

# Лабораторни размисли на тема: Предиабет и инсулинова резистентност.



RBS



FBS



GTT



HbA1c

М.Божилова МДЛ Цибалаб ЕООД, София

Научна среща на Софийският клон на Българското Дружество по Клинична Лаборатория, съвместно с ДиаХем ООД, официален представител за България на фирма Bio-Rad, 26-ти Март 2026 г. София



Глюкоза  
RPG, FPG, OGTT

HbA1c

Insulin

C-peptid

### Основни въпроси:

1. Защо – диагноза, скрининг?
2. Какво – материал?
3. Как – метод?
4. Кога ни служи полученият резултат?



## Защо?

- В болшинството от случаите захарен диабет тип 2 се диагностицира едва при поява на **късни усложнения** на заболяването.
- Голям процент от пациентите със ЗД тип 2 остават **недиагностицирани**.
- “**Предиабетът**”, включващ двете нарушения (НГГ и НГТ) е рисков фактор за развитие както на ЗД, така и на ССЗ в бъдеще.
- Установено е, че **редуцирането на теглото и редовната физическа активност** могат да намалят риска от прогресия на НГТ в ЗД тип 2.
- Има доказателства, че и приложението на метформин, акарбоза, орлистат, тиазолидиндиони, GLP-1 рецепторни агонисти може ефективно да намали риска от прогресия в ЗД, въпреки че промяната в стила на живот е решителната стъпка в тази насока.

Предиабет  
Захарен диабет

Едни и същи  
изследвания за  
скрининг и диагноза

Плазмена глюкоза на гладно  
HbA1c  
ОГТТ



Българско дружество  
по ендокринология  
*Bulgarian Society of Endocrinology*

**Симптоми на диабет** - загуба на тегло, полиурия, полидипсия ...

**Повишен риск от диабет** (въпросник), поява на усложнения/съпътстващи заболявания

**Определяне на:** RPG; FPG; HbA1c (като се отчитат влияещите фактори)

|       | Без нарушение            | Предиабет                           | Диабет                   |
|-------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| FPG   | < 5,55 mmol/l            | 5,55 - < 7,0 mmol/l                 | ≥ 7,0 mmol/l             |
| RPG   |                          |                                     | ≥ 11,1 mmol/l            |
| HbA1c | < 5,7 %<br>< 39 mmol/mol | 5,7 - < 6,5 %<br>39 - < 48 mmol/mol | ≥ 6,5 %<br>≥ 48 mmol/mol |



Плазмена глюкоза на **2-ия** час при ОГТТ

|                         |                     |               |
|-------------------------|---------------------|---------------|
| < 7,8 mmol              | 7,8 - < 11,1 mmol/l | ≥ 11,1 mmol/l |
| Без нарушение           | IGT                 | Диабет        |
| FPG 5,55 - < 7,0 mmol/l |                     |               |
| IFG                     |                     |               |

**Диагноза**

**Симптоми на диабет** - 1 тест извън реф.гр.

**Липса на симптоми** - 2 теста извън реф.гр.

Едновременно измерване на глюкоза и HbA1c има практични предимства - показателите се допълват взаимно.

Показания за ОГТТ: • FPG: 6,1-6,9 mmol/l; • нормална FPG, но наличие на рискови фактори за ЗД; • HbA1c – 5,7-6,4%;

## Различия в препоръките



- използва **по-високи** прагове за **IFG**:  
6.1–6.9 mmol/L
- не използва **HbA1c** за диагностика на предиабет в глобален скрининг (несигурност за качество и достъпност в много страни)



следва критериите на WHO за IFG и IGT и тези на ADA за HbA1c в здравни системи, където това е осъществимо

### Предиабет

|       | Без нарушение            | Предиабет                           |
|-------|--------------------------|-------------------------------------|
| FPG   | < 5,55 mmol/l            | 5,55 < 7,0 mmol/l                   |
| RPG   |                          |                                     |
| HbA1c | < 5,7 %<br>< 39 mmol/mol | 5,7 - < 6,5 %<br>39 - < 48 mmol/mol |

- използва **по-ниски** прагове за **IFG**:  
5.6–6.9 mmol/L
  - **HbA1c 5.7–6.4% (39–47 mmol/mol)**
- ADA дефинира предиабет по-широко и по-чувствително, с включване на HbA1c



IEC (2009г.) препоръка за използване на **HbA1c** като **диагностичен критерий за диабет**, като:

- Определи **HbA1c ≥ 6.5%** за диагностика на диабет
- Въведе зона **6.0–6.4%** като **висок риск за диабет**

Този доклад поставя основата за по-късните официални препоръки на ADA и други организации.

Последици от различията в препоръките:

В графа референтни  
стойности на  
различни лаборатории  
се наблюдават:

Глюкоза: 3,3 – 6,1 mmol/l

Глюкоза: 3,3 – 5,6 mmol/l

HbA1c: <6,0%; 6,0-6,5% ↑ риск от диабет

HbA1c: <5,7%; 5,7-6,5% предиабет

## Предиабет

“Оформят се и две допълнителни състояния между нормален глюкозен толеранс и захарен диабет:

Нарушена гликемия на гладно (IFG) – плазмена глюкоза на гладно от **6,1 mmol/l до 6,9 mmol/l**;

Нарушен глюкозен толеранс (IGT) – плазмена глюкоза на 2-ри час в хода на ОГТТ между **7,8 mmol/l и 11,0 mmol/l**.”

HbA1c: 5,7 - 6,4% е една от индикациите за провеждане на ОГТТ, а не критерий за диагноза предиабет.



Българско дружество  
по ендокринология  
*Bulgarian Society of Endocrinology*



World Health  
Organization



Диагностични прагове



Референтни граници ↔ Диагностични  
критерии

могат да са различни

Диагностичните прагове **не зависят от възрастта.**

**С възрастта средните стойности за (глюкоза и HbA1c) се покачват, но това не променя диагностичните критерии.**



| Alter      | extrem erniedrigt | extrem erhöht | Referenzbereich |
|------------|-------------------|---------------|-----------------|
| ≤ 1T       | 30                | 300           | 40 - 60         |
| 1T - 8W4T  | 40                | 300           | 50 - 80         |
| 8W4T - 18J | 40                | 300           | 60 - 100        |
| 18J - 60J  | 40                | 300           | 74 - 106        |
| 60J - 90J  | 40                | 300           | 82 - 115        |
| 90J - 120J | 40                | 300           | 75 - 121        |

**ГЛЮКОЗА**

| Възраст   | Екстремно<br>↓ | Екстремно<br>↑ | Реф.гр.<br>mmol/L |
|-----------|----------------|----------------|-------------------|
| ≤ 1 ден   | 1.67           | 16.67          | 2.22 – 3.33       |
| 1д–8седм  | 2.22           | 16.67          | 2.78 – 4.44       |
| 8седм–18г | 2.22           | 16.67          | 3.33 – 5.56       |
| 18–60г    | 2.22           | 16.67          | 4.11 – 5.89       |
| 60–90г    | 2.22           | 16.67          | 4.56 – 6.39       |
| 90–120г   | 2.22           | 16.67          | 4.17 – 6.72       |

HbA1c NGSP (%) Referenzbereich: 4,3-6,1; Therapieziel: < 7

- FPG:  $< 5,55 \text{ mmol/l}$
- HbA1c  $< 6,5\%$

не изключват наличието на манифестен ЗД

## оГТТ

≈ 30% от хората с глюкоза  $\geq 11,10 \text{ mmol/L}$  на 2ч. имат FPG  $< 5,55 \text{ mmol/L}$  и HbA1c е  $< 6,5\%$ .  
IGT може да се установи само с помощта на оГТТ.

## оГТТ – измерване на 1 час?

март 2024г. IDF препоръча предефиниране на диагностичните критерии за диабет чрез определяне глюкозата и на 1 час.



- $\geq 8.6 \text{ mmol/L}$  → висок риск / междинна хипергликемия
- $\geq 11.6 \text{ mmol/L}$  → диагностичен праг за диабет

Връзка на 1-часовата стойност  $8,6 \text{ mmol/L}$  със сърдечно-съдов риск и увреждане на органите-мишени, по-висока обща смъртност.

# Glucose: a simple molecule that is not simple to quantify

R Gambino, Clinical chemistry, 2007

Глюкоза  
RPG, FPG, OGTT

Пълна кръв

<

Плазма

Er съдържат по-малко вода на 1 обем.  
Glu в Er е 0,55-1,11 по-ниска от плазмената;

Венозна

<

Капилярна

На гладно разликата е 0,1-0,3 mmol/L;  
След хранене разликата нараства;  
oГTT – до 20-25% / 1-4 mmol/L;

≈ 5,8 mmol/L

Най- ↓

Пълна кръв венозна

≈ 6,0

+ 2-5%

Пълна кръв капилярна

**САМОКОНТРОЛ**

Плазмено  
еквивалентни ст.



±15% грешка

≈ 6,5

+10-15%

Венозна плазма

>

Серум

≈ 6,27

≈ 6,8

+15-20%

Капилярна плазма

2-5% / 0.1 – 0.28 mmol/L по-ниска



**ДИАГНОЗА  
СКРИНИНГ**





... повишен риск от ЗД тип 2 при FPG в рамките на референтния диапазон до 5,55 mmol/L.

... рискът от развитие на ЗД при FPG 4,83-5,00 mmol/L е 1,81 пъти по-↑ от този при FPG 4,55 mmol/L и 3,05 пъти по-↑, при FPG е между 5,27 и 5,49 mmol/L.

*Tirosh A, et al. Normal fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes in young men. N Engl J Med 2005*

## Какво изследваме – материал?

Решаващ фактор при измерване на глюкозата е **преаналитичният!**



От 2011 г. ADA вече не препоръчва използването само на NaF за контрол на гликолизата ...



