



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Vyšetřovací metody dětského diabetu

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program:

SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ

Autor: Denisa Frnochová

Vedoucí práce: prof. MUDr. Miloš Velemínský, CSc., dr. h. c.

České Budějovice 2017

Vyšetřovací metody dětského diabetu

Abstrakt

Cílem této bakalářské práce je bližší seznámení s vyšetřovacími metodami dětského diabetu.

Diabetes mellitus je v současné době považován za civilizační onemocnění, z důvodu vysokého výskytu v populaci a v závislosti na špatný životní styl. Rozlišujeme několik forem diabetu, u dětí se nejčastěji setkáme s diabetem mellitem 1. typu. Tento typ neprodukuje žádný inzulín, který je důležitý pro přeměnu stravy na energii.

V teoretické části se zabývám shrnutím základních informací o diabetes mellitus, klinickým obrazem, možnostmi diagnostiky, různými typy léčby, přidruženými onemocněními, akutními i chronickými komplikacemi. Myslím, že by diabetici neměli cukrovku podceňovat a dodržovat režim, který jim nastaví lékař. Neboť chronické komplikace tohoto onemocnění, mohou vést až k závažným komplikacím a ty někdy až k smrti. Bohužel zejména v pubertálním období si většina diabetiků s tímto starostí nedělá nebo si myslí, že jim se nic takového nemůže stát.

V praktické části jsem se zaměřila především na diagnostické metody, a to jak z preanalytické, tak i z analytické části. V laboratoři Stafila, spol. s r.o. jsem provedla 20ti dospívajícím diabetikům několik vyšetření. Naměřené hodnoty jsem poté zanesla do tabulek a grafů. A u 5 mladistvých diabetiků z ordinace pana profesora Velemínského jsem provedla diabetický panel, za pomoci paní RNDr. Vraiové. Ze všech vyšetření, které jsem provedla, bych nejvíce vyzdvihla glykovaný hemoglobin. Díky jeho možnosti podívat se na dlouhodobou kompenzaci diabetu je rozhodně velkým přínosem pro lékaře.

Klíčová slova: diabetes mellitus, inzulín, léčba, vyšetření, děti

Investigative methods Childhood Diabetes

Abstract

The aim of this bachelor thesis is a closer introduction of the examining methods of children's diabetes.

Nowadays, diabetes mellitus is considered to be one of the lifestyle diseases because of the frequent occurrence in population and inappropriate life style. Several forms of diabetes can be distinguished. The most frequent disease children suffer from is diabetes mellitus type 1. This type does not produce any insulin which is important for the transformation of food into energy.

The theoretical part of this work is devoted to the summary of the basic information about diabetes mellitus, clinical picture, diagnostic possibilities, different treatment, associated diseases, acute and chronic complications. The diabetics should not underestimate the diabetes and they should observe the regimen recommended by doctors because chronic complications of this disease might lead to serious complications causing death in some cases.

The practical part focuses primarily on the diagnostic methods, both preanalytic and analytic. Twenty adolescent diabetics were examined in Stafila, s.r.o. laboratory. The measured results were put into tables and diagrams. Diabetic panel was carried out to five teenage diabetics from professor Velemínský's surgery with the help of RNDr. Vraiová.

The examination results might be very helpful in medical practice.

Key words: diabetes mellitus insulin, treatment , examination, children

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci s názvem *Vyšetřovací metody dětského diabetu* vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s 47b zákona č.111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č 111/1998 Sb. Zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 8.8.2017

.....

(jméno a příjmení)

Poděkování

Děkuji vedoucímu své bakalářské práce, prof. MUDr. Miloši Velemínskému za odbornou pomoc, cenné rady a vstřícnost. Dále děkuji laborantkám v biochemické části laboratoře Stafila, spol. s r.o. za ochotu při praktické části. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za velkou trpělivost a podporu.

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Historie diabetes mellitus.....	9
3	Definice diabetes mellitus.....	9
4	Anatomie slinivky břišní.....	10
5	Inzulin	10
6	Klasifikace	11
6.1	Diabetes mellitus 1. typu.....	11
6.2	Diabetes mellitus 2. typu.....	12
7	Diagnostika	13
7.1	Vyšetření při zjištění diagnózy.....	13
8	Autoprotilátky asociované s autoimunitním diabetem mellitem	15
8.1	Monogenní diabetes u dětských pacientů	15
8.2	Závislost diabetes mellitus 1. typu a dalších autoimunitních onemocnění	16
9	Léčba.....	16
9.1	Léčba inzulinovým perem – kombinace různých inzulinu	16
9.2	Léčba diabetu pumpou – používání bolusových kalkulátorů.....	18
9.3	Komplikace léčby inzulinem.....	19
9.4	Diabetologická dieta.....	19
10	Akutní komplikace diabetes mellitus.....	20
11	Chronické komplikace diabetu	21
12	Metodika	23
13	Laboratorní diagnostika – stanovení glukózy	23

14	Stanovení glukózy v moči.....	25
15	Glykovaný hemoglobin (HbA1c)	26
16	Albuminurie	27
17	C-peptid	27
18	Imunologická diagnostika diabetu mellitu.....	28
18.1	Protilátky proti buňkám Langerhansových ostrůvků	29
19	Laboratorní diagnostika autoprotílátek.....	30
19.1	Obecný postup u nekompetitivní ELISA metody	30
20	Vlastní výsledky	31
21	Interpretace výsledků.....	39
22	Diskuze	46
23	Závěr	46
24	Zdroje.....	48
25	Seznam zkratk.....	53

1 Úvod

Diabetes mellitus neboli cukrovka je onemocnění, které se v současné době rychle šíří po celém světě. Patří mezi nejčastější civilizační choroby dnešní doby. Proto také bývá v současnosti označován za epidemii 21. století. Jde o chronické onemocnění, které nelze vyléčit. Postihuje jak muže, tak ženy stejně často, a to v jakémkoliv věku. Mezi jeho největší problém patří, že akutně nebolí o to horší, však mohou být jeho komplikace. Diabetes mellitus se dělí na několik typů onemocnění, které se od sebe liší jak patogenezi, tak léčbou.

Ve své práci se budu zajímat převážně o diabetes mellitus prvního typu, neboť hlavně ten postihuje děti a dospívající. Druhý typ onemocnění souvisí především se špatným životním stylem. Z důvodu sedavého způsobu života již u dětí a jejich špatnému stravování, se i tento typ začal projevovat v mladším věku, než tomu bylo kdysi.

Diabetes mellitus 1. typu vzniká na základě autoimunitního poškození B-buněk Langerhansových ostrůvků a vede až k úplnému nedostatku inzulinu. Toto poškození může u každého probíhat různě rychle. Pro onemocnění je typická hyperglykémie a sklon ke ketoacidóze, právě v důsledku nedostatku inzulinu. Jistou roli mohou sehrát i genetické faktory, které jsou ovšem odlišné od diabetu 2. typu.

Diabetes mellitus 1. typu se většinou diagnostikuje v ambulantním zařízení. Při podezření na toto onemocnění se pacient předá do péče diabetologické ambulance, kde se okamžitě začíná s nejvhodnější léčbou.

Teoretická část

2 Historie diabetes mellitus

Název onemocnění diabetes mellitus (DM) pochází z řečtiny neboli úplavice cukrová. Za první zmínku o DM bývá považován Ebersův Papyrus z období 1550 let př. n. l. Zde cukrovku nazývají jako „podivnou nemoc“. Ve 2. století n. l. byl poprvé použit výraz „diabetes“ Aretauesem z Kappadokie. (Svačina Š., 2010)

Už ve starověku i středověku věděli, že cukrovka nejspíše souvisí s obezitou, a tak ji léčili hladovkou a důrazem na pohybovou aktivitu. V roce 1674 anatom Thomas Willis upozornil na příčinu nemoci, a to na dietní chyby. Také upozornil na neobvykle sladkou moč. V roce 1776 Brit Mathew Dobson dokázal, že sladká chuť moče je způsobena přítomností cukru v moči. A v roce 1857 český lékař Vilém Petters dokázal přítomnost acetonu v moči u diabetiků. V roce 1869 pan Paul Langerhans objevil tzv. inzulinární buňky (později přejmenovány po něm na Langerhansenovy ostrůvky). Až po 20 letech objevili Oskar Minkowsky a Joseph von Mering, tedy roku 1889, že nedostatek inzulinu v Langerhansenových ostrůvcích vede ke vzniku onemocnění diabetes mellitus. (Schott, 1944)

V roce 1921 provedli Frederick Grant Banting a jeho spolupracovník, Charles Herbert Best, experimenty s extrahováním inzulinu z psích a z telecích slinivek. A v roce 1922 jej poprvé úspěšně použili na člověka. Nejprve jej vyzkoušeli na sobě a poté na 14ti letém chlapci. Za tento úspěch byla panu Bantingovi v roce 1923 udělena Nobelova cena. Dalším mezníkem je rok 1955, kdy se začala používat perorální antidiabetika. (Holleman, 2014)

3 Definice diabetes mellitus

Cukrovka, úplavice cukrová, je onemocnění způsobené nedostatkem inzulinu nebo jeho malou účinností (inzulinová rezistence) ve tkáních. Na základě tohoto stavu dochází ke špatnému využití glukózy v organismu. Glukóza se dostává do buněk v nedostatečné míře (ty trpí nedostatkem energie), hromadí se v krvi (hyperglykémie) a dostává se do moči (glykosurie). Močí se vylučuje a váže vodu, což vede k častému močení a vyloučení většího

množství moči (polyurie). Ztráta vody se spolu s nadměrným množstvím glukózy v krvi podílí na vzniku žízně. Nedostatek inzulínu způsobuje poruchy metabolismu tuků a bílkovin. (Perušičová, 1996, str. 10.)

