

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA DIABETES MELLITUS A DIABETICKÉ NEFROPATIE

MUDr. Tomáš Šálek

Oddělení klinické biochemie Nemocnice, Uherské Hradiště

Diabetes mellitus je velký medicínský, sociální a ekonomický problém v zemích s takzvaným západním životním stylem. Tento životní styl je charakteristický nízkou pohybovou aktivitou s postupným vznikem obezity a nakonec vznikem diabetes mellitus 2. typu s následnými diabetickými komplikacemi, které vedou ke zkrácení života i zhoršení jeho kvality. Včasná diagnostika diabetu a prediabetu může zabránit vzniku těchto komplikací nebo je oddálit.

Klíčová slova: diabetes mellitus, orální glukózový toleranční test.

Med. Pro Praxi 2007; 4(9): 369–370

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP a Česká diabetologická společnost ČLS JEP vydaly 1. září 2005 doporučení s názvem Laboratorní diagnostika a sledování diabetes mellitus, které je v souladu s doporučeními Americké diabetologické asociace. Základním nástrojem diagnostiky diabetu je stanovení **plazmatické žilní glukózy**. Je to logické, protože zvýšená plazmatická glukóza je základní příčinou diabetických komplikací. Aldehydová skupina glukózy je velmi reaktivní. Dochází k neenzymatické reakci mezi aldehydovou skupinou glukózy a volnými aminoskupinami bílkovin – hlavně argininu a lysinu. Vzniká nejprve aldimin (Schiffova báze), dále Amadoriho produkt (ketoamin) a další chemickou modifikací (oxidace, protein cross-links) vznikají advanced glycation end products. To je ve stručnosti jedna ze čtyř hlavních patobiochemických drah, jak glukóza poškozuje buňky. Dalšími jsou polyolová cesta, aktivace proteinkinázy C a zvýšení aktivity hexoaminové cesty. Společně cesty končí v nadprodukci volných kyslíkových radikálů při transportu elektronů v dýchacím řetězci v mitochondriích (4, 9, 11).

Velké množství pacientů o své nemoci neví a nebyli zachyceni sítím preventivních prohlídek. Důvodem je nedodržení **preanalytické fáze** diagnostiky. Preanalytická fáze začíná přípravou pacienta, následuje samotný odběr krve, dále pokračuje zacházením se vzorkem krve po odběru a končí před vlastní chemickou reakcí v biochemickém analyzátoru. Výsledek jakéhokoliv laboratorního testu může být ovlivněn přípravou pacienta před odběrem biologického materiálu, samotným odběrem krve a zacházením se vzorkem mezi odběrem a analýzou. Preanalytické vlivy jsou klíčové, ale řadu z nich lze minimalizovat. Obecně se uvádí, že až 70 % laboratorních chyb vzniká v důsledku nedodržení preanalytické fáze. **Zdroje preanalytické variability** musí znát pracovníci klinických laboratoří a pravidelně o nich písemně informovat pracovníky klinických medicínských oborů formou laboratorní příručky.

Lze je dělit na neovlivnitelné a ovlivnitelné. Mezi neovlivnitelnými faktory jsou pohlaví, rasa, věk a gravidita. Mezi ovlivnitelné faktory preanalytické variability před odběrem patří fyzická zátěž, vliv diety a léků, nadmořská výška, stres. Mezi zdroje variability při odběru patří načasování odběru krve, poloha při odběru, použití turniketu, kontaminace dezinfekčním činidlem, kontaminace intersticiální tekutinou, kontaminace infuzí a vliv protisrážlivých činidel (3).

Jak má probíhat preanalytická fáze pro diagnostiku diabetes mellitus? Odběr má být proveden po minimálně osmihodinovém lačnění s vyloučením fyzické námahy a kouření. Pacient nemá být dehydratovaný. Proto se ráno může napít vody nebo neslazeného čaje. Před odběrem má být nejméně 5 minut v poloze vsedě. Odebírá se **plazma žilní krve**. To znamená, že pro diagnostiku diabetes mellitus nelze použít krev kapilární, kde je vždy riziko příměsi určitého množství tkáňového moku. Ve speciální zkumavce, která je určena pro diagnostiku diabetu je **antiglykolytické činidlo – fluorid sodný** o koncentraci alespoň 2,5 mg na mililitr krve. Pokud by se dělal **test bez antiglykolytického činidla, došlo by k poklesu glukózy až o 5 % za hodinu**. Jestli předpokládáme, že vzorek odebraný v ordinaci praktického lékaře se dostane do biochemického analyzátoru za 4 hodiny po odběru, tak naměříme u pacienta s glykemií 8 mmol/l falešně nižší koncentraci o 1,6 mmol/l. Tato skutečnost potom způsobí oklasifikování pacienta jako nediabetika! Na našem pracovišti používáme pro diagnostiku diabetu zkumavky o objemu dva mililitry. Ve zkumavce je přítomna EDTA (kyselina etylendiamintetraoctová) v množství 1,8 mg na mililitr krve a fluorid sodný v množství 3 mg na mililitr krve. Oddělení plazmy od krevních elementů by mělo být do 60 minut (2, 3, 8, 9).

Nástrojem diagnostiky diabetes mellitus je také **orální glukózový toleranční test**, který si stále udržuje svůj význam. Na setkání Americké diabetologické asociace v roce 2005 byla prezentována The Hoorn study. Probíhala od roku 1989. Zahrnovala

2484 pacientů – muže i ženy ve věku od 50 do 75 let. Pacientům, kteří měli nalačno plazmatickou žilní glukózu pod 5,6 mmol/l, byl proveden orální glukózový toleranční test se zátěží 75 gramů glukózy. Mezi nimi bylo odhaleno 5 % diabetiků a 17 % pacientů s prediabetem.

