

A szénhidrát - anyagcsere diagnosztikai markerei

• Hagyományos

- orális glukóz terheléses vizsgálat (OGT)
- glukózkoncentrációk mérése plazmából (!)
- HBA1c , fruktózamin (glikált plazmafehérje)

• Speciális paraméterek

C-peptid :

- kis méretű polipeptid, az insulin A és B láncához kötődik
- biológiailag inert fehérje, 31 aminosav alkotja
- equimoláris mennyiségben termelődik az insulinnal
- a vesén keresztül ürül, vizeletben stabil, mérhető formában található

Proinsulin :

- önmagában hatás nélküli 86 aminosavból álló peptid
- egészségesek szérumában alacsony koncentrációban (2-6 pmol/L)
- obes betegnél emelkedett szérumszintek (10-15 pmol/L)

Insulin

- két polipeptid lánc, diszulfid hidakkal kapcsolva („A” lánc: 21, a „B” lánc: 30 aminosav)

A hormon féléletideje rövid (~ 5 perc)

Vizsgálható a sejtfelszínen elhelyezkedő insulin receptorok működése

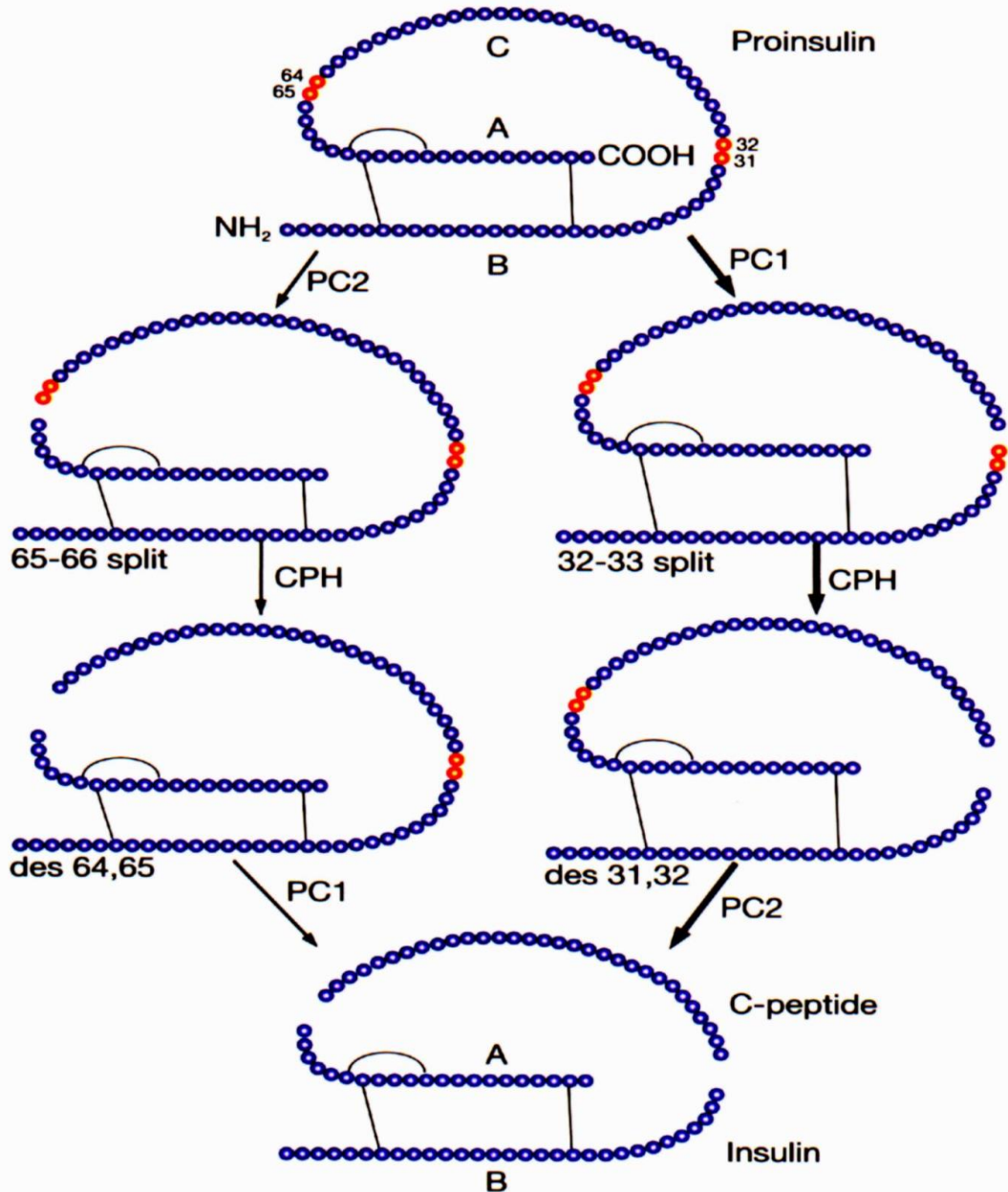


Figure 2. Proinsulin processing.