Jde o závažné onemocnění, které pacienta doprovází již po zbytek jeho života. Vyskytuje se jak u mužů, tak žen, u všech věkových kategorií i ras (Bartoš, 2000). Největším problémem u cukrovky jsou její komplikace, které mohou postihovat ledviny (diabetická nefropatie), oči (diabetická retinopatie) a nervů (diabetická neuropatie). Diabetici také mohou trpět pomalejším hojením ran. Tyto komplikace zvyšují morbiditu a mortalitu u populace s diabetem. (Labtest, 2010)

Díky projektu Český registr dětského diabetu, který shromažďuje data od roku 1989, víme že počet dětského diabetu se za posledních 25 let ztrojnásobil. (Šumník, 2017)

4 Anatomie slinivky břišní

Slinivka břišní (lat. *pancreas*) je žláza s vnitřní i zevní sekrecí. Měří cca 13 x 7 x 3cm, o váze 60-80 g. Nachází se retroperitoneálně na úrovni duodena. Je tvořena hlavou, štíhlejším tělem a úzkým ocasem. Krevní zásobení je jak z *truncus coeliacus*, tak z *a. mesenterica superior*. Krev odtéká do povodí *v. portae*. Většina objemu tkáně slinivky (přibližně $\frac{3}{4}$ objemu žlázy) produkuje pankreatické enzymy, jež jsou amylázy, lipázy, chymotrypsinogen, trypsinogen. Buňky pankreatických vývodů secenerují ionty a vodní část šťávy. Z iontů jsou tvořeny hydrogenuhličitaný. Denní produkce pankreatické šťávy je 1500ml, která je bezbarvá a silně alkalická. Pankreatickou šťávu odvádí do duodena *ductus pancreaticus*. Endokrinní část pankreatu tvoří buňky Langerhansových ostrůvků, produkující zejména insulin (B-buňky) a glukagon (A-buňky). Oba hormony jsou důležité pro metabolismus cukrů, regulují hladinu glukózy v krvi. (Klener, 2006)

5 Inzulin

Hlavním úkolem inzulínu je snižovat glykémii a tím ji udržovat v co nejvíce stálém rozmezí. Je tvořen v B-buňkách Langerhansových ostrůvků (endokrinní část slinivky). Je syntetizován ve formě pre-prohormonu, kdy postupným odštěpováním aminokyselin vznikne účinná struktura hormonu. Inzulin je složený ze dvou peptidických řetězců A a

B, které jsou spojeny disulfidickými můstky a spojovacím peptidem C. Receptory pro inzulín: v játrech, svalové a tukové tkáni. Inzulín zprostředkovává vstup glukózy, draslíku a aminokyselin do těchto buněk (sekundový účinek). V další fázi stimuluje proteosyntézu a tvorbu glykogenu (minutový účinek) a v poslední fázi stimuluje tvorbu tuků (antilipolytický účinek v hodinách). Pokud hladina glykémie je vyšší než 5,5 mmol/l, dojde ke stimulaci B-buněk. (Mourek, 2005)

6 Klasifikace

Rozlišujeme tři základní typy DM: typ 1, typ 2 a gestační diabetes. Také onemocnění pankreatu může též způsobit cukrovku, pokud jsou poškozeny B-buňky tvořící inzulín. (Labtest, 2010). Liší se od sebe genetickou podmíněností, etiologií, průběhem i nároky na léčbu. Mezi společné znaky patří hyperglykémie a pozdější chronické následky. Mezi normální hodnotou glykémie a diagnózou diabetu je definováno rozmezí abnormálních hodnot, které znamenají zvýšené riziko rozvoje diabetu do budoucna, tzv. porucha glukózová tolerance. Není jisté, zda je v současnosti klasifikace konečná. Je možné, že s přibývajícími novými poznatky se klasifikace rozšíří. (Klener, 2006)

6.1 *Diabetes mellitus 1. typu*

K datu 31.12. 2010 v České republice (ÚZIS) bylo hlášeno 55 811 pacientů s DM 1. typu z celkového počtu 806 230 hlášených diabetiků. Toto číslo odpovídá 6,9 % všech evidovaných diabetiků. (Česká diabetologická společnost, 2012)

Diabetes 1. typu (T1DM), též označován jako diabetes závislý na inzulínu. Neboť je zde absolutní nedostatek inzulínu. V České republice se vyskytuje asi u 7 % populace diabetiků. Obvykle se diagnostikuje u mladých lidí, a to do věku 30 let. Jde o nejčastější chronické onemocnění mladých lidí ve vyspělých zemích. Jeho příznaky se často rozvíjejí náhle. Pacient může být ve vážném stavu, až v kómatu. U těchto pacientů nalézáme vysokou hladinu glykémie, snížené pH a vysokou hladinu ketolátů (ketózou). Důvodem těchto stavů je velmi malé množství inzulínu, popřípadě může i zcela chybět. B-buňky produkující inzulín jsou v době diagnózy téměř až z 90 % destruovány a v průběhu dalších let úplně zanikají, takže život pacienta zůstává zcela závislý na inzulínu podaným v injekcích. (Labtest, 2010) Hyperglykémie způsobuje nadměrnou glykaci proteinů a to má

za následek změnu jejich fyziologické funkce, která vede k metabolickým změnám a ty dále k pozdějším diabetickým komplikacím (Krejsek, 2016).

K tomuto typu diabetu se řadí i LADA (latent autoimmune diabetes in the adults), toto onemocnění má pozvolný a mírný průběh autoimunitně podmíněné destrukce B-buněk vypadá ze začátku jako DM 2. typu. Je ovšem nezbytné zahájit léčbu inzulinem. Je tedy dost pravděpodobné, že výskyt DM 1. typu je mnohem vyšší, než jak vyplývá z výše uvedené statistiky. (Česká diabetologická společnost, 2012)

Je známo, že příčina DM 1. typu souvisí s rodinou anamnézou diabetu, autoimunitními procesy, kdy vlastní imunitní systém likviduje B-buňky a virovými infekcemi postihující slinivku. Pacienti s T1DM mohou mít časnější a výraznější komplikace než ostatní diabetici. (Labtest, 2010)

6.2 *Diabetes mellitus 2. typu*

Tento typ bývá označován jako nezávislý na inzulinu. Nemocní trpí inzulinorezistencí nebo inzulinu vytváří velmi málo k zajištění potřeby organismu. Jde o nejčastější formu diabetu, která v České republice postihuje asi 91 % diabetiků. Nemoc bývá často dědičná, vyskytuje se později v průběhu života a většina pacientů bývá obézní. Kvůli špatnému životnímu stylu dnešní populace, přibývá diabetiků 2. typu a manifestuje se již v mladším věku. (Labtest, 2010)

U DM 2. typu (T2DM) rozlišujeme dva předstupně, které bývají souhrnně označovány jako prediabetes. Patří sem porušení glukózové tolerance (Impaired Glucose tolerance – IGT) a vyšší glykémie nalačno (Impaired Fasting Glucose – IFG). Oba tyto předstupně mohou vyústit v T2DM, roční relativní riziko se udává u IFG 4,7násobné, u IGT 6násobné. Pokud se vyskytují společně, pak dokonce 12násobné v porovnání s osobami s normální glukózovou tolerancí. (Grossmanová, 2013)

V okamžiku kdy hladina glykémie přesáhne 11 mmol/l, se glukóza začne vylučovat do moči a s ní i větší množství vody. Tím vzniknou klasické příznaky pro tuto nemoc, kterými jsou polyurie a žízeň. Ztráta glukózy močí vede k hubnutí a ztráta vody k dehydrataci. Chronická hyperglykémie však nemusí působit akutní problémy, ale

nejčastěji se projeví akutní dekompenzací při větší zátěži např. při úrazu nebo infekci. Z důvodu, že prvními příznaky nemoci mohou být až chronické známky komplikací, se často na T2DM přijde náhodně, při vyšetřeních z jiného důvodu. (Navrátil, 2008)

7 Diagnostika

Diagnostika vychází z klinických příznaků a také z laboratorních výsledků. Základním vyšetřením je stanovení glykémie. Přítomnost klinických příznaků a glykémie vyšší než 7,0 mmol/l po osmihodinovém lačnění vede k diagnóze diabetes. Je nutné od sebe odlišit DM a poruchu metabolismu glukózy. Proto se doporučuje udělat oGTT (orální glukózový toleranční test), kde se 75 g glukózy rozpustí v 250 ml vody a vypije během 5min. Je-li hodnota glykémie po 2 hodinách vyšší než 11,0 mmol/l, jedná se o diagnózu diabetes. V současné době se doporučuje při oGTT, změřit hladinu glukózy již po prvním odběru a pokud je hodnota vyšší než 7,00 mmol/l, tak se pacient již nezatěžuje. O porušené glukózové toleranci mluvíme při hodnotách nižších než 11,0 mmol/l a vyšších než 7,8 mmol/l. (Klener, 2006)

Glykemický profil neboli selfmonitoring. Rozlišujeme jej na malý glykemický profil, kde se odebírá glykémie max. 4x denně a velký glykemický profil, kde se glykémie odebírá 7–9x denně. Dále se v dnešní době velmi využívá stanovení glykovaného hemoglobinu, díky možnosti sledování kompenzace diabetu za období 6–8 týdnů. (Klener, 2006) Při vyšetření mikroalbuminurie se zjišťuje přítomnost bílkoviny albuminu v moči, který poukazuje na onemocnění ledvin. Ke kontrole inzulinu se vyšetřuje C-peptid. (Labtest, 2010)

7.1 Vyšetření při zjištění diagnózy

Pokud se u pacienta prokáže DM, získá ošetřující lékař anamnestická data, provede fyzikální vyšetření, pomocná laboratorní vyšetření, proto aby mohl stanovit léčebný plán. (Česká diabetologická společnost, 2012)

Anamnéza:

- rizikové faktory (kouření, rodinná anamnéza, hypertenze)

- symptomy nemoci
- stravovací návyky
- fyzická aktivita
- podrobnosti o jiných prodělaných onemocnění
- závažnost a příčina akutních komplikací
- gestační anamnéza
- a další

Fyzikální vyšetření:

- hmotnost, výška, BMI index (podíl hmotnosti v kg a druhé mocniny výšky v metrech)
- krevní tlak
- vyšetření srdce a posouzení tepu
- vyšetření štítné žlázy
- oftalmologické vyšetření
- a další

Laboratorní vyšetření:

- glykémie nalačno a postprandiálně
- Na, K, Cl, Ca, fosfáty, močovina, kreatinin, kyselina močová v séru, ALT, AST, ALP a GMT, celková bílkovina
- lipidy (celkový cholesterol, HDL a LDL cholesterol, triacylglyceroly)
- glykovaný hemoglobin (HbA1c)
- v moči: cukr, bílkovina, ketony semikvantitativně, močový sediment, bakteriologické vyšetření (individuálně)
- individuálně C-peptid a protilátky (antiGAD, anti IA-2, IAA)

(Česká diabetologická společnost, 2012)

8 Autoprotilátky asociované s autoimunitním diabetem mellitem

Přítomnost autoprotilátek u pacientů s diabetem prokazuje autoimunitní původ onemocnění. Vyšetření autoprotilátek se provádí u příbuzných pacientů s T1DM nebo u bezpříznakových osob s genetickou predispozicí k T1DM. Případná pozitivita autoprotilátek vypovídá o pozdějším riziku vzniku T1DM. (Winter et al., 2011)

Množství autoprotilátek proti Langerhansovým ostrůvkům je více důležitý faktor z hlediska následujícího rozvoje T1DM než určitá specifická kombinace autoprotilátek. Pozitivita 4 autoprotilátek s sebou nese 50 % riziko T1DM, pozitivita 3 autoprotilátek 40,3 % riziko. U 2 pozitivních autoprotilátek je riziko 16,1 % a u positivity pouze jedné autoprotilátky je to 3,1 %. (Winter et al., 2011)

8.1 Monogenní diabetes u dětských pacientů

U dětských pacientů s diabetem provádíme vyšetření autoprotilátek jako pomocné vyšetření ke zjištění typu diabetu. Zjišťujeme, zda jde o autoimunitní nebo monogenní diabetes. Monogenně podmíněný diabetes má zhruba 5 % diabetiků, jedná se o DM způsobený pouze jedinou odchylkou v genu. Nejčastější formou tohoto diabetu je MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), který definujeme jako diabetes mellitus s časným začátkem a autosomálně dominantní dědičností. Na vzniku T1DM a T2DM se podílejí odchylky ve více genech spolu s vlivy prostředí. (Průhová, 2009)

V mnoha případech u pacientů s geneticky prokázaným monogenním diabetem bývá nesprávně diagnostikovaná jako diabetes mellitus 1. typu nebo 2. typu. Správná diagnóza je ovšem u monogenního diabetu důležitá z hlediska volby nejvhodnější léčby. (Průhová, 2009)