Klíčové postavení má orální glukózový toleranční test v diagnostice gestačního diabetu.

Měření glukózy nalačno a za dvě hodiny po zátěži 75 gramy glukózy se provádí také z plazmy žilní krve (2, 5, 8, 9).

Z chronických diabetických komplikací je doloženou laboratorní medicínou diagnostika diabetické nefropatie. Denně proteče ledvinami 40 kilogramů albuminu. Do moče se za fyziologického stavu vyloučí průměrně 10 miligramů albuminu za den (11). Pokud diabetik vylučuje za 24 hodin 30–300 mg albuminu močí, hovoříme o mikroalbuminurii. Abychom mohli stanovit diagnózu diabetické nefropatie ve stadiu mikroalbuminurie, musí být zvýšené vylučování albuminu močí nad 30 mg za 24 hodin zjištěno **dvakrát ze tří vyšetření během šesti měsíců**. Diagnózu nelze dělat z jednoho měření. Důvodem je **vysoká intraindividuální biologická variabilita**, která má u albuminu v moči variační koeficient CV 36 %, analytický variační koeficient CV by měl být do 15 % (9, 13).

Test na mikroalbuminurii je nutně provádět za stabilizovaného klinického stavu – pacient nemá mít dekompenzovaný diabetes, dekompenzovanou hypertenzi, nesmí mít zvýšenou fyzickou zátěž, teplotu ani močovou infekci (10).

Jsou dva způsoby vyšetření mikroalbuminurie. Prvním způsobem je stanovení **poměru albumin : kreatinin** v druhé ranní moči nebo v náhodném vzorku moče. Tento způsob silně doporučuje již mnoho let ve svých guidelines Americká diabetologická asociace a také US National Kidney Foundation. Albumin i kreatinin jsou sloučeniny dobře rozpustné ve vodě (v moči). Pokud pacient hodně pije, obě látky jsou ve stejném poměru naředěny. A obráceně, pokud pije málo.

Jsou následující argumenty pro tento způsob vyšetření: není důkaz, že by sbírání moče zachytilo více pacientů, délkou dispenzarizace klesá kvalita sběru moče, pacienti neměří objem moče odměrným válcem, v močovém měchýři zůstává reziduum moče, které při sběru není započítáno, s rostoucí délkou života přibývá inkontinentních pacientů a vzrůstá riziko pádu například při měření objemu moče v odměrném válci.

Druhým způsobem vyšetření mikroalbuminurie je **sběr moče za 8, 12 nebo 24 hodin**.

Celosvětově se dnes stanovení albuminu v moči provádí **imunoturbidimetry nebo imunonefelometry** za použití polyklonální protilátky proti lidskému albuminu. Poslední dobou se ovšem ukazuje, že takto naměřené hodnoty albuminu jsou systematicky naměřeny níže ve srovnání s vysoce účinnou kapalinovou chromatografií. Současné imunochemické stanovování albuminu v moči tedy podhodnocuje skutečnou albuminurii. Hovoří se o **nonimunoreaktivním albuminu** (10). Z toho vyplývá, že jakýkoliv pozitivní nálezy mikroalbuminu-

rie vydaný laboratoří je třeba brát nesmírně vážně. Nález mikroalbuminurie totiž výrazně přesahuje hranice nefrologie. Včas nasazená nefroprotektivní a kardioprotektivní terapie může nejen zabránit nebo zpomalit vývoj dalších stadií onemocnění ledvin, ale také snížit riziko kardiovaskulární morbidity a mortality.

MUDr. Tomáš Šálek

Odd. klinické biochemie Uherskohradišské nemocnice a.s.
Purkyňova 365, 686 68 Uherské Hradiště
e-mail: tsalek@seznam.cz

Literatura

1. American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendation. Diabetes Care 2003; 26 Supl 1: 21–118
2. American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendation. Diabetes Care 2006; 29 Supl 1: 4–85
3. Bartoš V, Blažej V, Bořil P et al. Preanalytická fáze. 2005 vyd. Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP a SEKK, spol. s. r. o. Praha 2005
4. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications. Diabetes 2005; 54: 1615–1625
5. Dekker J. Who would be captured in screening for Impaired Fasting glucose? <http://webcasts.prous.com/ADA2005/article.asp?CID=YY&CLID=2&AID=109>
6. Důbrava J. Diabetická kardiomyopatie. Vnitř Lék 2005; 3: 314–319
7. Engliš M. Proteinurie vyd. STAPRO Pardubice 1994: 36
8. Franeková J. Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetes mellitus. Klin. Biochem. Metab.; 2005; 3: 155–158
9. Friedecký B. Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu. www.cskb.cz/Doporučení/DM.htm
10. Gross L, Azevedo M, Silveiro S et. al. Diabetic Nephropathy: Diagnosis, Prevention and Treatment. Diabetes Care 2005; 28: 164–176
11. Kaňková K. Molekulární patofyziologie pozdních komplikací diabetes mellitus – genetická predispozice k rozvoji diabetických komplikací. Vnitř Lék 2005; 4: 438–449
12. Průša R. Diabetes mellitus a jeho molekulárně genetická podstata. Klin. Biochem. Metab; 2006; 1: 5–7
13. Průša R, Čepová J, Petrtýtová K. Příručka laboratorních vyšetření. vyd Triton Praha 2002: 22