

UPUTSTVA I PREPORUKE ZA PRIMENU LABORATORIJSKIH ODREĐIVANJA ZA DIJAGNOSTIKOVANJE I PRAĆENJE DIABETES MELLITUS-A: Uvodne napomene

Nada Majkić-Singh

Institut za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet i Klinički centar Srbije, Beograd

Kratak sadržaj: Za postizanje zadovoljavajućih rezultata u otkrivanju i kontroli dijabetičara presudnu ulogu ima dobro organizovana laboratorijska služba. Praćenje indikatora za kontrolu glikemije postaje još i važnije u budućnosti sa uvećanjem broja pacijenata. Iz ovog razloga ulažu se neprekidni naponi u pravcu standardizacije laboratorijskih metoda, koje moraju da budu sve tačnije i preciznije. Shodno ovome IFCC je 1995. godine formirao radnu grupu (Working Group) sa ciljem da standardizuje merenje glikohemoglobina, kako bi se svi komercijalni proizvodi odnosili na isti referentni sistem. Kako bi se na odgovarajući način laboratorijski obrađivali dijabetičari veoma je značajno poznavanje etiologije i dijagnostikovanja šećerne bolesti, zatim sistema za merenje nivoa glukoze u krvi, sa posebnim osvrtom na primenu aparata za samo-kontrolu pacijenata i praćenje pacijenata u kliničkim uslovima. Ovde se posebno opisuje značaj i primena glikohemoglobina za kontrolu nivoa glikemije uz razmatranje biohemije, metoda, standardizacije i kontrole kvaliteta pri određivanju glikohemoglobina. Prema tome, cilj je da se u okviru kondenzovanog seminara iznesu najnovija saznanja s kojima treba da raspolaže medicinski biohemičar u svom svakodnevnom radu pri izradi i izdavanju rezultata neophodnih za dijagnostikovanje i praćenje *diabetes mellitusa*.

Ključne reči: diabetes mellitus, laboratorijska određivanja, uputstva, preporuke.

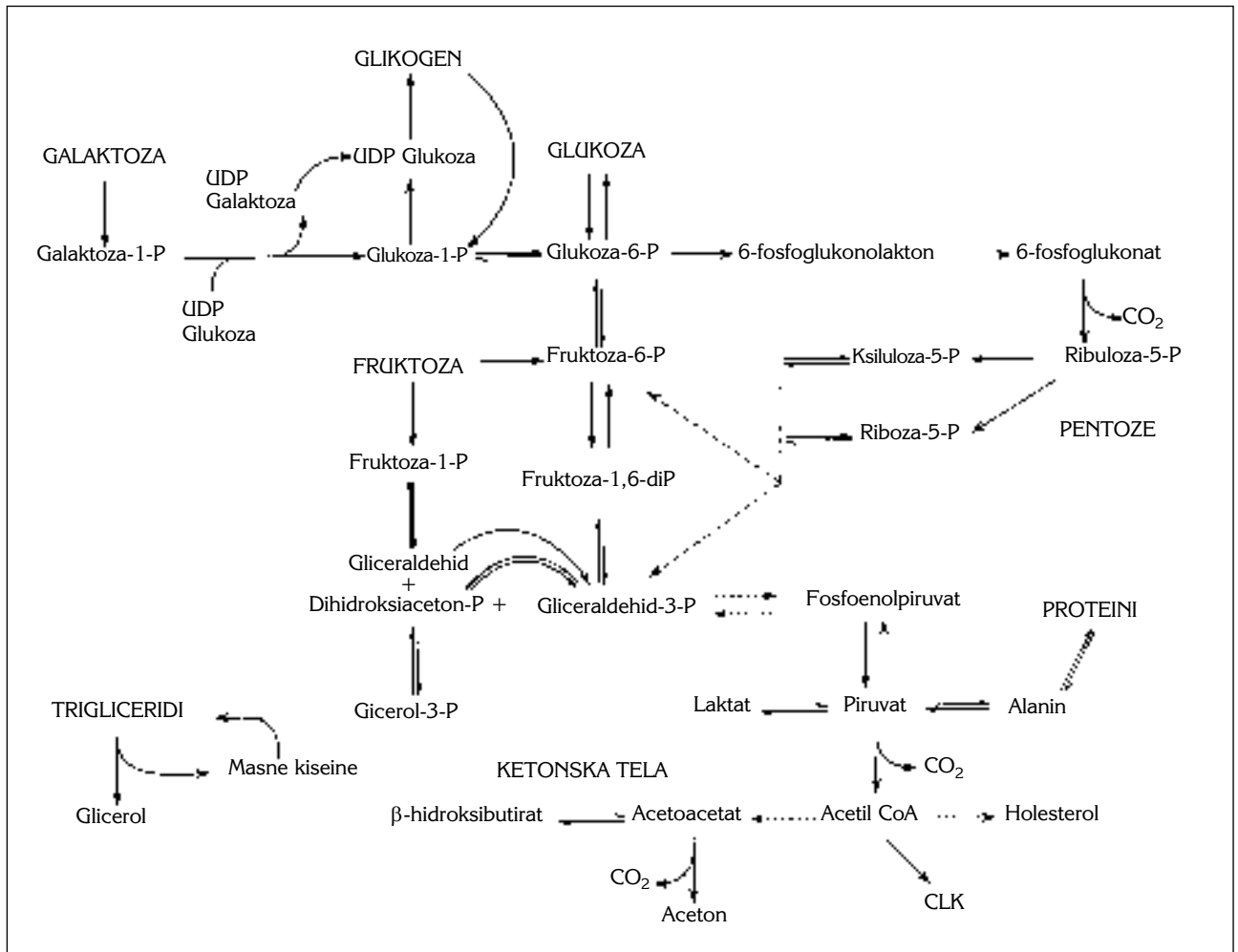
U svetu danas ima oko 120 miliona dijabetičara, sa tendencijom da se do 2025. godine ovaj broj udvostruči. Naročito će se broj dijabetičara uvećavati u zemljama u razvoju, zbog rasta populacije, starosti, neodgovarajuće ishrane ili gojaznosti, kao i teških uslova života. U razvijenim zemljama većina dijabetičara imaće oko 65 ili više godina života, a u 2025. godini u zemljama u razvoju starost dijabetičara kretaće se između 45 i 64 godina.

