

## **КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА**

**Д.М.Н, профессор Гильманов А.Ж.**

Наиболее важным углеводом крови является *глюкоза*; под “сахаром крови” в узком смысле слова подразумевают только глюкозу. Ее **концентрация в крови** здорового взрослого человека составляет **3,33—5,55 ммоль/л**; содержание глюкозы **в плазме** несколько выше (**3,88—6,10 ммоль/л**). Из других углеводов, содержащихся в крови, можно отметить:

- фруктозу — 5,55 — 10,00 мкмоль/л;
- пентозы — 0,12 — 0,22 ммоль/л;
- гликоген — 16,2 — 31,7 мг/л;
- другие полисахариды — около 1,8 мг/л;
- следы галактозы, маннозы, лактозы, мальтозы и сахарозы.

Концентрация глюкозы в крови является результатом соотношения скоростей образования глюкозы из гликогена или других источников, всасывания ее из желудочно-кишечного тракта и утилизации тканями. Нарушения углеводного обмена сопровождаются снижением или повышением концентрации глюкозы в крови (гипо- и гипергликемии). Ниже приведены наиболее частые их причины:

### **ГИПОГЛИКЕМИИ**

#### **1.Нарушения переваривания и всасывания углеводов:**

- отсутствие выработки или сниженная активность ферментов переваривания дисахаридов в тонком кишечнике - сахаразы, мальтазы, лактазы. При этом большинство непереваренных дисахаридов попадают в толстый кишечник, где служат "пищей" для микроорганизмов. В результате бурного микробного расщепления углеводов (брожение) накапливаются газы и молочная кислота, задерживающая в просвете кишечника воду. У больных развивается изнуряющий понос с выделением жидкого пенистого обесцвеченного кала, вздутие живота, обезвоживание организма, потеря веса;
- болезни поджелудочной железы с нарушением экскреторной функции (снижение выработки амилазы, нарушение переваривания сложных углеводов, недостаточное всасывание моносахаридов);
- тяжелый лямблиоз, приводящий к нарушению переваривания и всасывания углеводов;
- болезни кишечника (энтероколиты, тяжелые поносы любой этиологии).

#### **2.Болезни эндокринной системы**

- гиперинсулинизм (аденома, инсулома, рак поджелудочной железы);
- уменьшение выработки контраинсулярных гормонов: болезнь Аддисона - гипофункция коры надпочечников, болезнь Симмондса - гипофункция передней доли гипофиза, гипотиреоз;

#### **3.Болезни печени и почек:**

- печень - дистрофия, цирроз, действие гепатотропных ядов (нарушение синтеза гликогена);

- почки – "почечный диабет" (глюкозурия из-за патологии почечных канальцев).

#### **4. Наследственные нарушения метаболизма моносахаридов (фруктоземия, галактоземия):**

- Врожденное отсутствие фермента фруктокиназы приводит к блоку метаболических превращений фруктозы. Больные не переносят соки, фруктовую воду; у них наблюдается небольшая гипогликемия и увеличение концентрации фруктозы в крови и моче. Токсическое действие высоких концентраций фруктозы проявляется рвотой, поносами, желтухой и гепатомегалией.
- Врожденная нехватка галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы – ключевого фермента превращения галактозы в глюкозу и ее метаболиты – сопровождается гипогликемией и возрастанием концентрации в крови и тканях галактозо-1-фосфата. Последнее приводит к токсическим эффектам: желтухе, гепатомегалии, у детей возможна задержка психического развития. Ухудшение состояния больных наблюдается после употребления молока и молочных продуктов.

#### **5. Нарушения обмена гликогена- гликогенозы (болезни накопления).**

- Нарушение ферментативного распада гликогена печени и мышц из-за врожденного дефицита или отсутствия ферментов гликогенолиза: при болезни Гирке - глюкозо-6-фосфатазы, болезни Помпе - гамма-амилазы, болезни Кори - лимитдекстриназы, болезни Мак-Ардля - мышечной фосфорилазы). Кроме клинических проявлений (гепато-спленомегалия, поражение мышц), наблюдаются значительные колебания уровня глюкозы в крови: подъем после еды и гипогликемия впоследствии. Введение адреналина не приводит к повышению уровня глюкозы в крови.

### **ГИПЕРГЛИКЕМИИ.**

#### **1.Панкреатические-связанные с патологией поджелудочной железы:**

- сахарный диабет (рассматривается отдельно);
- Бронзовый диабет (гемохроматоз) - наследственное нарушение обмена железа с резким увеличением его всасывания железа из кишечника и повышением содержания в крови. Излишек железа в виде гемосидерина откладывается в коже и внутренних органах, что сопровождается нарушениями их функции. Развиваются бронзовое окрашивание кожи, цирроз и рак печени, нарушение функции поджелудочной железы, сахарный диабет, бесплодие и др. Диагностика заболевания основывается на симптомах сахарного диабета, увеличении содержания железа в сыворотке крови, повышении насыщения трансферрина (до 90-95%) и росте концентрации ферритина.
- Острые и хронические панкреатиты. Воспаление ткани поджелудочной железы приводит к снижению эндокринной функции и нарушению продукции инсулина, что сопровождается гипергликемией. Продолжительность последней зависит от остроты и длительности заболевания. Панкреатиты – противопоказание для проведения теста толерантности к глюкозе.

#### **2.Внепанкреатические:**

- Алиментарная гипергликемия развивается при употреблении большого количества легкоусваиваемых углеводов и носит временный характер. Так, однократный прием с пищей более 100 г глюкозы или сахарозы часто приводит к гипергликемии и транзиторной глюкозурии из-за превышения почечного "порога"; в то же время крахмал и другие пищевые полисахариды подобного действия не вызывают.
- Нервная гипергликемия сопровождается стрессами: шок, чувство сильного страха, плач и др. Ее развитие возможно также при травмах и опухолях головного мозга, менингитах, энцефалитах. Повышение концентрации глюкозы в крови связано с выбросом адреналина и активацией распада гликогена печени, причем "приступообразная" гипергликемия впоследствии сменяется гипогликемией в результате торможения распада гликогена.
- Гормональная (эндокринная) гипергликемия связана с избытком контринсулярных гормонов в организме:
- При гипертиреозе ускоряются распад гликогена и поступление глюкозы в кровотоки, причем продукты гликолиза окисляются хорошо и кетоз, как правило, отсутствует. На гликемической кривой у таких пациентов наблюдаются резкий подъем и спад с развитием гипогликемии к концу 2-го часа. При длительном перенапряжении инсулярного аппарата из-за хронической гипергликемии может наступить его истощение и присоединение сахарного диабета (гипергликемия, глюкозурия, кетоз).
- гиперкортицизм (болезнь Иценко-Кушинга, длительный прием глюкокортикоидов) приводит к активации глюконеогенеза и развитию гипергликемии и, возможно, глюкозурии. Появление кетоза говорит о перенапряжении инсулярного аппарата и присоединении сахарного диабета ("стероидный диабет").
- феохромоцитома сопровождается выбросами адреналина и скачками артериального давления, а также транзиторной гипергликемией, иногда с глюкозурией. Пока бета-клетки инсулярного аппарата не истощены, кетоз не наблюдается.
- акромегалия - увеличение выброса соматотропного гормона гипофиза, который активирует инсулиназу печени, вызывая ускорение распада секретированного инсулина, и ингибирует гексокиназу, замедляя метаболизм глюкозы в клетках. Результатом является стойкая гипергликемия; при истощении инсулярного аппарата присоединяется кетоз ("гипофизарный" сахарный диабет).

## **САХАРНЫЙ ДИАБЕТ.**

Сахарный диабет - эндокринно-обменное заболевание, связанное с абсолютной или относительной недостаточностью инсулина и характеризующееся хронической гипергликемией и нарушением всех видов обмена веществ. В мире им болеет примерно 30 млн. человек, в России общее число больных - от 2 до 8 млн. человек. Заболевание имеет существенную медико-социальную значимость: у больных наблюдается рост смертности, увеличение частоты болезней сердца и инсультов в 2 - 3 раза, слепоты - в 10 раз, гангрены конечностей - в 20 раз. В целом сахарный диабет сокращает продолжительность жизни на 2 - 10%. Этиологии, патохимии, патогенезу, течению, осложнениям сахарного диабета посвящено значительное количество научной литературы. Остановимся на современных методах его лабораторной диагностики. Скрининговые исследования предполагают в первую очередь определение содержания глюкозы в крови и моче пациентов (натощак!). По данным ВОЗ (1995 г.), нормальная концентрация глюкозы составляет:

Уровень глюкозы	у лиц до 50 лет	старше 50 лет
в цельной венозной крови	<b>3,5 - 5,7 ммоль/л</b>	<b>4,4 - 6,2 ммоль/л</b>
в плазме или сыворотке	<b>3,8 - 6,1 ммоль/л</b>	<b>4,7 - 6,5 ммоль/л</b>

\* в артериальной крови - выше на 0,1 - 0,2 ммоль/л

\*\* у детей до 5 лет - ниже на 0,3 - 0,5 ммоль/л

Достоверным признаком сахарного диабета является повышение концентрации глюкозы в крови натощак выше 7,0 - 7,2 ммоль/л у молодых и 7,2 - 7,8 ммоль/л у лиц старше 50 лет. При промежуточных результатах или сомнении в их правильности необходимо повторное определение глюкозы крови натощак или ее колебаний в течение дня. Возможны ложноположительные и ложноотрицательные результаты, поэтому для подтверждения диагноза сахарного диабета при отсутствии явных клинических симптомов желателен положительный результат хотя бы одного из дополнительных тестов, указывающих на наличие диабета.

В моче глюкоза появляется при превышении почечного порога (9 - 10 ммоль/л - для молодых, 10 - 12 ммоль/л - для лиц старше 50 лет). Отрицательный результат в отдельной порции мочи ни о чем не говорит, так как при диабете из-за развивающейся нефропатии "барьер" для глюкозы может сдвигаться. Целесообразно исследовать суточную мочу, т.к. глюкозурия часто бывает преходящей (транзиторной).

Тест толерантности к глюкозе (ТТГ), или проба с нагрузкой глюкозой, проводится:

- у лиц с эпизодической или постоянной глюкозурией без клинических проявлений сахарного диабета и с нормальным уровнем глюкозы в крови, а также с глюкозурией на фоне беременности, гипертиреоза, заболеваний печени, инфекций;
- у пациентов с клиническими признаками сахарного диабета, но с нормальным уровнем глюкозы в крови и отсутствием ее в моче;
- у лиц, имеющих семейную предрасположенность к диабету, но без его явных признаков;
- у больных с нарушениями зрения неясной природы.

Тест нельзя проводить при исходно высокой гликемии (более 11,0 ммоль/л), после инфаркта миокарда, хирургических операций, родов, тяжелых травм. До проведения теста за 3 дня отменяют почти все лекарства (аспирин, гормоны, витамины) и алкоголь. Тест проводится утром натощак, нагрузка составляет 75-100 г глюкозы (сахарозы) в стакане теплого чая; доза для детей — 1,75 г на кг массы. Забор крови из пальца производится до нагрузки, через 1 и 2 часа после нее. Нормальные показатели ТТГ приведены в таблице:

Уровень гликемии в норме	до 50 лет	после 50 лет
через 60 мин	<b>&lt; 8,9 ммоль/л</b>	<b>&lt; 9,8 ммоль/л</b>

через 120 мин	< 6,7 ммоль/л	< 7,7 ммоль/л
---------------	---------------	---------------

Если показатели глюкозы в крови через 1 и 2 часа после нагрузки превышают 9,9 и 7,7 ммоль/л (после 50 лет - 11,0 и 8,8 ммоль/л), то констатируется снижение толерантности к глюкозе.

У больных с поражением желудочно-кишечного тракта и снижением всасывания моносахаридов можно провести внутривенную нагрузку глюкозой.

Гликозилированный гемоглобин (HbA1c, Glu-Hb) образуется при неферментативном связывании гемоглобина с глюкозой при ее повышенном содержании в крови. Уровень Glu-H не зависит от времени суток, физических нагрузок, приема пищи и лекарств, стрессов и т.д., а определяется только величиной и длительностью гипергликемии и представляет собой ценный диагностический параметр. Уровень HbA1c характеризует среднюю концентрацию глюкозы в крови за последние 2 - 4 месяца (время жизни эритроцитов). В норме содержание Glu-H составляет до 6-8% от общего гемоглобина, увеличиваясь при некомпенсированных гипергликемических состояниях до 20% и более. Интерпретация теста должна быть осторожной при снижении срока жизни эритроцитов (гемолитические состояния). Фруктозаминны представляют собой комплексы глюкозы с белками плазмы крови, в основном с альбумином. В диагностическом плане фруктозаминны аналогичны гликогемоглобину, отражая среднюю концентрацию глюкозы в крови за последние 1-3 недели (время жизни плазменных белков). В отличие от непосредственного определения глюкозы данный анализ может проводиться в любое время независимо от приема пищи; нормальный уровень составляет 2 - 2,8 ммоль/л. При наличии сахарного диабета и концентрации фруктозаминнов 2,8 - 3,2 ммоль/л гликемическую компенсацию считают удовлетворительной, при величинах выше 3,2 ммоль/л — неудовлетворительной. Кетоновые тела в крови и моче (кетонемия, кетонурия) в большом количестве появляются при декомпенсации сахарного диабета, особенно при развитии одного из его осложнений - гиперкетонемической комы. В норме содержание кетоновых тел в крови - 0,3 - 1,7 ммоль/л; ацетон в моче отсутствует.

Молочная кислота (лактат) — конечный продукт тканевого обмена глюкозы при нехватке кислорода. Нормальная концентрация лактата в крови - 0,5 - 2,2 ммоль/л; существенное повышение его уровня (лактацидоз) свидетельствует о развитии гипоксии и наблюдается при тяжелых заболеваниях сердечно-сосудистой и дыхательной систем, а также при диабетической лактацидотической коме и патологической беременности.

Ретикулоциты в крови у больных сахарным диабетом значительно повышены; это связывают с гликозилированием мембранных белков эритроидных клеток и гипоксией костного мозга. Нормальные показатели - 2-10 ретикулоцитов на 1000 эритроцитов.

Белок в моче и микроальбуминурия – наиболее ранние признаки диабетической нефропатии. В норме с мочой выделяется менее 30 мг белка в сутки (концентрация в моче - до 20 мг/л); стойкое превышение показателей говорит о развивающейся патологии.

**Дополнительные методы:**

- исследование гормонального статуса (иммунореактивный инсулин, С-пептид, глюкагон, кортизол, соматотропный гормон в крови);
- внутривенные нагрузочные пробы (инсулиновый тест, толбутамидный тест, преднизолон - глюкозотолерантный тест);
- определение активности - ацетилгексозаминидазы (НАГ) в моче – один из наиболее ранних признаков нефропатии;
- определение антител к -клеткам, инсулину, глутаматдекарбоксилазе – для ранней диагностики диабета и дифференциации его типов.

## МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

Методы определения глюкозы в крови условно разделяются на несколько групп:

Редуктометрические методы основаны на восстанавливающих свойствах глюкозы. В качестве веществ, восстанавливаемых глюкозой, используют красную кровяную соль, соли меди, ртути, йодной кислоты. Завершаются эти методы колориметрией (методы Фолина—Ву, Кречелиуса—Зейферта, Шомоньи—Нательсена) или титриметрией (метод Хагедорна—Иенсена, 1925 г.). Основной недостаток указанных методов заключается в том, что они определяют не только глюкозу, но и ряд других веществ, обладающих восстанавливающими свойствами, (глутатион, мочевую кислоту, эрготионеин, креатинин, глюкуроновую кислоту, витамин С и др.) Определяемое “кажущееся количество сахара” крови значительно выше истинной концентрации глюкозы. Разность между “кажущимся сахаром” и истинной глюкозой называется остаточной редукцией, составляющей по методу Хагедорна—Иенсена 0,8—1,6 ммоль/л (15—30 мг/дл). Так как величина остаточной редукции у одного и того же пациента практически постоянна и не зависит от выделения инсулина или приема углеводов, колебания уровня “кажущегося сахара” в крови определяются в основном сдвигами концентрации глюкозы. Благодаря этому определение “кажущегося сахара” в крови методом Хагедорна—Иенсена, предложенным в 1925 г., до сих пор не утратило практической ценности, хотя метод достаточно трудоемок.

Схема реакций метода Хагедорна-Иенсена: белки крови + ZnSO<sub>4</sub> ---> денатурация и осаждение глюкоза + K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] ---> глюконовая кислота + K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]

K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] (избыток) + KI ---> I<sub>2</sub> + K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]

I<sub>2</sub> + крахмал ---> синяя окраска

I<sub>2</sub> + Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (титрование) ---> Na<sub>2</sub>S<sub>4</sub>O<sub>6</sub> + NaI (синяя окраска исчезает)

## МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

Достоинства	Недостатки
Хорошая воспроизводимость	Необходимость предварительной депротеинизации и фильтрации
Не требуется ФЭК	Сложность, многоэтапность и длительность анализа

	Завышение результатов на 10-40% из-за влияния редуцирующих веществ ("кажущееся количество сахара"). Разница с другими методами - 0,8-1,6 ммоль/л.
--	---

\* \* \* \* \*

Колориметрические методы основаны на цветных реакциях между глюкозой и различными хромогенами. Практический интерес представляют колориметрические методы, основанные на конденсации глюкозы с первичными ароматическими аминами, в особенности о-толуидином. Специфичность указанной группы методов существенно выше, чем редуктометрических.

Схема реакций орто-толуидинового метода:

Белки крови + ТХУ ---> денатурация и осаждение

глюкоза ( $H^+$ , нагрев) -----> оксиметилфурфурол

оксиметилфурфурол + о-толуидин -----> сине-зеленая окраска

Достоинства	Недостатки
Относительная простота анализа	Необходимость предварительной депротеинизации и центрифугирования
Доступность реагентов	Необходимость кипячения в водяной бане точно 8 мин.
	Аллергенность и канцерогенность о-толуидина, его невысокая стабильность из-за окисления

Энзиматические методы отличаются наиболее высокой специфичностью, связанной со свойствами используемых ферментов (глюкозооксидазы и гексокиназы). Глюкозооксидазе для окисления субстрата (глюкозы) требуется кислород воздуха. Побочным продуктом измерительной реакции является пероксид водорода; в индикаторной реакции он расщепляется пероксидазой. При этом присутствующий в среде реакции хромоген (система 4-аминоантипирин+фенол или др.) окисляется и приобретает розовую окраску, интенсивность которой определяется колориметрически. Основные погрешности метода связаны как с постепенным "старением" компонентов при хранении (окисление субстратов, потеря активности ферментов; из-за этого необходима периодическая подкалибровка), так и с "затратой" части пероксида водорода на окисление присутствующих в сыворотке восстанавливающих веществ (из-за этого показания несколько занижаются).

Схема реакций глюкозооксидазного метода:

глюкозооксидаза глюкоза +  $O_2$  -----> глюконовая кислота +  $H_2O_2$   
 пероксидаза  $H_2O_2$  + хромоген ----->  $H_2O$  + окисленный окрашенный хромоген

<b>Достоинства</b>	<b>Недостатки</b>
Специфичность, отсутствие влияния антикоагулянтов	Снижение активности ферментов при хранении (нужна периодическая калибровка)
Простота анализа (конечная точка, монореагент)	Возможность некоторого занижения результатов из-за неспецифичности пероксидазы (окисление всех редуцирующих веществ)
Доступность и невысокая стоимость реактивов	Необходимость предварительной депротеинизации (при анализе цельной крови)

\* \* \* \* \*

Указанных недостатков во многом лишен гексокиназный метод, основанный на фосфорилировании глюкозы ферментом гексокиназой в присутствии АТФ. Образующийся глюкозо-6-фосфат в индикаторной реакции окисляется специфической дегидрогеназой с образованием восстановленного кофермента НАДФН и соответствующим возрастанием экстинкции при 340 нм (оптический тест Варбурга). Недостатки гексокиназного метода в основном связаны с его технологией: необходим фотометр с ультрафиолетовым диапазоном и возможностью кинетических измерений; реагенты относительно дороги. Тем не менее указанный метод считается референтным, т.к. из общедоступных он дает наиболее точные результаты.

Схема реакций гексокиназного метода:

гексокиназа

Глюкоза + АТФ -----> глюкозо-6-фосфат + АДФ

гл-6-Ф-ДГ глюкозо-6-Ф + НАДФ -----> 6-фосфоглюконат + НАДФ\*Н ( E<sub>340</sub>)

<b>Достоинства</b>	<b>Недостатки</b>
Наивысшая точность (референтный метод)	Работа только на анализаторах или фотометрах с УФ-диапазоном (340 нм) кинетическим методом
Простота анализа (монореагент) и его специфичность, отсутствие посторонних влияний	Необходимость предварительной депротеинизации и центрифугирования (при анализе цельной крови)

\* \* \* \* \*

Для экспресс-определения глюкозы крови на тест-полосках (МЕЛЛИФАН и др.) также используется принцип глюкозооксидазного метода. Полоски могут быть предназначены для визуального исследования по цветной шкале, в этом случае

на них обычно имеются 2 зоны для разных концентраций глюкозы (1-8 ммоль/л и 8-44 ммоль/л). Но наиболее важным аспектом применения тест-полосок является работа в отражательных мини-фотометрах (глюкометрах) индивидуального пользования, в связи с чем указанные системы и получили широкое распространение. Относительные недостатки метода – случайные и систематические ошибки исследования, особенно у "визуальных" полосок и за пределами "нормального" диапазона, довольно быстрое старение из-за изменения свойств ферментов, а также "закрытость" систем для различных глюкометров и сложность контроля качества анализов.

Достоинства	Недостатки
Возможность применения в домашних или иных условиях (при отсутствии ФЭКа)	Влияние техники нанесения пробы на результат (объем и локализация капли крови, необходимость ее удаления)
Быстрота и простота анализа	Неточность (субъективизм) определения при визуальном анализе
Возможность объективизации данных (при использовании отражательных глюкометров типа ONE TOUCH, ВЕТАСНЕСК и др.)	Требуется повторное определение методами "мокрой" химии: при снижении уровня глюкозы <2,8 ммоль/л или повышении >25 ммоль/л; при значительных сдвигах гематокрита (<25% или >55%) и гиперосмолярности.

\* \* \* \* \*

Широкое распространение в последнее время получил метод с использованием **иммобилизованных ферментов на мембранах** (анализаторы BIOSEN, ESAT, Эксан и др.) В этих приборах измеряется усредненная производная тока в ходе восстановления на платиновом электроде пероксида водорода, который образуется при окислении глюкозы крови встроенной в мембрану глюкозооксидазой. Наряду с очевидными преимуществами (быстрота исследования, возможность автоматизации, отсутствие необходимости в специфических реагентах) указанным анализаторам присущи недостатки глюкозооксидазного метода, и, в особенности, специфический для этих приборов постоянный дрейф показаний. Справиться с ним можно лишь при условии применения качественных мембран, которые хранились в надлежащих условиях, и постоянной подкалибровки. Необходимая точность в импортных анализаторах гарантируется проведением автоматической подкалибровки по стандартному раствору глюкозы через каждые 15 измерений или спустя каждый час работы.

Достоинства	Недостатки
Быстрота, простота и дешевизна анализа (не требуется дополнительных реагентов)	Некоторый дрейф показаний при "старении" мембраны (нужна периодическая калибровка). Ресурс мембраны - от 200 до 4000 анализов.

Широкий диапазон определения (1 - 50 ммоль/л)

Чувствительность к смене буферного раствора

Принцип действия мембранного измерительного электрода с иммобилизованным ферментом (глюкозооксидазой)