NaF/KOx

... в 61% от случаите глюкозите в **серумна** епруветка с гел са **по-високи** от тези в **NaF**. Разликата е 4,6% на 2-я час ( $\approx 0,3$  mmol/L), но може да е и по-висока  $> 0,55$  mmol/L в 206 случая и 0,825 mmol/L в 23 случая.

*R Gambino. Glucose: a simple molecule that is not simple to quantify. Clinical chemistry, 2007*

Ср. грешка в измерената глюкоза при използване на NaF варира между 0,28 и 0,39 mmol/L в различни проучвания, но реалната грешка при отделен пациент може да достигне до 1,1 mmol/L, ако изминат  $>3$  ч. от вземането до отделянето на плазмата или ако WBC и Plt е повишен.

*Raymond Gambino R., Bruns D. Stabilization of glucose in blood samples: out with the old, in with the new. Clin Chem Lab Med 2013*

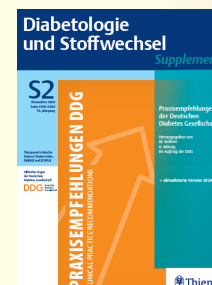
## Какво изследваме – материал?

През 1-я час скоростта на ↓ на глюкозата в епруветки с флуорид, е еднаква с тази при епруветки без флуорид, а гликолизата продължава до 4 ч., ако плазмата не е отделена. След 4 ч. глюкоза в цяла кръв при наличие на флуорид остава стабилна в продължение на 72 часа при стайна температура.



Може в серум или плазма, но **плазмата се препоръчва за диагностика**. Плазмата позволява незабавно центрофугиране, за да се предотврати гликолизата, без да се чака съсирването на кръвта.

„... Трябва да се използват епруветки, **с добавки за пълно и незабавно инхибиране на гликолизата и коагулацията**, ако кръвната проба не може да се обработи в рамките на **15 мин.** Серумът е неподходящ. ...“



Glukose (Fluorid)  
Glukose (GlucOExact)  
Glukose (Serum)



- **Бременни:** скрининг и диагностика на GDM
- **Всички пациенти:** oГТТ

Коректно да информираме в какъв материал е извършен анализът.

## Какво изследваме – материал?

Данни за ефективността на цитратния буфер за ↓ на гликолизата датират от 1988 г., когато Uchida K, et al. за първи път описват този метод за подкиселяване на серума.

Na Fluoride, Na<sub>2</sub>EDTA, Citric Acid and Sodium Citrate pH 5,3–5,9

| Hersteller      | Produktname            | Korrekte Befüllung absolut notwendig | Ausreichendes Mischen erforderlich | Verdünnungsfaktor       |
|-----------------|------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| Greiner bio-one | Vacuette FC-Mix        | nein                                 | 10-mal                             | nein (Granulat)         |
| Kabe            | Primavette, KABEVETTE  | ja                                   | wenige Male                        | 1,16 (flüssiger Zusatz) |
| Sarstedt        | S-Monovette GlucoEXACT | ja                                   | wenige Male                        | 1,16 (flüssiger Zusatz) |

- Добавянето на **цитратен буфер** към NaF постига незабавно и пълно подтискане на гликолизата, „златен стандарт“ за диагностика на диабет и гестационен диабет.
- Цитратният буфер подкислява кръвта (↓pH), → незабавно деактивира ключови ензими хексокиназа и фосфофруктокиназа в самото начало на гликолитичния процес.
- NaF инхибира ензима енолаза, но това става по-късно в метаболитната верига, което позволява на глюкозата да спадне с около 5-10% в първия час след вземането.
- Комбинираните епруветки **поддържат нива на глюкоза, максимално близки до тези in vivo до 24ч. без центрофугиране** на пробата и до 48ч. при 22°C, когато пробата е центрофугирана.

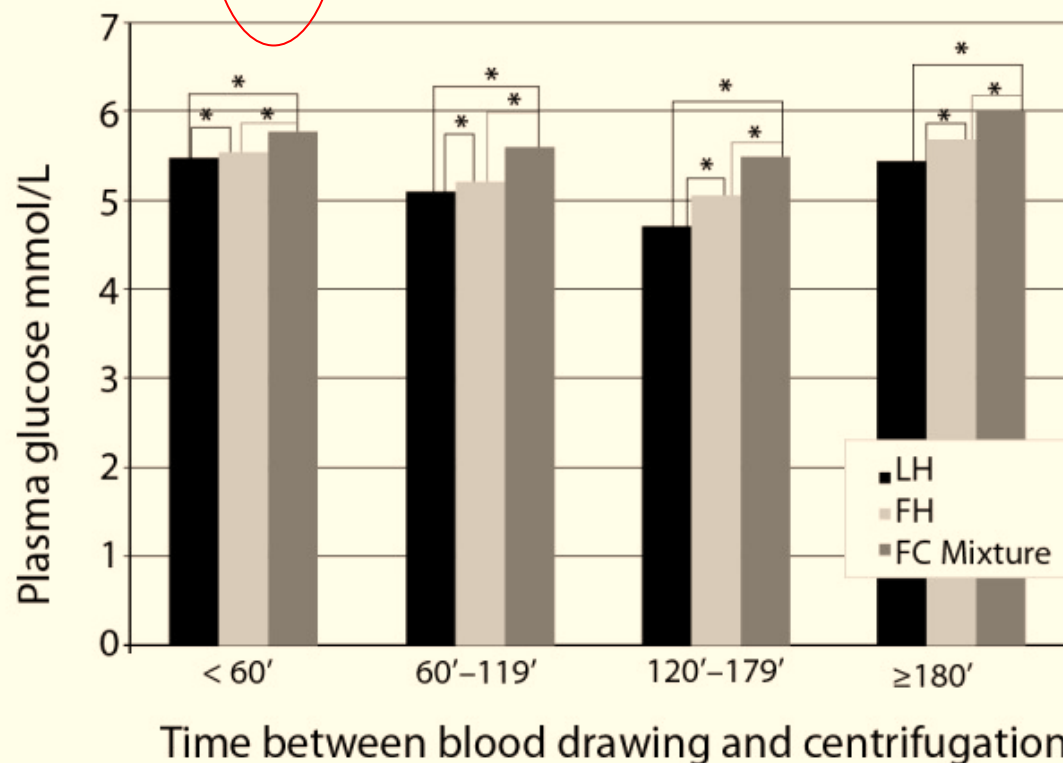




S

| N (375)    | 138  | 100      | 77        | 60    |
|------------|------|----------|-----------|-------|
|            | <60' | 60'-119' | 120'-179' | ≥180' |
| LH         | 5,49 | 5,10     | 4,71      | 5,43  |
| FH         | 5,55 | 5,21     | 5,05      | 5,68  |
| FC-Mixture | 5,77 | 5,60     | 5,49      | 6,02  |

медианната плазмена  
глюкоза в mmol/l



- литиев хепарин (LH),
- NaF/Na хепарин (FH) и
- NaF/цитратен буфер/Na<sub>2</sub>EDTA (FC-Mixture)

Съхранение на 15–25 °C до  
центрифугиране

Проучването демонстрира ефективността в подтискане на гликолизата (**незабавно и веднага**) при използване на епруветки съдържащи NaF, цитратен буфер и Na EDTA.

*Effectiveness of citrate buffer-fluoride mixture in Terumo tubes as an inhibitor of in vitro glycolysis. Graziella Bonetti, et al. and on behalf of the Italian joint SIBioC-SIPMeL Study Group on Diabetes Mellitus. Biochem Med (Zagreb). 2016*



Ако при глюкозата акцентът е върху преданалитични фактор, то при **HbA1c** той е върху **аналитичният**.

HbA1c

### Основополагащи клинични проучвания

**Diabetes Control and Complications Trial (DCCT; USA; 1993 г.) и United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS; 1998 г.)**

препоръки за конкретни гликемични цели, базирани на HbA1c

**NGSP е създадена през 1996 г.**

с цел хармонизиране на измерванията на HbA1c, така че резултатите от рутинните анализи да бъдат проследими до тези на DCCT (впоследствие до UKPDS)

**През 2004 г. Работната група на IFCC за HbA1c разработва Референтна система за HbA1c: Референтен метод** (количествено определяне на гликираните и негликираните хексапептиди чрез HPLC-electrospray MS или HPLC-CE) и **SRM**, съставени от чист HbA1c и HbA0

**IEC 2009 г.**

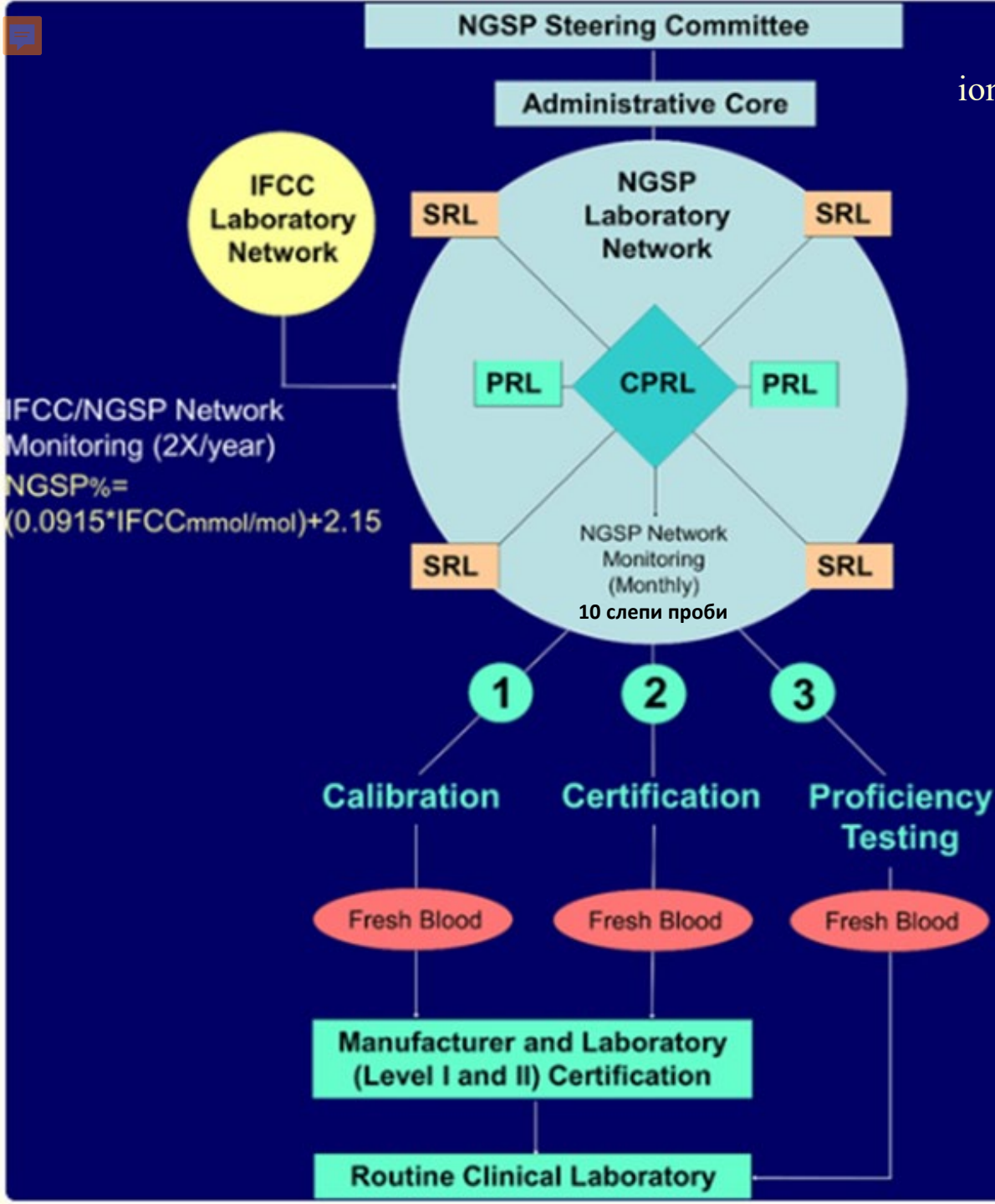
HbA1c за диагностика на диабет

**ADA 2010 г.**

HbA1c за скрининг и диагностика на диабет

**IDF и WHO 2011 г.**

*През 2010 г. в САЩ нито един метод за HbA1c не е одобрен от FDA за диагностика на диабет, а само за мониторинг.  
2019 официално одобрени са 17 метода.*



ion-exchange HPLC method ( $\approx$ DCCT)

### PRLs:

- US (CPRL)
- The Netherlands
- Japan

### SRLs:

- US (n=3)
- The Netherlands (N=5)
- Japan (n=1)
- China (n=1)

ion-exchange HPLC method,  
boronate affinity HPLC,  
immunoassay, capillary  
electrophoresis, enzymatic

CV% между лабораториите  
в мрежата постоянно са под  
2% и продължават да ↓

## Сертифицирането на производителите!

Сертификатите са валидни за срок от една година.

В сертификата се посочват методът, апаратът, както и партидите на използваните реагенти и калибратори по време на сертификационния процес.

<https://ngsp.org/certified.asp>

**Подходите на NGSP и IFCC за стандартизация на резултатите за HbA1c имат различни, но допълващи се цели:**

- Основната цел на IFCC е да се осигури **проследимостта** на производителите на база точност (проследимост до метод от по-висок порядък чрез непрекъснатата верига, несигурността на всеки етап трябва да бъде документирана).
- NGSP определя **допустими граници за представянето на методите**, базирани на клиничната необходимост, т.е. препоръките за грижи при диабет, издадени от клиничните дружества.

Методът на IFCC се счита за метод от по-висок порядък в сравнение с метода на NGSP CPRL. Въпреки отличната линейна корелация ( $r > 0,99$ ) между резултатите на NGSP и IFCC, **стойностите не са еднакви**.

Основното уравнение за връзката NGSP/IFCC е:

| DCM              | From IFCC to DCM                    | From DCM to IFCC                 |
|------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| NGSP (USA)       | $NGSP = (0.09148 * IFCC) + 2.152$   | $IFCC = (10.93 * NGSP) - 23.50$  |
| JDS/JSCC (Japan) | $JDS = (0.09274 * IFCC) + 1.724$    | $IFCC = (10.78 * JDS) - 18.59$   |
| Mono-S (Sweden)  | $Mono-S = (0.09890 * IFCC) + 0.884$ | $IFCC = (10.11 * Mono-S) - 8.94$ |

... **референтната система на IFCC** трябва да бъде основата за световната стандартизация, ... **резултатите трябва да се докладват както в „стандартизирани“ IFCC (mmol/mol), така и в „хармонизирани“ NGSP/DCCT (%) единици**.

Независимо от консенсусното становище, отделните държави решават как да се докладват резултатите за HbA1c.

Тъй като данните от проучвания и препоръки са базирани на NGSP/DCCT/UKPDS HbA1c, много държави са избрали да докладват HbA1c **само в NGSP/DCCT (%) единици**. Обратно, някои държави (предимно в Европа) са избрали да докладват резултатите **само в mmol/mol**. Няколко държави докладват резултатите **и в двете единици**.



**Интериндивидуална биологична вариация  
HbA1c при здрава популация - 7,1%.**

Тя се определя от:

1. **Вариацията в средната концентрация на глюкозата през последните месеци;**
2. Други фактори:
  - Пропускливост на Ер за глюкоза,
  - Скорост на гликиране на Hb-a,
  - **Продължителност на живота на Ер – ключов източник на биологична вариация,**
  - Концентрация на Hb-a,
  - Генетични ф-ри;

Твърде много фактори могат да повлияят резултата (↓↑),  
въпреки че много от тях са редки.

Weykamp C., Siebelder C., Leters E., Slingerland R., English E.  
*The risk of clinical misinterpretation of HbA1c: Modelling the impact of biological variation and analytical performance on HbA1c used for diagnosis and monitoring of diabetes. Clinica Chimica Acta 2023*

## CONCLUSIONS

### Impact Variables on Interpretation

| Variable             | Diagnosis | Monitoring |
|----------------------|-----------|------------|
| Biological Variation | Red       | Green      |
| Bias                 | Orange    | Yellow     |
| Imprecision          | Yellow    | Orange     |

Impact low  high

### Challenges

- Awareness potential misinterpretation
- Reduction Analytical Bias
- Characterization Sources
- Biological Variation of HbA1c



## Независими от метода на измерване:

120-90 ден 10%

90-30 ден 40%

30-1 ден 50%

HbA1c

↑оборот на Er  
↑еритропоеза  
↑разрушаване на Er

- Хемолитична анемия (таласемии, абнормни Hb-ни, имунни, цефалоспорици ....)
- Кръвоизлив
- Лечение с Fe или B12
- Хиперспленизъм
- Напреднало ХБЗ, диализа + ЕРО
- Тежка чернодробна недостатъчност
- Бременност
- Ревматоиден артрит
- Кистозна фиброза на панкреаса
- Кръвопреливане
- Антиретровирусни, сулфасалазин, рибавирин, ...

HbA1c

↓оборот на Er  
↓еритропоеза  
↓разрушаване на Er

- Анемия, дефицит на Fe, B12, фолиева к-на
- Спленектомия
- ↓ на костния мозък
- Полицитемия вера

HbA1c > 6,5% → обикновено диагноза ЗД



HbA1c < 6,5% → не изключва диагнозата ЗД



HbA1c

HbA1c не е подходящ при:

- Бременни
- Жени до около 2 месеца след раждане



Усложнена интерпретацията на HbA1c по време на бременност:

HbA1c ↓ в ранна бременност поради увеличен оборот на Er (↓ живот на Er от 120 дни на 90 дни и ↑ производство на еритропоетин) и хемодилуция. Обикновено HbA1c ↓ до 12-16 г.с., достига плато до 20-24 г.с. и се ↑ отново през третия триместър (инсулинова резистентност).

HbA1c не се приема като диагностичен критерий за гестационен диабет, който се определя изключително чрез oГTT.

Не е надежден индикатор за гликемичен контрол по време на бременност.

Настоящите насоки на ADA препоръчват жени с рискови фактори за тип 2 диабет да бъдат прегледани при първото пренатално посещение, използвайки стандартни диагностични критерии, а именно глюкоза или HbA1c.



- Етническа принадлежност – HbA1c е с  $\approx 4 \text{ mmol/mol Hb}$  ( $\approx 0,4\%$ ) по-висока при афроамериканци в сравнение с кавказци.

- **Възраст**



## Референтни диапазони на HbA1c при възрастни

| Възраст          | Roth J et al., 2016 (n=6783) | Masuch A et al., 2019 (n=8665) |
|------------------|------------------------------|--------------------------------|
| <40 години       | 27–41 mmol/mol Hb (4,6–5,9%) | 20–42 mmol/mol Hb (4,0–6,0%)   |
| 40–<60 години    | 29–44 mmol/mol Hb (4,8–6,2%) | 21–44 mmol/mol Hb (4,1–6,2%)   |
| $\geq 60$ години | 31–46 mmol/mol Hb (5,0–6,4%) | 25–49 mmol/mol Hb (4,4–6,6%)   |

Референтни диапазони 2,5-97,5-и персентил за HbA1c при възрастни без диабет, според двете големи изследвания в Германия.

Стойността на HbA1c се увеличава с възрастта при хора без диабет.  
Това увеличение може да бъде от 4 до 8 mmol/mol Hb (**0,4 до 0,7%**).

HbA1c референтни граници <5,7% ? <6,0% ?



## Методични интерференции:

### Като цяло съществуват две основни категории методи

методи, които се основават на разликата в заряда на молекулите: катионообменна високоефективна течна хроматография (CE-HPLC) и капилярна електрофореза.

методи, основани на структурни различия: афинитетна високоефективна течна хроматография (affinity-HPLC) и имуноанализи

▪ **Хемоглобинови варианти**, в зависимост от метода на измерване могат да доведат до фалшиво ↓/↑ резултат.

Голям проблем в миналото.

NGSP редовно оценява методите за HbA<sub>1c</sub>, за интерференции от най-често срещаните хетерозиготни хемоглобинови варианти (HbAS, HbAC, HbAE, HbAD) и/или HbF<15%.

<https://ngsp.org/interf.asp>

*20-те най-често използвани метода за измерване на A1C и повлияването им от HbC, HbS, HbE, HbD или ↑HbF.*

При хомозиготни хемоглобинови варианти (например Hb SS, Hb CC, Hb EE) или комбинации от два варианта като Hb SC, всички методи са ограничени поради **липса на HbA като референтна фракция**.

Резултатите не са надеждни за клинична интерпретация.



## Методични интерференции:

- Точността и възпроизводимостта на HbA1c измерването намаляват при **напреднало ХБЗ (G4–G5)**, особено ниска е надеждността при пациенти на диализа. Подходящи контролни параметри: гликиран албумин или фруктозамин.

Карбамилиран Hb - неензимно карбамилиране (реакция с цианат при ↑ урея).  
При йонообменна HPLC може да се коелуира с HbA1c → ↑HbA1c.

- Новородени (HbF ~90%)
- Ацетилиран Hb – прием на ацетилсалицилова к-на (↑HbA1c)
- Ацеталдехид-HbA1 – алкохолизъм (↑HbA1c)
- Тг >19,7 mmol/L (↑HbA1c)
- Билирубин > 342 μmol/L (↑HbA1c)



## Нарушения в гликирането:

↓ гликирането / ↓HbA1c:

- ↑ дози Vit E > 600–1200 mg/
- ↑ дози Vit C > 1 g/дн  
(конкурентен механизъм)

↑ податливост на гликиране / ↑HbA1c:

- оксидативният стрес при Fe-дефицит



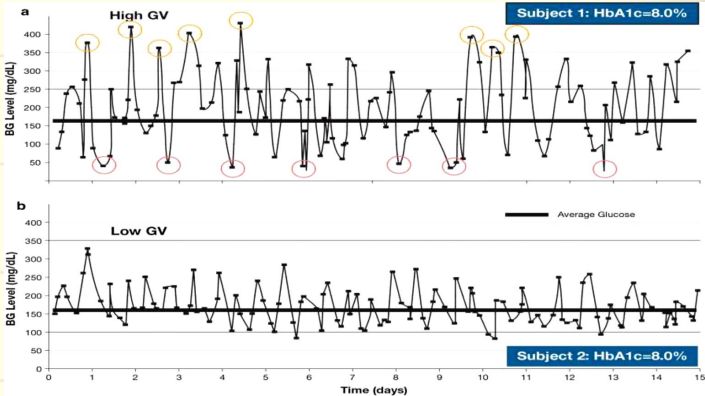
# Глюкоза и HbA1c: одобрени за диагностика на ЗД, имат предимства и недостатъци, допълват взаимно.

HbA1c

(+ = влияние, -= няма или почти няма влияние)

| Фактор                       | Глюкоза (плазма на гладно) | HbA1c                                       |
|------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------|
| Мускулна активност           | +                          | -                                           |
| Прием на храна               | +                          | -                                           |
| Място на вземане на кръв     | +                          | -                                           |
| Хемоглобинопатии             | -                          | +                                           |
| Хематологични заболявания    | -                          | +                                           |
| Оборот на еритроцитите       | -                          | +                                           |
| Възраст                      | -                          | +                                           |
| Индивидуална дневна вариация | +(12-15%)                  | -(<2%)                                      |
| Стабилност на пробата        | +(нестабилна в пълна кръв) | -(стабилна до 7 дни при стайна температура) |

**HbA1c недостатъци:**  
Невъзможност за оценка на флуктоациите на глюкозата;  
Невъзможност за оценка на хипогликемиите;



CV ≤2% гарантира 95% вероятност, че разлика ≥0.5% Hb A1c отразява реална промяна в гликемичния контрол

## Кога ни служи полученият резултат?

Как трябва да се оцени **единична измерена стойност**, като се вземе предвид **неопределеността** на измерването?

Резултат  $\pm$  CV%



Дали **отклонението** на лабораторният резултат от диагностичния клиничен праг е достатъчно голямо, за да се смята, че резултатът **със сигурност е над (или под) този праг**. За да се отговори на този въпрос, се използва минималната разлика (Minimale Differenz, MD).

MD показва **абсолютната аналитична вариация в единиците на измерваната величина** при определен диагностичен праг. MD се изчислява от **стандартното отклонение (SD)**.

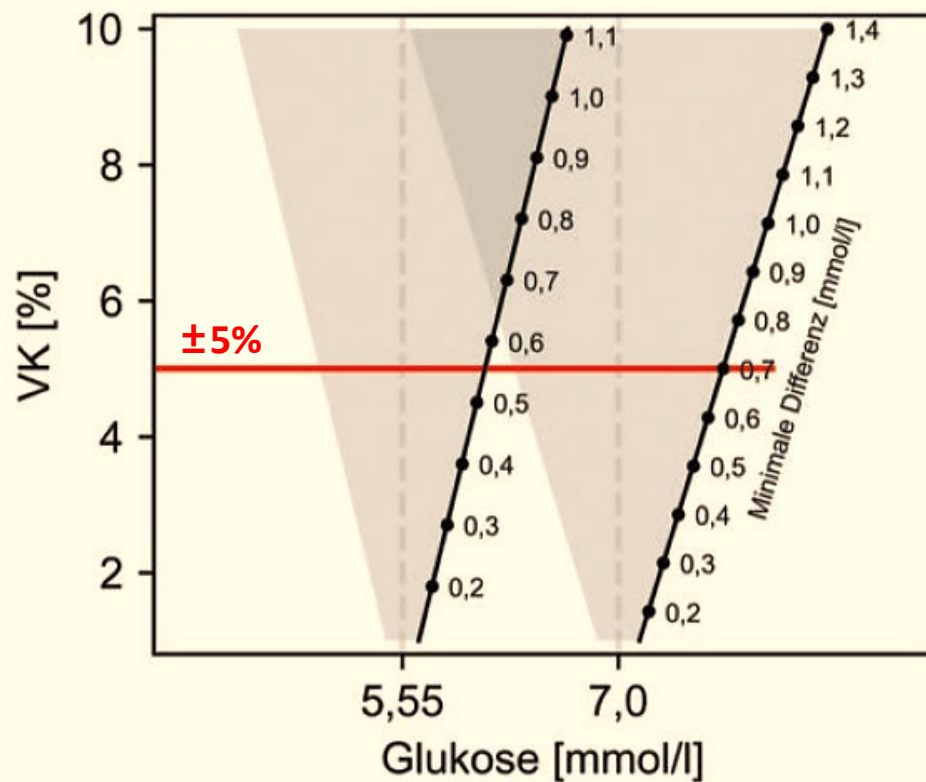
$$MD = k \times SD$$

$k = 1,65$  при **90% доверителен интервал**

$k = 2$  при **95% доверителен интервал**

MD позволява на лабораториите да оценят дали даден резултат **сигурно се различава от диагностичния праг**, като се вземат предвид случайни измервателни грешки.

**MD**, в единиците на измерване на глюкозата **mmol/l**, при стойности за диагностични решения **5,55 mmol/l** и **7,0 mmol/l** и максимално допустимия **CV%  $\pm 5\%$**  за глюкоза от ВЛКК в Германия.



Пр.: при 2% CV

5,55 mmol/l MD =  $\pm 0,2$  mmol/L

7,0 mmol/l MD =  $\pm 0,27$  mmol/L

oГТТ → GDM 1 стойност над

0ч.  $\geq 5,1$  mmol/l MD =  $\pm 0,2$  mmol/L

1ч.  $\geq 10$  mmol/l MD =  $\pm 0,4$  mmol/L

2ч.  $\geq 8,5$  mmol/l MD =  $\pm 0,34$  mmol/L

Когато диагностичните прагови стойности  $\pm$  MD са **под зоната на припокриване на изобразените „фунии“**, те могат **да бъдат аналитично сигурно разграничени една от друга** и по този начин **да се използват за поставяне на диагноза**.

**Лабораторният резултат** трябва да отстои от диагностичния праг със стойност  $> MD$ , за да е сигурно, че той е под/над (достоверно различен) от него.



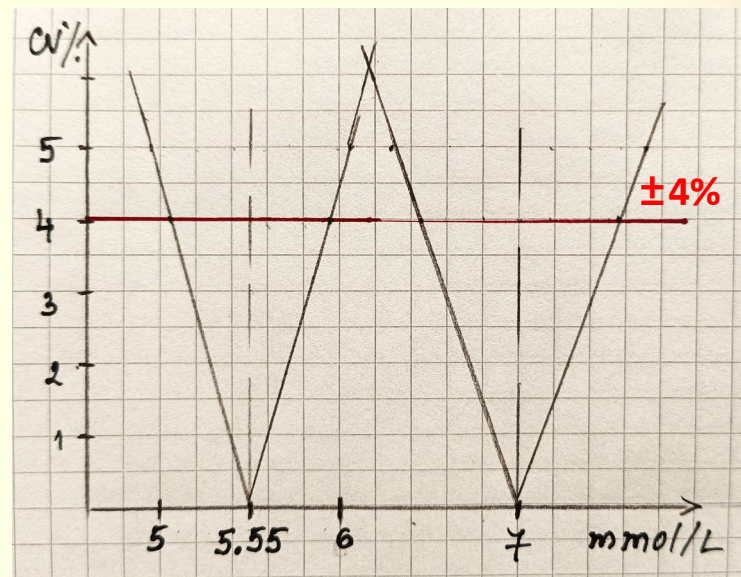
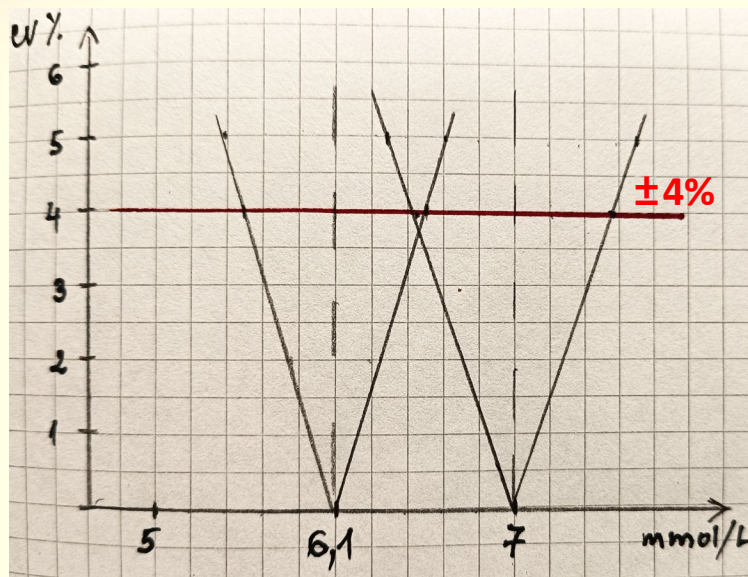
| CV% | 5,7% | 6,5% |
|-----|------|------|
| 1%  | 0,11 | 0,13 |
| 2%  | 0,23 | 0,26 |
| 3%  | 0,34 | 0,39 |
| 4%  | 0,46 | 0,52 |
| 5%  | 0,57 | 0,65 |
| 6%  | 0,68 | 0,78 |
|     | MD   |      |

При **максимално допустим CV% за HbA1c в Германия  $\pm 3\%$**  точката на пресичане и припокриване на фуниите е над чертата, обозначаваща допустимият CV%.

Това означава, че **дори при CV 3%** граничните стойности за HbA1c: **5,7% и 6,5%** могат **аналитично да бъдат разграничени една от друга** и по този начин **да се използват за поставяне на диагноза**.

# България

Максимално допустим CV% за глюкоза  $\pm 4\%$



При CV 4% граничните стойности за глюкоза:

- 6,1 и 7,0 mmol/l
- 5,55 и 7,0 mmol/l (по-сигурно)

могат аналитично да бъдат разграничени една от друга  
и могат да се използват за поставяне на диагноза.

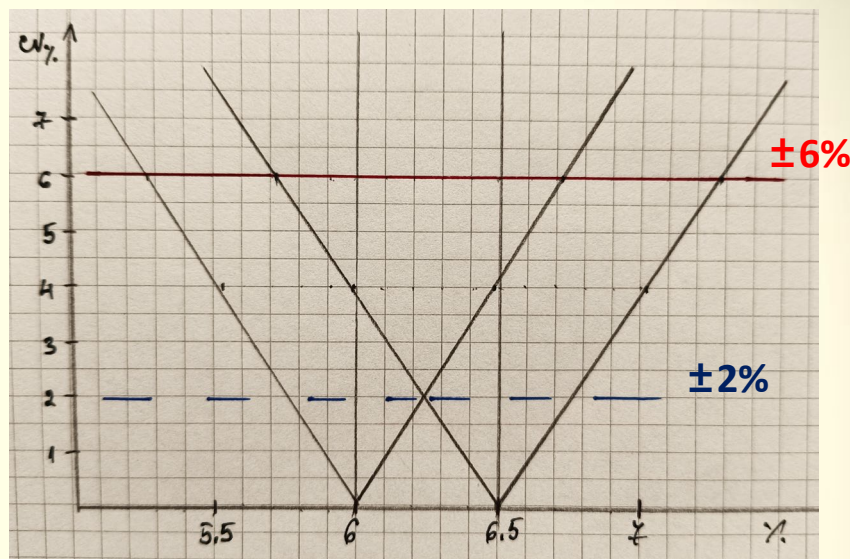
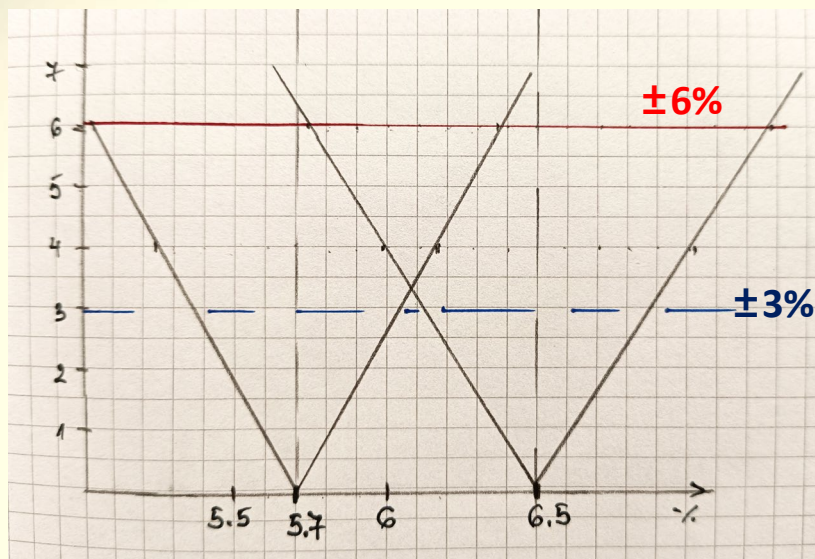


Българско дружество  
по ендокринология  
*Bulgarian Society of Endocrinology*



World Health  
Organization

Интраиндивидуалната биологичната вариация е значително по-голяма от аналитичната,  
аналитичната неточност има минимален принос към разликите в резултатите.



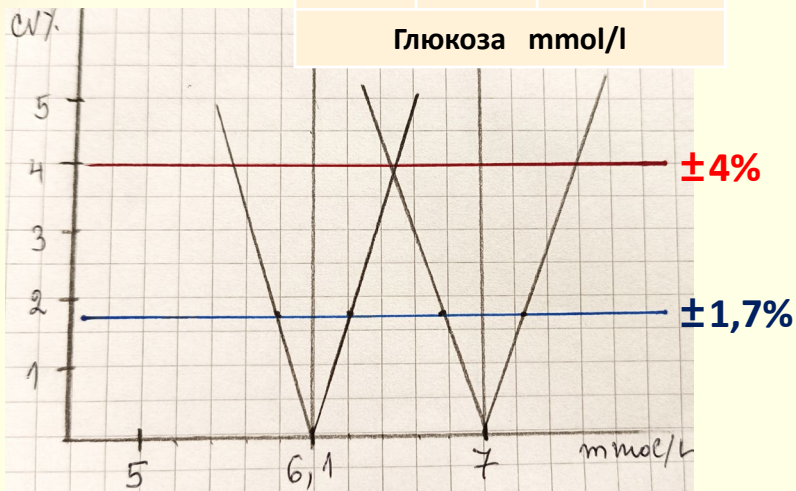
При CV 6% граничните стойности за HbA1c 5,7 и 6,5% не могат аналитично да бъдат сигурно разграничени една от друга и не могат да се използват за поставяне на диагноза.

- При HbA1c 5,7% и 6,5% максимално допустимият CV% следва да е  $\pm 3\%$ ,
- При HbA1c 6,0% и 6,5% максимално допустимият CV% следва да е  $\pm 2\%$ ,

Препоръчителен CV ВЛКК:  $<1.5\%$

| Target | CV%  | MD   | N  |
|--------|------|------|----|
| 5,59   | 1,66 | 0,19 | 50 |
| 13,4   | 1,79 | 0,48 | 49 |

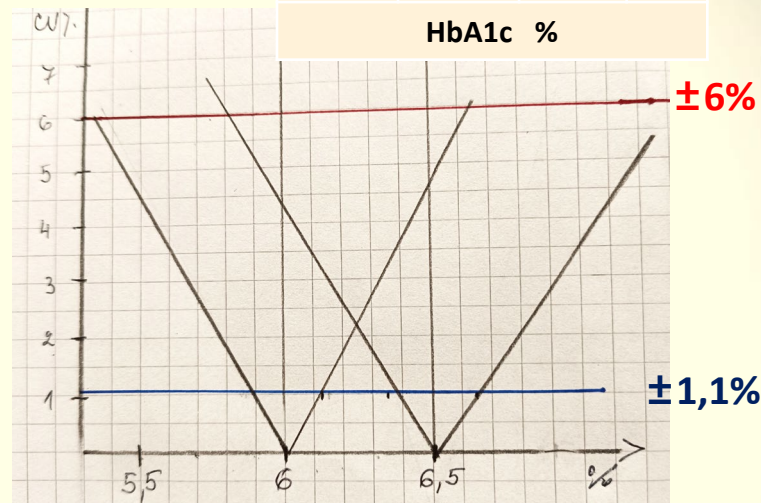
Глюкоза mmol/l



6,1 ± 0,21      7,0 ± 0,24 mmol/l

| Target | CV% | MD   | N  |
|--------|-----|------|----|
| 5,14   | 1,1 | 0,11 | 40 |
| 9,93   | 1,1 | 0,22 | 39 |

HbA1c %



6 ± 0,13%      6,5 ± 0,14%

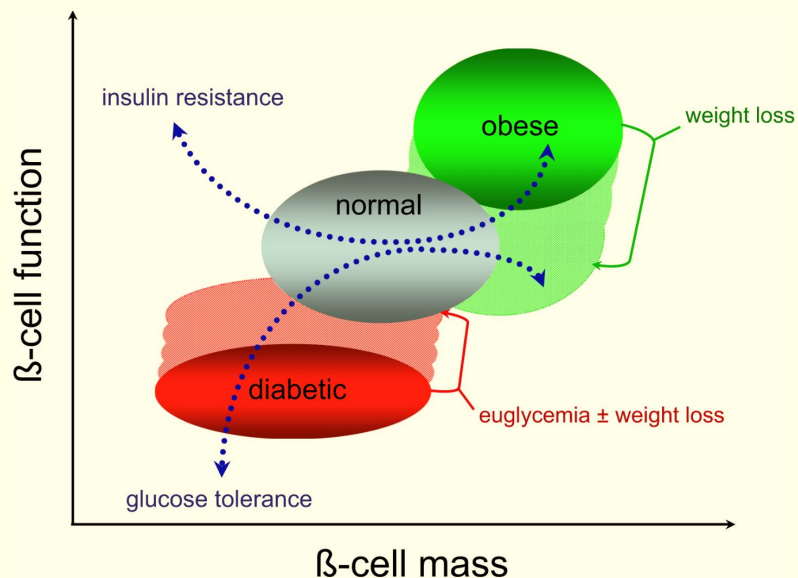
При постигнатите CV% в лабораторията, използваните диагностични прагови стойности могат **аналитично да бъдат разграничени една от друга.**



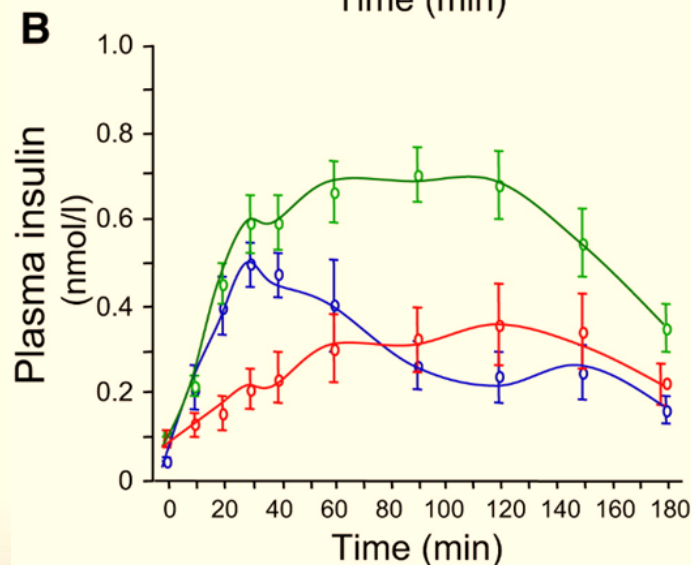
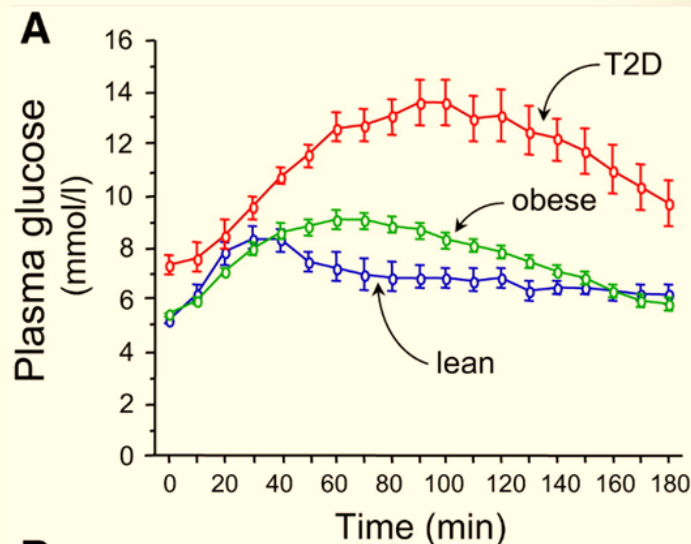
**The Vicious Cycle: Obesity** causes IR → Pancreas causes HI → HI promotes **more fat storage** and IR → **Further obesity**.

Insulin

C-peptid



ЗД тип 2 се характеризира с **инсулинова резистентност** и **дисфункция на  $\beta$ -клетките**. Въпреки това ЗД тип 2 никога не се развива, освен ако бета-клетките не успеят да компенсират инсулиновата резистентност. ... или тя по някакъв начин не бъде ↓ ...



**Table 1.** Indices of insulin secretion and  $\beta$  cell function.

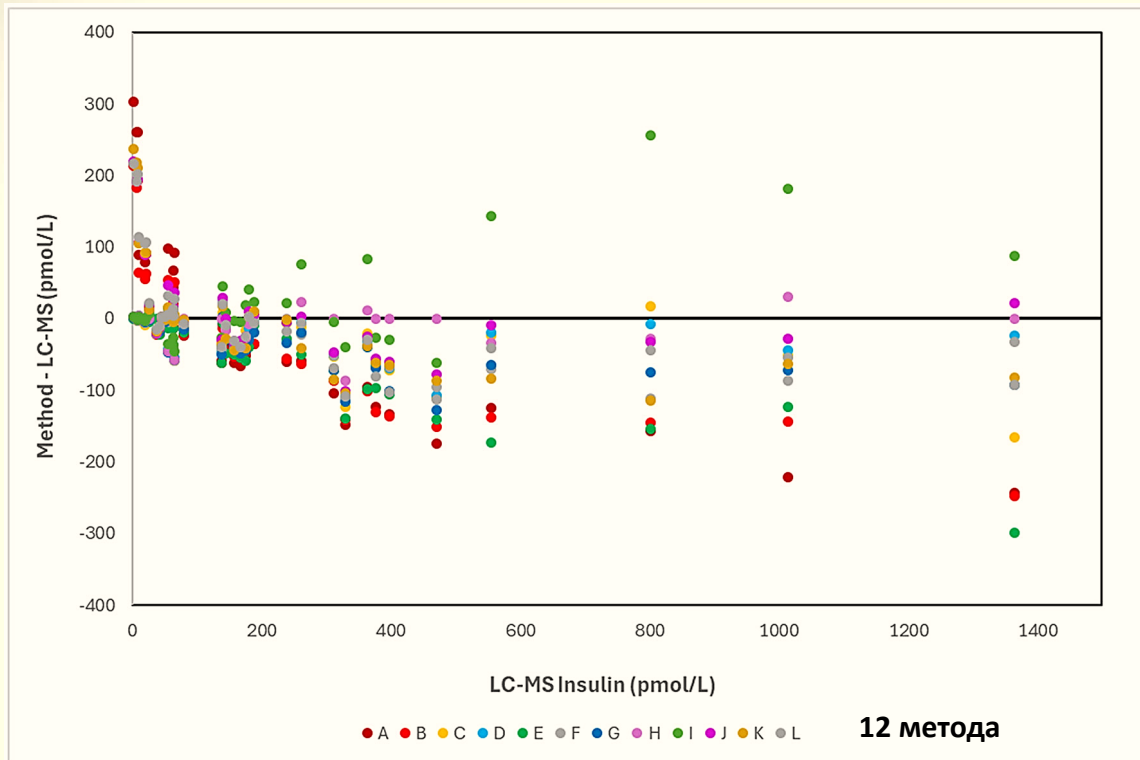
|                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Glucose Clamp-Based Indices</b><br>Gold standard but difficult to perform in clinical settings |                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Acute insulin response (AIR)                                                                      | Area under the curve (AUC) of plasma insulin during first 10 min of hyperglycemic clamp (200 mg/dL).                                                                                                                                                   |
| AIRmax                                                                                            | AIR with arginine stimulation. Reflects maximal insulin secretion.                                                                                                                                                                                     |
| Disposition index (DI)                                                                            | Insulin secretion (AIR) adjusted for insulin sensitivity (M value). Reflects "true" $\beta$ cell function.                                                                                                                                             |
| <b>Glucagon Challenge Test</b>                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                        |
| C-peptide or increase in C-peptide at 6 min                                                       | C-peptide $\leq 1.0$ ng/mL or increase in C-peptide $\leq 0.5$ ng/mL indicates insulin-dependent state [7].                                                                                                                                            |
| <b>Indices Based on 75 g Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) or Meal Tolerance Test (MTT)</b>      |                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Insulinogenic index (II)                                                                          | Increment of insulin divided by increment of glucose during first 30 min of 75 g OGTT.                                                                                                                                                                 |
| AUCinsulin/AUCglucose                                                                             | AUC of insulin divided by AUC of glucose.                                                                                                                                                                                                              |
| Oral DI                                                                                           | DI based on 75 g OGTT or MTT. Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) or Matsuda index is used as insulin sensitivity index; <i>i.e.</i> , oral DI is calculated as $II/HOMA-IR$ or $AUCinsulin/AUCglucose \times Matsuda$ index. |
| <b>Indices Based on Single Blood Sample</b><br>Simple and easy to use in clinical settings        |                                                                                                                                                                                                                                                        |
| HOMA- $\beta$                                                                                     | $360 \times \text{fasting insulin (mU/L)} / (\text{fasting glucose (mg/dL)} - 63)$ .                                                                                                                                                                   |
| Fasting C-peptide                                                                                 | $\leq 0.5$ ng/mL indicates insulin-dependent state [7].                                                                                                                                                                                                |
| C-peptide to glucose ratio (CPRI)                                                                 | C-peptide (ng/mL)/glucose (mg/dL) ( $\times 100$ ). Assessed in fasting and postprandial states.                                                                                                                                                       |
| Proinsulin to insulin ratio (P/I ratio)                                                           | Reflects $\beta$ cell health or exhaustion.                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Others</b>                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Urinary C-peptide                                                                                 | 24 h urinary C-peptide reflects daily total insulin secretion. Recently, the utility of 2 h postprandial urinary C-peptide has been reported (See text).                                                                                               |

Insulin

C-peptid

*Yoshifumi Saisho.  
Postprandial C-  
Peptide to Glucose  
Ratio as a Marker of  
Cell Function:  
Implication for the  
Management of  
Type 2 Diabetes.  
Int.J.Mol.Sci.2016*

Всички методи претендират за проследимост до стандарта на СЗО 66/304, значителната вариабилност между инсулиновите тестове продължава да съществува.



### 40 проби

участващи производители - 9:

- Abbott Laboratories
- Beckman Coulter Inc.
- DiaSorin Deutschland GmbH
- QuidelOrtho
- Fujirebio Inc.
- Siemens Healthineers
- Tosoh Corporation
- Mercodia AB
- Roche Diagnostics GmbH

2,19 - 1364,13 pmol/L

0,37 - 227,36 mU/L

Диапазонът на разликите на методите спрямо LH-MS варира от -298,2 до +302,6 pmol/L (от -49,7 до +50,4 mU/l)

Липсата на стандартизация ↓ възможността за обобщаване на резултатите от проучванията, разработването на общи референтни интервали и клинични насоки.



|                          | Immunotech Beckman<br>Coulter IRMA                                    | Abbott Architect<br>CMIA | Roche Cobas, Elecsys<br>ECLIA |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| Обхват на измерване      | 0.3 - 300.0 mU/L                                                      | 1.0 - 300.0 mU/L         | 0.2 - 1000.0 mU/L             |
| F mU/L→pmol/L            | x 6.945                                                               | x 7.175                  | x 6.945                       |
| Проследимост             | WHO 1st International Reference Preparation NIBSC code: <b>66/304</b> |                          |                               |
| <b>Реф.гр. на гладно</b> | <b>2.1 – 22.0 mU/L</b>                                                | <b>3 - 17.1 mU/L</b>     | <b>2.6 - 24.9 mU/L</b>        |
| ОГТТ – 15 мин.           | 17.5 – 67.9                                                           | няма                     | няма                          |
| ОГТТ – 30 мин.           | 8.1 – 104.1*                                                          | няма                     | няма                          |
| ОГТТ – 60 мин.           | 16.2 – 72.6                                                           | 3 - 45                   | няма                          |
| ОГТТ – 120 мин.          | 3.2 – 32.0                                                            | 8.7 - 30                 | няма                          |

При здрави - пик ≈ 30 мин. (ОГТТ) и остава ↑ над изходното ниво за повече от 2 ч.

Инсулинът на гладно е средно 8,6 mU/l, след хранене достига пик ≈ 60,3 mU/l.

При затлъстяване: на гладно ≈ 20,1 mU/l, след хранене ≈ 120,5 mU/l.

Инсулин на гладно >12,2 mU/L е cut off предложен за дефиниране на хиперинсулинемия.

*Zhang A., Wellberg E., Kopp J., Johnson J. Hyperinsulinemia in Obesity, Inflammation, and Cancer. Diabetes Metab J. 2021*

При здрави по време на ОГТТ инсулина се покачва 5-7 пъти спрямо базалното ниво, с пик на 30 мин. на 120 мин. до 2-3 пъти изходната стойност.

За оценка функционалността на  $\beta$ -клетките, С-пептида е по-добър маркер от инсулина:

- До 90% от секретирания инсулин се разгражда в черния дроб по време на първото му преминаване.  $T_{1/2} \approx 5$  мин.
- С-пептид - елиминира предимно ( $\approx 80\%$ ) чрез бъбреците.  $T_{1/2} \approx 30$  мин.
- С-пептид не се влияе от инжектиран инсулин.
- С-пептид, устойчив на разграждане в хемолизирана кръв

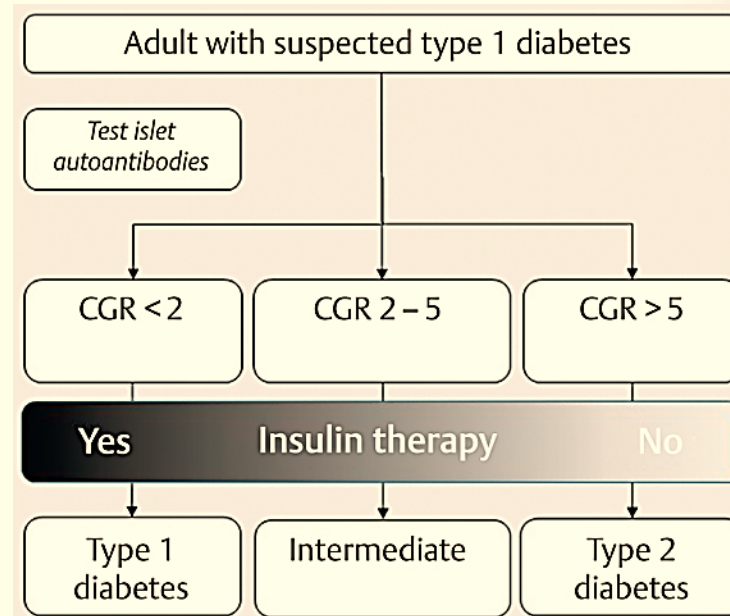
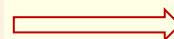
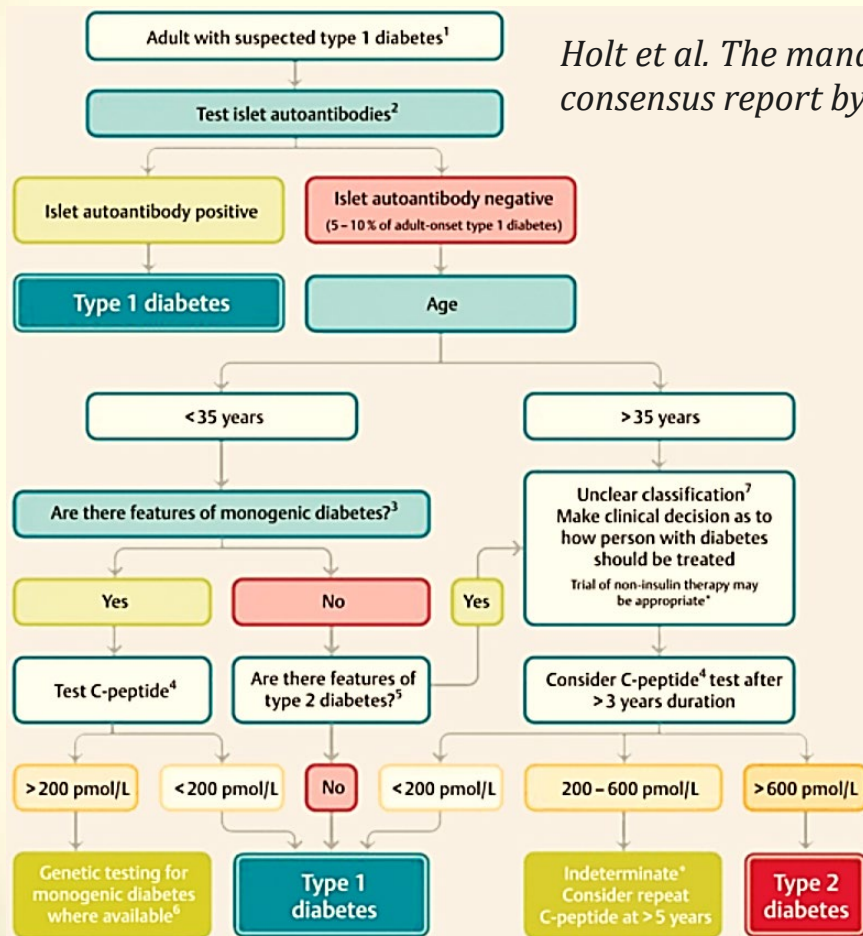


Проблеми:

- липсва стандартизация на измерването.
- оценката на С-пептид е ограничена с  $\downarrow$  на гломерулната филтрация ( $\downarrow$  клирънс)  $GFR < 50 \text{ mL/min/1.73 m}^2$  (фалшиво  $\uparrow$ ).
- глюкоза на гладно  $> 14 \text{ mmol/L}$  (глюкозотоксичност)
- ограничения за приложимостта му по време на терапия:
  - Секретагози** (СУП, Глиниди) -  $\uparrow$  ендогенната секреция  $\rightarrow \uparrow$  C-peptide
  - GLP-1 рецепторни агонисти и DPP-4 инхибитори** - подобряват глюкозо-зависимата инсулинова секреция. Могат да  $\uparrow$  C-peptide (особено постпрандиално)
  - SGLT2 инхибитори**  $\downarrow$  глюкозата чрез бъбречна екскреция. По-ниска гликемия  $\rightarrow$  по-нисък стимул за инсулинова секреция. C-peptide може да бъде по-нисък вторично.

**Съотношение С-пептид/глюкоза** е нов параметър:

- Класифициране на ЗД;
- Диференциране на **инсулинов дефицит** от **инсулинова резистентност**;
- Определяне нуждата от **незабавна инсулинова терапия**;



**Съотношение С-пептид/глюкоза** за оптимизиране на терапията.

*Fritsche A et al. Considering Insulin Secretory Capacity as Measured by a Fasting C-Peptide/Glucose Ratio in Selecting Glucose-Lowering Medications. Exp.Clin.Endocrinol.Diabetes 2022*

## Постпрандиално / 2ч след хранене:

[Saisho et al. \(2016\)](#)

Отразява максималният секреторен капацитет на  $\beta$  клетките.

По-добре предсказва нуждата от инсулинова терапия.

$$\frac{\text{C-peptide ng/ml}}{\text{Glucose mg/dl}} \times 100$$

$$\frac{\text{C-peptide nmol/l} \times 3,02}{\text{Glucose mmol/l} \times 18} \times 100$$

**Постпрандиално  
C-пер/Glu**

**Инсулинов секреторен  
капацитет**

< 2

Загуба на  $\beta$ -кл. функция

$\geq 2$

Запазена  $\beta$ -кл. функция

## На гладно / 8-12ч. след хранене:

[Fritsche et al. \(2023\)](#)

Мярка за базалната инсулинова секреция.

По-малка вариабилност.

Елиминира влиянието на инкретините при постпрандиалната инсулинова стимулация.

$$\frac{\text{C-peptide pmol/l}}{\text{Glucose mg/dl}}$$

$$\frac{\text{C-peptide nmol/l} \times 1000}{\text{Glucose mmol/l} \times 18}$$

**C-пер/Glu на  
гладно**

**Инсулинов секреторен  
капацитет**

< 2

Инсулинов дефицит

2-5

Намален

> 5

Инсулинова резистентност

*прагови стойности, са получени с  
C-пептиден анализ на Siemens*



*Благодарност на д-р И.Стефанова,  
за помощта и подкрепата при подготовката.*

54-г. жена с T23Д

Предходен контрол: HbA1c 6,4%

### При постъпване:

- Hb: 80 g/l ↓
- LDH: 499 U/L ↑
- Общ билирубин: 32,5 μmol/l ↑
- Хаптоглобин: < 0.03 g/l ↓
- Глюкоза: 9.77 mmol/l ↑
- HbA1c: 2,6% ↓↓↓

Диагноза: Хемолитична анемия

### След овладяване на хемолизата:

- Hb: 142 g/l
  - Глюкоза: 7,49 mmol/l
  - HbA1c: 4,7%
- Нормализиране на еритроцитната преживяемост
- HbA1c започва да отразява по-реално гликемията

### Механизъм:

- Налице е **ускорено разрушаване на еритроцитите**
  - Намалява средната продължителност на живота им
  - Гликирането на хемоглобина е **времезависим процес**
  - Еритроцитите не „живеят“ достатъчно дълго, за да натрупат HbA1c
- ☞ **Фалшиво нисък HbA1c**, независимо от реалната гликемия.

76-г. мъж с T23Д

**Преди 1 месец** (кардиологичен контрол):

- Глюкоза: **10,88 mmol/l**
- Hb: **141 g/l**
- HbA1c: **9,8%** → Лош гликемичен контрол

Контрол **10 дни след кръвопреливане** по повод остра анемия (кръвоизлив от стомашна язва):

- Глюкоза: **9,77 mmol/l**
- HbA1c: **5,6%** Несъответстващ на гликемията.

#### Механизъм:

- Въвеждане на донорски еритроцити, които имат **нормален или нисък HbA1c** и не отразяват реално гликемията на пациента;
- „Разреждане“ на циркулиращите собствени еритроцити, което намалява относителният дял на силно гликираните клетки;

☞ **Фалшиво нисък HbA1c**

*Merino M., López R., Casado L.  
Factors that interfere with the HbA1c  
result. 2025, Atencion Primaria*

**Интерпретацията е невъзможна до 3 месеца:**

- Животът на еритроцитите е ~120 дни
- Донорските еритроцити циркулират до 2–3 месеца
- До тогава HbA1c не отразява реалния гликемичен контрол

68-г. мъж

| 10727278 Проби Прикачени файлове                                      |          |      |          |
|-----------------------------------------------------------------------|----------|------|----------|
| Тест/Профил                                                           | Резултат | Флаг | Единици  |
| Гликиран Хемоглобин ( HbA1c )                                         | 6.20     | ↑    | % (NGSP) |
| <input type="checkbox"/> Глюкозотолерантен ОГТТ 3 кр. ( 75g glucose ) |          |      |          |
| Глюкоза ( Glucose )                                                   | 4.90     |      | mmol/l   |
| Глюкоза - 60та мин                                                    | 13.70    | ↑    | mmol/l   |
| Глюкоза - 120 та мин                                                  | 5.33     |      | mmol/l   |
| Креатинин (Creatinine)                                                | 67.10    |      | μmol/l   |
| Пикочна киселина (Uric acid)                                          | 378.00   |      | μmol/l   |
| <input type="checkbox"/> Липиден профил                               |          |      |          |
| Холестерол - общ ( Total Cholesterol )                                | 4.45     |      | mmol/l   |
| Холестерол - HDL-Cholesterol                                          | 2.56     |      | mmol/l   |
| Холестерол - LDL-Cholesterol calc.                                    | 1.52     |      | mmol/l   |
| Триглицериди (Triglyceride )                                          | 0.82     |      | mmol/l   |

Две изследвания с отклонения.



*Предиабет или диабет?*

52-г. мъж

13.01.2026г.

|                                               |  |                     |      |         |   |        |
|-----------------------------------------------|--|---------------------|------|---------|---|--------|
| 10678804                                      |  | Глюкоза ( Glucose ) |      | 6.58    | ↑ | mmol/l |
| Тест/Профил                                   |  | Резултат            | Флаг | Единици |   |        |
| Калий ( K ; Potassium )                       |  | 5.60                |      | mmol/l  |   |        |
| Insulin ( Серумен Инсулин )                   |  | 47.70               | ↑    | mU/l    |   |        |
| Вземане на биол. материал за медицински изсл. |  | манипулация         |      |         |   |        |
| НОМА ( IR ) индекс                            |  | 13.46               |      | индекс  |   |        |

01.02.26г.

| 10724744 Проби Прикачени файлове   |          |      |          |  |
|------------------------------------|----------|------|----------|--|
| Тест/Профил                        | Резултат | Флаг | Единици  |  |
| Гликиран Хемоглобин ( HbA1c )      | 5.60     |      | % (NGSP) |  |
| Тест/Профил                        | Резултат | Флаг | Единици  |  |
| ⊖ ОГТТ + Трикрат. Инсулин          | Профил   |      | *        |  |
| Глюкоза ( Glucose )                | 5.92     |      | mmol/l   |  |
| Глюкоза - 60та мин                 | 12.40    | ↑    | mmol/l   |  |
| Глюкоза - 120 та мин               | 8.67     | ↑    | mmol/l   |  |
| Insulin ( Серумен Инсулин )        | 76.40    | ↑↑   | mU/l     |  |
| Insulin ( 60 м post 75g glucose )  | 381.00   |      | mU/l     |  |
| Insulin ( 120 м post 75g glucose ) | 505.00   |      | mU/l     |  |
| HOMA ( IR ) индекс                 | 20.10    |      | индекс   |  |



Предиабет или диабет?

Възможно ли е стойностите на Инсулина да са резултат от започната терапия?

10724734

Проби

Прикачени файлове

| Тест/Профил                                            | Резултат | Флаг | Единици |
|--------------------------------------------------------|----------|------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Cibalab ЛЕЙДИ Плюс | Профил   |      | *       |
| <input type="checkbox"/> ОГТТ + Трикрат. Инсулин       | Профил   |      | *       |
| Глюкоза ( Glucose )                                    | 4.79     |      | mmol/l  |
| Глюкоза - 60та мин                                     | 6.31     |      | mmol/l  |
| Глюкоза - 120 та мин                                   | 3.69     |      | mmol/l  |
| Insulin ( Серумен Инсулин )                            | 10.20    |      | mU/l    |
| Insulin ( 60 м post 75g glucose )                      | 40.90    |      | mU/l    |
| Insulin ( 120 м post 75g glucose )                     | 21.50    |      | mU/l    |
| HOMA ( IR ) индекс                                     | 2.17     |      | индекс  |

47-г. жена

2.60 - 25.00

Достатъчни ли са референтните стойности на инсулин на гладно за оценка на динамиката му в хода на ОГТТ?

10759247

Проби

Прикачени файлове

| Тест/Профил                                                      | Резултат | Флаг | Единици |
|------------------------------------------------------------------|----------|------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> СУЕ ( ESR )                  | Профил   |      | *       |
| <input checked="" type="checkbox"/> Пълна Кръвна Картина ( CBC ) | Профил   |      | *       |
| <input type="checkbox"/> ОГТТ + Трикрат. Инсулин                 | Профил   |      | *       |
| Глюкоза ( Glucose )                                              | 5.13     |      | mmol/l  |
| Глюкоза - 60та мин                                               | 7.72     |      | mmol/l  |
| Глюкоза - 120 та мин                                             | 6.57     |      | mmol/l  |
| Insulin ( Серумен Инсулин )                                      | 6.98     |      | mU/l    |
| Insulin ( 60 м post 75g glucose )                                | 330.00   |      | mU/l    |
| Insulin ( 120 м post 75g glucose )                               | 309.00   |      | mU/l    |
| HOMA ( IR ) индекс                                               | 1.59     |      | индекс  |

54-г. жена

2.60 - 25.00