mgr Agata Giżycka
Asystent w Dziale Informacji Naukowej
EUROIMMUN Polska Sp. z o.o.

DIAGNOSTYKA I MONITOROWANIE CUKRZYCY

Cukrzyca jako choroba cywilizacyjna

Cukrzyca (ang. *diabetes mellitus*, DM) dotyka coraz większą liczbę osób na całym świecie. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) chorują na nią aż 422 mln ludzi, a blisko 1,6 mln z nich umiera rocznie z jej powodu (1). Szacuje się, że w Polsce na DM choruje aż 2,6 mln osób, z czego u osób powyżej 65. r.ż. diabetycy stanowią aż 25–30% populacji (2). WHO definiuje DM jako **przewlekłą chorobę metaboliczną, charakteryzującą się podwyższonym poziomem glukozy we krwi**. Jej przyczyną jest defekt wydzielania albo wchłaniania insuliny, lub oba równocześnie. Przewlekła hiperglikemia prowadzi do uszkodzenia, zaburzenia czynności i niewydolności różnych narządów i tkanek. Szczególnie narażone są oczy, nerki, serce, a także naczynia krwionośne i nerwy, co prowadzi do szeregu powikłań: nefropatii, retinopatii, neuropatii czy zwiększonego ryzyka rozwoju chorób serca (3).

Klasyfikacja cukrzycy według WHO

WHO wyróżnia cukrzycę typu 1, typu 2, ciążową, a także inne specyficzne typy. **Przyczyną cukrzycy typu 1 jest proces autoimmunizacyjny**, wyzwalany przez czynniki środowiskowe u osób z predyspozycją genetyczną. Dochodzi u nich do produkcji autoprzeciwciał skierowanych przeciwko różnym antygenom komórek β wysp trzustkowych, co prowadzi do stopniowej utraty ich zdolności wydzielniczych, a w konsekwencji ich zaniku. Zazwyczaj ten typ cukrzycy ujawnia się w wieku dziecięcym, jednak zdarza się, że proces niszczenia wysp Langerhansa jest powolny i do manifestacji klinicznej dochodzi dopiero w 4., a nawet 5. dekadzie życia. Mówi się wówczas o cukrzycy autoimmunologicznej o późnym początku (ang. *latent autoimmune diabetes in adults*, LADA). Postać ta, z uwagi na późną manifestację kliniczną, jest często mylona z cukrzycą typu 2. W diagnostyce różnicowej tych dwóch schorzeń **kluczowe jest oznaczanie obecności autoprzeciwciał** typowych dla cukrzycy typu 1 i/lub stwierdzenie niskiego stężenia peptydu C (2) (4).

Cukrzyca typu 2 dotyka ponad 90% wszystkich diabetyków (5). Jest to wieloczynnikowe schorzenie charakteryzujące się wrodzoną lub nabytą **insulinoopornością** oraz zaburzeniami wydzielania insuliny (6). Może wynikać z uwarunkowań genetycznych, lecz w głównej mierze rozwija się w wyniku działania czynników środowiskowych, takich jak otyłość (zwłaszcza brzuszna) czy niedostateczna aktywność fizyczna (2) (4).

Podstawowe badania laboratoryjne w diagnostyce cukrzycy

Do rozpoznania cukrzycy stosuje się **oznaczenie stężenia glukozy we krwi** rano po minimum 8-godzinnym wstrzymaniu się od przyjmowania pokarmu i spoczynku (**glikemia na czczo**) lub o dowolnej porze dnia (**glikemia przygodna**) oraz **doustny test tolerancji glukozy** (ang. *oral glucose tolerance test*, **OGTT**).

Tab. 1. Nazewnictwo stanów hiperglikemicznych wg WHO (2).

Normoglikemia	
prawidłowa glikemia na czczo	70–99 mg/dl (3,9–5,5 mmol/l)
Stan przedcukrzycowy (IFG i/lub IGT)	
nieprawidłowa glikemia na czczo (ang. *impaired fasting glucose*, IFG)	100–125 mg/dl (5,6–6,9 mmol/l)
nieprawidłowa tolerancja glukozy (ang. *impaired glucose tolerance*, IGT)	glikemia w 120. minucie OGTT 140–199 mg/dl (7,8–11 mmol/l)
Cukrzyca (jedno z poniższych kryteriów)	
objawy hiperglikemii i glikemia przygodna	≥ 200 mg/dl (≥ 11,1 mmol/l)
dwukrotna glikemia na czczo	≥ 126 mg/dl (≥ 7,0 mmol/l)
glikemia w 120. minucie OGTT	≥ 200 mg/dl (≥ 11,1 mmol/l)

W USA i niektórych krajach europejskich dopuszczono możliwość zastosowania oznaczenia tzw. **hemoglobiny glikowanej (HbA1c)** do rozpoznania cukrzycy, jeżeli zastosuje się w tym celu **metodę HPLC**. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne (PTD) nie zaleca tego oznaczenia do celów diagnostycznych, jednak dopuszcza je w badaniach przesiewowych w kierunku zaburzeń tolerancji węglowodanów (2).

Badania immunologiczne w cukrzycy – rola autoprzeciwciał

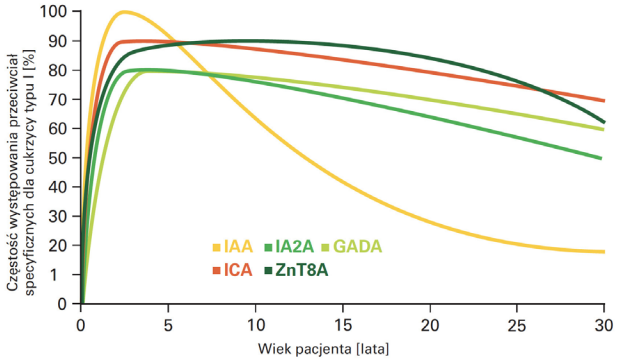
W celu potwierdzenia obecności procesu autoimmunizacyjnego w przebiegu cukrzycy można wykonać oznaczenie autoprzeciwciał:

- **GADA** (przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego; ang. *glutamic acid decarboxylase antibodies*),
- **ICA** (przeciwko komórkom wysp trzustkowych; ang. *islet cell antibodies*),
- **IA2A** (przeciwko fosfatazie tyrozynowej; ang. *tyrosine phosphatase-protein antibodies*),
- **IAA** (przeciwko insulinie endogennej; ang. *insulin autoantibodies*),
- **ZnT8A** (przeciwko białku transportującemu cynk 8; ang. *zinc transporter 8 antibodies*).

Czas od indukcji procesu autoimmunizacyjnego do wystąpienia pełnoobjawowej cukrzycy typu 1 można podzielić na trzy fazy:

I. bezobjawowy proces autoimmunizacyjny z normoglikemią,
II. bezobjawowy proces z dysglikemią,
III. pełnoobjawowa cukrzyca.

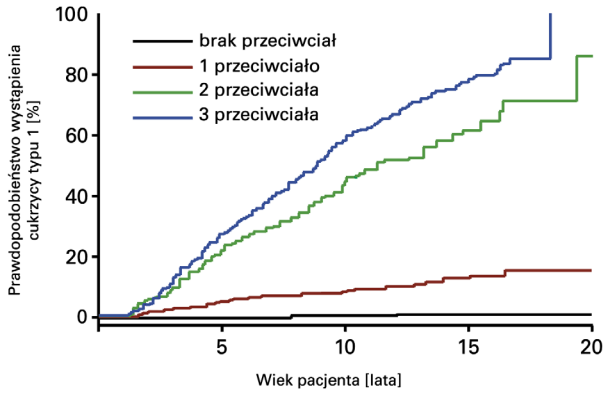
Rys. 1. Częstość występowania przeciwciał specyficznych dla cukrzycy typu 1 w zależności od wieku pacjenta (7).



Ziegler A. et al., JAMA (2013)

Zgodnie z zaleceniami PTD w przypadku cukrzycy w wieku rozwojowym „**pierwotna diagnostyka hiperglikemii lub rewizja diagnozy obejmuje oznaczenie przeciwciał GADA oraz 1–2 z kolejnych: ICA, IA2A, IAA, ZnT8A**". Obecność drugiego, trzeciego lub czwartego przeciwciała skutkuje progresją procesu patogenezy, a w efekcie rozwojem cukrzycy typu 1 (8). Ryzyko rozwoju jawnej klinicznie cukrzycy typu 1 **wzrasta wraz z liczbą autoprzeciwciał wykrytych w surowicy pacjenta** (2). Szacuje się, że u około 70% chorych stwierdza się obecność 3–4 autoprzeciwciał, a tylko u 10% jednego (8).

Rys. 2. Wpływ liczby specyficznych przeciwciał na prawdopodobieństwo wystąpienia cukrzycy typu 1 w zależności od wieku pacjenta (7).



Ziegler A. et al., JAMA (2013)

U osób, u których stwierdzono obecność przeciwciał IA2A oraz ZnT8A, progresja choroby zachodzi szybciej niż u tych, u których nie są one obecne (8). **Oznaczenie kilku autoprzeciwciał równocześnie zwiększa trafność diagnostyczną oraz jest przydatne w prognozowaniu rozwoju choroby**.

Monitorowanie cukrzycy

Integralną częścią leczenia cukrzycy jest regularna kontrola glikemii. **Samodzielna kontrola glikemii** przez pacjenta za pomocą glukometrów jest standardowym postępowaniem w monitorowaniu cukrzycy.

Do monitorowania glikemii stosuje się także **oznaczenie hemoglobiny glikowanej (HbA1c)**. Parametr ten odzwierciedla **średnie stężenie glukozy we krwi w ciągu 3 miesięcy** poprzedzających badanie. Celem ogólnym wyrównania gospodarki węglowodanowej jest uzyskanie wartości HbA1c nieprzekraczającej 7% (53 mmol/mol). W zaleceniach PTD wskazano także cele indywidualne w zależności m.in. od wieku, obecności powikłań czy chorób towarzyszących występujących u chorego.

Częstość oznaczania HbA1c wg zaleceń PTD (2):	
u wszystkich diabetyków ze stabilnym przebiegiem choroby, osiągających cele lecznicze	**raz w roku**
u osób, u których nie osiągnięto celów leczniczych	**raz na kwartał**
u pacjentów, u których dokonano zmiany sposobu leczenia	**raz na kwartał**

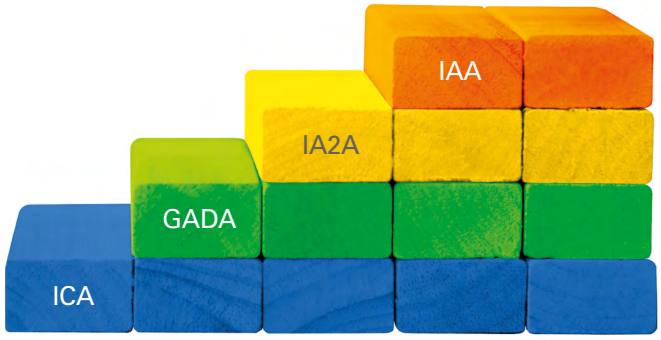
Zaletą oceny HbA1c, w porównaniu do tradycyjnego oznaczenia stężenia glukozy, jest **brak wpływu na wynik zmienności dobowej, stresu, spożycia pokarmu czy wysiłku fizycznego** w czasie bezpośrednio poprzedzającym badanie. Ze względów ekonomicznych istotna jest stabilność materiału biologicznego. Krew żylną pobraną na EDTA lub heparynę można przechowywać w temp. +4°C do 7 dni, co pozwala na znaczące obniżenie kosztów pracy laboratorium, poprzez zbieranie próbek i oznaczanie jednorazowo większych serii. Przede wszystkim jednak ogromną zaletą oznaczenia HbA1c jest jego **wartość prognostyczna**. W badaniach klinicznych Diabetes Control and Complications Trial – DCCT (dotyczące cukrzycy typu 1) oraz United Kingdom Prospective Diabetes Study – UKPDS (dotyczące cukrzycy typu 2) wykazano, że **średnia wartość glikemii wyrażona za pomocą HbA1c koreluje z ryzykiem rozwoju mikroangiopatycznych** oraz (w pewnym stopniu) **makroangiopatycznych powikłań cukrzycy** (9) (10). Znaczenie tego parametru w prognozowaniu późnych powikłań cukrzycy podkreślono także w Rekomendacjach Prewencji, Diagnostyki i Leczenia Chorób Układu Sercowo-Naczyniowego u Osób z Cukrzycą wydanych przez Polskie Towarzystwo Kardiodiabetologiczne: „Osiąganie za pomocą intensywnego leczenia metabolicznego średniej glikemii zbliżonej do normy (90±20 mg/dl) oraz stężenia HbA1c<6% ok. 2-krotnie zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych. Redukuje także rozwój powikłań mikroangiopatycznych – retinopatii, nefropatii oraz neuropatii cukrzycowej" (11). Właśnie dzięki swojej roli prognostycznej oznaczenie HbA1c stanowi **niezbędne narzędzie stosowane w monitorowaniu leczenia cukrzycy**. Przy interpretacji wyniku HbA1c należy pamiętać, że mogą na niego wpłynąć m.in. wiek, zmiany okresu przeżycia erytrocytów wynikające np. z niedokrwistości lub ostrej utraty krwi oraz obecność dodatkowych wariantów hemoglobiny u osoby badanej (12) (13).

Wiele towarzystw diabetologicznych (w tym PTD) **zaleca stosowanie do oznaczenia HbA1c metody HPLC** (wysokosprawna chromatografia cieczowa, ang. *high-performance liquid chromatography*) lub technik standaryzowanych według NGSP (*National Glycohemoglobin Standardization Program*). Wynika to z niezawodności i powtarzalności tej metody, a także z zastosowania jej w programie standaryzacji NGSP oraz we wspomnianych wyżej badaniach DCCT i UKPDS (9).

REKLAMA

Autoprzeciwciała w cukrzycy typu 1

- aż **5 autoprzeciwciał**: ICA, GADA, IA2A, IAA, ZnT8A
- **3 metody badań**: ELISA, RIA, IIFT
- **wartość prognostyczna** w fazie przedklinicznej
- **bezpłatna promocja** laboratorium w wyszukiwarce



AUTOPRZECIWCIALA.INFO

Równoległe badanie wielu autoprzeciwciał zwiększa trafność diagnostyczną

EUROIMMUN Polska Spółka z o.o.

Zalety badania HbA1c:
- brak wpływu na wynik zmienności dobowej, stresu, spożycia pokarmu czy wysiłku fizycznego
- stabilność materiału biologicznego, możliwość przechowywania próbki
- istotna wartość prognostyczna – parametr niezbędny w monitorowaniu leczenia cukrzycy

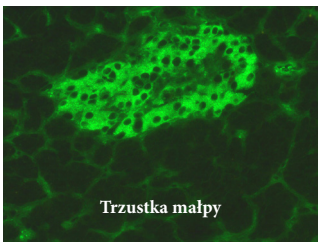
Diagnostyka i monitorowanie cukrzycy – oferta EUROIMMUN

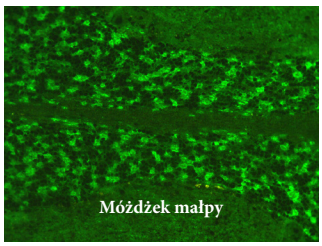
Diagnostyka cukrzycy typu 1: 3 metody i aż 5 rodzajów autoprzeciwciał

W ofercie EUROIMMUN znajdują się testy służące do wykrywania autoprzeciwciał występujących w przebiegu cukrzycy (ang. *diabetes autoantibodies*, DAA).

- Testy oparte o metodę ELISA:
  - **Anty-GAD ELISA** – diagnostyka przeciwciał przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (GADA) u pacjentów w fazie przedklinicznej oraz po upływie lat od pierwszej manifestacji choroby
  - **Anty-IA2 ELISA** – diagnostyka przeciwciał przeciwko fosfatazie tyrozynowej (IA2A); wysoka czułość diagnostyczna u dzieci i młodzieży
  - **Anty-GAD/IA2 ELISA** – równoczesna ocena przeciwciał GADA oraz IA2A
  - **Anty-ZnT8 ELISA [NOWOŚĆ]** – idealne uzupełnienie diagnostyki cukrzycy typu 1: 25–30% pacjentów, u których nie występują przeciwciała GADA, IAA oraz IA2A, wykazuje obecność przeciwciał ZnT8A; występują u 56–72% pacjentów pediatrycznych w chwili rozpoznania cukrzycy typu 1

- Testy oparte o metodę IIFT:
  - **Trzustka (małpy) IIFT** – kompleksowa analiza najważniejszych typów przeciwciał przeciwko komórkom wysp trzustkowych (ICA); diagnostyka różnicowa cukrzycy LADA i cukrzycy typu 2. Na etapie produkcji testu każdy substrat (skrawek trzustki małpy) podlega kontroli jakości pod kątem obecności wysp trzustkowych.
  - **Mozaika: trzustka (małpy)/móżdżek (małpy) IIFT** – równoczesna ocena przeciwciał ICA oraz GADA dzięki zastosowaniu dwóch substratów (rys. 3); przeciwciała GADA pojawiają się zarówno u pacjentów z cukrzycą typu 1, jak i u pacjentów z zespołem sztywnego człowieka (ang. *stiff-person syndrome*). Głównym antygenem docelowym wysp trzustkowych jest izoforma 65 kDa dekarboksylazy kwasu glutaminowego (GAD65). Dodatkowo, przeciwciała GADA reagują z warstwą ziarnistą i w mniejszym stopniu z warstwą drobinową komórek w móżdżku.





Rys. 3. Charakterystyczny wzór fluorescencji przeciwciał anty-GAD w obrębie cytoplazmy wysp trzustkowych oraz w warstwie ziarnistej móżdżku.

- Testy oparte o metodę RIA:
  - **Anty-insulina RIA** – diagnostyka przeciwciał przeciwko insulinie (IAA) dzięki zastosowaniu jako antygenu monojodowanej ludzkiej insuliny znakowanej ^{125}I; wysoka prewalencja przeciwciał IAA u małych dzieci z cukrzycą typu 1.

Monitorowanie cukrzycy

Nowością w ofercie firmy EUROIMMUN są **wysokiej jakości urządzenia i odczynniki japońskiej firmy Arkray** do oznaczania hemoglobiny glikowanej. W ofercie dostępne są analizatory do oznaczania HbA1c **rekomendowaną przez PTD metodą HPLC**:

- **ADAMS Lite HA-8380V** – niewielkich rozmiarów aparat odpowiedni dla mniejszych pracowni. Umożliwia jednoczesne oznaczenie do 10 próbek. Mimo swojego **kompaktowego rozmiaru zachowuje pełną funkcjonalność**:
  - bezpośrednia aspiracja krwi z zamkniętych probówek dzięki zastosowaniu metody przebijania korków – **bezpieczeństwo pracownika laboratorium**
  - dwa tryby pracy – **wysoka precyzja i szybkość pomiarów** (wynik w zaledwie 100 sekund w trybie szybkim)
  - wbudowana drukarka – **komfort pracy**

- **ADAMS HA-8180V** – **wysokoprzepustowy aparat** umożliwiający jednoczesne oznaczenie aż do 100 próbek. Dodatkowo posiada specjalny tryb pracy dla próbek CITO, które można oznaczyć poza kolejnością

Oba aparaty ADAMS posiadają **certyfikaty IFCC oraz NGSP**. Uzyskane wyniki pomiarów na wyniku wyrażone są w dwóch rodzajach jednostek – zarówno w [mmol/mol], jak i w [%]. W specjalnym trybie pracy umożliwiają **separację wariantów hemoglobiny HbS i HbC oraz detekcję HbD i HbE**. Dzięki temu w przypadku nietypowych wyników oznaczeń można powtórzyć badanie w drugim trybie, aby zredukować do minimum wpływ obecności nietypowych wariantów hemoglobiny na uzyskany wynik, co zapewnia jego pełną wiarygodność i precyzję.

Firma Arkray stworzyła pierwszy na świecie analizator laboratoryjny do oznaczania HbA1c za pomocą technologii HPLC. Dzięki wieloletniemu doświadczeniu i japońskiej precyzji gwarantuje wysoką dokładność i jakość oznaczeń. ●

Piśmiennictwo

1. World Health Organization, *Global Report on Diabetes*, 2016.
2. *Guidelines on the management of diabetic patients. A position of Diabetes Poland.* Clinical Diabetology, 2020, 9, 1.
3. World Health Organization International Diabetes Federation, *Diagnosis and Management of Type 2 Diabetes*, 2020.
4. Sieradzki J., Płaczkiewicz-Jankowska E., *Cukrzyca, Medycyna Praktyczna*, https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.13.1. (dostęp: 27.07.2020).
5. Laakso M., *Biomarkers for type 2 diabetes*, Molecular Metabolism, 2019, t. 27: 139–146.
6. Landgraf R., Aberle J., Birkenfeld A.L. i wsp., *Therapy of Type 2 Diabetes*, Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes, 2019, 127 (Suppl. 1): S73–S92.
7. Ziegler A.G., Rewers M., Simell O. i wsp., *Seroconversion to Multiple Islet Autoantibodies and Risk of Progression to Diabetes in Children*, JAMA, 2013, 309 (23): 2473–2479.
8. Regnell S.E., Lernmark Å., *Early prediction of autoimmune (type 1) diabetes*, Diabetologia, 2017, 60: 1370–1381.
9. Wenclewska S., Drzewoski J., *Hemoglobina glikowana w diagnostyce i terapii zaburzeń homeostazy glukozy – blaski i cienie*, Diabetologia Kliniczna, 2014, 3, 4: 167–175.
10. Milczarczyk A., Franek E., *Hemoglobina glikowana w rozpoznawaniu cukrzycy*, Choroby Serca i Naczyń, 2012, t. 9, 3: 161–163.
11. Polskie Towarzystwo Kardiodiabetologiczne, *Rekomendacje Prewencji, Diagnostyki i Leczenia Chorób Układu Sercowo-Naczyniowego u Osób z Cukrzycą*, Przegląd Kardiodiabetologiczny, 2008, 3/2.
12. Pani L.N., Korenda L., Meigs J.B. i wsp., *Effect of aging on A1C levels in individuals without diabetes: evidence from Framingham Offspring Study and the National Health and Nutrition Examination Survey 2001–2004*, Diabetes Care, 2008, 31: 1991–1996.
13. Sack D.B., Arnold M., Bakris G.L. i wsp., *Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus*, Clinical Chemistry, 2011, 57: 1–47.

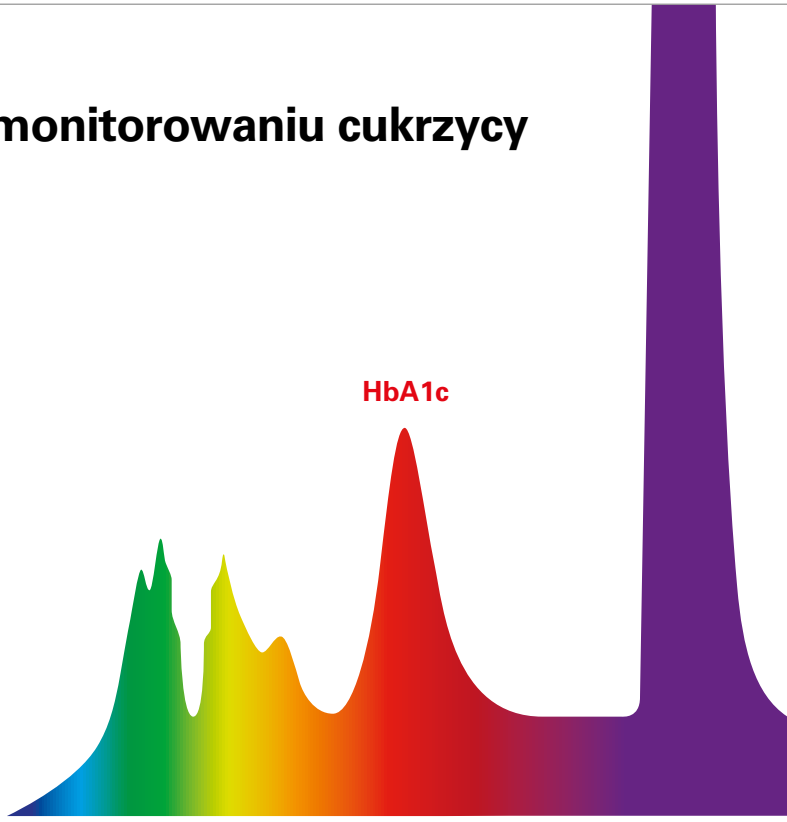
REKLAMA

Hemoglobina glikowana w monitorowaniu cukrzycy

- **japońska technologia**
– niezawodne aparaty do pomiaru hemoglobiny glikowanej (HbA1c)

- **precyzyjne narzędzia**
– rekomendowana metoda HPLC

- **wieloletnia tradycja i doświadczenie**
– Arkray to pionier w badaniach HbA1c



arkray

EUROIMMUN POLSKA Sp. z o.o. jest wyłącznym dystrybutorem urządzeń i odczynników firmy Arkray na terenie Polski do badania stężenia hemoglobiny glikowanej (HbA1c).

EUROIMMUN Polska Spółka z o.o.