Nepřítomnost autoprotilátek proti Langerhansovým ostrůvkům u dětí a mladistvých s diabetem nebo výskytem diabetu v rodině, je jedním z kritérií pro genetické zjištění mutací v genech HNF1 α a HNF4 α . Tyto geny kódují vznik nukleárního transkripčního faktoru 1 a 4. Mutace genů HNF1 α a HNF4 α bývají spojeny se vznikem neautoimunitního DM s autozomálně dominantní dědičností. (Průhová, 2009)

8.2 *Závislost diabetes mellitus 1. typu a dalších autoimunitních onemocnění*

Nebývá výjimkou, že u pacientů s T1DM se současně vyskytuje další autoimunitní onemocnění. Nejčastěji se spolu s T1DM vyskytuje autoimunitní tyreoiditida. Méně častěji celiakie a autoimunitní adrenalitida, ta se postupem času může rozvinout až do Addisonovy choroby, atrofická gastritida a další onemocnění. (Vavřinec et al., 2005)

Autoimunitní tyreoiditida se nejčastěji vyskytuje u T1DM a způsobuje hypotyreózu. Mezi diabetiky se nachází zhruba u 10–15 %. U pacientů, u kterých se prokáže pozitivní nález autoprotilátek proti štítné žláze bývá závažnější průběh DM. (Vavřinec et al., 2005)

9 Léčba

Léčba vychází z podstaty onemocnění. Vzhledem k destrukci B-buněk, které neprodukují inzulin, je třeba ho tělu dodávat. K léčbě se využívá i nefarmakologická terapie založená na zdravém životním stylu (stravování a fyzická aktivita). Léčbu diabetu si stále více individualizuje a hledáme ideální léčebná schémata pro konkrétní diabetiky. V praxi je pak vidět obrovský rozdíl mezi pacienty, kteří jsou motivovaní a ukáznění se zájmem o využívání nových režimů či technologií a pacienty obtížně spolupracujícími, kde hlavním cílem diabetologa je bohužel stále nutit tyto pacienty k dodržování alespoň základního léčebného postupu. (Průhová, 2015)

9.1 *Léčba inzulinovým perem – kombinace různých inzulinu*

Jak jsem se již zmínila, diabetici 1. typu jsou již po zbytek svého života nuceni dodávat inzulin do těla injekčně. K léčbě se využívá tzv. intenzifikovaný inzulinový režim. Což znamená více injekcí denně, které se snaží co nejvíce napodobit normální rytmus endogenní sekrece inzulinu. Bazální sekrece se nahrazuje dlouhodobě účinkujícím preparátem, který je podaný 1x denně, a to večer nebo 2x denně (ráno a večer). Dvě dávky denně se dávají především u malých dětí. Dále před každým hlavním jídlem (tedy 3x denně) se podá rychle působící preparát, který nahrazuje stimulovanou sekreci. (Navrátil, 2008)

Jako náhrada bazální sekrece se nejvíce užívá lidský rekombinantní inzulin vázaný s protaminem a zinkem, který působí 12 – 24 hodin, s jistým vrcholem po 4 – 6 hodinách. Nověji se zavádějí inzulinová analoga s prodlouženým účinkem (detemir, glargin), která působí 24 – 36 hodin. Jako náhrada stimulované sekrece se užívá lidský rekombinovaný inzulin, který působí asi 4 – 6 hodin, také se využívá ultrakrátká inzulinová analoga (aspart, lispro) s trváním asi 2 – 5 hodin. (Navrátil, 2008)

Jak jsem již uvedla analoga inzulinu mají molekulu pozměněnou, tak, aby měli prodloužený účinek nebo naopak výrazně rychlejší oproti lidskému inzulinu. Díky vzájemným kombinacím inzulinových analog nebo analog a lidských inzulinů můžeme vytvořit velké množství různých schémat tak, abychom co nejlépe sestavili inzulinový program pro potřeby jednotlivých pacientů. U nově manifestovaných pacientů i již léčených se ve velké většině nahrazuje NPH inzulin za dlouze působící inzulinový analog glargin (Lantus) nebo detemir (Levemir), které zajistí bazální hladinu inzulinu bez větších výkyvů a tím umožňují lepší průběh glykemií v noci s menším rizikem nočních hypoglykemií a větší šancí na dobrou glykémii ráno při probuzení než při léčbě NPH inzulinem. Rychle působící analoga inzulinu (aspart, lispro) a glulisine můžeme použít jako náhradu lidského inzulinu před jídlem. Jejich výhodou je rychlejší nástup účinku a lepší kontrola glykémie po jídle. Ovšem krátkou dobu působení, lze považovat i za nevýhodu. Zatímco lidský inzulin pokryje v jedné dávce jedno velké a jedno malé jídlo (např. snídani a svačinu), rychle působící inzulinový analog kvůli své kratší době působení, zvládne pouze jedno jídlo. Použijeme ho tedy, pouze pokud pacient nesvačí nebo při tzv. flexibilním režimu (Průhová, 2015)

Princip flexibilního režimu: pacient si může vybrat, na jak velké jídlo má chuť, spočítat si obsah sacharidů v tomto jídle a podle nich a aktuální glykémie pak upravuje dávku inzulinu na základě stanovení tzv. inzulino-sacharidového poměru a indexu citlivosti k inzulinu. Inzulino-sacharidový poměr stanovuje, kolik výměnných jednotek (gramů sacharidů) pokryje jedna jednotka inzulinu. Možností, jak toto zjistit je hned několik. Jednou z možností je pro dospělé a dospívající pomocí vzorce 500/celková denní dávka inzulinu u inzulinových analog, 450 pokud používáme lidské inzuliny. Pro děti do 6 let

se orientačně počítá 300/celková denní dávka inzulínu pro analoga, děti mezi 6. rokem a 10. rokem používají pro výpočet číslo 350. Z důvodu, že se citlivost buněk k inzulínu během dne mění, máme několik různých indexů. Všechny potřebné indexy stanoví s pacientem lékař, pacient si pak vyzkouší jejich účinnost v praxi. (Průhová, 2015)

Pro pacienty tyto možnosti přinášejí mnoho svobody. Mohou jíst téměř, co chtějí a kdy chtějí. Ale jen za předpokladu, že umí perfektně určit obsah sacharidů v každém jídle. Také musí počítat s ostatními složkami stravy, které mohou změnit glykémii po jídle. Proto existuje glykemický index potravin, který měří, na jak dlouho jednotlivá potravina zvýší glykémii u člověka bez cukrovky. Před každou aplikací inzulínu je nutné změřit glykémii, pomocí osobního glukometru. K posouzení správně určené dávky analoga k jídlu (bolusu) je třeba měřit i glykémii po jídle. (Průhová, 2015)

Inzulín se aplikuje do míst, jako jsou paže, břicho a hýždě. Je dobré si uvědomit, že z každého místa se inzulín vstřebává jinak. Nejrychlejší je například vstřebávání z břicha. Na vstřebávání inzulínu, má ale vliv více faktorů například množství tukové tkáně, fyzická aktivita a velikost dávky. (Navrátil, 2008)

9.2 Léčba diabetu pumpou – používání bolusových kalkulačů

Dalším možným způsobem, i když ne tak používaným, je aplikace pomocí inzulínové pumpy. V současné době je to nejlepší způsob, jak zajistit fyziologické hladiny inzulínu v těle. Do inzulínové pumpy používáme pouze rychle působící inzulínová analoga. Pumpa pracuje v systému bazál – bolus. Bazální hladina inzulínu v těle je zajišťována kontinuální dodávkou velmi malých množství inzulínu v průběhu 24 hodin, která lze měnit potenciálně každou hodinu. Bolus představuje nárazově vydané větší množství inzulínového analoga, které pumpa aplikuje do podkoží na příkaz pacienta většinou před jídlem nebo na snížení vysoké glykémie. Stále častěji se můžeme setkat s inzulínovou pumpou u kojenců, batolat a předškolních dětí. Díky novým možnostem, je tato léčba dětí bezpečná a v mnoha případech má lepší výsledky než jakých lze dosáhnout na klasickém inzulínovém režimu. (Průhová, 2015)

Ve studii Blackman a kol., která zahrnovala 1 904 dětí do 6 let přinesla léčba inzulinovou pumpou zlepšení průměrné hodnoty HbA1c ze 69 na 62 mmol/mol, aniž by došlo ke zvýšení počtu těžkých hypoglykemií nebo jiných akutních komplikací diabetu. (Blackman, 2014)

9.3 *Komplikace léčby inzulinem*

Léčba inzulinem může být ovšem také doprovázena komplikacemi v podobě hypoglykémie, alergie, imunitně podmíněná inzulinová rezistence, lipodystrofie v místě vpichu. Problém může nastat u alergie, neboť může přejít až v anafylaktický šok. Pacientovi se podávají glukokortikoidy a adrenalin. Imunitně podmíněná inzulinová rezistence bývá způsobená protilátkami IgG proti inzulinu, které neutralizují jeho účinek. Lipodystrofie vzniká kvůli poměrně vysoké koncentraci inzulinu vpichované stále do jednoho místa, tím se naruší metabolismus a struktura tukové tkáně se vznikem podkožních hrbolů. Proto se doporučuje měnit místa vpichu. V místech lipodystrofie je možnost, že se inzulin začne špatně vstřebávat a tím se zhorší kompenzace cukrovky. (Klener, 2006)

9.4 *Diabetologická dieta*

Základními složkami v potravě jsou bílkoviny, tuky, sacharidy, vitaminy, soli, voda a vláknina. Glykémii ovlivňují sacharidy, které je tedy nutno dobře rozplánovat. Jak u zdravého člověka, tak i u diabetika by měli tvořit cukry 50–60 % denního příjmu energie. Australské studie ukazuje na následný pokles glykémie, který je významně ovlivněn obsahem tuků a sacharidů v jídle. Pro usnadnění jídelního plánu, byl zaveden pojem výměnná jednotka. Každý diabetik má svůj individuální jídelní plán složený z výměnných jednotek rozložených do šesti jídel za den. Jedna výměnná jednotka obsahuje 12g sacharidů. Také by mělo platit, že rozestupy mezi hlavními jídly nebudou menší jak 4 hodiny a větší jak 7 hodin, svačiny by měly být 2–3 hodiny po hlavních jídlech a druhá večeře těsně před spaním. (Lebl, 2008)

Tento standardní postup ovšem může být brzy nahrazen novými doporučeními. Na základě konsenzu českých dětských diabetologů přecházíme na výměnnou jednotku

obsahující 10 gramů sacharidů. Důvodem této změny je sjednotit dietní doporučení v rámci léčby dětského diabetu v Evropě. (Průhová, 2015)

10 Akutní komplikace diabetes mellitus

Akutní komplikace zahrnují hypoglykémii a stavy spojené s hyperglykemií: diabetickou ketoacidózu a hyperosmolární neketotický syndrom. (Navrátil, 2008, str. 316)

Hypoglykémie je akutní stav, který může ohrozit pacienta na životě a je nutné ji předcházet, popřípadě ihned léčit. Hodnota glykémie klesne pod 2,2 mmol/l. Vzniká při předávkování inzulinem, nebo předávkování může být i relativní, pokud po podání obvyklé dávky pacient nárazově zvýší fyzickou aktivitu nebo se méně nají. Ve všech uvedených případech dochází ke snížení glykémie. Vzhledem k nedostatku glukózy v mozku poklesem glykémie nastává porucha vědomí: zmatenost, může se vyskytnout agresivita a v těžších případech dojít až ke kóma. Současně se ale aktivují kontraregulační mechanismy, které glykémii zvyšují. Nejhlavnějším mechanismem je aktivace sympatiku, která se projeví tachykardií, výrazným pocením a třesem. První pomocí hypoglykémie v lehkých případech je podání sladkého nápoje, hroznového cukru či jiného zdroje glukózy ústy. Rychlá úprava stavu po podání glukózy potvrzuje diagnózu. Pokud pacient nedokáže polykat, podá se mu 20–40 % roztok glukózy intravenózně. V těžkých případech se pacient napojí na infúzi s glukózou. U diabetiků 1. typu lze aplikovat injekci glukagonu (1mg intramuskulárně). (Navrátil, 2008)

