

# Glykemie/stanovení



Článek byl doporučen ke studiu

x

Tento článek doporučil ke studiu pedagog lékařské fakulty:



MUDr. Martin Vejražka, PhD. (e-mail) -- redakce WikiSkript

*Zjednodušili jsme význam „zelené fajfky“! Více se dozvíte v tomto článku.*

Stanovení koncentrace glukózy v krvi je vyšetřením, které poskytne základní informaci o sacharidovém metabolismu. Odebírá se kapilární nebo venózní krev a glukóza se stanovuje v plné krvi, plazmě nebo séru. Při stanovení glukózy v plné krvi jsou hodnoty o 10–15 % nižší (v závislosti na hematokritu), v arteriální krvi jsou o 10 % vyšší než ve venózní (arteriovenózní rozdíl). Pro zabránění glykolýzy se do odběrových nádobek přidává NaF (2,5 mg na 1 ml plné krve).

**Vyšetření koncentrace glukózy v krvi má potřebnou informační hodnotu pouze tehdy, pokud je znám časový interval mezi odběrem krve a příjmem potravy.**

Vyšetření glykémie se provádí:

- **nalačno** (krev se odebírá nejméně 8 hodin po příjmu potravy) – indikováno při vyhledávání diabetiků a určení diagnózy DM;
- **náhodně** naměřená glykémie (krev se odebírá bez udání časového vztahu k příjmu potravy) – provádí se při podezření na hypoglykémii nebo hyperglykémii;
- po jídle – **postprandiální** glykémie (1 hodinu po jídle obsahujícím sacharidy) – indikováno při kontrole účinnosti léčby DM;
- jako **glykemický profil** – glykémie se stanovuje několikrát denně, obvykle před hlavními jídly, někdy i po jídle a v noci.



Osobní glukometr

## Metody stanovení glykémie

### Stanovení glykémie v laboratorních podmínkách

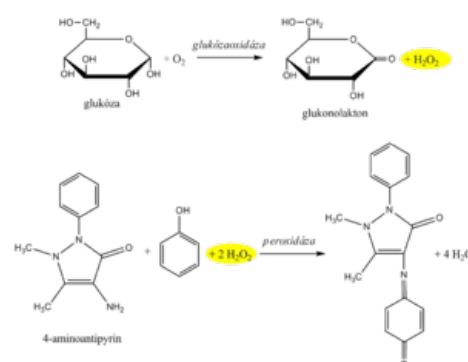
Ke stanovení koncentrace glukózy se používají různé metody. Rozšířené jsou metody **enzymové**. Glukózu můžeme stanovit pomocí každého enzymu, který ji metabolizuje.

#### Glukózaoxidázová reakce

Doporučená rutinní metoda využívá *spřažených enzymových reakcí* **glukózaoxidázy (GOD, EC 1.1.3.4)** (<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC1/1/3/4.html>) a **peroxidázy (POD, EC 1.11.1.7)** (<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC1/11/1/7.html>). V první reakci enzym **glukózaoxidáza** katalyzuje oxidaci glukózy vzdušným kyslíkem za vzniku glukonolaktonu. Je známo, že v roztoku je 36 % glukózy ve formě  $\alpha$ -anomeru a 64 % ve formě  $\beta$ -anomeru. GOD je vysoce specifická pro  $\beta$ -D-glukopyranosu. Aby se mohly oxidovat oba anomery, je nutná mutarotace  $\alpha$ - na  $\beta$ -anomer, ke které dojde spontánně v průběhu dostatečně dlouhé inkubace. Jako vedlejší produkt glukózaoxidázové reakce se vytváří ekvimolární množství **peroxidu vodíku**.

V další reakci katalyzované **peroxidázou** reaguje vznikající peroxid vodíku s vhodným chromogenem, který se oxidaže na reaktivní meziprodukt, a ten s další látkou kopuluje na stálé rozpustné barvivo. Příkladem může být oxidační kopulace derivátu fenolu se 4-aminoantipyrinem na červené barvivo, jehož absorbance se po ustálení reakční rovnováhy měří.

Jiné metody využívají **měření úbytku kyslíku**, ke kterému dochází v průběhu reakce katalyzované **glukózaoxidázou** a který můžeme sledovat elektrochemicky kyslíkovou elektrodou nebo enzymovou elektrodou.



Glukózaoxidázová a peroxidázová reakce

## Hexokinázová reakce

Vysokou specifitou se vyznačuje metoda hexokinázová. **Hexokináza** (EC 2.7.1.1 (<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC2/7/1/1.html>)) fosforyluje glukózu v přítomnosti ATP na **glukóza-6-fosfát**. V dalším kroku se glukóza-6-fosfát oxiduje pomocí **glukóza-6-fosfátdehydrogenázy** proti  $\text{NADP}^+$  na 6-fosfoglukonolakton. Redukci  $\text{NADP}^+$  na **NADPH** lze vyhodnocovat přímou fotometrií v UV oblasti na principu Warburgova optického testu.

## Stanovení glykémie v mimolaboratorních podmínkách

Glykémie patří mezi parametry, které se často vyšetřují i bez laboratorního zázemí. Rychlé orientační stanovení glykémie je běžné v urgentní péči. U pacientů léčených inzulínem se také s výhodou pravidelně sleduje glykémie pomocí osobního **glukometru** a na základě naměřených hodnot se upravuje léčba. Koncentrace glukózy v krvi patří mezi parametry nejčastěji stanovené technikami *vyšetření v místě péče o pacienta (point of care testing, POCT)*. Nutno ovšem mít na paměti, že metody POCT, jakkoli zlepšují kvalitu péče i komfort nemocného, nenahrazují pravidelné lékařské vyšetření ani laboratorní kontroly.

Metody rychlého stanovení glykémie využívají několika principů. Výchozím materiálem je obvykle kapka plné kapilární krve, která se aplikuje na **testovací proužek**.

Nejstarší proužky byly založeny na stejných reakcích jako fotometrické měření koncentrace glukózy. Reakční zóna obsahovala *glukózaoxidázu*, *peroxidázu* a vhodný chromogen. Vyhodnocení se provádělo buď vizuálně srovnáním s barevnou stupnicí, nebo pomocí glukometru – jednoúčelového reflexního fotometru.

Většina glukometrů dnes využívá **enzymové elektrody**<sup>[1] [2]</sup>.

Senzory **první generace** se objevily již v šedesátých letech 20. století. Nejstarší systém byl založen na glukózaoxidázové reakci. Využíval dvou elektrod, jedna byla pokrytá enzymem. Koncentrace kyslíku ve vzorku a rychlost jejího poklesu v průběhu reakce se měřila tzv. Clarkovou metodou: kyslík se redukuje na platinové katodě, intenzita proudu mezi katodou a anodou odpovídá jeho koncentraci:



Později se namísto spotřeby kyslíku stanovovala elektrochemicky produkce peroxidu vodíku. I v tomto případě jde o jednoduchou elektrochemickou reakci, tentokrát probíhající na anodě:



Takto konstruované analyzátory byly jednodušší a bylo možné je více miniaturizovat. Ampérometrické měření produkce peroxidu vodíku je ovšem ovlivněno řadou látek: askorbátem, kyselinou močovou, mnohými léčivými apod. Jiným problémem mnohých senzorů první generace byla závislost výsledků měření na nasycení vzorku kyslíkem.

Senzory **druhé generace** jsou rovněž založeny na **glukózaoxidázové** reakci, namísto molekulárního kyslíku je však akceptorem elektronů jiná látka – tzv. **mediátor**. Jinou možností je oxidace glukózy na glukonolakton jiným bakteriálním enzymem, **glukózadehydrogenázou**, přičemž elektrony se opět přenášejí na vhodný mediátor. Redukovaný mediátor se v obou případech znovu oxiduje na anodě a měří se buď proud protékající mezi katodou a anodou (ampérometrické stanovení), nebo výsledný náboj anody (coulombometrické stanovení). Používá se řada konkrétních uspořádání testovacích proužků, jako mediátory se využívají různé látky (např. kyanoželezitan, hexamin ruthenia, komplexy osmia, fenantrolinichinon).

Měření glykémie v reálném čase bez opakovaných odběrů krve umožňují novější senzory, které měří koncentraci glukózy kontinuálně (nebo v krátkých časových intervalech). Jsou založené také na enzymové elektrodě, která se jednou za několik dní zavádí do podkoží. Měří koncentraci glukózy v tkáňovém moku; ta odpovídá glykémii velmi dobře, méně se oproti glykémii s několikaminutovým zpožděním. Enzymová elektroda bývá zabudována v jednom těle s elektronikou, která vyhodnocuje naměřená data a umožňuje jejich bezdrátový přenos do čtečky nebo mobilního telefonu.

Vyvíjejí se i další metody, které umožňují měřit glykémii i neinvazivně, bez odběru krve. Jsou nejčastěji založené na optických metodách – spektroskopii v blízké infračervené oblasti (NIR spektroskopie) či Ramanově spektroskopii, nebo využívají i dalších změn fyzikálních vlastností tkání v závislosti na glykémii.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce **Neinvazivní měření glykémie**.*



Kontinuální měření koncentrace glukózy

## Odkazy

## Reference

- JOSEPH, Wang. Electrochemical glucose biosensors. *Chemical reviews* [online]. 2008, vol. 108, no. 2, s. 814-825, dostupné také z <<https://pubs.acs.org/action/cookieAbsent>>. ISSN 0009-2665.
- HELLER, Adam a Ben FELDMAN. Electrochemical glucose sensors and their applications in diabetes management. *Chemical reviews* [online]. 2008, vol. 108, no. 7, s. 2482-2505, dostupné také z