A C-peptid keletkezése

Klinikai alkalmazhatóságuk:

- az egyes betegségtípusok elkülönítésére (IDDM, NIDDM)
- insulin szekréció, illetve - rezisztencia megítélése
- glukóz – ingerre adott válasz minősége
- transzplantált betegek béta-sejt funkciójának monitorozása
- minimális béta-sejt funkcióval rendelkező IDDM-es betegek metabolikus egyensúlyának fenntartásához szükséges insulin adagolás pontosabb meghatározására
- glukagon teszt utáni C-peptid mérés információt nyújt a NIDDM betegek szekretoros válaszárol
- az insulin adagolás mellett is mérhető C-peptid szintekkel, ellenőrizhető a még meglévő szekretoros működés
- Meghatározási lehetőségek : immunkémiai vizsgálatok

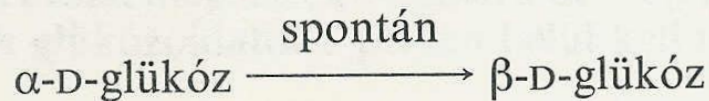
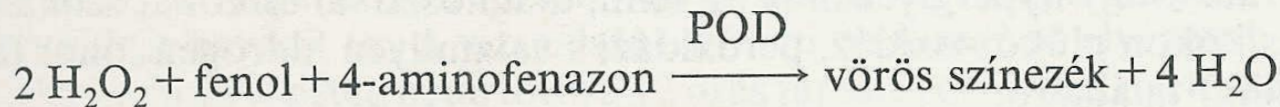
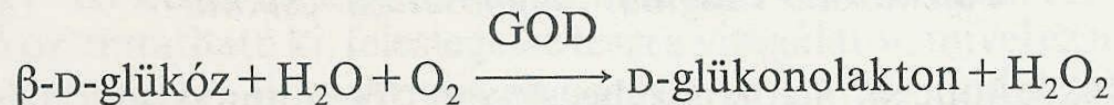
VÉRCUKOR MEGHATÁROZÁSÁNAK MÓDSZEREI (Trinder, 1969)

Enzimatiszus módszer glükóz-oxidázzal (színreakció)

Elv

A glükóz-oxidáz (GOD) enzim révén a β -D-glükóz glükonolaktonná oxidálódik, melynek során sztöchiometrikus mennyiségű H_2O_2 keletkezik. A keletkezett hidrogénperoxid peroxidáz hatására a fenolt és a 4-aminofenazont stabilis vörös kininoin színezékké alakítja, melynek abszorbanciája 470–550 nm közti tartományban fotometrárlható.

A plazmában kb. $2/3$ rész β -D-glükóz és $1/3$ rész α -D-glükóz van egyensúlyban. Amilyen ütemben a β -D-glükóz D-glükonolaktonná alakul, úgy pótolja azt az α -D-glükóz β -fomába alakulása, így végül a teljes vérglükózmennyiség részt vesz a reakcióban.



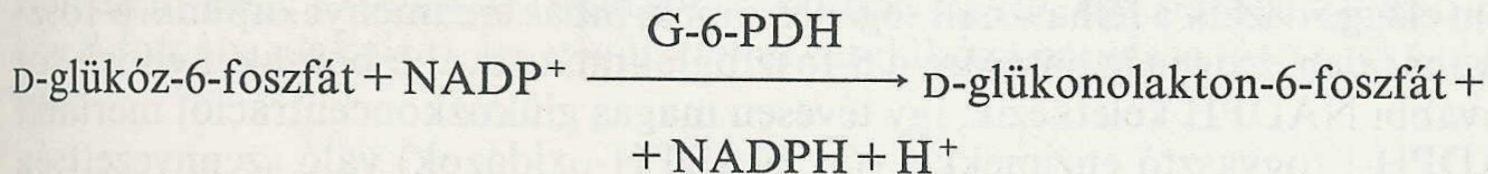
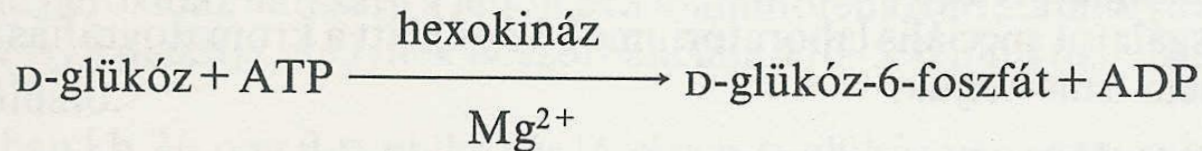
Vércukor meghatározási módszerek (2)

Enzimatiskus módszer hexokinázzal és glükóz-6-foszfát-dehidrogenázzal (UV-teszt)

Elv

A szubsztrátum koncentrációk enzimatiskus elvének megfelelően (l. 201. old.) a glükózt egy csatolt reakció segítségével határozzuk meg:

A glükózt először hexokinázzal foszforiláljuk, s a képződött glükóz-6-foszfátot egy utána következő indikátorreakcióban glükóz-6-foszfát-dehidrogenázzal oxidáljuk. Az ekkor keletkező NADPH mennyiségét a 365 nm-en mért abszorbancianövekedésből számítjuk ki, ez sztöchiometrikus arányban van a glükózzal.



Az OGTT helyes kivitelezésének kritériumai:

- A vizsgálatot reggel, éhomra kell végezni, előzetes (minimum 10 órán keresztül) koplalást követően.
- A terhelést megelőző 3 napon keresztül korlátozás nélküli, de legalább 150 gramm szénhidrátot tartalmazó étrend tartása szükséges.
- A vizsgálatot megelőző napokban a terhelendő személynek átlagos fizikai tevékenységet kell végeznie.

további OGTT kritériumok:

- A vizsgálatot nyugalmi körülmények között, dohányzás és fizikai aktivitás mellőzésével kell lebonyolítani.
- A vizsgálat eredményét és értékelését esetleg befolyásoló tényezők (infekciók, gyógyszerhatások stb.) fennállását figyelembe kell venni – egyes esetekben indokolt lehet a terheléses vizsgálat halasztása is.
- A teszt elvégzéséhez szükséges 75 gramm glukózt 250–300 ml vízben feloldva, 5 perc alatt kell elfogyasztani (gyermekek számára 1,75 gramm/testtömeg-kg, de maximum 75 gramm tesztdózis ajánlott).