Diabetická ketoacidóza se projevuje hyperglykemií a nahromaděním ketolátek při abnormálním metabolismu mastných kyselin. Hyperglykemie zvyšuje ztráty glukózy a vody močí, čímž se krev stává hustší a klesá její objem, což může vést až k oběhovému selhání. Ketolátky (mj. kyseliny acetoctové) mají kyselou povahu, takže snižují pH krve. Porucha je tedy kombinací hyperosmolality a metabolické acidózy s jejich důsledky. Příznaky jsou dehydratace, suchá kůže a sliznice, hypotenze, tachykardie, porušené vědomí, nauzea, zvracení, bolesti břicha, hyperventilace, z dechu jde cítit aceton. Ketoacidóza se rozvíjí obvykle během několika hodin až dní. První pomocí je nitrožilní podávání inzulínu a rehydratace. Je nutné najít příčiny dekompenzace, jimiž mohou být

chyby v léčebném režimu (např. přerušení terapie inzulinem), choroby jako infekce apod. (Navrátil, 2008)

Hyperosmolární neketotický syndrom se opět projevuje hyperglykemií s následnou hyperosmolaritou, netvoří se však tolik ketolátek, takže nevzniká větší acidóza. Průběh poruchy je pomalejší a méně nápadný než diabetická acidóza, pacient přichází do nemocnice později a zároveň více dehydratován, s vyšší osmolalitou a vyšší glykemií než u ketoacidózy. Léčbou je podávání inzulinu intra venózně, rehydratace, monitorování efektu a hledání příčiny dekompenzace. (Navrátil, 2008)

11 Chronické komplikace diabetu

Diabetická retinopatie je častou příčinou získané slepoty, která výrazně zhoršuje kvalitu života již v méně pokročilých formách. Postižení očí patří k nejzávažnějším komplikacím diabetu. Ztráta zraku může nastat už u mladých pacientů, pro které je vždy šokující a může vést k psychickým poruchám a depresivním stavům. Příznaky diabetické retinopatie se při DM 1. typu objeví do dvou let po záchytu jen u 2–7 % nemocných. Po deseti letech počet postižených narůstá na 50 % a po 20 letech na 75 % a více. Diabetikům se doporučuje 1x ročně navštívit oftalmologa, který vyšetří oční pozadí a tím zjistí stav drobných cév sítnice. Faktor, který je zodpovědný za vznik a rozvoj diabetické retinopatie je kolísání hladiny cukru, především hyperglykémie. Při diabetické retinopatii hrozí krvácení do sítnice či sklivce, jizvení, odchlípení sítnice, glaukom a další komplikace poškozující zrak. Léčba retinopatie spočívá především na prevenci a optimální kompenzaci diabetu. (Sosna, 2016)

Diabetická nefropatie (DN) v současné době představuje hlavní příčinu vzniku chronického selhání ledvin ve vyspělých zemích. Při rozvoji DN nastává u nemocných také ke zhoršení metabolického vyrovnání diabetu a urychlení vzniku dalších diabetických komplikací včetně diabetické retinopatie a neuropatie. Podstatou je poškození drobných cév a cév ledvinových glomerulů. Porucha se nejprve projevuje zvýšenou propustností glomerulů, dále zvýšenou glomerulární filtrací a zvýšenou albuminurií. Progrese vede k nefrotickému syndromu, následnému snížení glomerulární

filtrace a selhání ledvin. Diabetickou nefropatii lze zpomalit kontrolou glykemií, tlaku a podávání ACE inhibitorů. (Navrátil, 2008)

DN bývalo dříve postiženo až 30 % pacientů s T1DM. V dnešní době se díky zlepšení prevence a léčbě samotné uvádí snížení těchto onemocnění. Podle statistických dat v roce 2010 trpělo tímto onemocněním v České republice zhruba 11 % diabetiků. Tyto statistická data nejsou ovšem pravděpodobně úplná. (Bouček, et al., 2012)

Diabetická neuropatie postihuje nervy v důsledku dlouhodobé hyperglykemie a snížené mikrocirkulace, ke které u DM dochází. Nejčastěji dochází k postižení senzitivních nervů, projevující se parestéziemi, bolestí nebo naopak ztrátou citlivosti v distálních částech končetin. Může ale také dojít k postižení motorických nervů a nervů autonomního nervového systému. Příčina diabetické neuropatie není dosud zcela objasněna. Předpokládá se komplexní patologický mechanismus pro její vznik. Kvůli nejasné patogenezi neexistuje efektivní léčba. Léčí se proto symptomaticky. (Navrátil, 2008)

Diabetická noha je relativně častá chronická komplikace, která může skončit až amputací. Při syndromu diabetické nohy dochází k ulceraci nebo destrukci tkání na nohou. Na poškození se podílí neuropatie (periferní i autonomní), různý stupeň ischemické choroby dolních končetin a snížení protiinfekční imunity. Z důvodu poruchy citlivosti se snadno diabetik může opařit, necítí otlaky, poranění kůže. Přidá-li se infekce, defekt se pro sníženou prokrvenost špatně hojí a časem může dojít k jejich rozšíření. Stav může skončit gangrénou a následnou amputací. Prevencí diabetické nohy je vhodná obuv, omezení stoje a chůze (mechanické odlehčení – berle), denní prohlídky nohou a včasná léčba trhlinek a oděrek. (Navrátil, 2008)

Praktická část

12 Metodika

Cílem této předložené bakalářské práce je bližší seznámení s níže uvedenými metodami a posoudit jednotlivý význam při diagnostice dětského diabetu. Níže uvedené metody jsem vyšetřila u 20 mladistvých diabetiků z jihočeského kraje. A u 5 mladistvých diabetiků z ordinace pana profesora Velemínského jsem provedla diabetický panel.

Vyšetření jsem provedla v biochemicko-hematologické laboratoři STAFILA, spol. s.r.o. Veškeré získané údaje byli zpracovány anonymně.

13 Laboratorní diagnostika – stanovení glukózy

Stanovení glykémie je základním vyšetřením u diabetiků. Stanovuje se koncentrace FPG – Fasting Plasma Glucose (plazmatická koncentrace glukózy v žilní krvi nalačno). Hladina koncentrace FPG nám pomáhá k určení diagnózy DM, a také slouží k vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu mellitu. (Friedecký, 2014)

Diagnostická kritéria diabetu:

Podle doporučení Americké diabetologické asociace (ADA) z roku 2010 a podle Světové zdravotnické organizace (WHO) zní definice takto:

- Kombinace klinických symptomů s náhodným stanovením koncentrace glukózy v plasmě $\geq 11,1$ mmol/l.
- Koncentrace glukózy v plasmě na lačno $\geq 7,0$ mmol/l.
- Koncentrace glukózy v plasmě při orálním glukózovém tolerančním testu $\geq 11,1$ mmol/l.

Ke stanovení diagnózy DM nestačí pouze jedno vyšetření glykémie, ale je nutné provést v následujících dnech ještě další měření a tím potvrdit výsledek. (Friedecký, 2014)

Při FPG v intervalu hodnot 5,6 – 7,0 mmol/l hrozí zvýšené riziko diabetu. Tento stav je označován jako Impaired Fasting Glucose (IFG), který se spolu s Impaired Glucose tolerance (IGT), nazývá také jako prediabetes. (Friedecký, 2014)

Rozhodovací meze:

Tab. 1

FPG [mmol/l]	Interpretace
<5,6	Nejedná se o cukrovku
5,6 až 6,9	Zvýšená FPG (IFG, prediabetes)
≥ 7,0	Diabetes mellitus (nutné potvrdit dalším vyšetřením)

(Friedecký, 2014)

Pacienty s hodnotami FPG 5,6 mmol/l a výše, je doporučováno častěji vyšetřovat pro kontrolu a vyloučení DM. (Friedecký, 2014)

Preamalytické podmínky:

Tab. 2

Materiál:	Žilní krev
Odběr:	Krev se odebírá na lačno (v délce min. 8 h.) Pacient se musí vyhnout tučným jídlům, fyzické námaze, alkoholu a nesmí kouřit. Vzorek žilní krve odebíráme do zkumavky s antiglykolytickou směsí. Obvyklou kombinací bývá směs fluoridu sodného (2,5 mg NaF/ml krve) a EDTA.
Oddělení plazmy od krevních elementů:	Do 60 minut po odběru a vzorek neprodleně dodat do laboratoře.

(Friedecký, 2014)

Spektrofotometrie:

Pro stanovení glukózy v krvi je hned několik metod, v současnosti se nejvíce využívá metod enzymových. Metoda s glukózaoxidázou (GOD) a peroxidázou (POD) a oxidační kopulací je v praxi nejvíce rozšířená. Glukosa se oxiduje na D-glukonalakton a peroxid vodíku, který se využívá k oxidační kopulaci 4-aminoantipyrinu s fenolem na chinoniminové barvivo, to se měří fotometricky při 500 nm. Intenzita zbarvení vzniklé sloučeniny je přímo úměrná koncentraci glukózy. (FONS, 2007)

Metoda hexokinázová je vysoce specifická. Glukóza reaguje s ATP za katalýzy hexokinázou na glukóza-6-fosfát, který se glukóza-6-fosfátdehydrogenázou oxiduje na 6-fosfoglukonát a současně se redukuje NADP^+ nebo NAD^+ . Měří se absorbance NADPH nebo specifitějšího NADH při 340 nm, kdy neinterferuje glukóza-6-fosfátdehydrogenáza z erytrocytů. (FONS, 2007)

Existuje několik látek, které mohou interferovat glukózu. Koncentraci glukózy v séru může snížit např. alanin, bilirubin, cibule, cystin, fibrin, kyselina močová, vitamin C. Naopak zvyšují hladinu glukózy v séru např. adrenalin, fruktóza, laktóza, nenasycené mastné kyseliny, růstový hormon. (FONS, 2007)

14 Stanovení glukózy v moči

Provádí se jako rutinní vyšetření, které se stanovuje kvantitativně. Pro kvalitní vyšetření je zásadní správný odběr moči. Proto musí být pacient poučen, jak má odběr provést. Odběrová nádobka nesmí obsahovat zbytky čistících prostředků ani jiných chemikálií. Stanovení se provádí buď z jednorázového odběru nebo ve sbírané moči (za 6, 8, 12 nebo 24 h). Pro uchování 24hodinových vzorků se přidává do odběrové nádobky kyselina octová, aby nedošlo k bakteriální kontaminaci. (FONS, 2007)

Pokud se vyšetření provádí v rámci základního chemického vyšetření, je důležité vzorek zpracovat do 2 hodin od odběru. Moč se uchovává při 2-8 °C 24 hodin, při -20 °C maximálně 2 dny. (FONS, 2007)

Důkaz glukózy v moči se provádí za použití specifické enzymatické reakce za použití glukosaoxidazy (GOD) a peroxidazy (POD). (FONS, 2007)

Stejně jako v krvi i v moči najdeme několik látek, které způsobují interference. Koncentraci glukózy v moči snižuje např. acylpyrin, bakteriurie, bilirubin, diazepam, kyselina octová, kyselina močová a vitamin C. A naopak koncentraci glukózy zvyšuje např. adrenalin, glukagon, kyselina acetoctová, penicilin a peroxid vodíku. (FONS, 2007)

15 Glykovaný hemoglobin (HbA1c)

Glykovaný hemoglobin (HbA1c), vzniká neenzymatickou reakcí mezi hemoglobinem a glukózou. Aldehydická skupina glukózy se váže na volné aminokyseliny bílkovin, přičemž rychlost reakce je dána koncentrací glukózy. (Lacigová et al., 2008)

Slouží ke sledování průběhu léčby DM. Jde o rutinní a nejefektivnější metodu, která pomáhá sledovat dekompenzovaný diabetes. Díky HbA1c dokážeme sledovat adekvátnost dané léčby. Hodnotu HbA1c lze použít v rámci screeningu poruch glukózové homeostázy, zejména ve vztahu k prediabetu. Díky této metodě dokážeme sledovat dlouhodobý průměr koncentrace glukózy u diabetiků (cca 120 dní zpětně, v případě hemoglobinu). Lze takto kontrolovat neukázněné pacienty s DM. (Friedecký, 2014)

V diabetologických studiích se také využívá jako měřítko síly testovaného léku a také jako měřítko možného vzniku komplikací diabetu (viz. kap. 10). (Lacigová et al., 2008)

Provedení testu: Odebírá se plná krev nebo krev kapilární do zkumavky s antikoagulačním činidlem (EDTA). Výsledky měření může ovlivnit hemoglobinopatie, anémie a snížená hladina hemoglobinu. Naopak výsledek nebývá ovlivněn věkem, pohlavím, etnicitou ani změnami ročního období. Snížená hodnota doby života erytrocytů bývá příčinou falešně snížených hodnot HbA1c v krvi. Skladovat materiál můžeme maximálně 1 týden při +4 °C, 6 měsíců při -20 °C nebo 1 rok při -80 °C. Jednotkou měření se užívá mmol/mol nebo procenta, viz. tab. 4. (Friedecký, 2014)

Ke stanovení HbA1c se používá metoda iontoměničová chromatografie (HPLC) a afinitní imunochemické metody s využitím specifické monoklonální protilátky, občas se využívá elektroforetického dělení v agarózovém gelu. (Lacigová et al., 2008)

Tab. 4

HbA1c (mmol/mol)	Interpretace
20-42	Referenční interval
43-53	Kompenzovaný DM

(Friedecký, 2014)

16 Albuminurie

Stanovuje se většinou jako poměr koncentrace albuminu a kreatinu v moči a ukazuje malá množství proteinu (albuminu), který se v moči nachází. Tímto vyšetřením kontrolujeme funkci ledvin. (Labtest, 2010) U zdravých osob je výskyt albuminu minimální, zvyšuje se například po těžké fyzické zátěži (Bakris, 2011).

Vyšetření lze provést jak ze sbírané moči přes noc, tak z první ranní moči. (FONS, 2007)

Zvýšená hladina albuminu u diabetika je považována za první signál hrozícího renálního poškození. (Labtest, 2010)

Referenční metoda neexistuje, já jsem při svých vyšetřeních využila imunoturbidimetrické metody. Což je metoda, která je založena na měření množství imunitních komplexů vzniklých interakcí specifických protilátek s antigenem – analytem (FONS, 2007).

17 C-peptid

Vyšetření C-peptidu neslouží k diagnostice ani screeningu osob s DM. Využívá se jako ukazatel endogenní sekrece inzulínu, a s jeho pomocí se rozhoduje o vhodnosti volby léčby u DM 2. typu. Lidský C-peptid je jedno řetězový polypeptid, který obsahuje 31

aminokyselin. Spojuje řetězce A a B tvořící inzulin, který je uschován v sekrečních granulích B-buněk pankreatu. (Steiner, 2004)

Z pankreatu se peptid i inzulin uvolní v rovném molárním poměru (ekvimolárním). V játrech se vychytá 30-60 % inzulinu, ale mnohem méně peptidu, proto v periferním oběhu přetrvává déle. Z tohoto důvodu poskytuje stanovení C-peptidu lepší informace o sekreci inzulinu pankreatem než měření inzulinu. Navíc není C-peptid ovlivněn interferencí autoprotilátek proti inzulinu indukovaných inzulinovou léčbou. (Vezzosi, 2007)

U DM 1. typu a diabetes LADA očekáváme nízké hladiny C-peptidu, z důvodu snížené sekrece inzulinu. (Vezzosi, 2007)

Preanalytické podmínky:

Jako materiál se používá žilní krev odebraná do zkumavky s antikoagulans heparin nebo EDTA. Vzorek by měl být zpracován do 3 hodin od odběru. Skladování: při 4-8 °C až 1 týden, při -20 °C až 3 měsíce. (Friedecký, 2014)

C-peptid byl měřen pomocí přístroje Architect, na principu chemiluminiscenční imunoanalýzy na mikročásticích. Jde o dvou krokovou metodu, kdy se vzorek nejdříve smíchá s paramagnetickými mikročásticemi (ty jsou potaženy protilátkami proti lidskému C-peptidu). Vznikne komplex antigen – protilátka. Po promytí se přidá konjugát protilátek proti lidskému C-peptidu značený akridiniem a tím vznikne reakční směs. Znovu dojde k promytí a k přidání roztoku Trigger. Díky tomu dojde k chemiluminiscenční reakci, kterou přístroj změří. (Donald M. Powers et al., 2005)

18 Imunologická diagnostika diabetu mellitu

Pro diagnostiku a sledování průběhu autoimunitního zánětu Langerhansových ostrůvků (inzulitidy) se užívají serologické metody. Nejdůležitější je stanovení jednotlivých autoprotilátek a sledování jejich koncentrace na počátku a v dalším průběhu onemocnění. Stanovují se protilátky proti Langerhansovým ostrůvkům – ICA, protilátky proti glutamát

dekarboxyláze – anti GAD a protilátky proti tyrozinofosfatáze – IA2 a proti inzulinu – IAA. (Friedecký, 2014)

18.1 Protilátky proti buňkám Langerhansových ostrůvků

Protilátky proti buňkám Langerhansových ostrůvků – ICA (Islet Cell Antibodies byly jako první popsány u diabetologických pacientů. Stanovovány jsou metodou nepřímé imunofluorescence na kryostatových řetězech lidského pankreatu, tato metoda je ovšem zatížena subjektivní chybou při hodnocení mikroskopického obrazu. Signál ICA je navíc tvořen heterogenní skupinou protilátek, které reagují u různých skupin pacientů s různými strukturami ostrůvků. Rozlišit ovšem metodou nepřímé imunofluorescence o jaké druhy protilátek se jedná, je velice obtížné. (Vavřinec et al., 2005)

Z tohoto důvodu se k predikaci T1DM museli přidat další protilátky. Vyšetřujeme proto i protilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (GAD). U lidí existují dvě izoformy tohoto enzymu – GAD65 a GAD67. U DM nás, ale zajímá pouze izoforma GAD65, což jsou protilátky vyskytující se u inzulitidy. (Vavřinec et al., 2005) GAD65 jsou přítomny u 70-80 % pacientů s T1DM na začátku rozvoje onemocnění. Zhruba u 10% diabetiků léčených původně jako diabetes 2. typu, přítomnost protilátky dokazuje T1DM = LADA. (Winter et al., 2011)

Antigen IA2 patří do proteinových tyrozinových fosfatáz, nachází se hlavně v membránách neurosekrečních granul pankreatických buněk i v buňkách CNS a dřeně nadledvin. Tyto protilátky se nacházejí u nově diagnostikovaných pacientů a jsou markerem rychlé progresy inzulitidy. Anti IA2 je vysoce specifický pro diabetes a ve srovnání s anti-GAD se jen výjimečně nacházejí u jiných autoimunitních onemocnění. (Vavřinec et al., 2005)

ICA jsou tedy z velké části tvořeny autoprotiilátkami proti GAD 65 a IA2. Pokud nám tedy při vyšetření vyjde pozitivní např. GAD 65, musí být pozitivní i ICA. (Vavřinec et al., 2005)

19 Laboratorní diagnostika autoprotilátek

Autoprotilátky se vyšetřují imunoanalytickými metodami. Tyto metody pracují na principu reakce antigenu s protilátkou. V první fázi dochází k navázání protilátek z pacientova séra na antigen (pokud jsou protilátky přítomny). Po promytí a odstranění nenavázaných protilátek můžeme reakci zobrazit. To je možné pomocí sekundární protilátky značené enzymem (ELISA), fluorochromem (FIA) nebo radioizotopem (RIA). (Bartůňková, 2011)

K mé práci jsem využila metodu ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Jak jsem již uvedla ELISA využívá k vizualizaci vazby mezi protilátkou a antigenem enzym. Používá se např. enzym křenová peroxidáza nebo alkalická fosfatáza. (Bartůňková, 2011)

V ELISA testech je jedna složka reakce (např. antigen) navázána na pevnou fázi. Proto můžeme říci, že ELISA patří mezi heterogenní enzymové imunoanalýzy. Autoprotilátky v séru pacienta u T1DM lze detekovat pomocí tzv. nepřímé nekompetitivní ELISA metody. (Bartůňková, 2011)

19.1 Obecný postup u nekompetitivní ELISA metody

Pro laboratorní vyšetření autoprotilátek se využívají komerční ELISA kity od různých firem, které zaručují, že na pevnou fázi je již konkrétní antigen navázán. Jako pevná fáze je v ELISA testech používána 96 jamková mikrotitrační destička. Na dně jednotlivých jamek je konkrétní antigen a pro zablokování volných míst se využívá inertní látka, např. hovězí sérový albumin. (FONS, 2007)

Do jednotlivých jamek se pipetuje malé množství séra pacienta, např. 50 µl. Po inkubaci a promytí je přidán konjugát, což je detekční (sekundární) protilátka proti lidskému imunoglobulinu značená enzymem. Dalším krokem reakce je přidání substrátu (chromogenu), který způsobí přeměnu enzymu na barevný produkt. Posledním krokem je aplikace "stop" činidla. Tento poslední krok je nutný k zastavení enzymatické reakce, pomocí které barevný produkt vzniká. (FONS, 2007)

20 Vlastní výsledky

Stanovení glukózy, jak z krve i moči, také kreatininu a albuminu pro pomocný výpočet albuminurie jsem prováděla na analyzátoru Architect c8000 firmy Abbott.

Výrobce reagensů: Reagencie byly použity také od firmy Abbott.

Kalibrace: Všechny uvedené metody byly provedeny s návazností pracovního kalibrátoru na certifikovaný referenční materiál Omni CORE a Urine Chem.

Stanovení C-peptidu jsem prováděla na analyzátoru Architect i2000 firmy Abbott. Tento analyzátor pracoval na principu chemiluminiscenční imunoanalýzy na paramagnetických mikročásticích.

Kalibrace: Všechny uvedené metody byly provedeny s návazností pracovního kalibrátoru na certifikovaný referenční materiál IMMUNO.