Međunarodne studije pokazuju da na razvoj i napredovanje komplikacija u dijabetesu kao što su retinopatija, nefropatija i neuropatija utiče stepen metaboličke kontrole u dece i mladih sa dijabetesom. Osim kontrole insulin-zavisnih dijabetičara, potrebna je kontrola i pacijenata koji ne koriste insulin. Za postizanje zadovoljavajućih rezultata u otkrivanju i kontroli dijabetičara presudnu ulogu ima dobro organizovana laboratorijska služba. Praćenje indikatora za kontrolu glikemije postaje još i važnije u budućnosti sa uvećanjem broja pacijenata. Iz ovog razloga ulažu se neprekidni naponi u pravcu standardizacije laboratorijskih metoda, koje moraju da budu sve tačnije i preciznije.

Shodno ovome IFCC je 1995. godine formirao radnu grupu (Working Group) sa ciljem da standardizuje merenje glikohemoglobina, kako bi se svi komercijalni proizvodi odnosili na isti referentni sistem.

U izlaganjima se obrađuje etiologija i dijagnostikovanje šećerne bolesti, opisuju sistemi za merenje nivoa glukoze u krvi, sa posebnim osvrtom na primenu aparata za samo-kontrolu pacijenata i praćenje pacijenata u kliničkim uslovima. Posebno se opisuje značaj i primena glikohemoglobina za kontrolu nivoa glikemije uz razmatranje biohemije, metoda, standardizacije i kontrole kvaliteta pri određivanju glikohemoglobina. Prema tome, cilj je da se u okviru kondenzovanog seminara iznesu najnovija saznanja s kojima treba da raspolaže medicinski biohemičar u svom svakodnevnom radu pri izradi i izdavanju rezultata neophodnih za dijagnostikovanje i praćenje *diabetes mellitusa* (1).