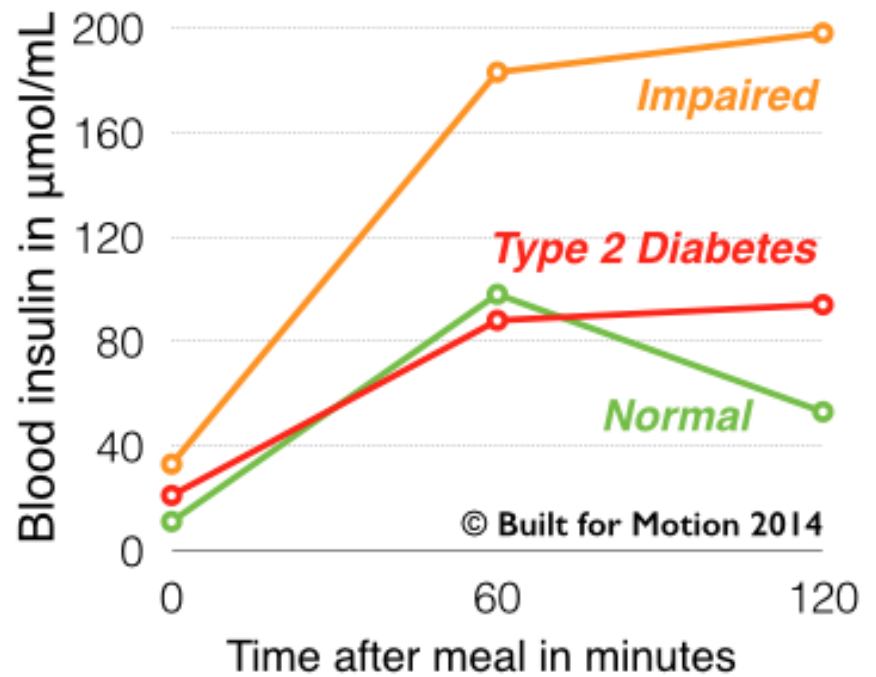
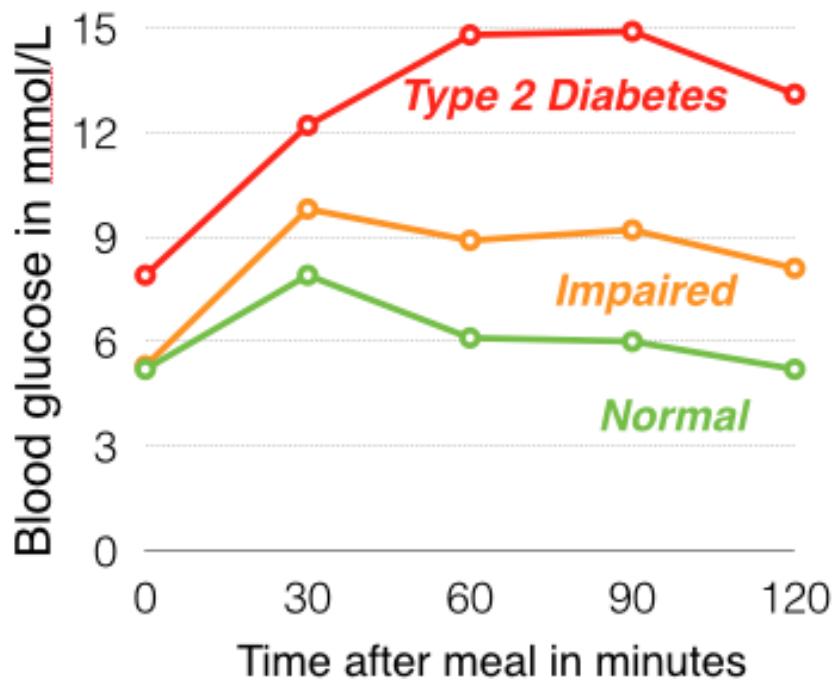
további OGTT kritériumok:

- A szénhidrát-anyagcsere kategorizálásához elégséges a terheléses vizsgálat 0. és 120. percében mért értéket figyelembe venni.