Glykovaný hemoglobin HbA1c jsem měřila na přístroji Arkray AdamsTM A1c HA-8180V. Tento analyzátor využívá princip kapalinové chromatografie HPLC.

Všechna vyšetření jsem provedla 20 diabetickým dorostencům.

Tab. 5 - Pacient č. 1

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	4,31	mmol/l	(4,10 - 5,60)	
C-peptid	1099,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	18,05	mmol/l	(4,20 - 9,70)	+
U-glukóza	0,24	mmol/l		
U-albumin	47,50	mg/l	(0,0 - 30,0)	+
Albuminurie	2,63	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	28,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	-

Tab. 6 - Pacient č. 2

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	6,90	mmol/l	(4,10 - 5,60)	+
C-peptid	1173,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	4,90	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	0,16	mmol/l		
U-albumin	1,00	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	0,20	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	48,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 7 - Pacient č. 3

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	8,13	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	512,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	7,63	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	1,35	mmol/l		
U-albumin	2340,00	mg/l	(0,0 - 30,0)	++
Albuminurie	306,68	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	proteinurie
HbA1c	42,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	

Tab. 8 - Pacient č. 4

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	7,61	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	1231,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	17,75	mmol/l	(4,20 - 9,70)	+
U-glukóza	0,24	mmol/l		
U-albumin	46,10	mg/l	(0,0 - 30,0)	+
Albuminurie	2,60	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	55,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 9 - Pacient č.5

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	8,74	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	870,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	7,74	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	0,20	mmol/l		
U-albumin	77,10	mg/l	(0,0 - 30,0)	+
Albuminurie	9,96	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	mikroalbuminurie
HbA1c	74,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 10 - Pacient č. 6

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	9,44	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	1215,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	14,33	mmol/l	(5,60 - 14,70)	
U-glukóza	2,66	mmol/l		
U-albumin	373,30	mg/l	(0,0 - 30,0)	++
Albuminurie	26,05	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	proteinurie
HbA1c	57,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 11 - Pacient č. 7

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	6,43	mmol/l	(4,10 - 5,60)	+
C-peptid	805,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	3,39	mmol/l	(4,20 - 9,70)	-
U-glukóza	0,30	mmol/l		
U-albumin	5,80	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	1,71	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	45,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 12 - Pacient č. 8

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	6,54	mmol/l	(4,10 - 5,60)	+
C-peptid	582,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	8,20	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	0,18	mmol/l		
U-albumin	12,60	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	1,54	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	42,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	

Tab. 13 - Pacient č. 9

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	7,53	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	936,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	3,42	mmol/l	(4,20 - 9,70)	-
U-glukóza	0,13	mmol/l		
U-albumin	1,00	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	0,29	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	54,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 14 - Pacient č. 10

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	6,63	mmol/l	(4,10 - 5,60)	+
C-peptid	609,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	4,68	mmol/l	(5,60 - 14,70)	-
U-glukóza	0,15	mmol/l		
U-albumin	3,40	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	0,73	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	47,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 15 - Pacient č. 11

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	9,18	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	1140,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	18,29	mmol/l	(5,60 - 14,70)	+
U-glukóza	0,84	mmol/l		
U-albumin	35,50	mg/l	(0,0 - 30,0)	+
Albuminurie	1,94	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	69,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 16 - Pacient č. 12

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	6,89	mmol/l	(4,10 - 5,60)	+
C-peptid	999,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	3,27	mmol/l	(4,20 - 9,70)	-
U-glukóza	0,40	mmol/l		
U-albumin	0,20	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	0,06	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	43,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 17 - Pacient č. 13

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	4,98	mmol/l	(4,10 - 5,60)	
C-peptid	714,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	7,55	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	0,18	mmol/l		
U-albumin	30,80	mg/l	(0,0 - 30,0)	+
Albuminurie	4,08	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	mikroalbuminurie
HbA1c	45,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 18 - Pacient č. 14

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	4,83	mmol/l	(4,10 - 5,60)	
C-peptid	1641,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	6,83	mmol/l	(5,60 - 14,70)	
U-glukóza	0,20	mmol/l		
U-albumin	114,00	mg/l	(0,0 - 30,0)	+
Albuminurie	16,69	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	Mikroalbuminurie
HbA1c	45,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 19 - Pacient č. 15

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	7,33	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	953,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	14,90	mmol/l	(5,60 - 14,70)	+
U-glukóza	0,62	mmol/l		
U-albumin	18,10	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	1,21	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	53,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 20 - Pacient č. 16

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	9,32	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	151,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	-
U-kreatinin	5,36	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	2,83	mmol/l		
U-albumin	16,60	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	3,10	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	mikroalbuminurie
HbA1c	67,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 21 - Pacient č. 17

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	6,34	mmol/l	(4,10 - 5,60)	+
C-peptid	1084,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	6,78	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	0,22	mmol/l		
U-albumin	5,80	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	0,86	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	52,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 22 - Pacient č. 18

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	7,19	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	1259,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	
U-kreatinin	6,09	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	0,18	mmol/l		
U-albumin	9,00	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	1,48	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	45,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 23 - Pacient č. 19

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	11,62	mmol/l	(4,10 - 5,60)	++
C-peptid	3754,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	++
U-kreatinin	4,06	mmol/l	(4,20 - 9,70)	-
U-glukóza	4,34	mmol/l		
U-albumin	4,00	mg/l	(0,0 - 30,0)	
Albuminurie	0,99	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	normální exkrece
HbA1c	60,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	+

Tab. 24 - Pacient č. 20

Vyšetření	Výsledek	Jednotky	Referenční interval	Hodnocení
Glukóza	6,73	mmol/l	(4,10 - 5,60)	+
C-peptid	1985,00	pmol/l	(258,20 - 1718,00)	+
U-kreatinin	10,32	mmol/l	(4,20 - 9,70)	
U-glukóza	0,20	mmol/l		
U-albumin	38,00	mg/l	(0,0 - 30,0)	+
Albuminurie	3,68	mg/mmol	(0,00 - 2,79)	mikroalbuminurie
HbA1c	41,00	mmol/l	(29,00 - 42,00)	

U následujících pěti pacientů jsem provedla stanovení autoprotilátek.

Tab. 25 - Pacient č. 21

AUTOPROTILÁTKY	18.04.2017
IgG/GAD65	neg.
IgG/Lang. ostr. (ICA)	neg.
IgG/tyrosináza (IA2)	neg.
IgG/inzulín	neg.

Tab. 26 - Pacient č. 22

AUTOPROTILÁTKY	18.04.2017
IgG/GAD65	pozit. +++
IgG/Lang. ostr. (ICA)	pozit. +++
IgG/tyrosináza (IA2)	pozit. +++
IgG/inzulín	neg.

Tab. 27 - Pacient č. 23

AUTOPROTILÁTKY	10.04.2017
IgG/GAD65	neg.
IgG/Lang. ostr. (ICA)	neg.
IgG/tyrosináza (IA2)	neg.
IgG/inzulín	neg.

Tab. 28 - Pacient č. 24

AUTOPROTILÁTKY	11.04.2017
IgG/GAD65	pozit.+++
IgG/Lang. ostr. (ICA)	pozit.+++
IgG/tyrosináza (IA2)	pozit.+++
IgG/inzulín	neg.

Tab. 29 - Pacient č. 25

AUTOPROTILÁTKY	05.04.2017
IgG/GAD65	neg.
IgG/Lang. ostr. (ICA)	neg.
IgG/tyrosináza (IA2)	neg.
IgG/inzulín	pozit.+

21 Interpretace výsledků

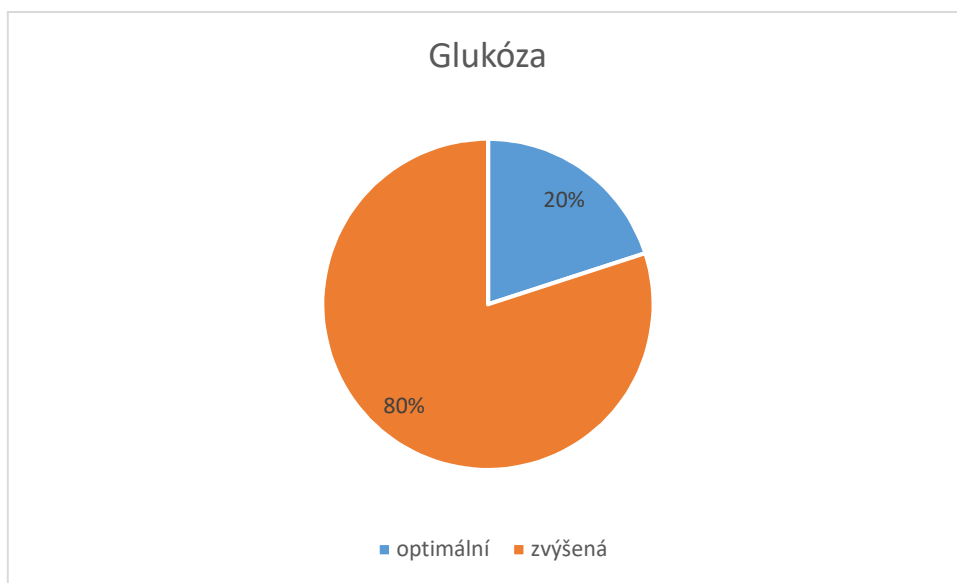
U výsledků, které jsem získala jsem porovnávala korelaci mezi glukózou a glykovaným hemoglobinem, mezi glukózou a C-peptidem a stav ledvin podle naměřené albuminurie. Dále jsem procentuálně zpracovala výsledky autoprotilátek.

Glukóza

Měření glykovaného hemoglobinu je u dospívajících pacientů užitečná informace, neboť nám ukáže dlouhodobou kompenzaci DM. Cílem je udržet hodnoty co nejvíce na fyziologických hodnotách, aby byl omezen nástup přidružených onemocnění.

Tab. 30

Hladina glukózy	Počet	Procentuální zastoupení
optimální	4	20%
zvýšená	16	80%
Celkem	20	100%

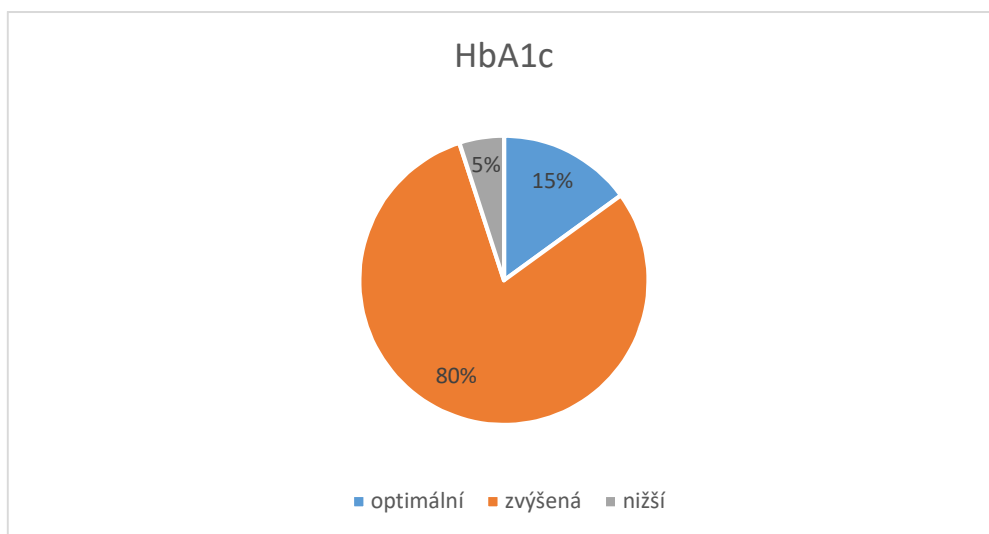


Obr. 1 graf znázorňující procentuálně hladinu glukózy

Glykovaný hemoglobin

Tab. 31

HbA1c	Počet	Procentuální zastoupení
optimální	3	15%
zvýšený	16	80%
nižší	1	5%
Celkem	20	100%



Obr. 2 graf znázorňující procentuálně hladinu HbA1c

Tab. 32

Pacient	Glukosa (mmol/l)	HbA1c (mmol/l)
1	4,31	28,00
2	6,9	48,00
3	8,13	42,00
4	7,61	55,00
5	8,74	74,00
6	9,44	57,00
7	6,43	45,00
8	5,4	42,00
9	7,53	54,00
10	6,63	47,00
11	9,18	69,00
12	6,89	43,00
13	4,98	45,00
14	4,83	45,00
15	7,33	53,00
16	9,32	67,00
17	6,34	52,00
18	7,19	45,00
19	11,62	60,00
20	6,73	41,00

V tabulce 32 můžeme vidět všech dvacet vyšetřených pacientů, kde zelená políčka značí fyziologické hodnoty, modré políčko hodnoty pod hranicí referenčního rozmezí a červené nad hranicí.

U pacienta číslo 1 a 8 se podle hodnot dá usuzovat, že pacienti dodržují správnou životosprávu a léčba funguje. Také pacienti s číslem 3 a 20 vykazují správnou dekompenzaci DM.

Pacienti s číslem 13 a 14 mají naopak zvýšené hladiny HbA1c za to optimální hladiny glukosy, může se tedy jednat o neukázněné pacienty, kteří drželi životosprávu jen před testy. U zbývajících 16 pacientů překračuje jak glukosa, tak i HbA1c referenční rozmezí, bylo by správné zkontrolovat vhodnost a účinnost léčby.

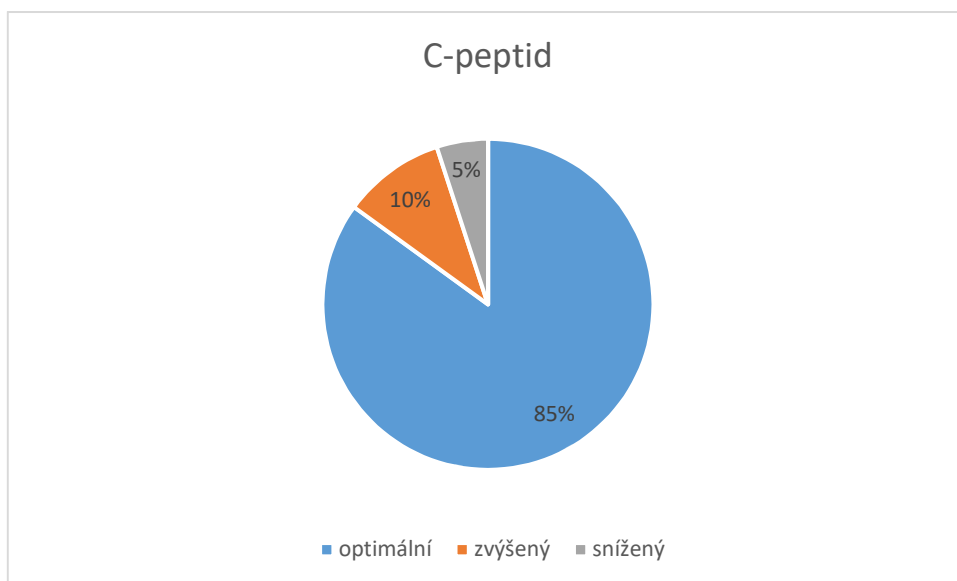
C-peptid

Vyšetření C-peptidu jsem dělala spíše pro zajímavost, neboť není ukotveno v žádném doporučení pro diagnostiku diabetu. Může ovšem pomoci při rozhodování, zda je vhodná léčba inzulinem u T2DM.

Opět jsem C-peptid porovnávala s glukosou.

Tab. 33

C-peptid	Počet	Procentuální zastoupení
optimální	17	85%
zvýšený	2	10%
snížený	1	5%
Celkem	20	100%



Obr. 3 graf znázorňující procentuálně C-peptid

Tab. 34

Pacient	Glukosa (mmol/l)	C-peptid (pmol/l)
1	4,31	1099
2	6,9	1173
3	8,13	512
4	7,61	1231
5	8,74	870
6	9,44	1215
7	6,43	805
8	5,4	582
9	7,53	936
10	6,63	609
11	9,18	1140
12	6,89	999
13	4,98	714
14	4,83	1641
15	7,33	953
16	9,32	151
17	6,34	1084
18	7,19	1259
19	11,62	3754
20	6,73	1985

V tabulce můžeme vidět výsledky glukosy a C-peptidu. Označenou stejně barevně jako tab. 32.: zelená políčka značí fyziologické hodnoty, modrá políčka hodnoty pod hranicí referenčního rozmezí a červené nad hranicí.

Mezi dvaceti vyšetřovanými nacházíme pouze 1 sníženou hodnotu C-peptidu, a tedy i snížené množství endogenního inzulínu. U pacienta číslo 16 můžeme tedy očekávat T1DM. Tento typ se ale může nacházet i u jiných pacientů s nižšími hodnotami, byť jsou v referenčním rozmezí. Může tak být například u teprve progredujícího onemocnění.

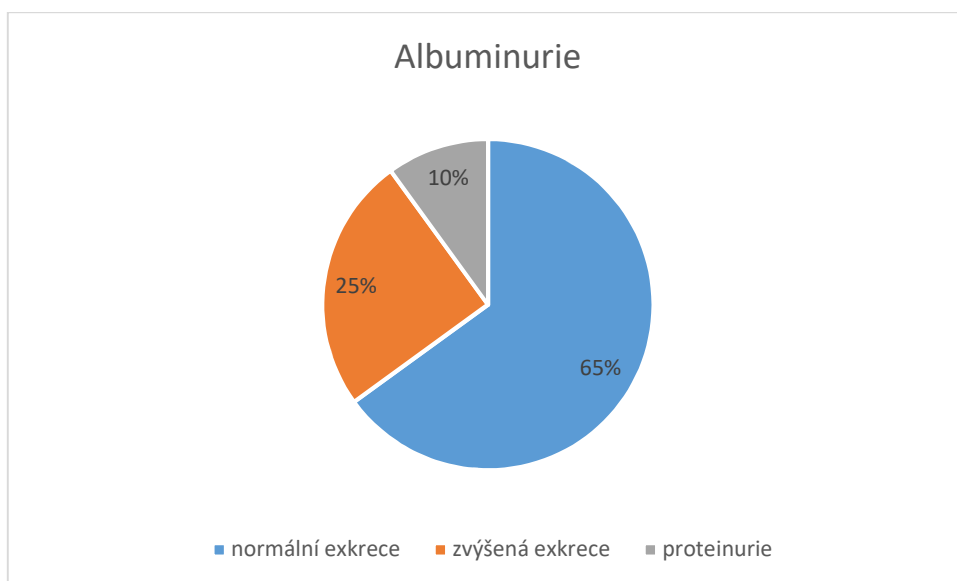
Pacienti č. 19 a 20 mají zvýšené hodnoty C-peptidu i glukózy, což by mohlo poukazovat na T2DM.

Albuminurie

Albuminurií zjišťujeme vyloučené množství albuminu močí a pomáhá nám sledovat stav ledvin (diabetická nefropatie – kap. 11). Nízké hodnoty se označují jako mikroalbuminurie a vysoké jako proteinurie.

Tab. 35

Albuminurie	Počet	Procentuální zastoupení
normální exkrece	13	65%
zvýšená	5	25%
proteinurie	2	10%
Celkem	20	100%



Obr. 3 graf znázorňující stav ledvin u vyšetřovaných pacientů

Tab. 36

Pacient	Glukosa (mmol/l)	HbA1c (mmol/l)	Albuminurie (mg/mmol)
1	4,31	28,00	2,63
2	6,9	48,00	0,2
3	8,13	42,00	306,68
4	7,61	55,00	2,6
5	8,74	74,00	9,96
6	9,44	57,00	26,05
7	6,43	45,00	1,71
8	5,4	42,00	1,54
9	7,53	54,00	0,29
10	6,63	47,00	0,73
11	9,18	69,00	1,94
12	6,89	43,00	0,06
13	4,98	45,00	4,08
14	4,83	45,00	16,69
15	7,33	53,00	1,21
16	9,32	67,00	3,1
17	6,34	52,00	0,86
18	7,19	45,00	1,48
19	11,62	60,00	0,99
20	6,73	41,00	3,68

Do tabulky 36 jsem zakomponovala pro porovnání i hodnoty glukosy a HbA1c. U albuminurie zelená políčka znázorňují normální exkreci, žlutá zvýšené hodnoty a červená proteinurii.

U 65 % procent vyšetřovaných se nenachází známky poškození ledvin. Ovšem už u 25 % procent nacházíme začínající poškození.

U pacienta číslo 3 a 6 se již objevila proteinurie. Zejména u čísla 3, kde jsou hodnoty opravdu velmi vysoké. Bohužel se mi u tohoto pacienta nepodařilo zjistit, zda netrpí nějakou další nemocí, která by mohla poškodit ledviny.

Autoprotilátky

Autoprotilátky se nestanovují jako rutinní vyšetření, ale je užitečné, je vyšetřit pro rozpoznání autoimunitního diabetu.

Tab. 37

ICA, GAD65, IA2	Počet	Relativní počet
negativní	3	60%
pozit. +++	2	40%
Celkem	5	100%

Při nálezů více protilátek stoupá riziko autoimunitního diabetu.

22 Diskuze

Cílem bakalářské práce bylo bližší seznámení s diagnostickými metodami u dětského diabetu. Do těchto metod jsem zahrнула stanovení glukózy jako nástroje pro určení diagnózy DM, stanovení C-peptidu, glykovaného hemoglobinu a diabetický panel.

V rámci vyšetření jsem se zaměřila i na preanalytickou část vyšetření, kterou sice v laboratoři nelze ovlivnit, za to nedodržení správného postupu může pozměnit správnost výsledku. Především u měření glukózy, by mohl vznik glykolýzy ve vzorcích velmi ovlivnit výsledek. Lze tomu zabránit použitím antiglykolytického přípravků, správným transportem v termoboxech a oddělením krevních elementů do 30 minut od odběru nebo odběrem do zkumavky s inhibitorem glykolýzy.

Stanovení C-peptidu jsem prováděla spíše pro zajímavost, neboť není v žádném doporučení pro diagnostiku diabetu a nemá význam při rutinním sledování pacientů s DM. Mohlo by se nicméně využít pro rozlišení, o který typ DM se jedná.

23 Závěr

V bakalářské práci jsou hodnoceny současné možnosti laboratorní diagnostiky diabetu mellitu. Tyto metody slouží nejen k diagnostice, ale též ke kontrole stavu pacienta, neboť se jedná o nevyléčitelné onemocnění, které s sebou přináší několik chronických onemocnění. Je proto hlavní prioritou nastavit mladým diabetikům co nejvhodnější léčbu.

