout hodnotu 7,0 mmol/l, u těhotných žen dokonce nesmí být vyšší než 5,1 mmol/l.

Rozhodovací meze koncentrace glukózy v plazmě žilní krve po 120 minutách od podání zátěže (75 g glukózy) jsou u **netěhotných pacientů**:

< 7,8 mmol/l.....vyloučení DM
7,8 – 11,0 mmol/l.....porucha glukózové tolerance
≥ 11,1.....může být diagnostikován DM

Očekávané hodnoty u **těhotných** jsou:

Glykemie na lačno.....< 5,1 mmol/l
Glykemie v 60. minutě.....< 10,0 mmol/l
Glykemie ve 120. minutě.....< 8,5 mmol/l

Jestliže je u těhotné ženy vyšší alespoň jedna hodnota, jedná se o GDM.

8. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

8.1 Celkový přehled analyzovaných testů v roce 2015

Od ledna do prosince 2015 byl v Biochemické laboratoři v Moravských Budějovicích proveden GTT u celkem 157 pacientů, z toho 52 mužů a 105 žen (61 gravidních a 44 negravidních). Nejmladší pacientce bylo 18 let, nejstaršímu pacientovi pak 68 let. Věkové kategorie vyšetřovaných jsem zpřehlednila v tabulce č.1. Zatímco u gravidních žen byla věková hranice testovaných do 40 let, ostatní vyšetřovaní byli převážně vyššího věku, největší počet pak po 55. roku věku.

Tab. 1 Počet pacientů vyšetřovaných v Biochemické laboratoři v Moravských Budějovicích v roce 2015 vzhledem k věkové kategorii.

	18-30 let	31-40 let	41-55 let	55 a více let	celkem
ženy gravidní	30	31	0	0	61
ženy negravidní	7	3	8	26	44
muži	5	4	13	30	52
celkem	42	38	21	56	157

Z tabulky č. 1 dále vyplývá, že nejčastěji testované v naší laboratoři byly gravidní ženy ve věku 18–40 let a druhou nejčastěji testovanou skupinou byli muži starší 55 let. Důležité jsou pak také výsledky testů, které zpřehledňuje tabulka č. 2 a 3. Pro větší přehled jsou modře označeny pole s počty pacientů, jejichž hodnoty na lačno i po zátěži byly ve fyziologickém rozmezí, a červeně jsou označena pole s počty pacientů, u kterých byla hladina glykemie na lačno nebo po zátěži vyšší, než je referenční interval.

Tab. 2 Počet výsledných hodnot glykemie vzhledem k fyziologickému rozmezí u mužů a žen (negravidních).

Výsledky měření oGTT u mužů a žen							
	Hodnota glykemie na lačno			test ukončen před zátěží	Hodnota glykemie 120 min. po zátěži		
	3,3 - 5,6 mmol/l	do 7,0 mmol/l	vyšší než 7,0 mmol/l		nižší než 7,8 mmol/l	7,8 - 11,0 mmol/l	vyšší než 11,0 mmol/l
Muži	5	34	9	4	34	13	1
Ženy	5	24	9	6	23	13	2
Celkem	10	58	18	10	57	26	3

Tab. 3 Počet výsledných hodnot glykemie vzhledem k fyziologickému rozmezí u gravidních žen.

Výsledky měření oGTT u těhotných žen					
Hodnota glykemie na lačno		Hodnota glykemie 60 minut po zátěži		Hodnota glykemie 120 minut po zátěži	
nižší než 5,1 mmol/l	vyšší než 5,1 mmol/l	nižší než 10 mmol/l	vyšší než 10 mmol/l	nižší než 8,5 mmol/l	vyšší než 8,5 mmol/l
45	17	58	4	62	0

8.2 Zhodnocení výsledků

Z mého celoročního sledování vyplývá, že ze všech 157 pacientů, kteří byli v naší laboratoři vyšetřováni pomocí GTT, byla jednoznačně diagnostikována určitá porucha glukózové tolerance podle glykemie na lačno u 45 ze všech provedených testů. Z tohoto počtu je 17 gravidních žen, 13 mužů a 15 negravidních žen. U 4 gravidních žen byla hodnota glykemie zvýšená i 60 minut po podání zátěžové látky a u 1 muže a 2 žen byla hodnota zvýšená i po 120 minutách po zátěži. V 10 případech jsme test po telefonické domluvě s lékařem ukončili ještě před podáním zátěžové látky, protože glykemie na lačno vysoko přesáhla hodnotu 7,0 mmol/l a v takových případech se, i dle sdělení lékaře, jednoznačně jednalo o diabetes.

Všichni pacienti byli po provedení testů s výsledky vyšetření odesláni ke svému lékaři, který pak provedl vyhodnocení testu a popřípadě odeslal pacienta do specializované diabetologické poradny či ordinace.

9. ZÁVĚR

V dnešní době je Diabetes mellitus považován za jedno z nejrozšířenějších civilizačních onemocnění a nejen jeho etiologie je velmi rozsáhlá. Vznik DM ovlivňuje řada rizikových faktorů, jako je hypertenze, obezita, vysoké hladiny tuků a cholesterolu, kouření a řada dalších důsledků nezdravého životního stylu. Hladina glukózy v naší krvi a její nerovnováha ovlivňuje pak i mnoho dalších pochodů v organismu, čímž diabetes způsobuje další komplikace a vyvolává další patologické stavy. Pozdě diagnostikovaný nebo špatně kompenzovaný diabetes tak ve svém důsledku ovlivní negativně celý organismus. Nejen že v pankreatu dojde k nevratnému úbytku buněk Langerhansových ostrůvků, ale dlouhodobě zvýšená hladina krevního cukru má za následek i aterosklerózu v cévním systému a vznik infarktu myokardu. Cévní systém dolních končetin může postihnout diabetická gangréna, významné jsou i diabetické mikroangiopatie v systému kapilár nebo retinopatie se vznikem katarakty či glaukomu. Velmi časté bývají i diabetické nefropatie, jež mohou vést až k selhání ledvin. Až u 75% diabetiků se objevuje steatóza jater a další změny ohrožující jejich funkci [5]. Proto je velmi důležité toto onemocnění nejen správně léčit, ale především včasné diagnostikovat. Já jsem chtěla ukázat, že pro správnou a včasnou diagnostiku není zapotřebí velkých specializovaných pracovišť s nejmodernější technikou, ale že lze stejně dobře diagnostikovat a stejně dobře vyšetřovat v malé biochemické laboratoři. Pro mě, jako řadovou laborantku, je moje práce velmi zajímavá a přínosná. Proto bych byla velice ráda, kdyby se mi podařilo alespoň částečně přiblížit všechny tyto aspekty své práce také ostatním.

10. SEZNAM LITERATURY

1. PERUŠIČOVÁ, Jindra. Diabetes mellitus v kostce. 2. aktualizované vydání. Praha: Maxdorf, 2016. Současná diabetologie. ISBN 978-80-7345-478-4.
2. International diabetes federation: Diabetes: Facts and figures [online]. [cit. 2016-09-09]. Dostupné z: <http://www.idf.org/about-diabetes/facts-figures>
3. KVAPIL, Milan (ed.). Diabetologie 2016. Praha: Stanislav Juhaňák – Triton, 2016. ISBN 978-80-7553-031-8.
4. Diagnosis and classification of diabetes mellitus: Definition and description of diabetes mellitus. In: Diabetes care: American diabetes association [online]. [cit. 2016-09-09]. Dostupné z: http://care.diabetesjournals.org/content/27/suppl_1/s5
5. MAČÁK, Jiří, Jana MAČÁKOVÁ a Jana DVOŘÁČKOVÁ. Patologie. 2., dopl. vyd. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3530-6.
6. doc. PharmDr. Martin BERÁNEK PHD., , prof. RNDr. Miloš TICHÝ CSC. a a kolektiv. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie*. Praha 2013: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2186-9.
7. Doporučení výboru ČSKB: Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů(2016). In: *Česká společnost klinické biochemie: Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně* [online]. Institut biostatistiky a analýz, 2007 [cit. 2017-03-07]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni#27>
8. ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 3.dopl. a přeprac. vydání. Praha: Galén, 2013. ISBN 978-80-7492-062-2.
9. prof. MUDr. Milan Kvapil CSc. Klinický význam stanovení mikroalbuminurie. In: *Mladá fronta: Postgraduální medicína* [online]. Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta a fakultní nemocnice v Motole, interní klinika: Mladá fronta, 2014 [cit.

2017-03-09]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/klinicky-vyznam-stanoveni-mikroalbuminurie-474964>

10. JUŘÍKOVÁ, Jana a Michal KUMSTÁT. *Problematika výživových zvyklostí: monografie*. Brno: Masarykova univerzita, 2013. ISBN 978-80-210-6333-4.

11. DRŠATA, Jaroslav. *Diabetes mellitus*. Hradec Králové, 2015. Prezentace. Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy v Hradci králové.

12. BLAŽKOVÁ, Michaela. *Diabetes mellitus v těhotenství*. Brno, 2008. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Katedra porodní asistence. Vedoucí práce Doc. MUDr. Zdeněk Wilhelm CSc.

13. Popis vyšetření: Glukóza. In: *FONS: příručka laboratorních vyšetření* [online]. Pardubice: it.ANAREUS.CZ, 2017 [cit. 2017-04-08]. Dostupné z: <http://www.katalogfons.cz/Produkty/4DC82A9F-D7B5-4AC7-BBD4-57B1A9CE7440>

14. CHROMÝ, Vratislav, Jiří FISCHER, Josef HAVEL a Miroslav VOTAVA. *Bioanalytika: Analytická chemie v laboratorní medicíně*. Brno: Masarykova univerzita, 2002. ISBN 80-210-2917-X.

15. CRKOVSKÁ, Jiřina, Lenka FIALOVÁ a Libuše KADLECOVÁ. *Spactrofotometry: Practical lesson in medical biochemistry* [online]. Praha, 2016 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: http://chel.lf1.cuni.cz/html/Photometry_Instructions.pdf. ÚSTAV LÉKAŘSKÉ BIOCHEMIE A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY 1. LF UK.

16. *Glukóza: Klinicko - biochemická diagnostika a metody stanovení*. Hradec Králové, 2017. Dostupné také z: <http://slideplayer.cz/slide/1899501/>

17. *Statistické údaje o počtu diabetiků v České republice* [online]. In: . Praha: Interní klinika Motol, 2017 [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <http://www.diabetickaasociace.cz/co-je-diabetes/data-o-diabetu-v-cr/>

18. VOET, Donald a Judith G. VOETOVÁ. *Biochemie*. Praha: Victoria Publishing, 1990. ISBN 80-85605-44-9
19. LEDVINA, Miroslav, Alena STOKLASOVÁ a Jaroslav CERMAN. *Biochemie pro studující medicíny*. 2.vydání. Praha 1: Karolinum, 2011. ISBN 978-80-246-1416-8.
20. Maturity onset diabetes of the young. In: *Harvard health publications: Harvard medical school* [online]. Alexandria: Harvard university, 2014 [cit. 2017-05-01]. Dostupné z: <http://www.health.harvard.edu/diabetes/maturity-onset-diabetes-of-the-young-mody>
21. Diabetes LADA. In: *Diabetes.co.uk*. [online]. London: The global diabetes community, 2016 [cit. 2017-05-01]. Dostupné z: http://www.diabetes.co.uk/diabetes_lada.html
22. *Voor de praktijk* [online]. Ned Tijdschr Geneeskd, 2006, **150**(18) [cit. 2017-05-02]. Dostupné z: <https://www.ntvg.nl/system/files/publications/2006110070001a.pdf>
23. OGTT.png. In: *Wikiskripta* [online]. images, 2010 [cit. 2017-05-02]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:OGTT.png>
24. C-peptid. In: *Enclabmed* [online]. 2015 [cit. 2017-05-02]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/lpkladno/HVEZDAJAIE.htm>
25. Popis vyšetření C-peptid. In: *FONS: příručka laboratorních vyšetření* [online]. Pardubice: it.ANAUREUS.cz, 2016 [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: <http://www.katalogfons.cz/Produkty/89FF3711-FD10-4A22-8E81-0BD5E9F311B3>
26. Glykovaný hemoglobin. In: *FONS: příručka laboratorních vyšetření* [online]. Pardubice: it.ANAUREUS.CZ, 2016 [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: <http://www.katalogfons.cz/Produkty/57213BAC-01B4-47D0-B880-C86281FD8A9D>

11. SEZNAM ZKRATEK

GIT.....	Gastrointestinální trakt
AK.....	Aminokyseliny
MK.....	Mastné kyseliny
GLC.....	Glukóza
cAMP.....	Cyklický adenosinmonofosfát
Glc-6-P.....	Glukóza-6-fosfát
P _i	Fosfát
ATP.....	Adenosintrifosfát
TAG.....	Triacylglycerol
DM.....	Diabetes mellitus
DM1.....	Diabetes mellitus prvního typu
DM2.....	Diabetes mellitus druhého typu
GDM.....	Gestační diabetes mellitus
CNS.....	Centrální nervový systém
IDDM.....	Na inzulínu závislý diabetes mellitus (inzulin dependent diabetes mellitus)
NIDDM.....	Na inzulínu nezávislý diabetes mellitus (non-insulin dependent diabetes mellitus)
HPLC.....	Vysoce účinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
ELISA.....	Imunoanalýza s navázaným enzymem (enzyme-linked immunosorbent assay)
IČP.....	Identifikační číslo provozovny
GTT.....	Glukózový toleranční test
MODY.....	Maturity onset diabetes of young

LADA.....	Latentní autoimunitní diabetes dospělých
LIS.....	Laboratorní informační systém
EDTA.....	Ethylendiamintetraoctová kyselina
NaF.....	Fluorid sodný
ČSKB.....	Česká společnost klinické biochemie
ČDS.....	Česká diabetologická společnost
HbA1c.....	Glykovaný hemoglobin A1c
IFCC.....	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
LIS.....	Laboratorní informační systém
GOD.....	Glukózaoxidáza
POD.....	Peroxidáza
AAP.....	4-aminoantipyrin
NAD+.....	Nikotinamid adenin dinukleotid
NADP+.....	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfát