

# Anyagcsere laboratóriumi vizsgálata: cukorháztartás

# 69 éves férfi

## Jelen panaszok

SBO-ról vesszük át újkeletű, magas kamrai frekvenciával járó pitvarfibrilláció (PF) és szívelégtelenség klinikai jelei miatt.

3 hete egyre kisebb terhelésre is kifárad, 100 m megtétele után fullad, állandóan puffad. Ugyanekkor megdagadt a lába, amit orbáncnak vélelmeztek, mélyvénás thrombosiszt UH-val kizárták.

Eszméletvesztés nem volt. Anginiform mellkasi fájdalma sosem volt. Testömge az elmúlt fél évben nem változott; felnőtt kora óta túlsúlyos. Láza nincs. Köhög, de nincs köpete.

Gyógyszert korábban nem szedett rendszeresen, 1 napja házi orvos Furosemidet, Covercard Komb-ot 10/2.5, Kaldyumot, Nebivololt (5 mg) kezdett.

## Labor eredmények

2018.12.13 19:08 - (KPLASURG) Központi Labor Sürgös

	Érték	Egység	Referencia tart.	
HS Troponin I	155.1	ng/L	H <34.2	F
BNP	800	pg/mL	H <100	F

2018.12.13 21:31 - Központi Labor Sürgös (KPLA)

INR: 1.29(H) INR; Kalcium: 2.35 mmol/L; Foszfát: 1.25 mmol/L;

Összfehérje: 56.0(L) g/L; Albumin: 35.1 g/L; TROP: 138.6(H) ng/L

2018.12.14 06:05 - Vércsoport + Rh + Ellenanyag (KPLA)

Vércsoport: 0 ; RH: Pozitív ; DIRC: Negatív ; ELLE1: Negatív ; ELLE2:  
Negatív ; ELLE3: Negatív ; ELLE4: Negatív ; ELLC1: Negatív ; ELLC2:  
Negatív ; ELLC3: Negatív ; ELLC4: Negatív

2018.12.14 07:00 - Központi Labor Rutin kérőlap (KPLA)

Triglicerid: 1.07 mmol/L; HDL-chol: 0.56(L) mmol/L; LDLC: 2.10 mmol/L;  
Cholesterin: 3.1 mmol/L; VFS: 1.011 g/cm<sup>3</sup>; VH: 5,0 ; Nitrit: Negatív ;  
VC: Negatív ; VF: Negatív ; Viz.ac: Negatív ; viz. v: Negatív ; ubg:  
norm. ; viz.bil: Neg. ; Leukocyta: Neg. ; vfv: 1/HPF ; VHYAL: 3/HPF

Glükóz: 7,4 mmol/L (random)

2018.12.17 08:00 - 75g OGTT: Cukor 0p: 4.7 mmol/L; Cukor 120p: 13.2 mmol/L

WBC: 7.84 Giga/L; L-NEU: 67.2 %; Eozinofil: 1.3 %; Bazofil: 0.4 %;  
Monocita: 10.1(H) %; Limfocita: 21.0(L) %; NEUABS: 5.27 Giga/L; BASABS:  
0.03 Giga/L; Eozinofil: 0.10 Giga/L; Monocita: 0.79 Giga/L; Limfocita:  
1.65 Giga/L; GRAN: 0.5 %; vvt sz: 6.11(H) Tera/L; Hemoglobin: 163 g/L;  
Hematokrit: 0.52(H) L/L; MCV: 85.3 fL; MCH: 26.7(L) pg; MCHC: 313(L) g/L;  
L-RDWQ: 14.6 %; NRBC%: 0.00 %; THRCY: 170 Giga/L; MPV: 11.8 fL; Glükóz:  
4.6 mmol/L; CN: 7.4(H) mmol/L; Kreatinin: 118(H) umol/L; GFR: 53.6(L)  
ml/min/1.73 m<sup>2</sup>; Nátrium: 142 mmol/L; Kálium: 4.6 mmol/L

## Epikrízis

A bokatörés miatti műtéten, jobb alsó végtagi erysipelason átesett férfi jelen felvételére fulladás miatt, magas átvezetett kamrai frekvenciával járó pitvarfibrilláció és szívelégtelenség miatt került sor. A szív UH-n jelentősen csökkent szisztolés balkamra funkciót, tágult pitvarokat, dilatatív cardiomyopathia képét találtuk. Intravénás majd per os diuretikus kezelés mellett panaszai gyorsan mérséklődtek, testtömege 14 kg-mal csökkent, béta-blokkoló és digitalis mellett szívfrekvenciája normalizálódott. A tünetek háttérében akut koronária történés nem igazolódott (az emelkedett troponin I szívelégtelenség részjelensége lehetett), pajzsmirigyfunkció normális volt, szignifikáns billentyű betegséget szintén nem találtunk. OGTT alapján 2-es típusú diabetes igazolódott, ami miatt életmódi tanácsadásban részesült. Mérsékelten beszűkült vesefunkció észlelése alatt nem romlott, elsősorban hypertenzív nephrosclerosis részjelensége lehet.

Otthonában maximum 160 g szénhidrát tartalmú, testsúlycsökkenést elősegítő diéta (7:00 30g, 10:00 20g, 13:00 50g, 16:00 20g, 19:00 40g), tervezett, rendszeres, nem megerőltető fizikai aktivitás mellett gyógyszeresen javasolt: napi 1 tbl. digoxin (Digoxin), 2x2.5 mg bisoprolol (Concor), reggel 1 tbl. perindopril/indapamid (Coverex-AS Komb), este 5 mg perindopril (Coverex-AS), 2x500 mg metformin (Metfogamma), este 20 mg simvastatin (Sicor), délben 12,5 mg spironolacton (Verospiron).

# Sikerélmény titka:

- 65 éves kor felett
- Kp táplált (obes) betegnél
- Cukoranyagcsere ellenőrzése

# Cukoranyagcsere zavarai

## Hipoglikémia (2,5 mmol/l alatt)

Endokrin betegségek  
(mellékvese, hipofízis elégtelenség  
izolált ACTH, vagy GH hiány),  
glikogéntárolási betegségek,  
inzulinóma,  
alkohol, májbetegségek (cirrózis),  
szepszis, éhezés, urémia,  
gyógyszer indukált (inzulin,  
szulfanilurea) hipoglikémia,  
preanalitikai hiba (vvs masszán  
maradt  
plazma vagy szérum analízise).

## Hiperglikémia (10 mmol/l felett)

Diabétesz,  
hipertireózis,  
kortizol, GH, glukagon túltermelés,  
Dömping-szindróma,  
stressz.

# Diabetes Mellitus csoportosítása

1. 1-s típusú diabetes: autoimmun eredet
2. 2-s típusú diabetes: relatív inzulinhiány  
(inzulin rezisztencia)
3. Egyéb

## **A világon a 2-es típusú betegek száma drámaian növekszik (WHO)**

1994-ben mintegy 100 millió

2010-ben több mint 250 millió

2030-ban pedig 350 millió cukorbeteg lesz a földön,  
(90-95 %-uk 2. típusú)

## **Cukorbetegség okozza**

a végstádiumú veseelégtelenség mintegy felét

a felnőttkorban kialakuló vakság több mint 50 %-át

a stroke kialakulásának kockázata 3-szoros

a myocardialis infarctusé 3-5-szörös,

a perifériás obliteratív artériás betegség

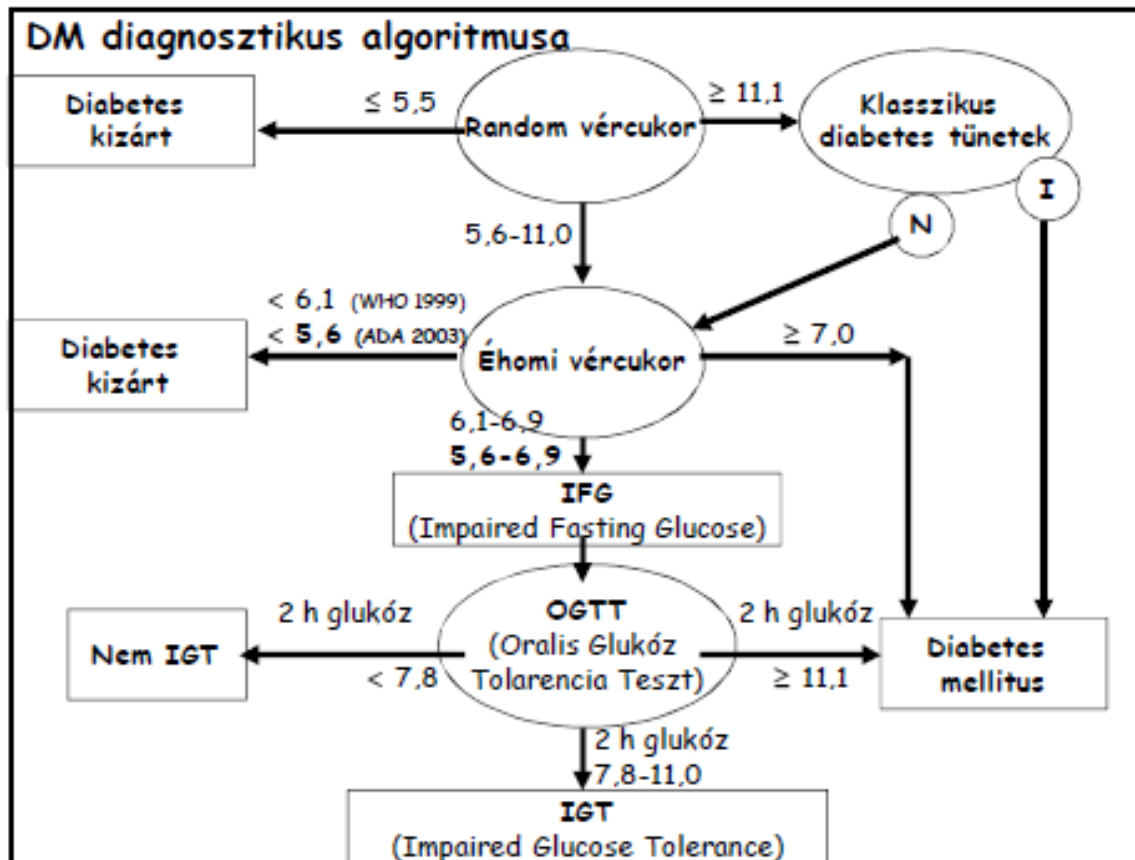
(végtag amputáció) kockázata 15-30-szoros

# Probléma:

## 2-es típusú diabetes mellitus

- A cukorbetegség különlegessége, hogy a betegség feltűnő tünetei (szomjúság, túlzott vizelet, fogyás, gyengeség, dehidratáció, acetonos lehelet) a betegek nagy részénél viszonylag későn, vagy egyáltalán nem jelentkeznek.
- A **diabetes fő tünete, a hiperglikémia, laboratóriumi adat, amelyről a páncenseknek sejtelmük sincs.**

**SZŰRÉS**



Megjegyzés:

Átváltás mg/dl-mmol/l:  $\text{mg/dl} = 18 \times \text{mmol/l}$

Átváltás mmol/l-mg/dl:  $\text{mmol/l} = \text{mg/dl} / 18$

### **Az OGTT helyes kivitelezésének kritériumai I.**

A vizsgálatot reggel, éhomyra kell elvégezni, előzetes (min. 10 órán át) koplalást követően.

- A terhelést megelőző 3 napon át korlátozás nélküli, de legalább 150 g szénhidrátot tartalmazó étrend tartása szükséges.
- A vizsgálatot megelőző napokban a terhelendő személynek átlagos fizikai tevékenységet kell folytatni.

## **Az OGTT helyes kivitelezésének kritériumai II.**

- A vizsgálat eredményét és értékelését esetleg befolyásoló tényezők (infectio, gyógyszer) figyelembevétele.
- A teszt elvégzése: 75 g vízmentes glukóz 250-300 ml vízben feloldva, 5 perc alatt kell elfogyasztani.
- (Gyermekek: 1,75 g/testtömeg kg, max: 75 g)
- A szénhidrát anyagcsere kategorizálásához elégséges a terheléses vizsgálat 0. és 120. percben mért értékeit figyelembe venni.

## OGTT-t befolyásolhatja ezen kívül:

dohányzás, szorongás, koffein, időpont, intolerancia  
a nagy mennyiségű cukorral szemben

## Intravénás GTT

0,5 g/ttkg (max. 35g), 250g/l-es  
oldatban, 3 perc alatt IV

10 percenként mintavétel 1 órán át

## **Glükóz teszt szérumból vagy plazmából?**

**Plazma:** nátrium-fluorid/kálium-oxalát tartalmú csőből

### **Miért?**

A fluorid az enoláz enzim inhibíciójával megakadályozza a cukor degradációját a glikolitikus folyamatban.