Jak jsem již uvedla prováděla jsem vyšetření glukózy v séru, množství C-peptidu, glykovaného hemoglobinu a diabetický panel. Vyšetření jsem prováděla v laboratoři

Stařila, spol. s r.o., kromě diabetického panelu, který jsem vyšetřovala v nemocnici České Budějovice, a. s.

Každé z těchto vyšetření má pro léčbu pacienta s diabetem své opodstatnění. Stanovení glukózy je užitečné, jak pro vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu, tak ke kontrole aktuální hladiny glukózy. Glykovaný hemoglobin je naopak považován za dlouhodobý průměr koncentrací glukózy u diabetiků a to až 120 dní zpětně.

Díky těmto dvěma vyšetřeními lze odhalit diabetika, který dodrřuje režim nastavený od lékaře pouze v období před vyšetřeními. Proto považuji vyšetření glykovaného hemoglobinu, jako jedno z nejdůležitějších vyšetření pro pacienta s cukrovkou, a to nejen u dětských pacientů.

Bohužel i v mých měřeních jsem narazila na pacienty, kteří měli glukózu i HbA1c ve fyziologických hodnotách, a přesto už u nich dochází ke zvýšeným hodnotám vylučování albuminu. Toto zjištění předpovídá nefropatii. Není ovšem jasné, jestli pacienti dodrřovali dietu i dříve před poškozením nebo u nich ani dodrřování diety nepomáhá.

Vyšetření autoprotiátok nejsou doporučovány jako nástroje rutinní diagnózy DM, ale jsou vhodné při podezření na autoimunitní původ diabetu. Čím více autoprotiátok u pacienta nalezneme tím více stoupá pravděpodobnost, že se jedná o autoimunitní diabetes. Já jsem například u dvou pacientů z pěti našla pozitivní všechny tři prokazované protiátky, a to anti ICA, anti GAD65 a anti IA2.

Diabetes mellitus u dětí není rozhodně dobré brát na lehkou váhu, neboť tito pacienti prořijí většinu svého života jako diabetici s jistými omezeními, na rozdíl od zdravých vrstevníků. Což může u některých dětí vést k záměrnému porušení diety, ve snaze co nejvíce se jim podobat. Takové chování může podpořit vznik nejrůznějších komplikací již v raném věku.

24 Zdroje

1. BAKRIS, George, 2011. Recognition, Pathogenesis, and Treatment of Different Stages of Nephropathy in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. **5**(86), 444-456 [cit. 2017-07-27]. Dostupné z: <https://doi.org/10.4065/mcp.2010.0713>
2. BARTOŠ, Vladimír a Terezie PELIKÁNOVÁ, 2000. *Praktická diabetologie*. 2. rozš. vyd. Praha: MAXDORF-JESSENIUS. ISBN 8085912171.
3. BARTŮŇKOVÁ, Jiřina a Milan PAULÍK, 2011. *Vyšetřovací metody v imunologii*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada. ISBN 9788024735337.
4. BĚLOBRÁDKOVÁ, Jana a Ludmila BRÁZDOVÁ, 2006. *Diabetes mellitus*. V Brně: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů. ISBN 8070134461.
5. BLACKMAN, Scott M, Dan RAGHINARU, Saleh ADI, et al., 2014. Insulin pump use in young children in the T1D Exchange clinic registry is associated with lower hemoglobin A1c levels than injection therapy. *Pediatric Diabetes* [online]. **15**(8), 564-572 [cit. 2016-11-23]. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/pedi.12121>
6. BOUČEK, P., M. KVAPIL, V. MONHART, T. PELIKÁNOVÁ, I. RYCHLÍK, A. ŠMAHELOVÁ, V. TEPLAN a V. TESAŘ, 2012. Doporučené postupy při diabetickém onemocnění ledvin. *DMEV* [online]. **15**(1) [cit. 2017-07-31]. Dostupné z: http://www.diab.cz/dokumenty/standard_dmev_ledviny.pdf
7. DONALD M. POWERS, et al., 2005. Interference testing in clinical chemistry: approved guideline. Second edition. Wayne, Pa: NCCLS. ISBN 1562384805

8. FRIEDECKÝ, Bedřich, 2014. Laboratorní diagnostika a sledování diabetu. Laboratorna diagnostika. XI. kongres Slovenskej spoločnosti klinickej biochémie : 5. - 7. októbra 2014 : súhrny a in extenso články : časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií. Bratislava: Slovenská spoločnosť klinickej biochémie, 19(1), 23. ISSN 13352644.
9. FRIEDECKÝ, Bedřich, Josef KRATOCHVÍLA, Drahomíra SPRINGER, Martin PRÁZDNÝ a Tomáš ZIMA, 2015. Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů [online]. ČLS JEP [cit. 2017-07-25]. Dostupné z: http://www.diab.cz/dokumenty/standard_labor_2016.pdf
10. GROSSMANOVÁ, Olga, 2013. Laboratorní vyšetření v diabetologii. Propedeutika [online]. [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <http://new.propedeutika.cz/?p=469>
11. HOLLEMAN, Frits, 2014. A short history of insulin. Diapedia [online]. [cit. 2017-04-19]. DOI: <https://doi.org/10.14496/dia.8104098119.19>. Dostupné z: <https://www.diapedia.org/management/8104098119/a-short-history-of-insulin>
12. KLENER, Pavel, 2006. Vnitřní lékařství. 3., přepr. a dopl. vyd. Praha: Karolinum. ISBN 8024612526.
13. KREJSEK, Jan, Ctirad ANDRÝS a Irena KRČMOVÁ, 2016. Imunologie člověka. Hradec Králové: Garamon. ISBN 9788086472744.
14. LABTEST, 2010. Diabetes [online]. [cit. 2017-03-22]. Dostupné z: http://www.labtestsonline.cz/condition/Condition_Diabetes.html?idx=2
15. LABTEST, 2009. Protilátky související s diabetem 1. typu [online]. [cit. 2017-03-21]. Dostupné z: http://www.labtestsonline.cz/tests/Diabetes_related_Autoantibodies.html?tab=3

16. LACIGOVÁ, S., D. ČECHUROVÁ, P. BROŽ, et al., 2008. Glykovaný hemoglobin. Je ohroženo jeho výsostné postavení v diabetologii? Vnitř Lék [online]. 54(3), 251-256 [cit. 2017-04-04]. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/pdf?ida=vl_08_03_06.pdf
17. MOUREK, Jindřich, 2005. Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů. Praha: Grada. ISBN 8024711907.
18. NAVRÁTIL, Leoš, 2008. Vnitřní lékařství: pro nelékařské zdravotnické obory. Praha: Grada. ISBN 9788024723198.
19. PERUŠIČOVÁ, Jindra, 1996. Diabetes mellitus 2. typu: praktická rukověť. Praha: Galén. ISBN 8085824337.
20. PRŮHOVÁ, Štěpánka, 2009. Monogenní formy diabetes mellitus u dětí a dospívajících. Postgraduální medicína [online]. 11(4), 247-252 [cit. 2017-04-06]. Dostupné z: <http://www.lmg.cz/wp-content/uploads/cteni18.pdf>
21. PRŮHOVÁ, Štěpánka a Barbora OBERMANNOVÁ, 2015. Co je nového v dětské diabetologii? Pediatrie pro praxi [online]. 16(3), 146-149 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://www.pediatriepropraxi.cz/pdfs/ped/2015/03/02.pdf>
22. RYBKA, Jaroslav, 2007. Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění: diagnostické a léčebné postupy. Praha: Grada. ISBN 9788024716718.
23. SCHOTT, Heinz, NIKLÍČEK, Ladislav, ed., 1994. Kronika medicíny. Praha: Fortuna Print. ISBN 8085873168.

24. SMART, C. E. M., M. EVANS, S. M. O'CONNELL, P. MCEL DUFF, P. E. LOPEZ, T. W. JONES, E. A. DAVIS a B. R. KING, 2013. Both Dietary Protein and Fat Increase Postprandial Glucose Excursions in Children With Type 1 Diabetes, and the Effect Is Additive. *Diabetes Care* [online]. **36**(12), 3897-3902 [cit. 2016-11-23]. ISSN 01495992. Dostupné z: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc13-1195>
25. SOSNA, Tomáš, 2016. *Diabetická retinopatie: diagnostika, prevence, léčba*. Druhé, přepracované vydání. Praha: Axonite CZ. Medicinae peritus. ISBN 9788088046059.
26. STEINER, Donald F., 2004. The Proinsulin C-peptide—A Multirole Model. *Experimental Diabetes Research* [online]. **5**(1), 7-14 [cit. 2017-03-21]. DOI: 10.1080/15438600490424389. ISSN 15438600. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/jdr/2004/749857/abs/>
27. SVAČINA, Štěpán, 2010. *Diabetologie*. Praha: Triton. Lékařské repetitorium. ISBN 9788073873486.
28. ŠUMNÍK, Zdeněk, 2017. Dětská diabetologie. *Česká diabetologická společnost* [online]. [cit. 2017-07-31]. Dostupné z: <http://www.diab.cz/detska-diabetologie>
29. VAVŘINEC, J., O. CINEK, S. KOLOUŠKOVÁ, Z. ŠUMNÍK, M. ŠNAJDEROVÁ, P. MENDLOVÁ a K. SEKERÁŠOVÁ, 2005. Predikace a prevence diabetes mellitus 1. typu. *Čes-slov Pediatie*. **60**(6), 314-323.
30. VEZZOSI, D, A BENNET, J FAUVEL a P CARON, 2007. Insulin, C-peptide and proinsulin for the biochemical diagnosis of hypoglycaemia related to endogenous hyperinsulinism. *European Journal of Endocrinology* [online]. **157**(1), 75-83 [cit. 2017-03-21]. DOI: 10.1530/EJE-07-0109. ISSN 08044643. Dostupné z: <http://www.eje-online.org/cgi/doi/10.1530/EJE-07-0109>

31. WINTER, W. E. a D. A. SCHATZ, 2011. Autoimmune Markers in Diabetes. *Clinical Chemistry* [online]. **57**(2), 168-175 [cit. 2017-03-22]. DOI: 10.1373/clinchem.2010.148205. ISSN 00099147. Dostupné z: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2010.148205>
32. *FONS: Informační bulletin pro odborníky z oblastí intenzivní péče, laboratorní a zdravotnické techniky, výpočetní techniky a klinické biochemie* [online], 2007. Pardubice: Stapro s. r. o. a Česká společnost klinické biochemie [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <http://www.katalogfons.cz/Produkty/38DD2207-AC76-4C1E-B514-EFE034B0E0EC>

25 Seznam zkratek

DM	diabetes mellitus
T1DM	diabetes mellitus 1. typu
T2DM	diabetes mellitus 2. typu
IGT	Impaired Glucose Tolerance
IFG	Impaired Plasma Glucose
FPG	Fasting Plasma Glucose
oGTT	orálně glukoso toleranční test
HbA1c	glykovaný hemoglobin
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
LADA	Latent Autoimmune Diabetes of Adults
DN	diabetická nefropatie
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EDTA	kyselina ethilendiamintetraoctová
FIA	Flow Injection Analysis
RIA	radioimunoanalýza
ICA	protilátky proti cytoplazmě ostrůvkových buněk
IAA	protilátky proti inzulinu
IA2	protilátky proti tyrozinofosfatáze
GAD	protilátky proti glutamát dekarboxyláze
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography