

ÚLOHA Č.3 – STANOVENÍ NÍZKOMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK

(studenti pracují ve dvojicích)

STANOVENÍ GLUKOSY

Stanovení glukosy v krevním séru či plasmě má velký význam při diagnostice diabetu. Stanovení této nízkomolekulární látky může probíhat chemickou nebo enzymatickou cestou. Při chemické cestě se může např. využívat redukčních vlastností monosacharidů nebo jejich reakce s aminy za vzniku Schiffových bazí. V praxi je ale upřednostňováno stanovení pomocí enzymů, nejčastěji za přispění glukosaoxidasy. Při této reakci nedochází pouze k oxidaci glukosy, ale také vzniku peroxidu vodíku, který je možno stanovit amperometricky nebo využít v následné enzymové reakci ke tvorbě barevného produktu. Méně rutinní je pak využití enzymů hexokinasa nebo glukosadehydrogenasa.

A) Proveďte stanovení pomocí komerčního kitu, a to bez deproteinace (před vlastním stanovením si řádně přečtěte příložený návod).

Na enzymové metodě stanovení glukosy lze dokumentovat negativní interferenci kys. askorbové.

Při enzymovém stanovení glukosy k pokusu nasad'te blank, standard, vzorek séra a vzorek séra s 50 μ l kys. askorbové.

Do protokolu popište mechanismus provedeného enzymatického stanovení + rovnici reakce, jakým kitem bylo stanovení provedeno, tabulku naměřených hodnot, všechny výpočty, fyziologické hodnoty. Okomentujte naměřené výsledky ve vztahu k fyziologickým hodnotám a přesnost vlastní práce.

Vysvětlete vliv kys. askorbové na enzymatické stanovení glukosy.

B) Stanovení koncentrace glukosy ve vlastní kapilární krvi pomocí osobního glukometru.

Do protokolu uveďte naměřenou hodnotu glukosy ve vaší krvi a fyziologické rozmezí. Jestliže vaše hodnota nespadá do fyz. pokuste se to zdůvodnit (oběd, svačina, sladkost, vynechání snídane ...).

STANOVENÍ DUSÍKATÝCH METABOLITŮ V SÉRU – KREATININ

Hlavní dusíkaté odpadní produkty, které se vyskytují v krevním séru, jsou močovina, kreatinin a kyselina močová. Tyto látky vznikají jako konečné produkty metabolismu aminokyselin a nukleových kyselin.

Množství močoviny v séru je závislé na množství odbouraných bílkovin a na vylučovací funkci ledvin. Většina zdravých lidí má koncentraci močoviny v séru v rozmezí 3-8 mmol/l. Tato koncentrace je odrazem složení stravy (příjem bílkovin), a pokud nejsou porušeny funkce jater nebo ledvin, i odrazem katabolismu bílkovin. Zvýšené hladiny se objevují zejména při ledvinových poruchách, otravách, zvýšeném přísunu bílkovin atd., snížené jsou např. při akutním selhání jater.

Množství kreatininu vytvořené v organismu je na rozdíl od močoviny jen velmi málo závislé na přísunu proteinů, kreatinin je produktem metabolismu svalových buněk. Jeho hladina v séru je poměrně konstantní a závislá na množství svalové hmoty organismu, je ovlivňována svalovou prací. Stále hodnoty kreatininu v séru se využívá pro ověření vylučovací funkce ledvin – tzv. ledvinové (kreatininové) clearance. Zvýšené hodnoty kreatininu se objevují zejména při poruchách funkce ledvin, snížení např. při svalové dystrofii.

Obsah kys. močové, která je konečným produktem metabolismu purinů se zvyšuje při nadměrném rozpadu buněk (pneumonie, leukemie, anemie atd.), v těhotenství, při hladovění atd. Při ledvinové nedostatečnosti se její hladina rovněž zvyšuje, ale pomaleji než hladina močoviny a kreatininu.

Úkol:

Komerčními kity stanovte koncentraci kreatininu v neznámém vzorku séra, ve dvou vzorcích moči a v kontrolním séru (před vlastním stanovením si řádně přečtete příložený návod). Vyhodnoťte funkci ledvin na základě kreatininové clearance při denní produkci moči 1.5 litru.

Do protokolu uveďte princip stanovení (rovnici reakce), jakým kitem bylo stanovení provedeno, tabulku naměřených hodnot, všechny výpočty, fyziologické hodnoty a hodnoty deklarované pro kontrolní sérum. Okomentujte naměřené výsledky ve vztahu k fyziologickým a deklarovaným hodnotám a přesnost vlastní práce.

Závěr: Do protokolu stručně shrňte všechny výsledky z tohoto cvičení.

Doplňující otázky:

- Které ovoce může sloužit jako přímý zdroj glukosy? (1 bod)
 - a) jablko
 - b) hroznové víno
 - c) banán
- Jak se liší denní průběh hladiny krevní glukosy u neléčeného diabetika a zdravého člověka (před jídlem, po jídle)? (2 body)
- Jak se liší diabetes 1. a 2. typu? (2 body)