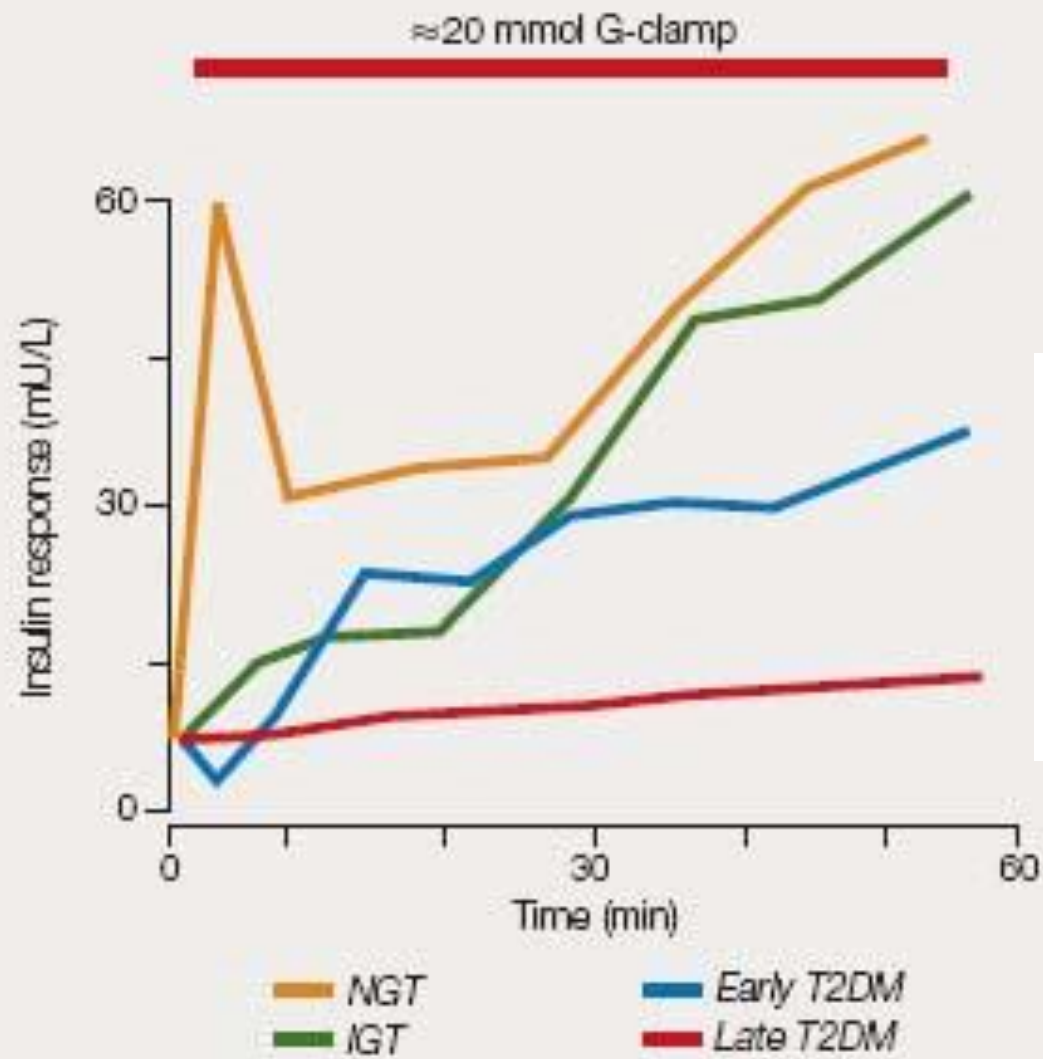
Egyéb klinikai és experimentális célok további időpontokban történő vizsgálatot is indokoltá tehetnek.

MDT szakmai irányelvei 2009 (Diabetologia Hungarica)

Blood Glucose and Insulin During a 75 g Oral Glucose Tolerance Test



© Built for Motion 2014



Inzulin jellegzetes értékváltozásai OGT vizsgálat során, egészséges állapotban és a szénhidrát-anyagcsere egyes zavaraiiban

Az orális glukóztérhelés értékelése (WHO 1999)

	Nem diabetes	IGT	Diabetes
Éhgyomri érték	< 5,5 mmol/L	5,5-7 mmol/L	> 7 mmol/L
Terhelés után 1h	9 mmol/L	9-12 mmol/L	12 mmol/L
2h	7 mmol/L	7 –11 mmol/L	11 mmol/L
3h	5,5 mmol/L	5,5-7 mmol/L	7 mmol/L

A MAGYAR DIABETES TÁRSASÁG SZAKMAI IRÁNYELVE, 2014

2. táblázat. A normális glukóztolerancia és a szénhidrátanyagcsere-zavarok diagnosztikai kritériumai

A szénhidrát-anyagcsere állapota		Glukózkoncentráció, mmol/l (vénás plazma, laboratóriumi mérés)
Normális glukóztolerancia	Éhomi vércukorszint	≤6,0
	OGTT 2 órás értéke	<7,8
Emelkedett éhomi vércukor (IFG)	Éhomi vércukorszint	≥6,1 de <7,0 (azaz: 6,1–6,9)
	OGTT 2 órás értéke	<7,8
Csökkent glukóztolerancia (IGT)*	Éhomi vércukorszint	≤7,0
	OGTT 2 órás értéke	≥7,8 de <11,1 (azaz: 7,8–11,0)
Diabetes mellitus	Éhomi vércukorszint	≥7,0
	OGTT 2 órás értéke	≥11,1

OGTT: orális glukóztolerancia-teszt (kivitelezésének módja: ld. a szöveget)

* Abban az esetben, ha a 2 órás érték megfelel az IGT-nek és az éhomi vércukorérték <6,0 mmol/l, akkor izolált IGT áll fenn. Az IGT egyéb esetei IFG és IGT együttes fennállását valósítják meg, a hivatalos nevezéktan azonban csak az IGT kategória nevet használja

A szénhidrát-anyagcsere paramétereinek *kockázati szinteket* jelző értékei diabéteszben

	Alacsony kockázat	Artériás kockázat	Micro- és macrovasculáris kockázat
HbA1C (%) (DCCT)	< 6,5	> 6,5	>7,5
Éhomi plazma glukóz (mmol/L)	< 6,0 < 5,5	> 6 > 5,5	> 7,0 > 6,0
Postprandialis (étkezés utáni) plazma glukóz (mmol/L)	< 7,5 < 7,5	> 7,5 > 7,5	> 9,0 > 9,0

(Eü-i Minisztérium-szakmai protokollok-belgyógyászat-Diabetes mellitus)

A szénhidrátanyagcsere-zavarok etiológiai klasszifikációja (WHO, 1999)

1-es típusú diabetes mellitus

- ✓ béta-sejt-károsodás következtében, általában abszolút inzulinhiány áll elő)
 - autoimmun mechanizmusú (LADA)
 - idiopathiás

2-es típusú diabetes

- ✓ a diabetes széles tartományát átfogja, a dominálónan inzulinrezisztencián alapuló, relatív inzulinhiánnyal társuló formáktól az elsődlegesen szekréción zavarra visszavezethető, inzulinrezisztenciával társuló vagy anélkül megjelenő formákig

Klasszifikáció (folytatás)

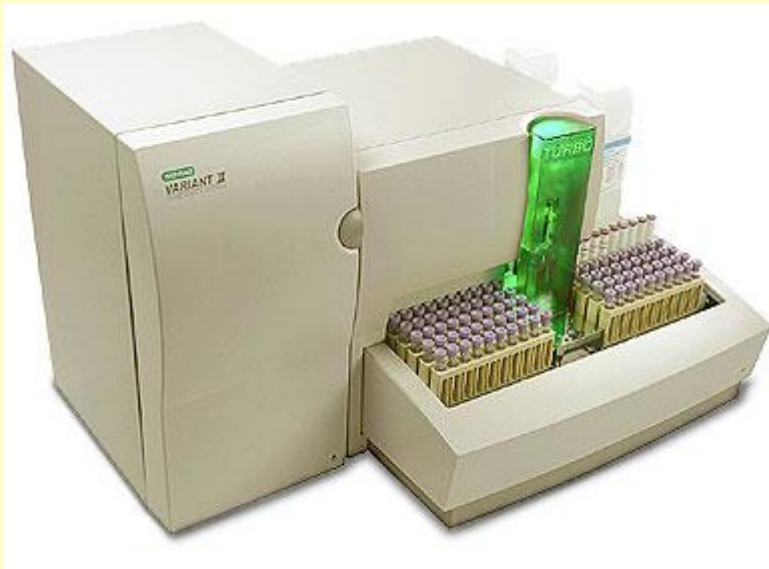
Egyéb speciális típusok

- a béta-sejt-működés genetikai zavarai (MODY)
- az inzulinhatás genetikai zavarai
- a pancreas exocrin részének megbetegedéseihez társuló formák
- endocrinopathiák
- gyógyszerek és kémiai anyagok kiváltotta típusok
- infekciókhoz társuló formák
- az immungenezisű diabetes szokatlan formái
- más, genetikai szindrómák, amelyek esetenként diabetésszel társulnak

Gestatiós diabetes

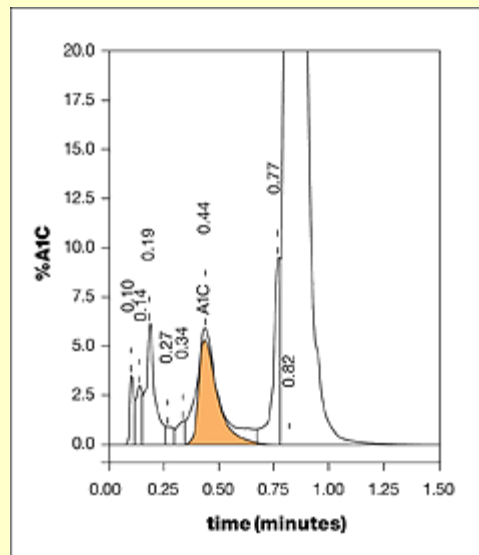
Autoantitestek, genetikai markerek vizsgálata

- Szigetsejt-ellenes autoantitest (ICA)
- Insulin-ellenes autoantitest (IAA)
- Glutaminsav-dehidrogenáz ellenes autoantitest (GAD)
- Tirozinfoszfátáz-ellenes autoantitestek
- Autoimmun mechanizmuson alapuló I-típusú diabetes vizsgálata : HLA-tipizálás (HLA-DQ, HLA-DR)
- MODY-k (maturity-onset of diabetes of the young)
 - monogénes MODY (25 évnél fiatalabbaknál, nincs szükség insulinra)
 - GCK-MODY (glukokináz gén mutációja okozza)
 - Transzkripciós MODY-k: béta-sejtek fejlődését és működését befolyásoló gének mutációi okozzák (HNF1A, HNF4B, HNF4A)
 - MODY-X (esetek 10%-ban nem ismert a genetikai eltérés)

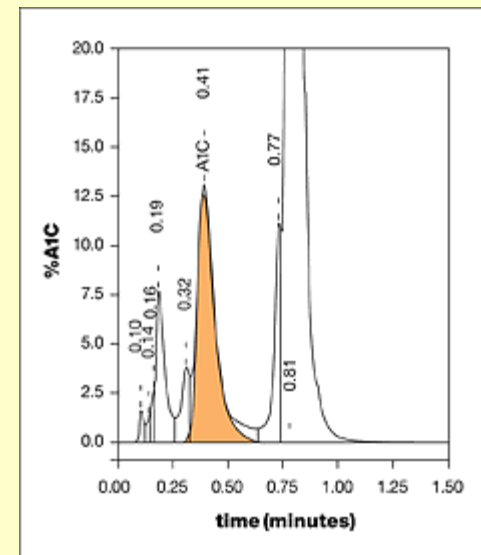


HBA1C meghatározás

- Ioncserélő oszlopkromatográfia HPLC alkalmazása mellett
- A hemoglobin variánsok ionos reakcióik alapján különülnek el.
- Abszorbanciamérés 415 nm-en.

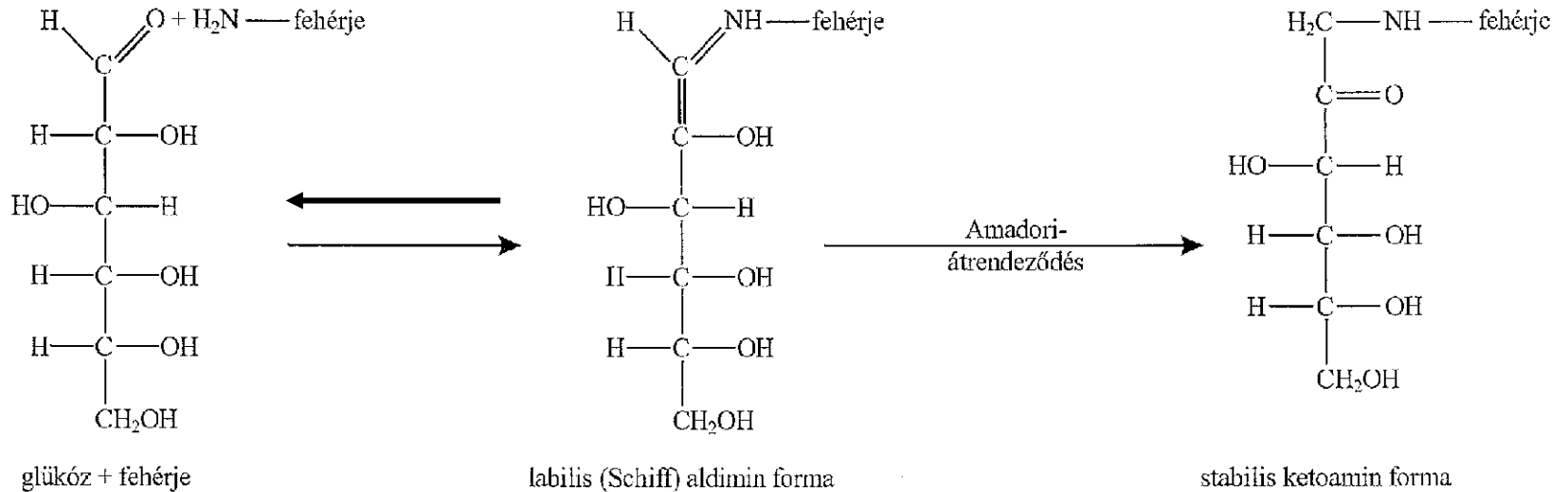


NORMÁL MINTA



DIABÉTESZES MINTA

A fehérjék nem enzimatisz kötődése glukózzal



8.2. ábra

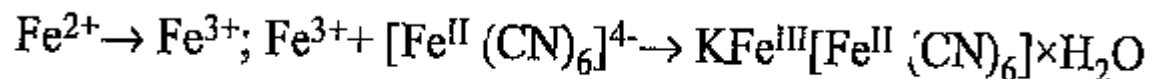
7. táblázat. A szénhidrát-anyagcsere kezelési célértékei nem-terhes állapotban, felnőttkori cukorbetegségben

	Kezelési célérték
HbA _{1c} (DCCT-re standardizálva) (%)*	<7,0%*
Éhomi / praeprandialis plazmaglukóz (mmol/l)	
• Laboratóriumban mérve	≤6,0
• Önkontrollosan mérve**	≤5,5
Postprandialis plazmaglukóz (mmol/l)	
• Laboratóriumban mérve	<7,5
• Önkontrollosan mérve**	<7,5

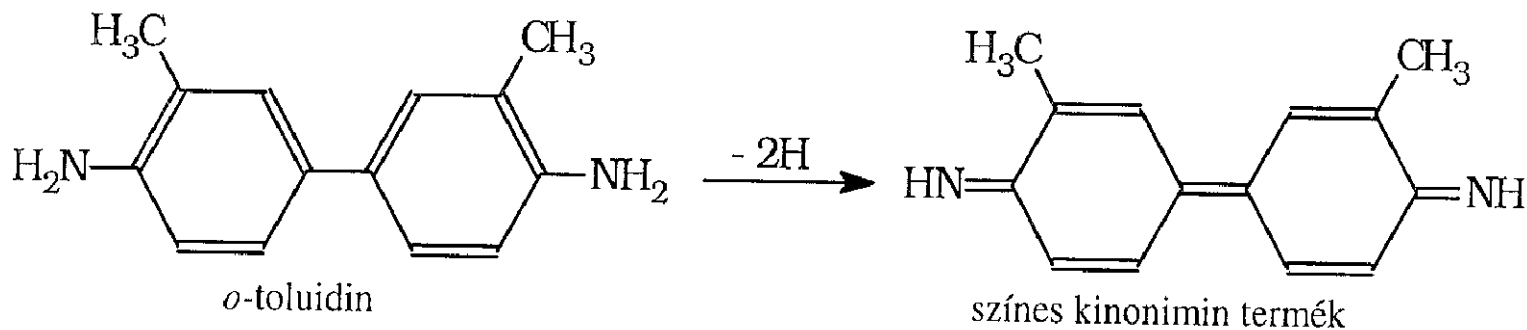
* Céltartományként HbA_{1c} 6,0–8,0% jelölhető meg, amelyen belül az adott beteg esetében a biztonságosan elérhető és hosszú távon fenntartható legkedvezőbb érték elérésére kell törekedni (ld. a szövegben írtakat)

Vércukor meghatározás gyorsesztekkel (variációk)

1. Naszcens oxigén keletkezését követő segédreakció során nyert színes komplex-vegyület



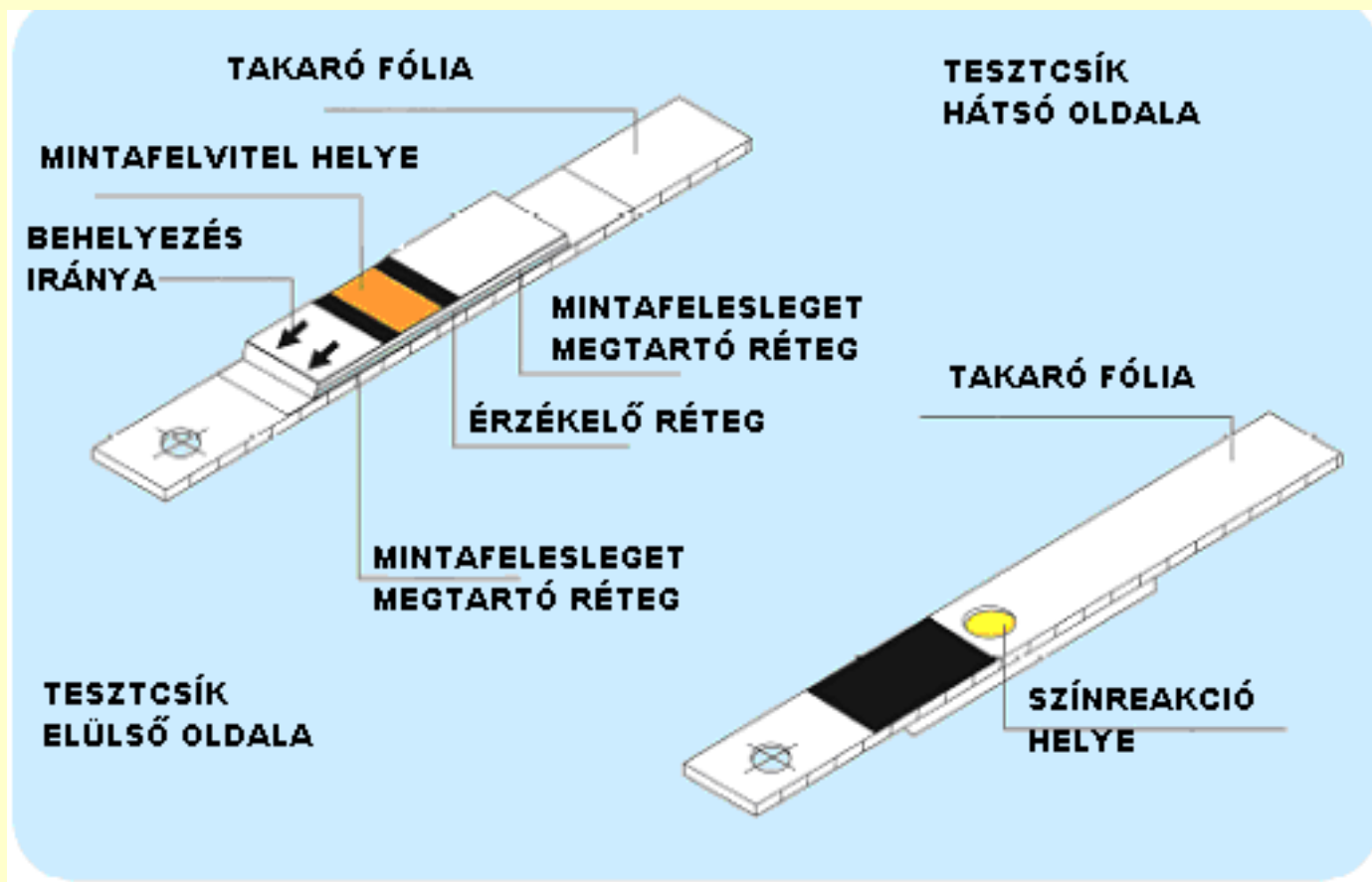
2. O-toluidin oxidációja kinonimin terméké



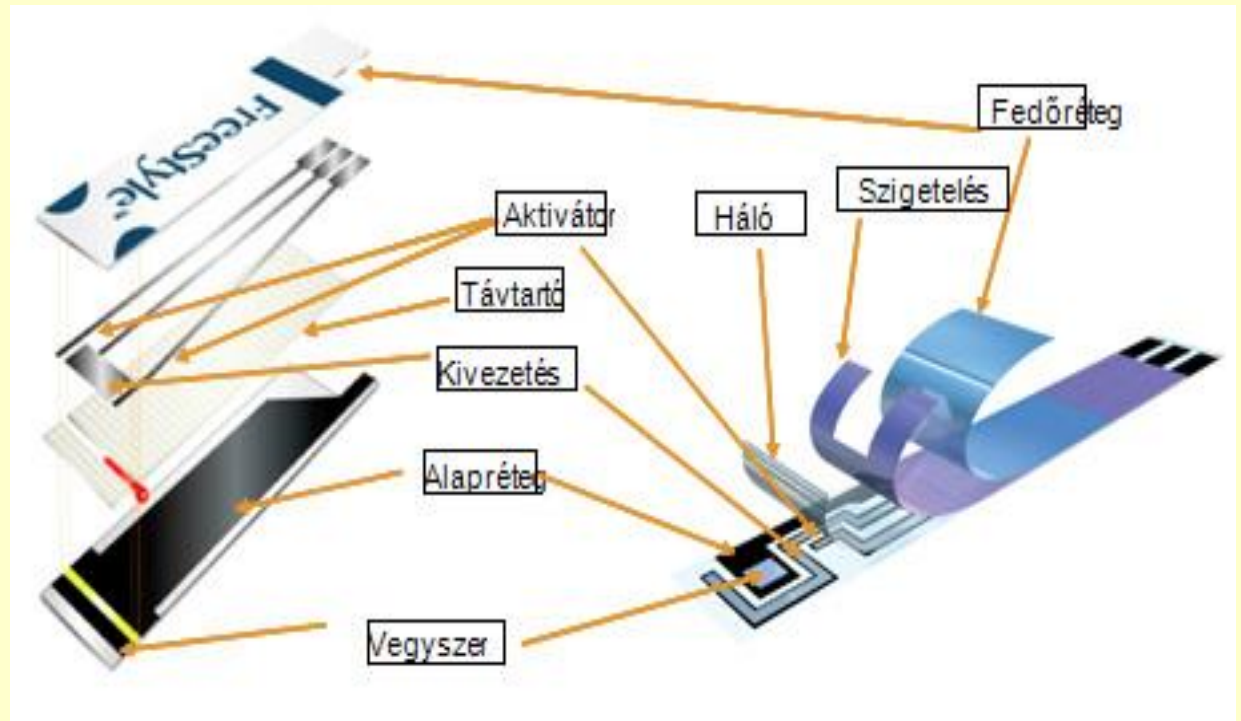
Vércukor önellenőrzés teljes vérből (vércsepp)



Tesztcsík szerkezete (önellenőrző készülék)

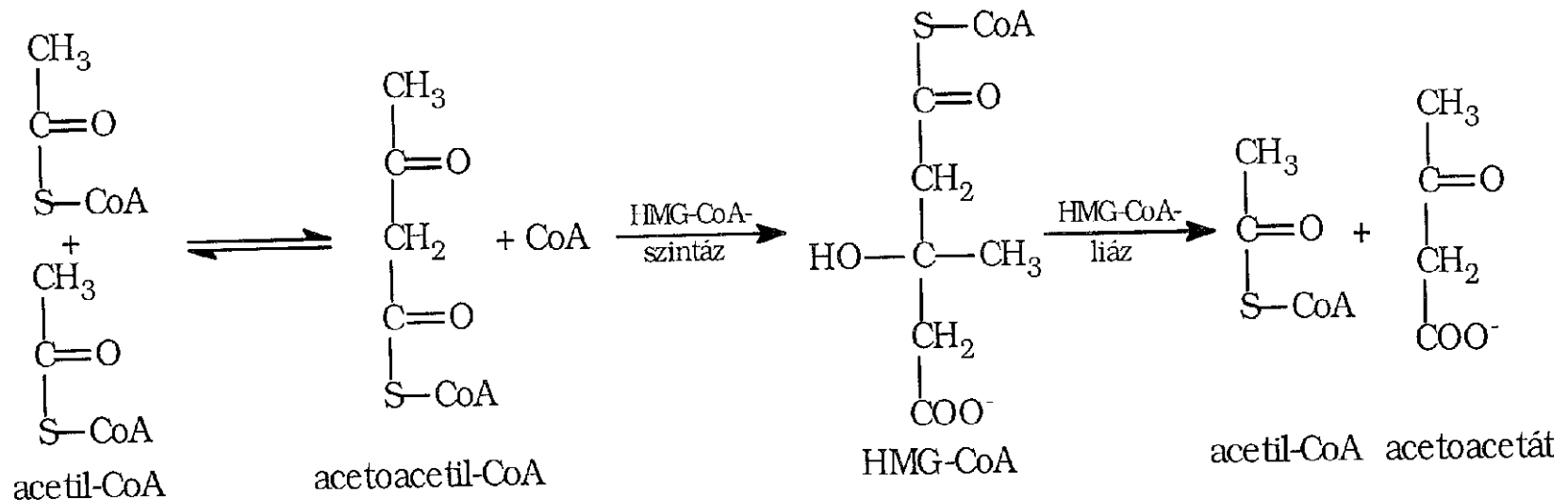


Elektrokémiai alapelven működő készülék és tesztsík

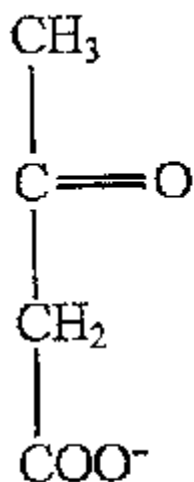


Ketontestek képződése szöveti hypoxia esetén

1. Anaerob glikolízis → piruvát, laktát → a citrát kör kapacitását meghaladó „piruvát torlódás” → (metabolikus acidózis) laktacidózis
2. Fokozott zsírégetés esetén (éhezés, diabeteszes kóma, erélyes fogyókúra) a zsírsavlebontás során aceto-acetát keletkezik, a májsejtek, valamint az idegsejtek felvevő kapacitását is meghaladó mennyiségben

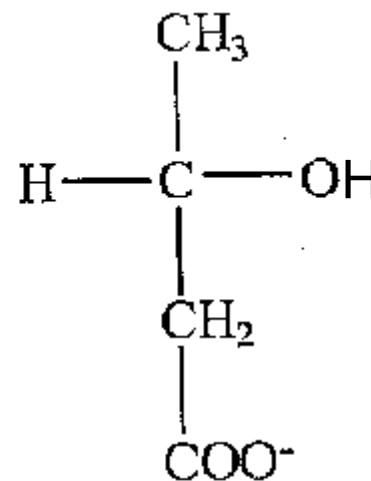
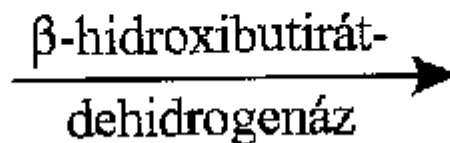


Ketosavak, ketontestek meghatározása



acetoacetát

+ NADH



β -hidroxibutirát

Ketontestek kimutatása vizeletből

- Csak az acetecetsav mutatható ki
- A keletkező aceton elpárolog, hosszas állás után álnegatív a reakció
- LEGAL-próba (ecetsavas oldat, tömény ammónia rétegzése)
- A reakció lényege:

alkalikus közegben: acetecetsav + nátrium-nitroprusszid
(dinátrium-vas(II)cianid) → izonitrozoaceton
(ibolyakék reakciótermék)