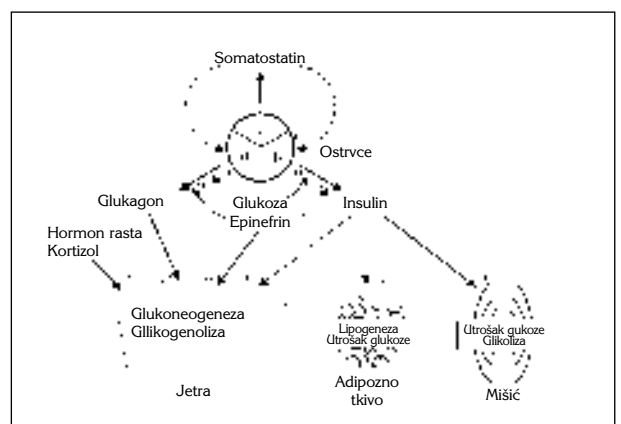
Metabolizmom ugljenih hidrata obezbeđuje se glukoza, primarni energetski izvor u organizmu. Nakon razlaganja ugljenih hidrata i apsorpcije glukoze, održavanje koncentracija glukoze u krvi reguliše dejstvo nekoliko hormona u nizu međusobno povezanih me-



Slika 1. Glavni stupnjevi u intermedijernom metabolizmu ugljenih hidrata

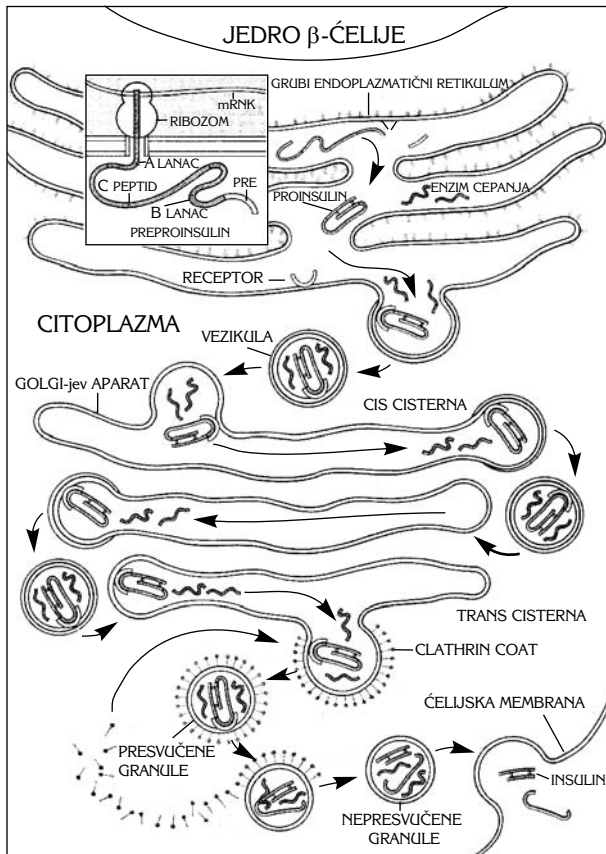
taboličkih puteva. Glukoza se sintetiše *de novo* ili čuva u tkivima kao glikogen. *Glikogeneza* je prevođenje glukoze u glikogen. Reverzibilni proces, koji se sastoji iz razlaganja glikogena do glukoze i drugih intermedijera je *glikogenoliza*. Stvaranje glukoze i drugih intermedijernih proizvoda iz neugljenohidratnih jedinjenja, kao što su aminokiseline, glicerol, ili laktat je *glukoneogeneza*. Prevođenje glukoze ili drugih heksoza u laktat ili piruvat je *glikoliza*. Dalja oksidacija do ugljen dioksida i vode odvija se preko Kребsovog ciklusa (ciklus limunske kiseline) i mitohondrijalnog lanca elektronskog transporta povezanog sa oksidativnom fosforilacijom, pri čemu se stvara energija u obliku adenzin-trifosfata (ATP). Oksidacija glukoze do ugljen dioksida i vode odvija se i u heksozo-monofosfatnom putu u kome se stvara NADPH (Slika 1) (2, 3).

Uprkos velikih promena u snabdevanju i u potrebama za ugljenim hidratima, *koncentracija glukoze u krvi se normalno održava u uskim granicama pod dejstvom hormona koji omogućavaju ulazak glukoze u i izvan cirkulacije*. Insulin, smanjuje nivo glu-

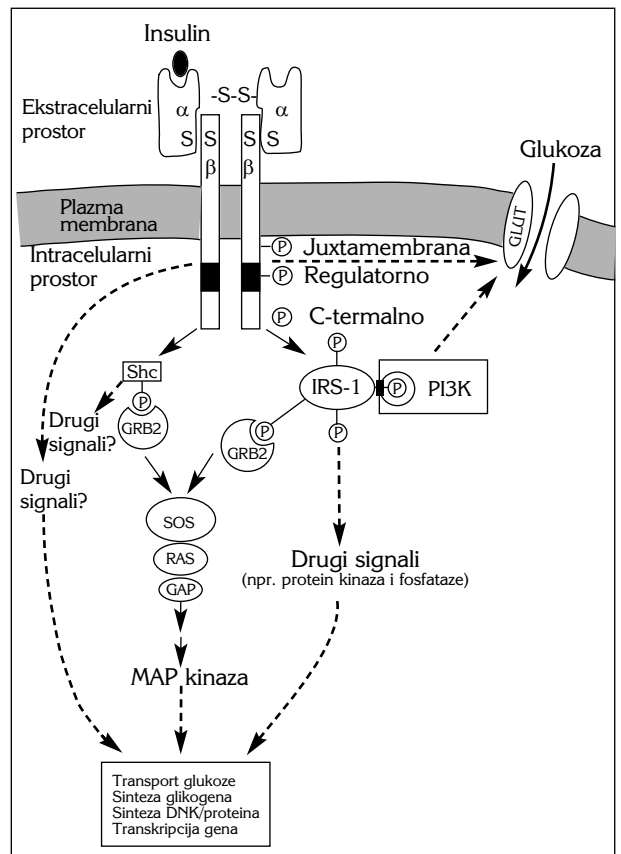


Slika 2. Hormonska regulacija koncentracije glukoze u krvi

koze u krvi, a kontraregulatorni hormoni (glukagon, epinefrin, kortizol i hormon rasta) povećavaju nivo glukoze u krvi (v. Sliku 2). Normalno održavanje glukoze zavisi od: 1) sposobnosti pankreasa da luči insulin, 2)



Slika 3. Sinteza insulina i oslobađanje iz pankreasnih β-ćelija



Slika 4. Potencijalni mehanizam delovanja insulina

spособnosti insulina da omogući transpot glukoze u periferna tkiva, i 3) sposobnosti insulina da umanjí stvaranje glukoze u jetri. Glavni ciljní organi insulina su jetra, skeletní mišići i adipozna tkiva. Ovi organi se međusobno razlikuju u svom odgovoru na insulin.

Insulin je proteinski hormon koji proizvode β-ćelije Langerhansovih ostrvaca u pankreasu. To je anabolični hormon koji stimuliše unos glukoze u masno tkivo i mišiće, podstíče prevođenje glukoze u glikogen ili masti radi čuvanja, inhibira stvaranje glukoze u jetri, stimuliše sintezu proteina i inhibira razgradnju proteina.

Humani insulin (RMM 6000) sadrži 51 aminokiselinu u dva lanca (A i B) međusobno povezana sa dva disulfidna mosta i trećom disulfidnom vezom unutar lanca A.

Preproinsulin, protein koji se sastoji iz 100 aminokiselina (RMM 12 000) formira se na ribozomima grubog endoplazmatičnog retikuluma pankreasnih β-ćelija. Preproinsulin se pod normalnim uslovima ne nalazi u cirkulaciji zbog brzog prevođenja enzimskom razgradnjom do proinsulina (RMM 9000), koji je polipeptid sa 86 aminokiselina. Proinsulin se čuva u sekretornim granulama Golgijevog kompleksa β-ćelija, u kojima se proteolitički razlaže do insulina i C-peptida (vezivni protein) (v. Sika 3).

Glukoza, aminokiseline i gastrointestinalni hormoni (glukagon, gastrin, sekretin, pankreozimin, gastrointestinalni polipeptid) i neki lekovi (npr. sulfonilurea i β-adrenergični agonisti) stimulišu izlučivanje insulina.

Mada su efekti insulina jako dobro poznati, još uvek nisu sasvim jasni molekularni mehanizmi delovanja insulina. Generalno je prihvaćeno da početni stupanj otpočinje vezivanjem insulina za specifične receptore i plazma membrani (v. Sliku 4).