A vérvételt követő első 3 órában történt kezdeti glükóz veszteség után (egészséges egyéneknél átlagosan 0,5 mmol/l) a fluorid hatékonyan használható a glükóztartalom megőrzésére legalább 3 napig.

# Glükózsztint meghatározása

Glükóz oxidáz módszer:

Alfa-D-glükóz  $\longrightarrow$  Béta-D-glükóz

glükóz oxidáz

Béta-D-glükóz + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>  $\longrightarrow$  Glukonsav + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Redukált kromogén (színtelen) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

peroxidáz

Oxidált kromogén (színes) + 2 H<sub>2</sub>O

CAVE: redukáló hatású környezetben megbízhatatlan. C-VITAMIN 50%-KAL IS CSÖKKENTHETI AZ ÉRTÉKET

A hidrogénperoxidot amperometrikusan is mérhetik.

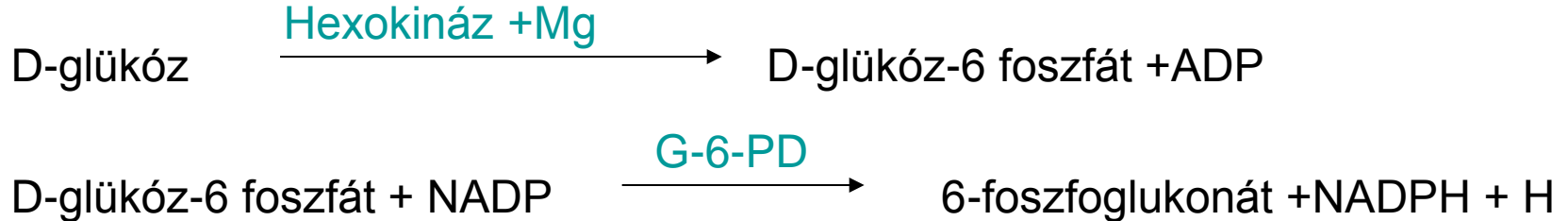
Gyors glükóz teszt (glukométer).

# POCT glükózmérés titkai: POCT teszteredmény alapján NINCS diagnózis



# Glükózsztint meghatározása

Hexokináz módszer (referencia módszer):



CAVE: EDTA-s plazma nem használható

# Fontos:

- Teljes vér: Kapilláris glükózsztint 5-10%-kal alacsonyabb az artériásnál, magasabb a vénásnál
- Vénás plazma: megegyezik a kapilláris teljes vér glükózsztintjével
- Kapilláris vér: ujjbegyet előtte fel kell melegíteni
- Stabilizátor kérdése (glikolízis-enzimek gátlása): nátrium fluorid vagy maleinimid.

# Vizelet glükózsztint

- Glükóz redukáló tulajdonságán alapuló módszerek

(redukál még: húgysav, fruktóz, laktóz, ketontest, szulfonamid, cisztein, kreatinin, szalicilsav etc.)

- Glükóz-oxidáz módszer

(álpozitív: hipo, lejárt teszt)

álnegatív: C-vitamin, antibiotikum, szalicilsav, ketontest)

# 34 éves ffi

## Jelen panaszok

Jelenleg háziorvosa utalja felvételre hyperglycaemia, 23.9mmol/l-es vércukor érték, novum diabetes mellitus, gyengeség, fáradékonyság, fogyás,

étvágytalanság miatt.

A beteg elmondja, hogy 2 hete az alkohol fogyasztást abbahagyta, de ezzel párhuzamosan nagyfokú szomjúságérzés, étvágytalanság, napi 6-7l folyadék mellett fél óránként, éjjel is bőséges vizeletürítés lépett fel. Ma reggel hányinger, egy alkalommal hányás jelentkezett. Hasmenés nem volt.

Étvágytalan, keveset eszik, 2 hét alatt 11kg-ot fogyott. Nagyon gyenge, egy emeletnyi lépcsőzés után le kell ülnie. Hidegrázás, láz nem volt, de borzong, fázékony.

Mellkasi panasza nincs.

### Labor eredmények

2019.01.02 10:10 - KKKO HbA1c (KKKO)

HBA1C-IFCC: 130.0(H) mmol/mol; HBA1C: 14.0(H) %;

2019.01.02 10:08 - Központi Labor Sürgös (KPLA)

WBC: 7.93 Giga/L; L-NEU: 84.0(H) %; Eozinofil: 0.1 %; Bazofil: 0.6 %;

Monocita: 3.2 %; Limfocita: 12.1(L) %; NEUABS: 6.66 Giga/L;

BASABS: 0.05 Giga/L; Eozinofil: 0.01(L) Giga/L; Monocita: 0.25 Giga/L;

Limfocita: 0.96(L) Giga/L; IGsz: 0.5 %; vvt sz: 5.63 Tera/L;

Hemoglobin: 173(H) g/L; Hematokrit: 0.50 L/L; MCV: 89.3 fL;

MCH: 30.7 pg; MCHC: 344 g/L; L-RDWQ: 11.7 %; NRBC%: 0.00 %;

THRCY: 275 Giga/L; MPV: 12.5 fL; INR: 0.94 INR; Glükóz: 26.4(H) mmol/L;

T.bilirubin: 7.8 umol/L; CN: 5.6 mmol/L; Kreatinin: 92 umol/L;

Se. Hs: 588(H) umol/L; Kreat-kináz: 45 U/L; LDHIFC: 192 U/L;

GOT: 34 U/L; GPT: 46 U/L; GGT: 78(H) U/L; LIP: 27 U/L;

## Epikrízis

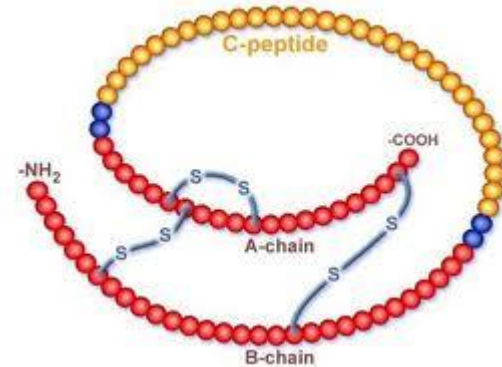
Diagnózisok: LADA (autoimmun 1-es típusú cukorbetegség)

A 33 éves férfi felvételére novum felismert, igen magas vércukorértékekkel és ketózissal járó cukorbetegség miatt került sor. Etiológiája az eddigi eredmények alapján LADA - késői manifesztációjú 1-es típusú cukorbetegség. Autoimmun markerek vizsgálata folyamatban.

Lege artis intenzifikált inzulinkezelésre állítottuk be humán inzulinnal. Dietetikai és diabeteses oktatásban részesült, önállóan adja magának az inzulint és a vércukor stix ellenőrzést is elsajátította. Vércukorértékei javultak. Microvascularis szövődmények irányában végzett vizsgálataink enyhe albuminuriát mutattak, ennek ellenőrzése szükséges. Szemészeti szövődmény nincs. Látótér vizsgálata megtörtént szemészeti javaslat alapján, lelettel kontroll szemészeti vizsgálatra jelentkezzen!

## KIEGÉSZÍTŐ VIZSGÁLATOK

### C-peptid

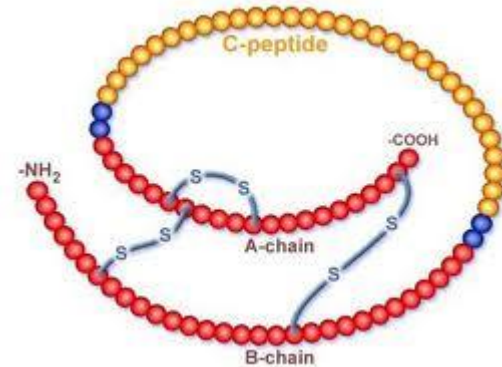


**Referencia tartomány: 0,3-1,4 nmol/l (0,8-4,2 ng/ml).**

- proinzulin molekula a szekréció előtt elhasad inzulinra és C-peptidre.
- C-peptid az inzulinnal azonos mennyiségben jut ki a plazmában.
- Jelzi a pankreász endogén inzulintermelését.
- Mérése: szigetsejtes daganatok diagnosztizálása, pre-diabétesz, hipoglikémia kivizsgálása, endogén inzulintermelés.
- Emelkedett a C-peptid szint: inzulinóma, 2-es típusú diabétesz, veseelégtelenség
- Csökkent értékek: 1-es típusú diabétesz

## KIEGÉSZÍTŐ VIZSGÁLATOK

# INZULIN



**Referencia tartomány: éhomi állapotban 18-170 pmol/l (2,6-25 mU/l).**

- Diabétesz mellitusz klasszifikációja / predikciója
- Béta-sejt aktivitás kimutatása
- Emelkedett értékek: inzulinóma, nezidioblasztózis, policisztás ovárium szindróma, inzulin rezisztencia, II. típusú diabétesz, exogen inzulin bevitel, szulfanilurea kezelés esetén.
- Csökkent értékek: I. típusú diabétesz esetén.

**Kiegészítő vizsgálat**

## **HOMA-INDEX számítása (homeostasis model assessment)**

**Éhomi INZULIN \* éhomi GLÜKÓZ**

**Referencia tartomány: <4.4**

- Magas értékek: inzulin rezisztenciát jelez

## KIEGÉSZÍTŐ VIZSGÁLATOK

# AUTOANTITESTEK

- **Veszélyeztetett egyének kimutatására**  
T1DM: 75-85%+ (egyébként: 0,5%)

Islet cell autoantibodies: ICA

Glutamátsav dekarboxiláz autoantitest: GADA

Tirozin-foszfataz IA-2 autoantitest: IA-2A

Inzulin autoantitestek: IAA

Kimutatás: szövetkivonatokon, immunoassayvel.

# Genetikai vizsgálatok

HLA-DR3 (30%)

HLA-DR4 (95%) hisztokompatibilitási gének.

((nem diabéteszes populáció: 40%))

## KIEGÉSZÍTŐ VIZSGÁLATOK

### **Egyéb hormonok**

Glukagon, IGF, adrenalin, növekedési hormon, tiroxin,  
szomatosztatin

## Diabetes szövődményei

- **Akut**
  - 1, Diabetikus ketoacidózis
  - 2, Hyperglükémiás hyperozmoláris állapot
    - ketózis nélkül
  - 3, Tejsavas acidózis
  - 4, Hypoglykémia

LABORATÓRIUMI HÁTTÉR NÉLKÜL NEM SZABAD KEZELNI  
Vércukor, vér pH, vérgáz, elektrolitok

# Diabeteses ketoacidózis

- Tünetei:
- 1, Dehidratáció, fokozott vízvesztés miatt
- 2, Hiperglikémia, 15 mmol/l felett vagy ennél nagyobb
- 3, Mély és gyors légzés, acetonszagú lehelet
- 4, Ketonok vérben és vizeletben ( $\beta$  OH-vajsav, aceton)
- 5, Metabolikus acidózis (pH<7.3, bikarbonát <15 mmol/l)
- Terápia: az 1,2 és 5 pontokon

# KETONANYAGOK

**Referencia tartomány: szérumban 20-40  $\mu\text{mol/l}$  (0,2-0,4 mg/dl)**

$\beta$ -hidroxi-vajsav, acetecetsav és aceton.

Normális körülmények között: perifériás szövetek az acetacetátot és a  $\beta$ -hidroxi-butirátot gyorsan felveszik és eloxidálják. Az aceton az acetacetátból keletkezik dekarboxilációval.

Éhezéskor, vagy a szénhidrát- és lipid-anyagcsere zavaraiiban: 3-5 mmol/l, fokozódik az ürítésük a vizelettel. A gyakorlat számára elégséges a szemikvantitatív vizsgálat.

Vizelet tesztsíkok: nitroprusszid-nátriummal az acetecetsav és az aceton ibolyaszínű komplexet képez.

## Diabetes szövődményei

- **Késői**
- **-mikrovaszkuláris** komplikációk (kiserek, kapillárisok)
- Nő az erek permeabilitása. Mikrocirkulációs zavar--- hipoxia. Retinopatia, nefropátia: recehártya, vese károsodás. 1-es típusu DM-ben
- **-makrovaszkuláris** komplikációk (közép és nagyméretű ütőerek) Ateroszklerózis (gyorsabb , fiatalabb korban) Főleg 2-es típusú DM-ben
- **-diabéteszes neuropatia:** leggyakrabban végtag (de lehet gyomor), éjszakai fájdalom, külön kezelni
- **-fertőzések iránti fokozott hajlam**

NINCS SPECIFIKUS LABORVIZSGÁLAT A SZÖVŐDMÉNYEK KIMUTATÁSÁRA:

Mikroalbuminuria

30 – 300 mg/nap; ebben az időszakban terápiásan befolyásolható!!!

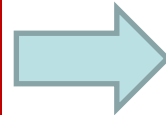
# Diabetes hosszú távú szövődményei

- Glükóz nem enzimatikusan kapcsolódik a fehérjékhez.

Kötőszöveti fehérjék

Szérumfehérjék

Vörösvérsejtekben  
levő fehérjék



AGE

Fruktózamin

Glikált  
hemoglobin

# AGE-képződés



A diabeteses szövődmények HELYE a szövet (kötőszövet, érfal).

A szövődmények kialakulásában az AGE (advanced glycation end products) termékek játszanak szerepet.

# AGE-mérés



Bőr  
autofluoreszcencia  
= SAF

# Sajnos,

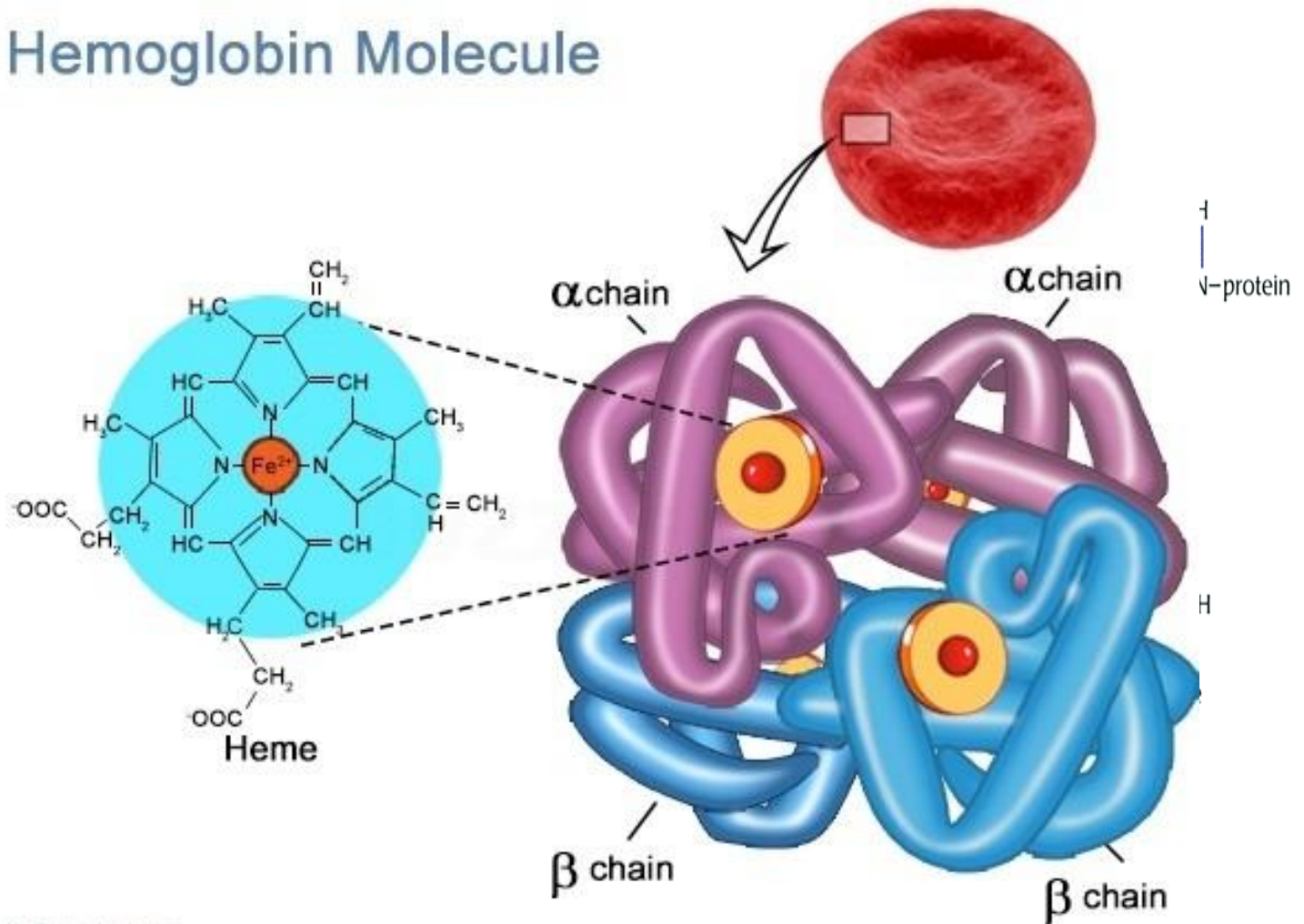
## a helyzet nem ennyire rózsás:

- standardizáció hiánya
- interferáló tényezők
- klinikai kimenetellel /  
paraméterekkel kapcsolat kevésbé  
ismert  
EZÉRT helyettesítő markerre van  
szükség



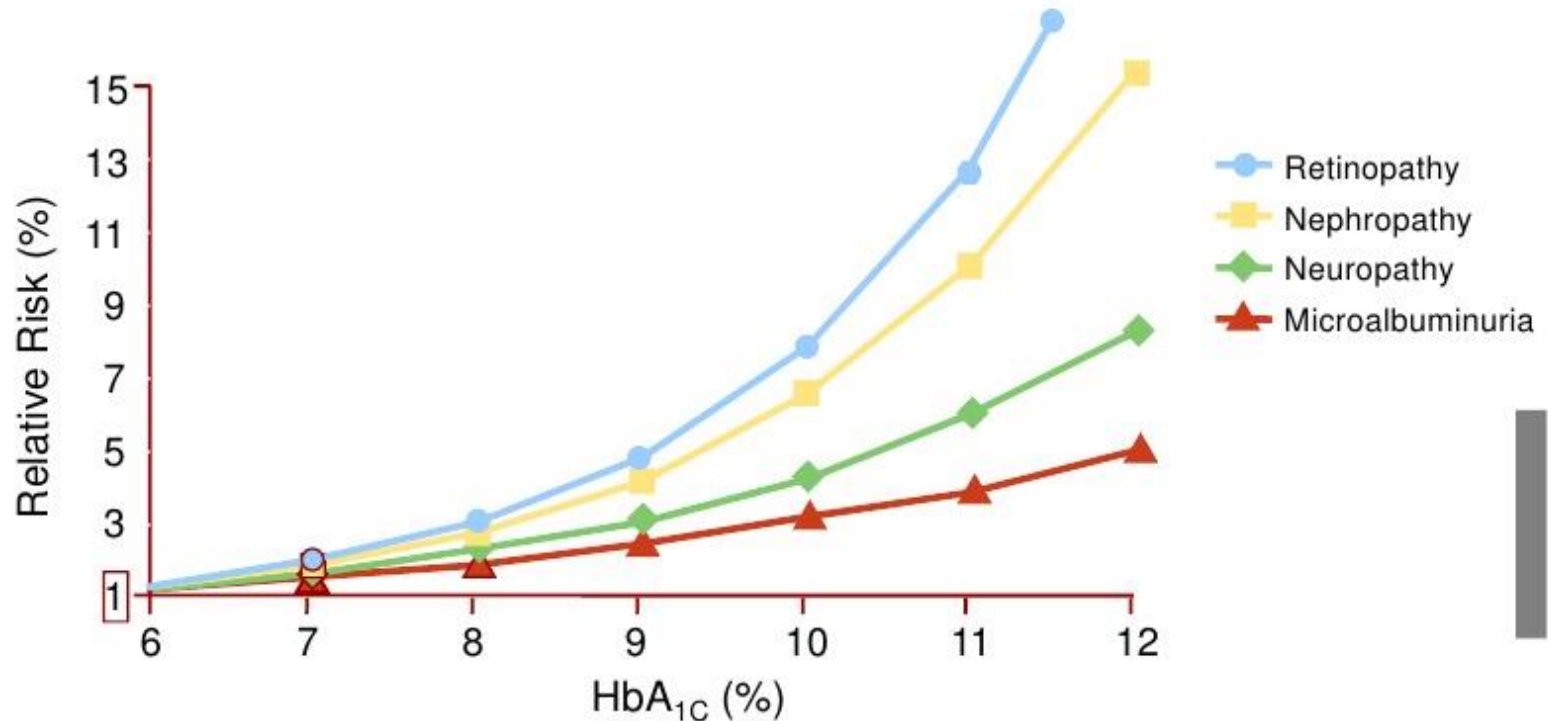
# EZ A MARKER A GLIKÁLT HEMOGLOBIN

Hemoglobin Molecule



# Relationship of HbA<sub>1C</sub> to Risk of Microvascular Complications

Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)



# Mit is mérünk?

## HEMOGLOBIN:

4 db (2 alfa, 2 béta) láncból áll

4 hem molekula

cca 250 – 300 millió Hb molekula / vvt

béta láncokon a valin nem enzimatikusan glükózt köt

HbA0 ( $\alpha_2\beta_2$ ): 90%

HbA1

HbA1: N terminális valin, különböző cukorokkal glikálva

HbA1a1: fruktóz 1,6 difoszfát N terminális valin

HbA1a2: glükóz 6 foszfát N terminális valin

HbA1b: ismeretlen szénhidrát N terminális valin

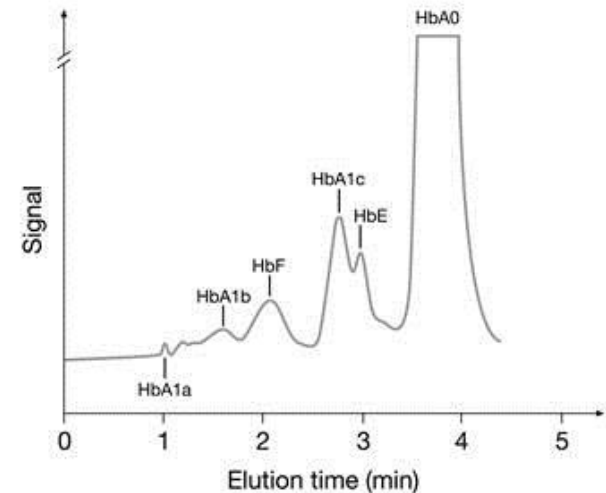
HbA1c (60-80%): glükóz N terminális valinhoz való kapcsolódása  
(beta-N-1-deoxi fructosil komponens)

HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ )

HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ )

Össz glikált hemoglobin: HbA1c + nem N-terminális helyeken glikált

Hb (15 egyéb helyen; akár 40-50%-ért felelős)



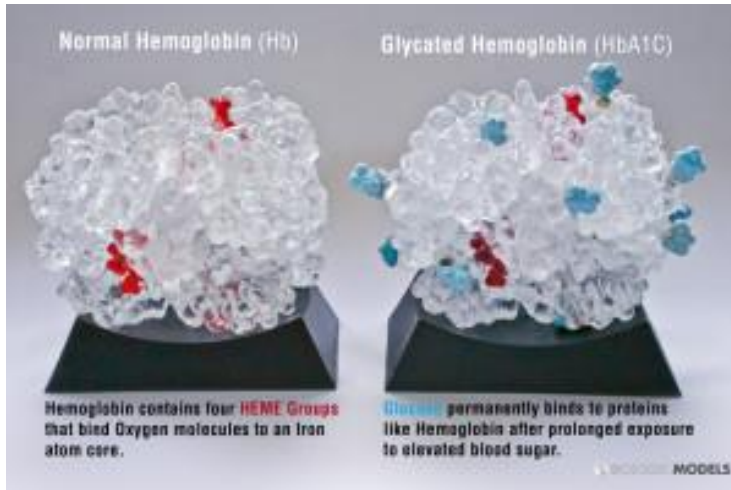
# Miből mérünk?

- EDTAs (lila kupakos) vér
- vénás és kapilláris vér egyaránt használható
- Esetleg: szűrőpapírra szárított vérminta
- a nap során bármikor levehető

Stabil:

- 2 – 8 °C-on 1 hétig
- -70 °C-on 1 évig.
  
- -20 °C-on való tárolás kerülendő

# Mérés alapja

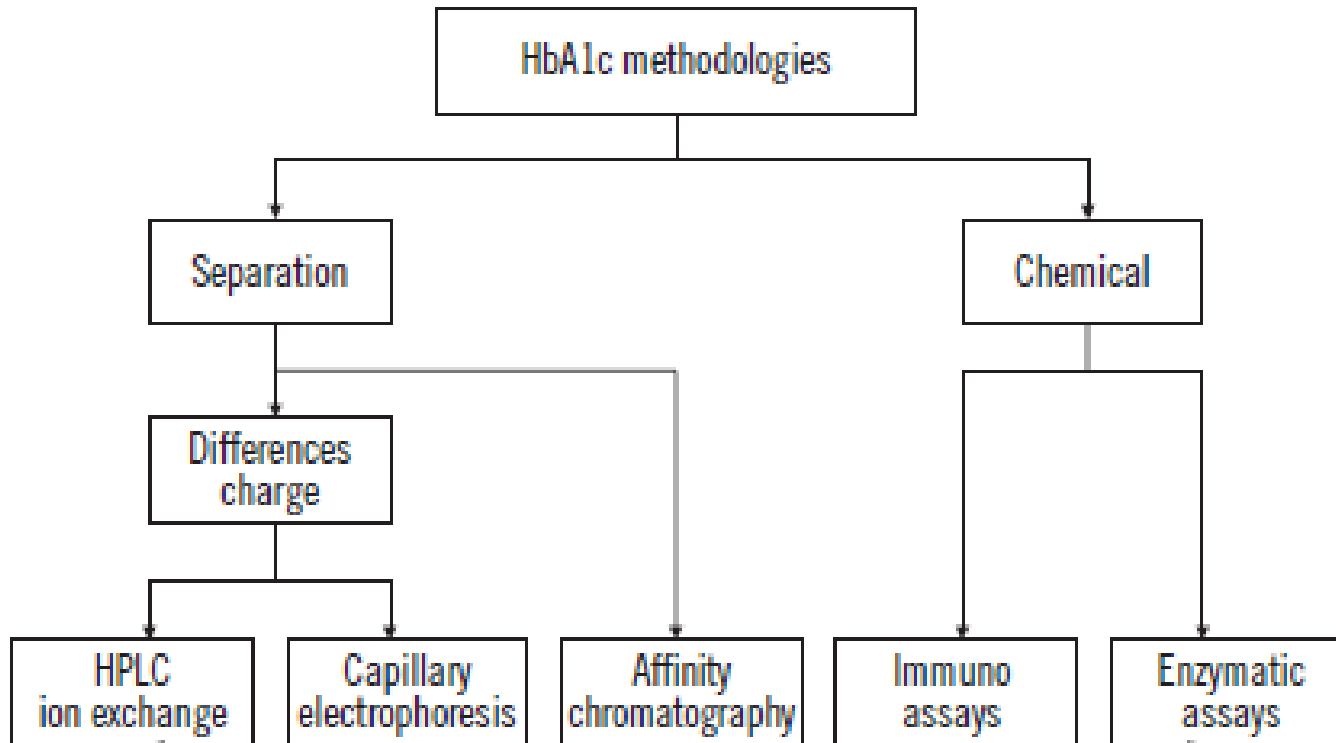


Glikáció következtében:

1. töltésviszonyok megváltoznak
2. antigenitás megváltozik
3. szerkezet megváltozik

Több mint 100 féle HbA1c mérő módszer

# Főbb módszertípusok



Bio-Rad CDM System  
CDM 5.1 VII TURBO Instrument

PATIENT REPORT  
V2TURBO\_A1c\_2.0

Patient Data

Sample ID: Unknown-1-39  
Patient ID:  
Name:  
Physician:  
Sex:  
DOB:

Analysis Data

Analysis Performed: 09/06/2010 18:55:19  
Injection Number: 39  
Run Number: 11  
Rack ID: 0006  
Tube Number: 2  
Report Generated: 11/06/2010 14:35:46  
Operator ID:

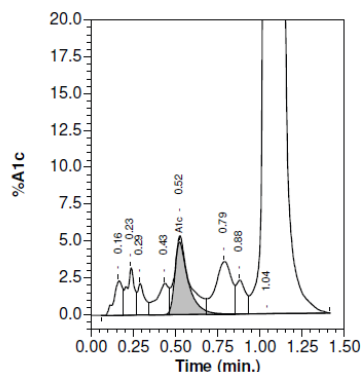
Comments:

Peak Name	IFCC mmol/mol	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1a	---	---	1.0	0.161	32941
A1b	---	---	1.2	0.232	39666
F	---	---	0.8	0.287	25659
LA1c	---	---	1.3	0.433	42133
A1c	30	4.9	---	0.523	109277
P3	---	---	3.0	0.786	95651
P4	---	---	1.1	0.877	35576
Ac	---	---	88.1	1.040	2814708

Total Area: 3,195,611

HbA1c (IFCC) = 30 mmol/mol

HbA1c (NGSP) = 4.9 %



3. ábra: Nem diabetikus (normál) minta

Bio-Rad CDM System  
CDM 5.1 VII TURBO Instrument

PATIENT REPORT  
V2TURBO\_A1c\_2.0

Patient Data

Sample ID: Unknown-1-38  
Patient ID:  
Name:  
Physician:  
Sex:  
DOB:

Analysis Data

Analysis Performed: 09/06/2010 18:53:42  
Injection Number: 38  
Run Number: 11  
Rack ID: 0006  
Tube Number: 1  
Report Generated: 11/06/2010 14:35:37  
Operator ID:

Comments:

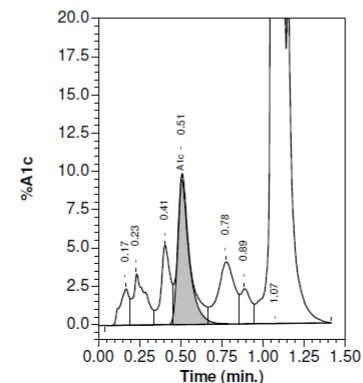
Peak Name	IFCC mmol/mol	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1a	---	---	1.4	0.165	31282
A1b	---	---	2.7	0.230	59971
LA1c	---	---	3.4	0.406	76905
A1c	80*	9.5*	---	0.508	159876
P3	---	---	4.4	0.775	99359
P4	---	---	1.5	0.887	33611
Ac	---	---	79.6	1.073	1797385

\*Values outside of expected ranges

Total Area: 2,258,389

HbA1c (IFCC) = 80\* mmol/mol

HbA1c (NGSP) = 9.5\* %



4. ábra: Diabetikus minta, emelkedett HbA<sub>1c</sub> szinttel

# Módszerek: előnyök és hátrányok

Elválasztástechnika  
(CV%: 2-3%)

Előny: pontos, robusztus,  
Hb variánsok láthatóak,

Hátrány: egyedi készülék,  
külön rezort, drágább,  
interferencia variánsokkal

Immunanalitika / enzimes assay  
(CV%: 5-6%):

Előny: nagy teljesítmény, gyors,  
olcsóbb [600 német pont], Hb  
variánsok nem interferálnak

Hátrányok: Hb variáns nem  
látható, sokszor két teszt (totál  
Hb ill. HbA1c), pontatlanabb

# Zavaró tényezők

**Hemoglobin variánsok** – elválasztástechnikai módszerekkel esetén láthatóak

**Béta-talasszémia**: béta-láncok termelődése gátolt; HbF és HbA2 szintek nőnek

**HbF szint emelkedés**: 25% felett nem értékelhető a HbA1c (újszülöttnél ne kérjük...)

1%-os HbF emelkedés esetén

IA: relatív 1%-kal csökken;

AC: relatív 0,7%-kal nő.

IEC és CE általában elkülöníti.

**Poszttranszlációs modifikáció**: karbamilált Hb, pre-HbA1c

**900 Hb variáns**; 99% 4 fő kategória

S: fekete, mediterrán, indiai

C: fekete, indián

E: dél-ázsiai

D: általános

Bio-Rad CDM System  
CDM 5.1 VII TURBO Instrument

PATIENT REPORT  
V2TURBO\_A1c\_2.0

Patient Data

Sample ID: Unknown-1-39  
Patient ID:  
Name:  
Physician:  
Sex:  
DOB:

Analysis Data

Analysis Performed: 09/06/2010 18:55:19  
Injection Number: 39  
Run Number: 11  
Rack ID: 0006  
Tube Number: 2  
Report Generated: 11/06/2010 14:35:46  
Operator ID:

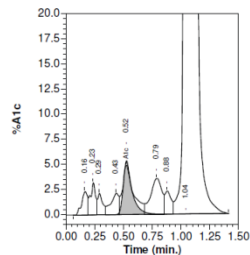
Comments:

Peak Name	IFCC mmol/mol	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1a	---	---	1.0	0.161	32941
A1b	---	---	1.2	0.232	39686
F	---	---	0.8	0.287	25659
LA1c	---	---	1.3	0.433	42133
A1c	30	4.9	---	0.523	109277
P3	---	---	3.0	0.786	95651
P4	---	---	1.1	0.877	35976
Ao	---	---	88.1	1.040	2814708

Total Area: 3,195,611

HbA1c (IFCC) = 30 mmol/mol

HbA1c (NGSP) = 4.9 %



3. ábra: Nem diabetikus (normál) minta

Bio-Rad CDM System  
CDM 5.1 VII TURBO Instrument

PATIENT REPORT  
V2TURBO\_A1c\_2.0

Patient Data

Sample ID: Unknown-1-38  
Patient ID:  
Name:  
Physician:  
Sex:  
DOB:

Analysis Data

Analysis Performed: 09/06/2010 18:53:42  
Injection Number: 38  
Run Number: 11  
Rack ID: 0006  
Tube Number: 1  
Report Generated: 11/06/2010 14:35:37  
Operator ID:

Comments:

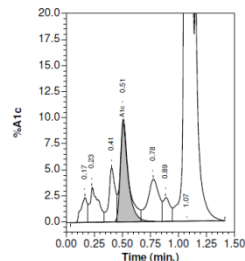
Peak Name	IFCC mmol/mol	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1a	---	---	1.4	0.165	31282
A1b	---	---	2.7	0.230	59971
LA1c	---	---	3.4	0.406	78905
A1c	80*	9.5*	---	0.508	159876
P3	---	---	4.4	0.775	99389
P4	---	---	1.5	0.887	33611
Ao	---	---	79.6	1.073	1797385

\*Values outside of expected ranges

Total Area: 2,258,389

HbA1c (IFCC) = 80\* mmol/mol

HbA1c (NGSP) = 9.5\* %



4. ábra: Diabetikus minta, emelkedett HbA<sub>1c</sub> szinttel

Bio-Rad CDM System  
VARIANT II TURBO Instrument

PATIENT REPORT  
V2TURBO\_A1c\_2.0

Patient Data

Sample ID: Unknown-1-4127  
Patient ID:  
Name:  
Physician:  
Sex:  
DOB:

Analysis Data

Analysis Performed: 12/08/2008 16:39:46  
Injection Number: 4127  
Run Number: 118  
Rack ID:  
Tube Number:  
Report Generated: 12/08/2008 16:46:02  
Operator ID:

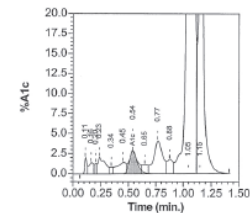
Comments:

Peak Name	Calibrated Area %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.5	0.110	13060
A1a	---	0.7	0.164	17811
Unknown	---	0.3	0.202	6393
A1b	---	1.7	0.234	41421
Unknown	---	0.3	0.341	7591
LA1c	---	1.2	0.448	30371
A1c	5.2	---	0.538	69572
Unknown	---	0.7	0.646	17213
P3	---	4.1	0.766	101523
P4	---	1.2	0.877	28772
Ao	---	50.2	1.046	1243867
Variant Window	---	36.7	1.150	909532

Total Area: 2,479,116

A1c Concentration =

5.2 %



5. ábra: Több kisebb mennyiségű komponens (ismeretlen csúcsok) integrálva  
RESZLETES: A CDM 5.1 VII TURBO Instrument

# Zavaró tényezők

## Emelkedést okoz

Hipertrigliceridémia (IEC+)  
hiperbilirubinémia (IEC+)  
aspirin  
Urémia  
aplasticus anémia  
életkor (10 évente 0,1%)  
etnikum

## Csökkenést okoz

HbC, HbS  
E/C-vitamin  
hemolitikus anémiák  
terhesség  
akut/krónikus vérvesztés  
súlyos nefropátia  
májbetegség  
dialízis  
malária

# Eredmények értékelése

Klinikailag szignifikáns változás: 0,5%-os eltérés két egymást követő mintából.

Ennek feltétele:

Az azonos mintákból történő ismételt mérések esetén a kapott eredmények között a relatív szórás (CV%)

- A laboron belüli <3%
- a laborok között különböző módszerek esetében <5%;
- egy módszer esetében <3%

Ez pedig korántsem magától értetődő

# Megoldás: standardizáció

Világszerte egy referencia-eljáráshoz viszonyítják a tesztek (IFCC)

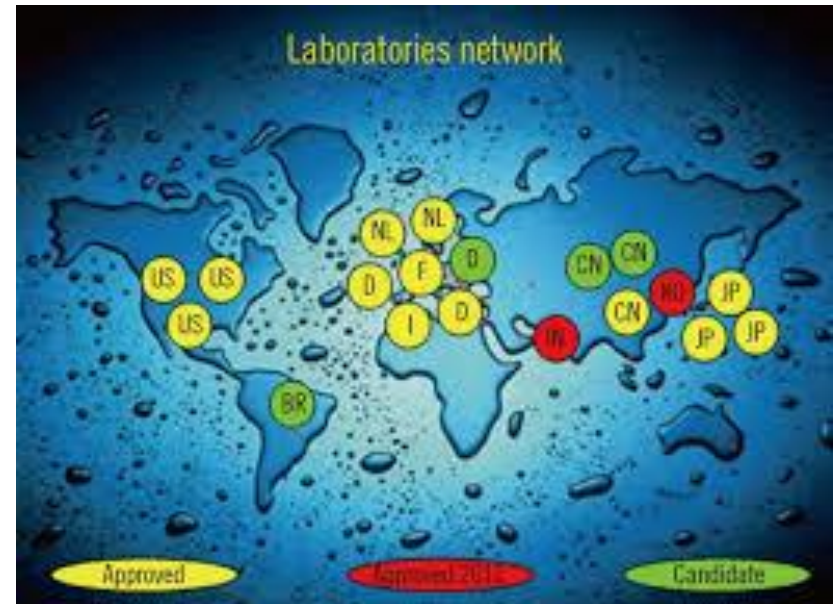
Referencia anyag kidolgozása: tiszta HbA1c standardot és

HbA0-t kevernek össze meghatározott arányban.

Ezután proteinázzal emésztik a keveréket. HPLC-CE-vel, vagy HPLC-MS-sel mérik.

Globálisan IFCC- referencia laboratóriumok.

Gyártók standardjait erre vezetik vissza / ezekkel mérik össze.



<http://www.ngsp.org/>

# Következmény

1. Összehasonlíthatóvá váltak a különböző módszerekkel kapott eredmények
2. Időben követhetővé váltak az egyes betegek
3. Lehetőség nyílt arra, hogy SI mértékegységre áttérjenek (mmol/mol)

## Mértékegység

mmol/mol vagy %?

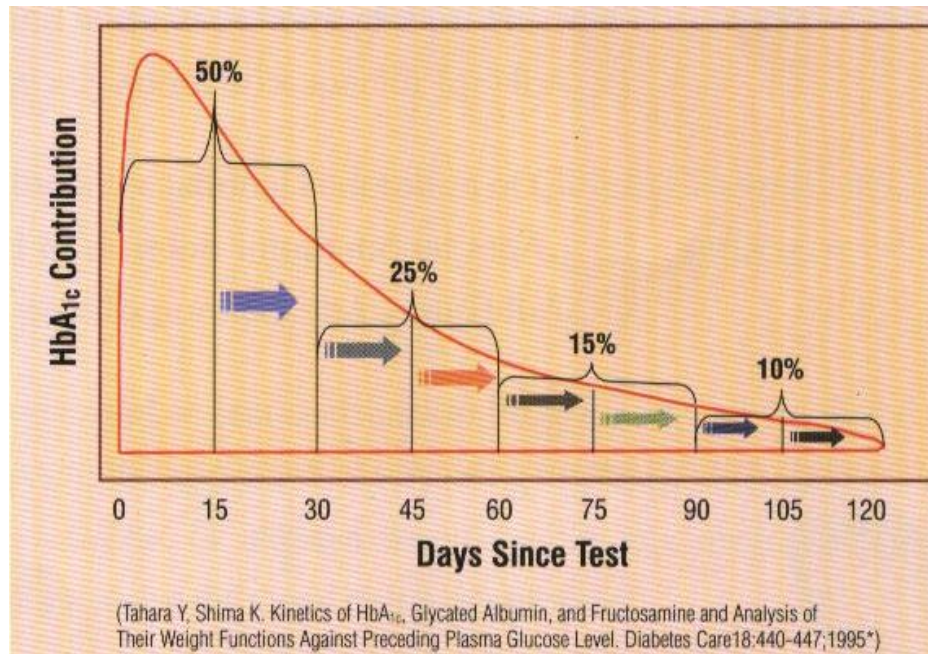
$NGSP\% = 0,0915 * IFCC \text{ mmol/l} + 2,15$   
(%: ez NEM AZ a %)

$IFCC \text{ mmol/l} = 10,93 NGSP\% - 23,5$

HbA1c (%)	HbA1c (mmol/mol)
13	119
12	108
11	97
10	86
9	75
8	64
7	53
6	42
5	31

# Mire használható az eredmény?

Anyagcsere-állapot monitorozása: a HbA1c az elmúlt 2 – 3 hónap átlagos vércukorszintjét tükrözi




A HbA1c 50%-a az első 30 napi, 40%-a 31-90. napi és 10 %-a a 91-120. napi glükózkoncentráció eredményeként jön létre

# HbA1c és eAG

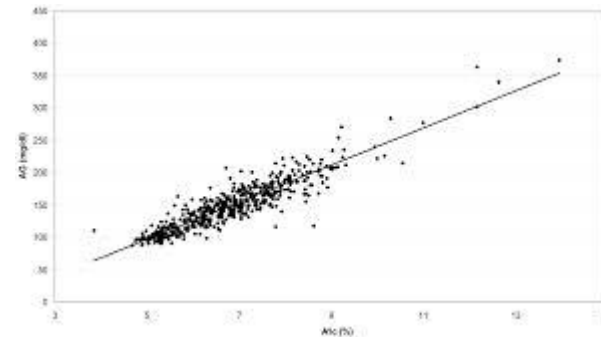
Becsült átlagos vércukor: eAG:

ADA, EASD & IDF támogatta ADAG vizsgálat  
10 központban 507 T1DM, T2DM és kontroll egyén  
Átlagos vércukor: legalább 2 nap CGM 4 alkalommal,  
legalább heti 3 nap otthoni vércukorszint-ellenőrzés

 American Diabetes Association  
ADAG Study: "Translation" of HbA1c into eAG

HbA1c (%)	eAG	
	(mg/dl)	(mmol/l)
5	97	5.4
6	126	7.0
7	154	8.6
8	183	10.2
9	212	11.8
10	240	13.4

www.diabetes.org 1-800-DIABETES



$$\text{eAG(mg/dl)} = (28.7 * \text{HbA1c}) -$$

**46.7,  $r^2=0.84$**

Probléma: kevés klinikai adat, különösen alcsoportok esetében

# HbA1c: célértékek és DM diagnosztika

Standard interpretation norm*	IFCC (mmol/mol)	NGSP (%)
Normal reference range	20-42	4-6

# HbA1c vs. glükózsztint a DM diagnosztikában

## HbA1c előnyei a glükózzal szemben:

1. mintavétel után stabil
2. betegen belüli ingadozás napok között: <2%  
(éhomiai glükóz esetében 10-15%)
3. stressz, akut betegség kevésbé befolyásolja
4. könnyű a mintavétel

általános célérték: <7%  
<5,8%: alacsony kockázat  
>6,4%: diabetes  
5,8 – 6,4%: DM kockázata

nő

# HbA1c diagnosztikus értékével kapcsolatos kérdések

1. BIZTOSAN minden csoportban ugyanazok a vágóértékek?
2. Mérési bizonytalanság?
3. Mi van az átmeneti tartománnyal?
4. Egyéb (kór)állapotok befolyásoló hatása?
5. Hogyan változnak az eddigi besorolási határok (IGT, prediabetes)?
6. Milyen a pontos reláció az OGTT eredményéhez?

Standard interpretation norm*			IFCC (mmol/mol)	NGSP (%)
Normal reference range			20-42	4-6
Decision limits	Monitoring therapy	Target treatment	53	7
		Limit change therapy	64	8
Diagnosis	Low risk	<40	<5.8	
	Increasing risk future diabetes	40-46	5.8-6.4	
	Diabetes	>46	>6.4	

Aktuálisan inkább kockázat, mint definitív  
diagnózis

# HbA1c diagnosztikus értéke korlátozott az alábbi állapotokban

Csak akkor használható diagnózis felállítására, ha a következő állapotok kizárhatóak:

- terhesség
- 1-es típusú diabetes
- friss diabetes
- akut pancreasbetegség
- Gyógyszer indukálta hiperglikémia
- hemoglobinopátiák
- Súlyos anémia
- **veseelégtelenség**
- májelégtelenség
- dialízis
- HIV fertőzés

Ráadásul a pontos vágóérték (6,5%?) sem ismert.

# HbA1c terápiás célértékeket befolyásolja

Célérték: nem egyértelmű. Egyedileg kell megállapítani.

- Alacsonyabb célérték: hosszabb életkilátás, kevésbé intenzív terápia
- Magasabb célérték: rosszabb általános állapot, hipoglikémiás hajlam, gyermek- és serdülőkor, előrehaladott érszövődmények
- Nagyon alacsony érték: akár még emeli is a vascularis szövődmények kockázatát

# Mikor mérendő?

## **Javasolt mérési gyakoriság:**

évi 2 alkalommal stabil állapotú diabeteses betegeknél;  
évenként 4 alkalommal, ha rossz a diabetes kontroll, vagy ha  
gyógyszerváltás történt.

Kórházi kezelés esetén – amennyiben a korábbi 3 hónapról nincs  
eredmény – mérni kell diabeteses betegnél.

## **Ismétlendő a teszt (lehetőleg másik módszerrel):**

klinikai képpel össze nem egyeztethető eredmények

HbA1c értéket befolyásoló kórképek

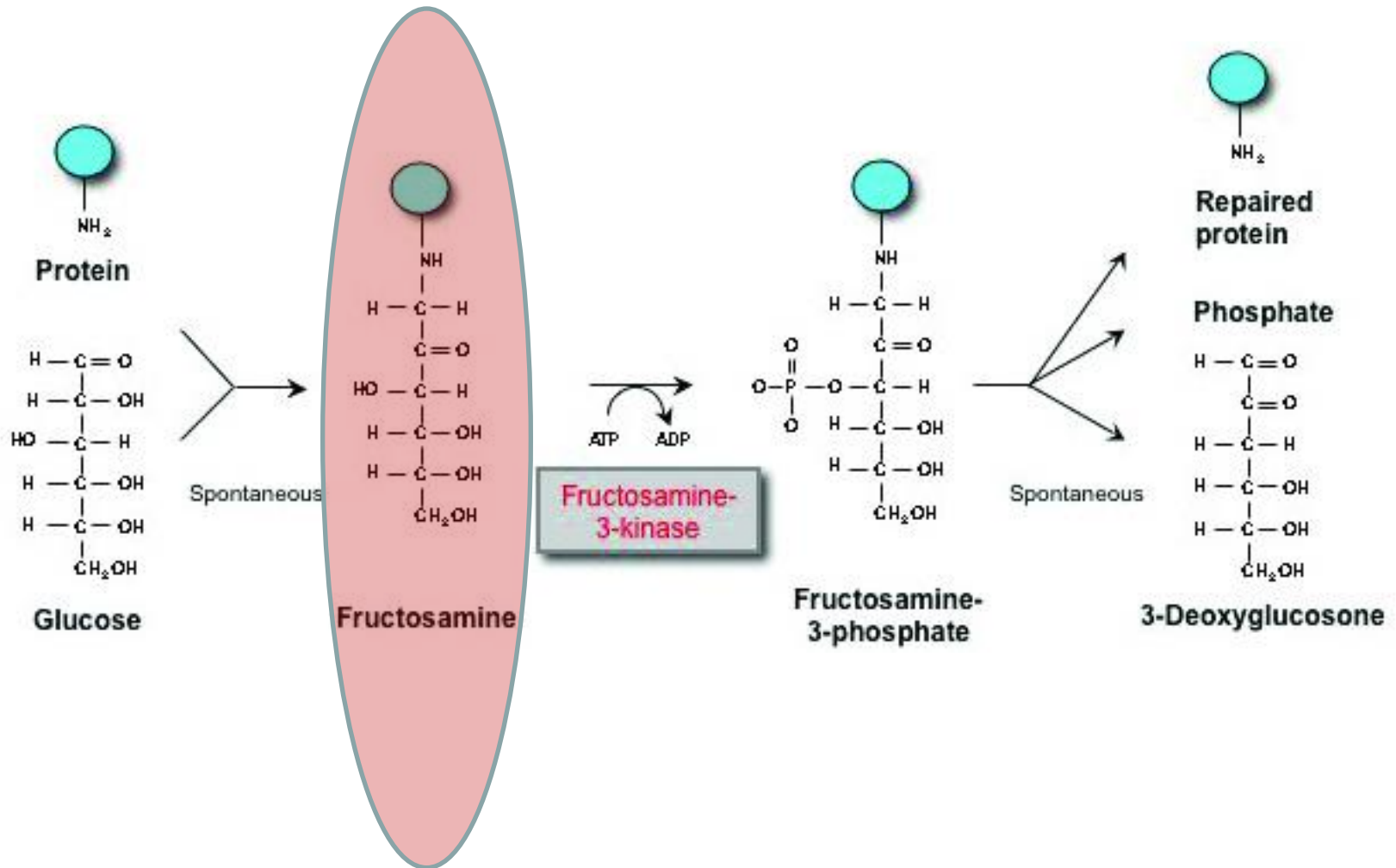
(nagyon alacsony értékek: hemolitikus anémia, vagy variáns  
jelenlétét fel kell vesse)

## **OEP:**

Évi kb. 1 milliárd Ft

3 hónapon belüli ismételt mérést nem támogat

# Fruktózamin, amikor a HbA1c teszt nem használható



# Fruktózamin

## Kimutatására számos módszer

Hasonló jellegű standardizációs problémák, mint a HbA1c-vel  
Aktuálisan: kolorimetriás módszerrel, kémiai reaktivitás alapján. Gyors eredmény

A fruktózamin és a HbA1c közötti erős az összefüggés

$$\text{HbA1c} = 0,017 * \text{fruktózamin } (\mu\text{mol/L}) + 1,61$$

Nem egyértelmű, hogy kell-e az összfehérje vagy albumin szintekre korrigálni

**Minta:** Natív cső

Az analit szobahőmérsékleten 7 napig, hűtőben 14 napig, fagyasztva 30 napig stabil.

Hemolizált minta: tévesen magas értékek

**Eredményt befolyásolja:** fehérje turnover változása

Májbetegségek

Nephrosis szindróma

Pajzsmirigybetegség

Paraproteinémia

Magas C-vitaminszint

# Fruktózamin

**Referenciatartomány:** életkortól és nemtől függ

Nem diabeteses személyeknél: 175-280  $\mu\text{mol/L}$

Albumin szintre korigálva: 4,7-6,5  $\mu\text{mol/g}$  albumin

Kisebb albuminszint – kisebb fruktózaminszint

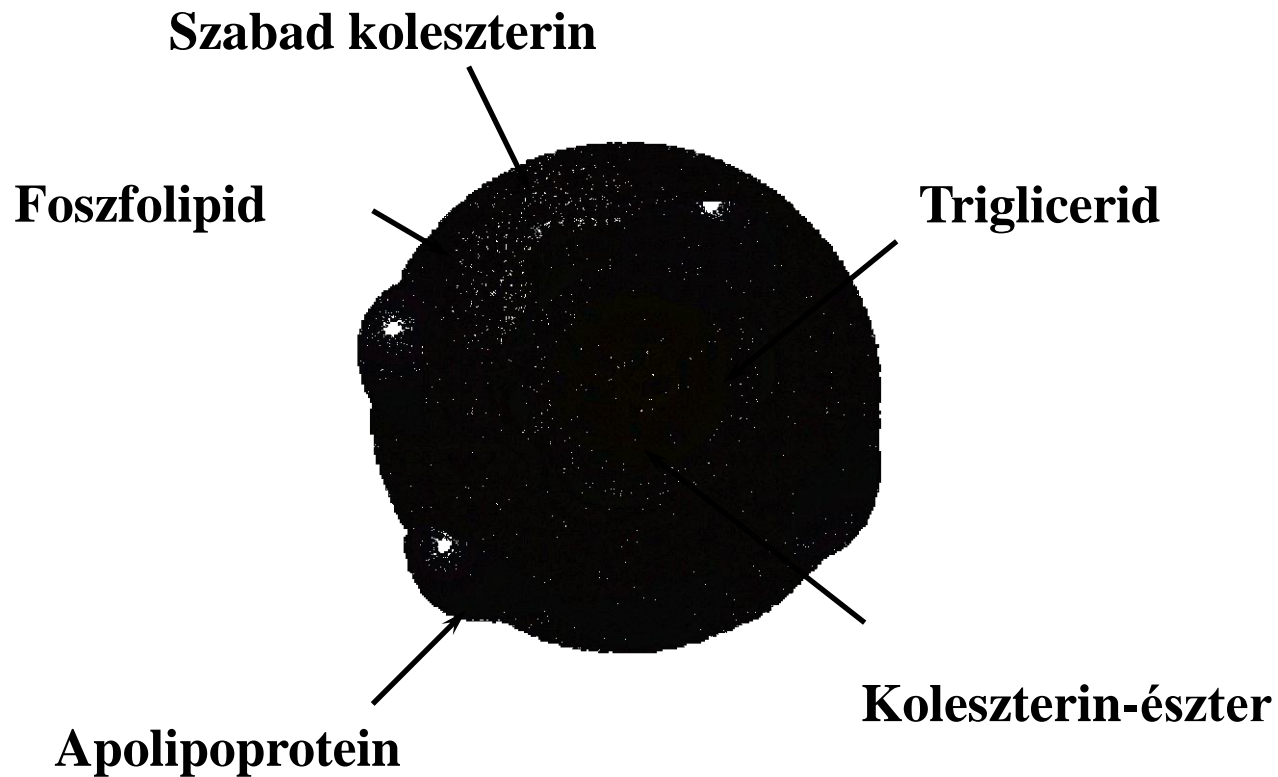
Kontrollált diabetes: 210-421  $\mu\text{mol/L}$

Nem kontrollált diabetes: 268-870  $\mu\text{mol/L}$

Rendszeres mérés informatívabb



# Zsíryanycsere-zavarok



## Friedrichsen-féle felosztás (primer hiperlipidémiák)

Fenotípus	Chol	Tg	Chy	VLDL	IDL	LDL	Genetikai ok
I	+	+++	++			alacsony	LpL hiány, ApoC-II hiány
IIa	++	normális		normális		++	Familiáris hyperchol
IIb	++	++		++	Normális vagy +	++	Familiáris kombinált hyperlipemia
III	++	++	+	+	++	alacsony	Familiáris III típusú hyperlipemia
IV	+	++		++		normális	Familiáris kombinált HPL Familiáris hypertg.
V	+	++	++	++		alacsony	Familiáris hypertg ApoC-II hiány

## **Secundaer hyperlipoproteinaemia:**

diabetes mellitus  
metabolikus szindróma  
Köszvény  
Elhízás  
hypothyreosis  
terhesség  
ösztrogén, szteroidszedés  
nephrosis szindróma  
alkoholizmus  
gyógyszermellékhatás  
obstruktív májbetegségek

# Döntően 4 paraméter:

Paraméter	Normális	Határérték	Kóros
<b>Össz-koleszterinszint (mmol/l)</b>	5,2 alatt	5,2-6,2	6,2 fölött
<b>LDL koleszterin (mmol/l)</b>	3,4 alatt	3,4-4,2	4,2 fölött
<b>HDL koleszterin (mmol/l)</b>	1,6 felett	1 – 1,6	1 alatt
<b>Trigliceridszint (mmol/l)</b>	0,9 alatt	0,9-1,42	1,42 fölött

**MINDIG AZ EGYÉB KOCKÁZATI TÉNYEZŐKKEL EGYÜTT KELL ÉRTÉKELNI!!!**

# Kockázat alapján változik:

Kockázati kategória	Célérték	LDL-koleszterin	Összkoleszterin
I.	ISZB és ISZB ekvivalensek, Kockázat >20%	2,6	4,0
II.	2 vagy több rizikófaktor, kockázat < 20%	3,4	5,2
III.	0-1 kockázati tényező	4,1	6,5

# Koleszterin

- 25-40% 'szabad' formában
- 60-75% észterifikált telítetlen zsírsavakkal
- Együttesen: 'össz koleszterinszint'
- Kizárólag apolipoproteinekkal együtt kering
  
- Minta: szérum vagy plazma

# Koleszterin

koleszterin észter + szabad koleszterin



Koleszterol eszteráz

szabad koleszterin + szabad zsírsavak



Koleszterol oxidáz

kolesztenon + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: színes terméket képez fenollal és 4-aminoantipirinnel

# Fontos

- 3 perces vénás kompresszió emeli a koleszterinszintet 10%-kal
- Állásban emelkedik
- 5%-os napi ingadozás

Metodikát zavarja:

Hemoglobin, bilirubin (extrém magas érték),  
aszkorbinsav (extrém magas dózis)

# Trigliceridszint mérés

- Lipázzal / eszterázzal történő kezelést követően szabad glicerol mérése
- Számos módszer

## Fontos:

- Az érték nő, ha tartósan komprimálják a vénát
- Alvadékos mintán hosszú ideig tárolás.
- Szabad glicerol is van a mintában.
- Magas szabad hemoglobinszint; aszkorbinszint: tévesen alacsonyabb trigliceridszint.

# Mikor kell koleszterin / triglicerid szintet mérni?

Az ajánlások alapján minden embernek 40 éves kora előtt önállóan, vagy egyéb okból történő orvosi vizsgálat kapcsán, meg kéne mérni a szérum LDL-koleszterin és - ha mód van rá - a szérum triglicerid, és HDL-koleszterin szintjét.

Minden olyan egyén szérum összkoleszterin, triglycerid és HDL-koleszterin szintjét meg kell határozni aki:

- ismert rizikófaktorral rendelkezik ( pl. diabetes, hypertónia)
- anamnézisében kardiovaszkuláris betegség szerepel
- kardiovaszkuláris betegségek halmozódtak családjában (55 évnél fiatalabb férfi, illetve 65 évnél fiatalabb nő: elsőfokú rokon myocardialis infarktusa vagy hirtelen halála)
- xanthelasmája (vagy elsőfokú rokonának xanthelasmája) van, illetve 50 év alatt arcus corneaeja van
- lipaemiás a savója (ekkor a triglyceridet feltétlenül meg kell határozni)
- elhízott

# METABOLIKUS SZINDRÓMA

- Magas vérnyomás
- Hypertriglyceridemia
- Alacsony HDL-koleszterin
- Elhízás
- Csökkent glükóztolerancia
- Microalbuminuria (WHO)

(számos bizonytalanság, pontatlanság)

# Metabolikus szindrómához gyakran társul:

- Csökkent glükóztolerancia
- Aterogén dyslipidemia
- Endotél diszfunkció
- Protrombotikus állapot
- Hemodinamikai elváltozások
- Proinflammatorikus állapot
- Fokozott tesztoszterontermelés az ovariumban
- Alvási légzészavar

# Metabolikus szindrómához gyakran társuló betegségek:

- diabetes
- hypertonia
- polycystas ovarium szindróma (PCOS)
- nem alkoholos zsírmáj
- alvási apnoe
- cardiovascularis betegség (MI, PVD, Stroke)
- rák (emlő, prosztatata, colorectalis, máj)

Fentiek diagnosztizálásához: laborvizsgálatok

# Az emberi szervezet

Kb.  $6 \times 10^{14}$  sejtet tartalmaz.

(100000-szerese a Föld jelenlegi lakosságának).

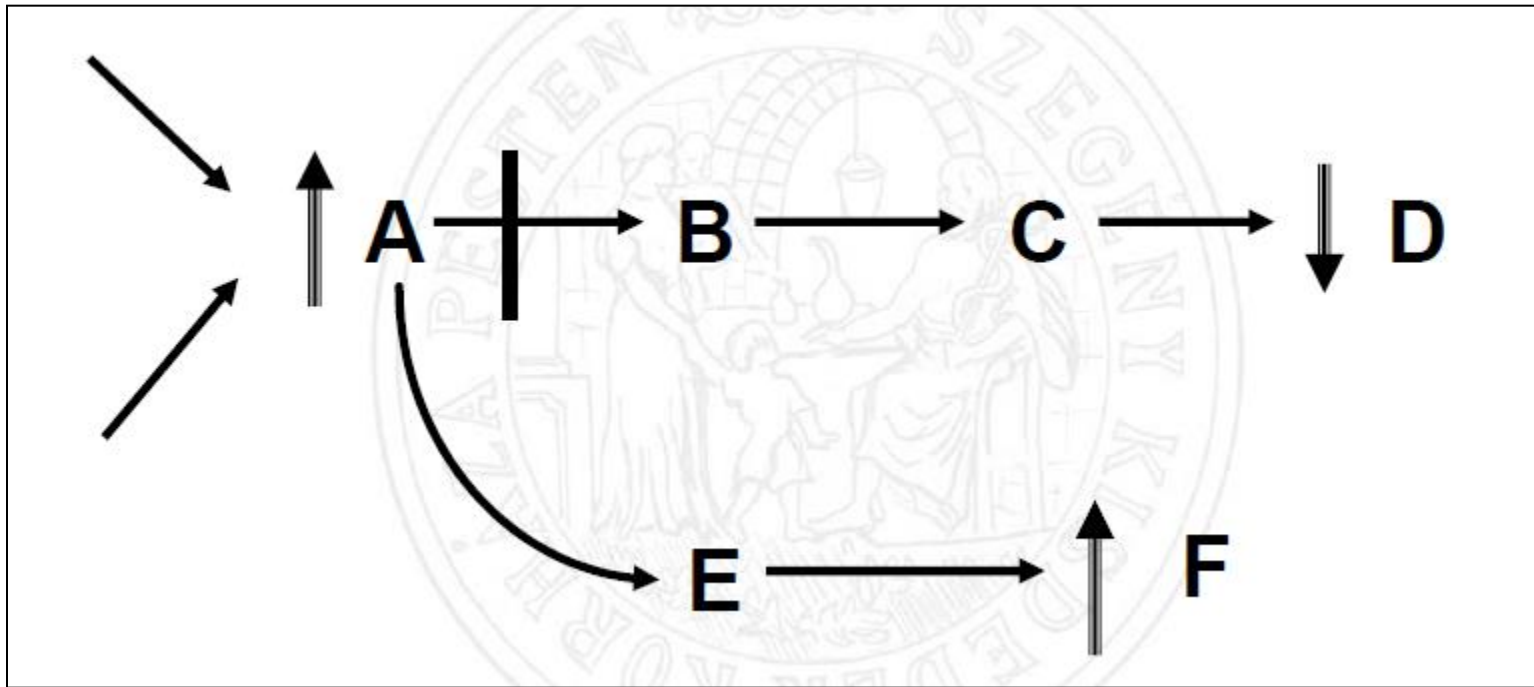
EGY sejt  $4 \times 10^{11}$  molekulát tartalmaz.

Több tízezernyi fehérjét és metabolitot.

# Metabolitok a szervezetben

- Több ezernyi eltérő struktúrájú, különböző osztályba tartozó
- Koncentráció:  $10^9$  tartományban mozog
- Méret:  $10^6$  tartományban mozog
- Eloszlás szövetenként változó
- Vér és vizelet csak áttétesen jelzi a szöveti viszonyokat
- Különböző technikai igények.

# Metabolikus betegségek: a pathomechanizmus



## Kettős probléma:

- (1) a blokk előtti metabolitok felszaporodnak (és toxikussá válnak)
- (2) a végtermék szintje csökken

# Veleszületett anyagcsere-betegségek

- Általában öröklött autoszomális recesszív
- Fiatal korban
- Esetek egy részében diétával kezelhető
- Vérmintából diagnosztizálható (kóros metabolitszintek!!!)
- szűrőprogramok

# A kiterjesztett újszülöttkori szűrővizsgálattal felismerhető kórképek

## **Aminósav anyagcsere zavarok:**

Fenilketonuria

Jávorfaszörp betegség

Tirozinémia I, II típus

Citrullinémia I (argininoszukcinát szintáz hiány, A

Arginoszukcinát aciduria (arginoszukcinát liáz hiány)

Homocisztinuria

## **Zsírsav oxidációs zavarok:**

Rövid-láncú acil-CoA dehidrogenáz hiány (SCAD)

Közép-láncú acil-CoA dehidrogenáz hiány (MCA)

Hosszú-láncú hidroxil-acil-CoA dehidrogenáz hiány (HMG)

Nagyon hosszú-láncú acil-CoA dehidrogenáz hiány (MCC)

(VLCAD)

Multiplex acil-CoA dehidrogenáz hiány (MADD)

Karnitin-palmitoil tanszferáz hiány (CPT-I, CPT-II)

Karnitin transzport zavara (CT)

Diéta, szubsztitúció révén sok esetben megelőzhető



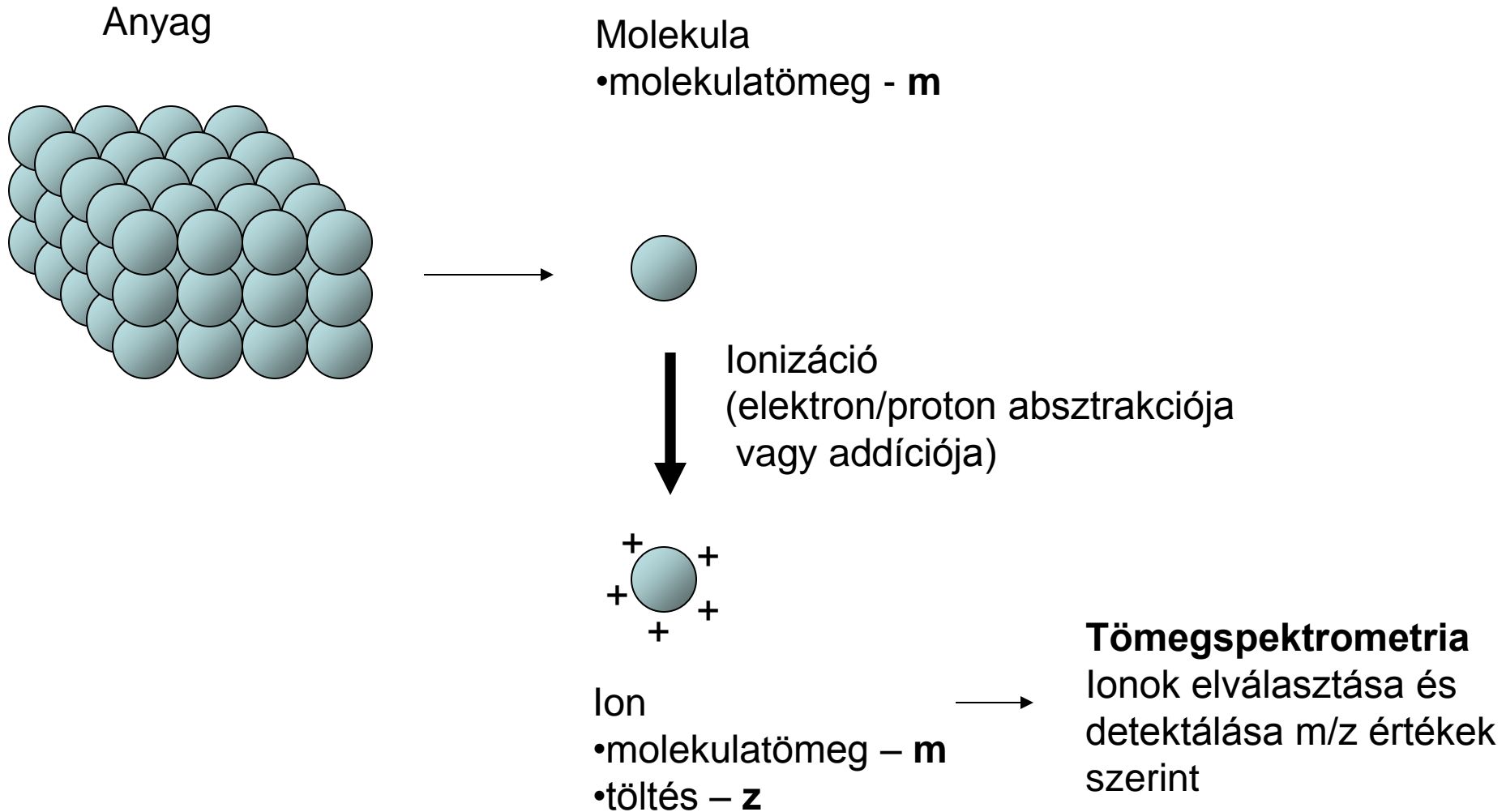
ak zavarai:

ny (HMG)  
(MCC)

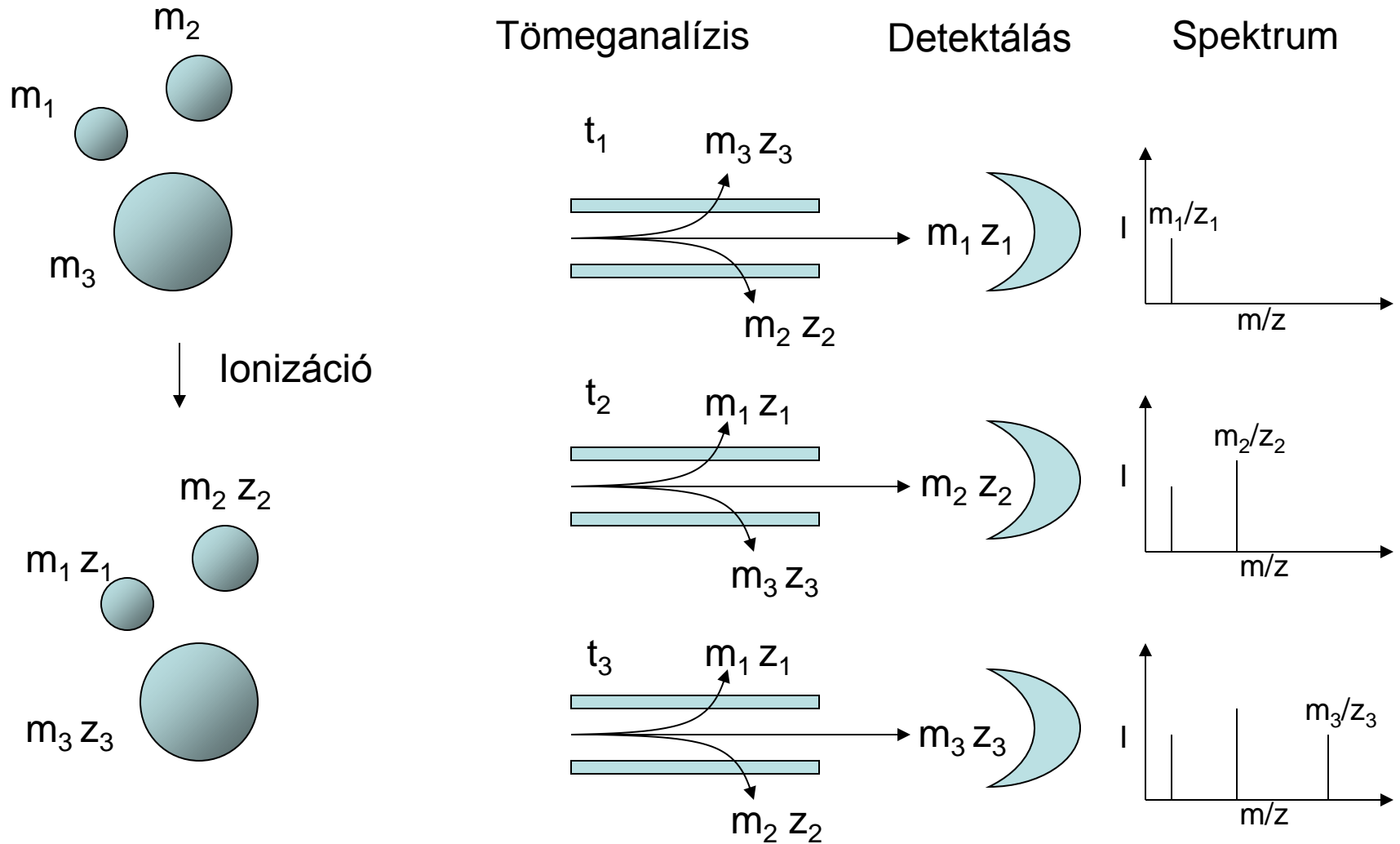
varok:

IS.

# A tömegspektrometria

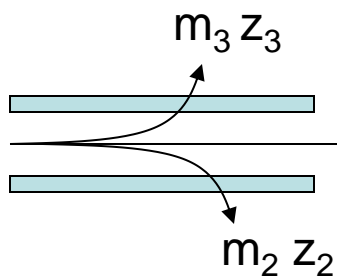


# Tömegspektrométer működése

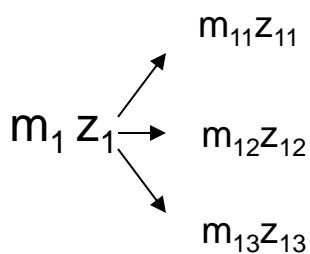


# Tandem tömegspektrometria

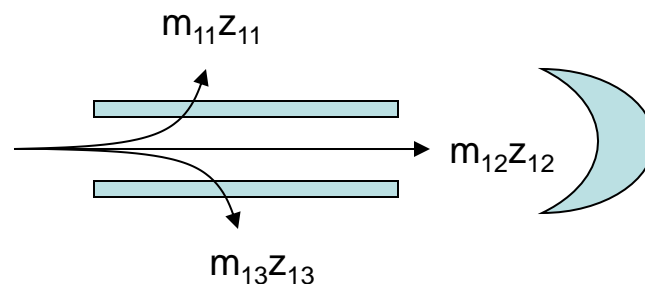
Első tömeganalízis



Fragmentáció



Második tömeganalízis



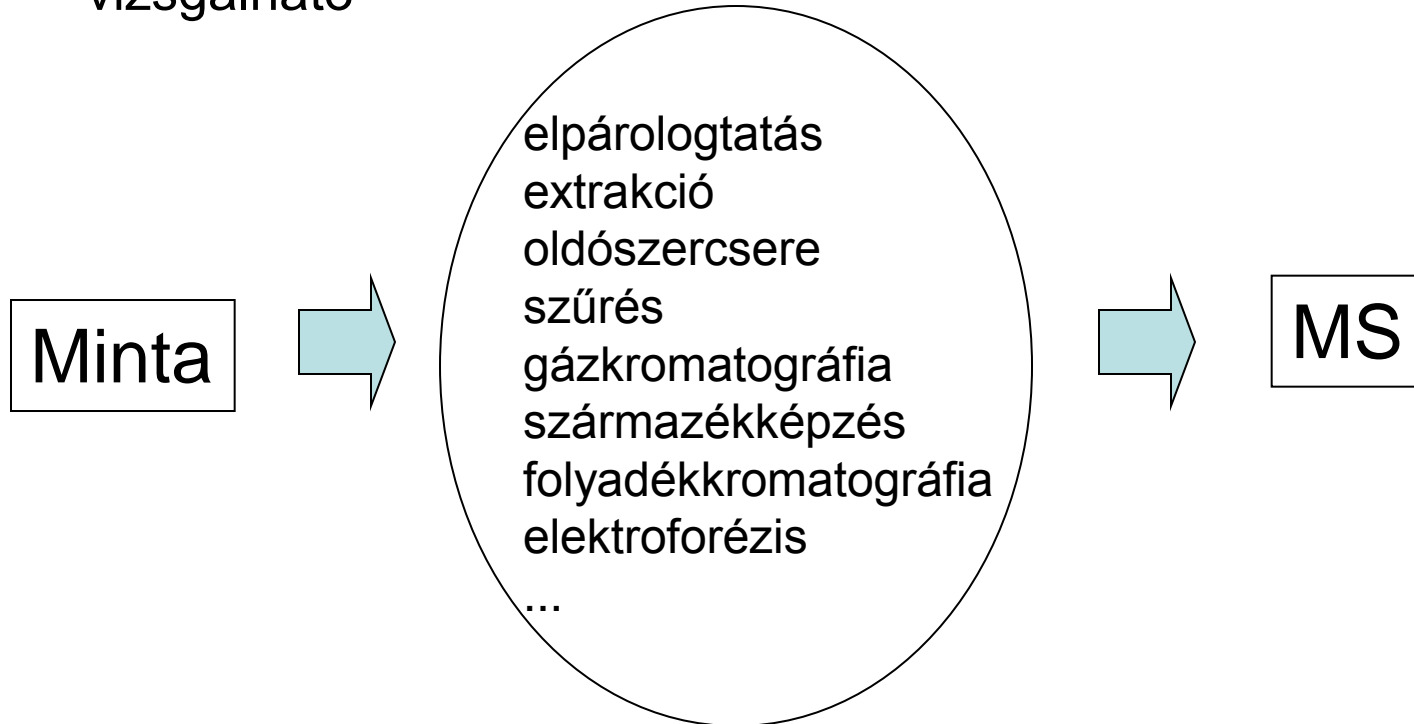
A fragmentáció során keletkezett fragmens ionok  $m/z$  eloszlása szerkezeti információt hordoz, valamint alkalmas a vegyületek azonosítására is.

← Molekulaszerkezet felderítése

→ Kvalitatív ill. kvantitatív analitika

# Tömegspektrometriásan vizsgálható minták

- Megfelelő *mintaelőkészítéssel* lényegében tetszőleges minta vizsgálható



# Tömespektrométer

**Ionforrás**

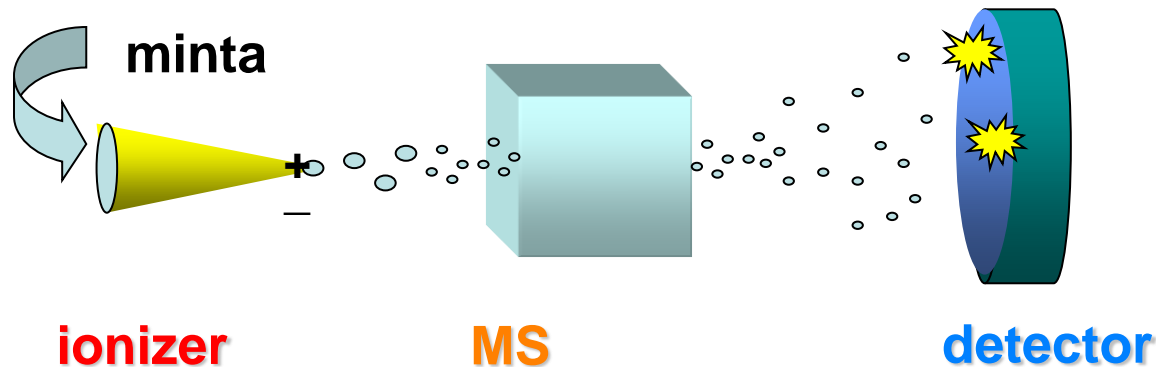
**Analizátor**

**Detektor**

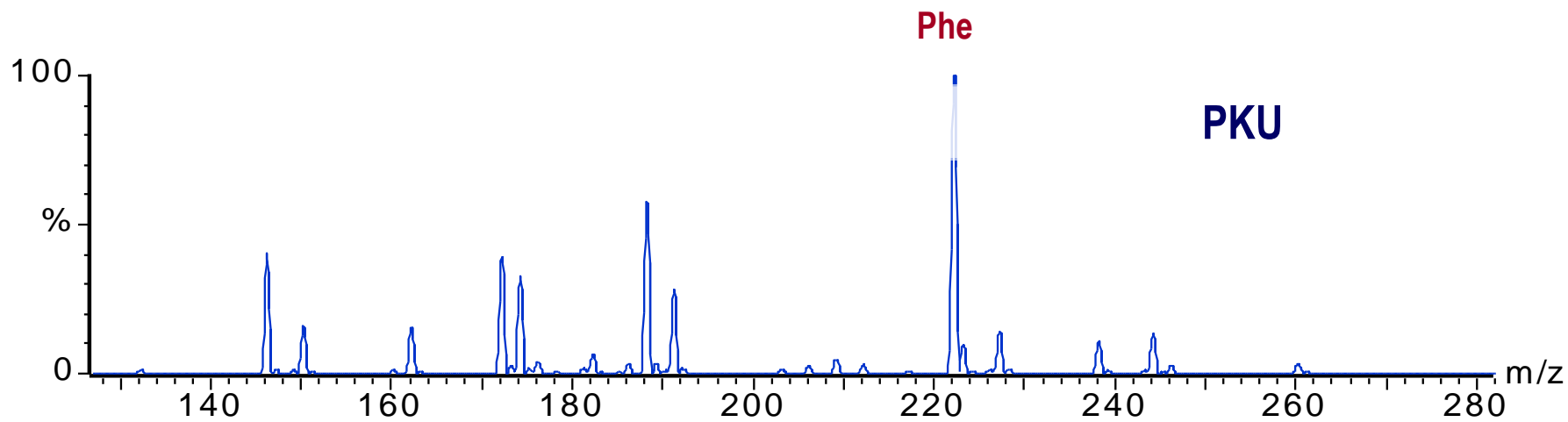
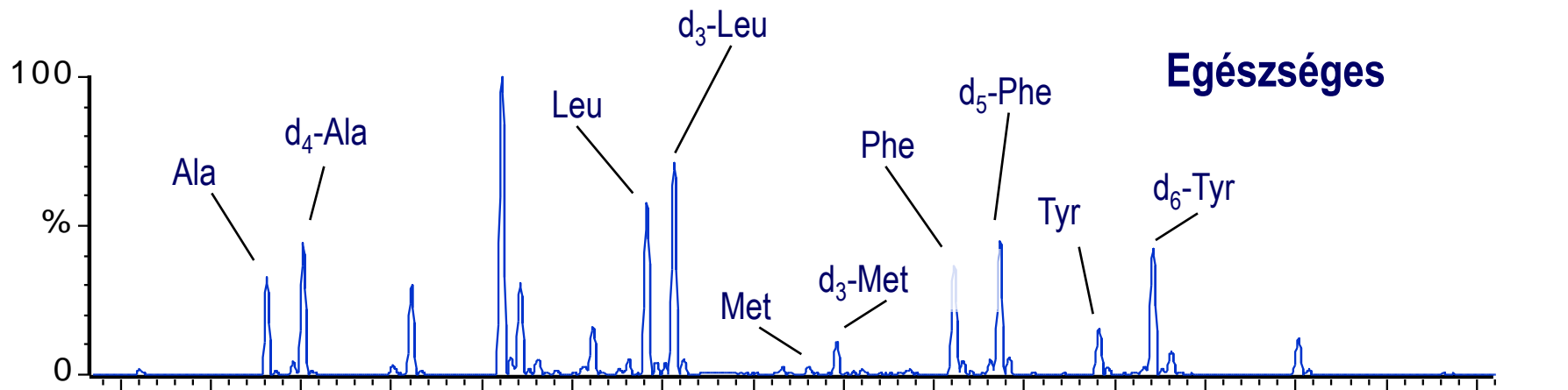


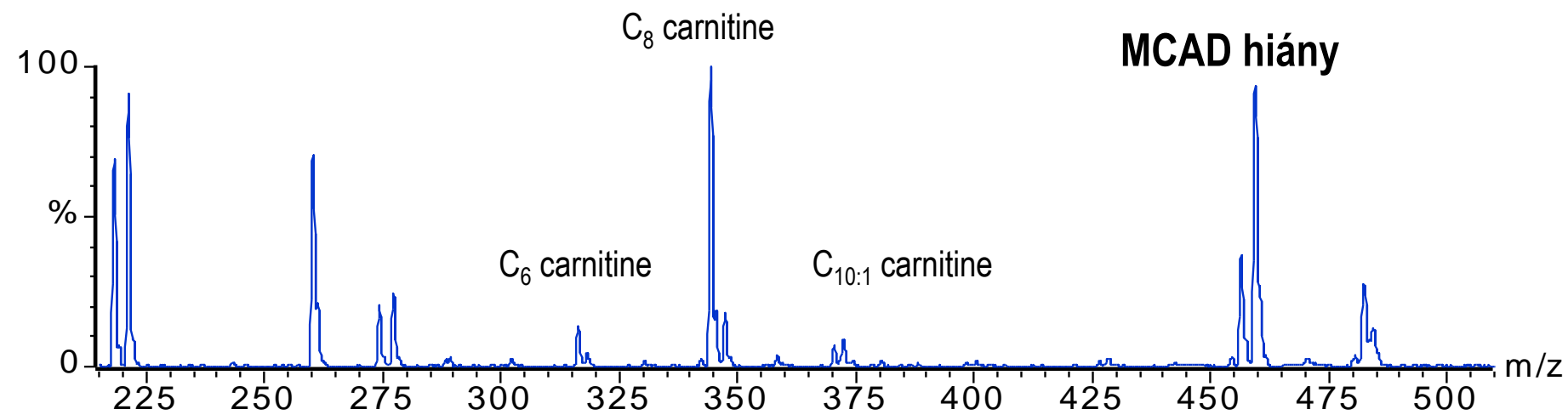
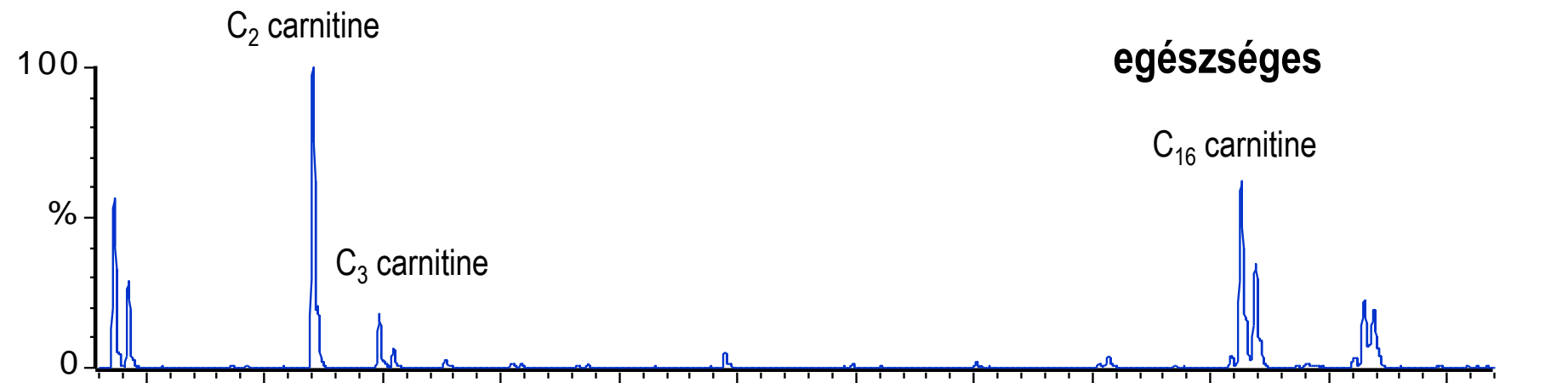
# Csecsemőkori szűrővizsgálatok: laboratóriumi módszerek

- Történelmi múlt: Guthrie-teszt (aminosav-hiányos táptalajok alkalmazása)
- ELISA (3 kórkép)
- Jelenleg: tömegspektrometria (23 kórkép)



KÉSŐBBI ÉLETKORBAN IS LEHET KÉRNI VIZSGÁLATOT





# Összefoglalás és zárszó

1. A labornak fontos szerepe van az anyagcserebetegségek diagnosztizálásában és monitorozásában
2. Az alkalmazott technika függ a koncentrációtól és az analit szerkezetétől
3. Két leggyakrabban kért anyagcserevizsgálat: vércukor-homeostasis és lipidek
4. Tömegspektrométer: kis koncentrációjú speciális metabolitok vizsgálatára, ill. szűrésre