Humani insulinski receptor je heterotetramer, koji sadrži dve α- i dve β-subjedinice. α-subjedinica (RMM 135 000) se nalazi na unutrašnjoj strani plazma membrane i sadrži mesto za koje se vezuje insulin. β-subjedinica (RMM 95 000) se prostire intracelularno kroz plazma membranu i sadrži unutrašnju tirozin kinazu. Vezivanje insulina za alfa-jedinice indukuje konformacionu promenu receptora, što za posledicu ima aktivaciju tirozin kinaze da fosforiliše ostatke tirozina na proteinima. Jedan od najvećih supstrata za ovu tirozin kinazu je sam receptor. Fosforilacija β-subjedinice insulinskog receptora odigrava se u tri domena i to uz membranu, u regulatornom regionu i na karboksil-terminalnom repu. Smatra se da je dejstvo aktivnosti tirozin kinaze na insulinski receptor ključno (esencijalno) za otpočinjanje procesa. Nakon fosforilacije određenih intracelularnih proteina otpočinje inicijacija fosforila-

cione kaskade. Ovo za posledicu ima unos glukoze (u adipozna tkiva i skeletne mišiće), inhibiciju lipolize, sintezu glikogena, DNK, i proteina i pojačanje genske transkripcije.

Transport glukoze u ćelijama moduliraju dve familije proteina. Intestinalni natrijum/glukoza kotransporter podstiče unos glukoze i galaktoze iz lumena tankog creva i njihovu reapsorpciju iz urina u bubreg. Ovaj transporter koristi elektrohemijski natrijum gradijent za transport glukoze nasuprot koncentracionog gradijenta. Druga familija prenosioca glukoze, koji se nazivaju olakšavajući glukoza transporter (facilitative glucose transporters, GLUT) smešteni su na površini

svih ćelija. Označeni su sa GLUT1 do GLUT7 shodno redu otkrivanja. Pomoću njih se ostvaruju različite funkcije u transportu glukoze (npr. bazalni transport glukoze, transport bez ograničenja brzine, transport glukoze u neuronima, transport glukoze stimulisan insulinom, transport fruktoze, oslobađanje glukoze iz endoplazmatskog retikuluma, itd.).

Ima nekoliko hormona koji deluju suprotno insulinu. Ovi *kontraregulatoni hormoni* (glukagon, epinefrin, hormon rasta, kortizol) su katabolički. Povećavaju hepatično stvaranje glukoze, tako što se pojačava razgradnja glikogena do glukoze (*glikogenoliza*) i kasnije stimuliše sinteza glukoze (*glukoneogeneza*).

INSTRUCTIONS AND RECOMMENDATIONS FOR USE OF THE LABORATORY METHODS IN DIABETS MELLITUS DIAGNOSIS AND MONITORING

Nada Majkić-Singh

Institute for Medical Biochemistry, Pharmaceutical Faculty and Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia and Montenegro

Summary: The clinical laboratory plays an essential role in monitoring blood glucose and managing patient self-testing with a variety of devices. The monitoring of indicators of glycaemic control will become even more important as the numbers of patients increase. In addition, the concentrated efforts to standardise analytical methods make measurements more accurate, more precise, and more reliable for achieving tight control in individual patients. International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) set up a Working Group in 1995 intended to work towards this goal for the measurement of glycated haemoglobin, providing ways for industry partners to link performances of commercial products to a common reference system. To achieve proper monitoring of the diabetic patients it is very important to know the aetiology of diabetes and establish the latest criteria for its diagnosis. Once diagnosed, it is vitally important to monitor the patient's glycaemic control; point of care testing for glucose and laboratory measurement of glycated haemoglobin form the basis for good management. It means that the analysis of glycated haemoglobin is covered by description of biochemistry, methods, standardisation and quality control.

Key words: diabetes mellitus, laboratory monitoring, instructions, recommendations.

Literatura

1. John WG. Monitoring glycaemic control in the diabetic patients. IFCCSeries, Excerpta Medical Publications, Elsevier Science Limited 2001.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Ed Burtis CA, Ashwood ER. Third Edition, W.B. Saunders Company, 1999; 750-808.
3. Majkić-Singh N. Medicinska biohemija, DMBJ 1994; 103-158.