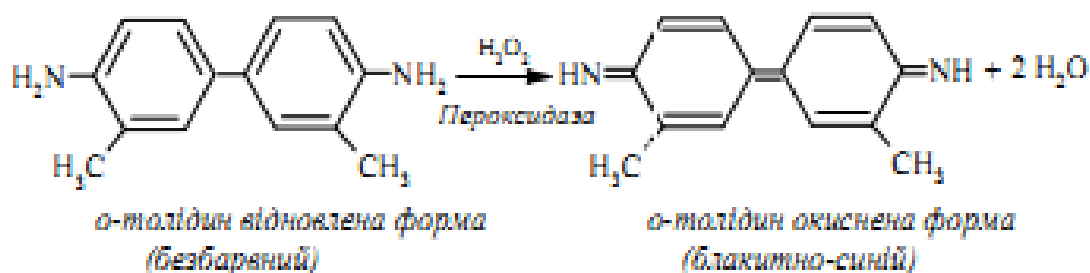


**ПЕРЕПИШТЬ В ЗОШИТ ДЛЯ САМОСТІЙНИХ РОБІТ І ДАЙТЕ ВІДПОВІДЬ НА ПИТАННЯ**

**ПРАКТИЧНА РОБОТА № 10**  
**Визначення вмісту глюкози та ліпідів у сироватці крові**

Глюкозооксидазний метод визначення вмісту глюкози у крові, сироватці крові, спинальній рідині.

**Принцип методу.** Фермент глюкозооксидаза окиснює глюкозу з утворенням глюконової кислоти і гідроген пероксиду, який окиснює о-толідин, внаслідок чого утворюється сполука блакитно-синього кольору:



Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози в розчині та визначається колориметрично.

Метод високоспецифічний і чутливий. Дає змогу визначати вміст глюкози від 0,2 до 4,0 г/л.

**Матеріал для дослідження:** кров, сироватка крові, спинальна рідина.

**Реактиви:** стандартний розчин глюкози (1 г/л), ізотонічний розчин натрій хлориду, 5% розчин цинк сульфату, 0,3М розчин натрій гідроксиду, ензимо-хромогенний реактив, дистильована вода.

**Обладнання:** штатив з пробірками, центрифужні пробірки, піпетки на 1 і 5 мл, центрифуга, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм.

**Хід роботи.** У центрифужну пробірку внести 0,1 мл крові (сироватки крові, спинальної рідини) і 1,1 мл ізотонічного розчину натрій хлориду, перемішати. Додати 0,4 мл 5% розчину цинк сульфату та 0,4 мл 0,3М розчину натрій гідроксиду. Суміш ретельно перемішати і через 10 хв. відцентрифугувати при 2500 об./хв. протягом 10 хв.

Взяти три пробірки: в першу (дослідну) внести 1 мл центрифугату, у другу (стандартну) - 1 мл стандартного розчину глюкози, у третю (контрольну) - 1 мл води. В кожну пробірку додати по 3 мл ензимо-хромогенного реактиву, перемішати.

Через 20 хв. (!) визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (червоний світлофільтр, 600-650 нм, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту глюкози в біоматеріалі провести за формулою:

$$C_d = \frac{C_{ст.} \cdot E_d}{E_{ст.}}, \text{ де}$$

$C_d$  – вміст глюкози в дослідній пробі (мМоль/л);

$C_{ст.}$  – вміст глюкози у стандартній пробі (мМоль/л);

$E_d$  – екстинкція дослідної проби;

$E_{ст.}$  – екстинкція стандартної проби;

У цільній крові практично здорових людей вміст глюкози складає 3,32-5,55 мМоль/л, а у плазмі – 3,32-6,10 мМоль/л. Сеча практично здорових людей містить сліди глюкози. В добовому об'ємі сечі може міститися до 125-130 мг глюкози.

*Дати відповіді на запитання*

1. Дати визначення поняття «цукор крові» та «істинна глюкоза крові».
2. Назвати основні шляхи поповнення вмісту глюкози у крові.

3. Записати схему циклу Корі.
4. Роль печінки в регуляції вмісту цукру у крові.

**Дослід 2. Кількісне визначення (β- і пре-β-ліпопротеїдів в сироватці крові за Бурштейном).**

**Принцип реакції.** При взаємодії ліпопротеїдів з хлоридом кальцію та гепарином порушується колоїдна стійкість білків сироватки крові, внаслідок чого збільшується ступінь її помутніння.

**Хід роботи.** В пробірку вносять 2 мл розчину CaCl<sub>2</sub> та 0,2 мл досліджуваної сироватки. Перемішують та визначають оптичну густину суміші (E<sub>1</sub>) на ФЕК у 5 мм кюветі при червоному світлофільтрі (λ=630нм). Суміш переливають знову в пробірку додають мікропіпеткою 0,04 мл розчину гепарину, перемішують. Рівно через 4 хвилини знову визначають оптичну густину суміші (E<sub>2</sub>) за тих же умов.

**Розрахунок.** Вміст β- і пре-β-ліпопротеїдів виражають в одиницях екстинкції, помножених на 100:

$$C = (E_2 - E_1) \times 100$$

В нормі вміст β- і пре-β-ліпопротеїдів складає 35-55 умовних одиниць оптичної густини, що відповідає 3,0-4,5 г/л (300-450 мг%).

**Примітки.**

1. Кров у пацієнта досліджують після 12-годинного голодування.
2. Сироватку потрібно досліджувати негайно після взяття.
3. На результати аналізу впливає якість гепарину.

**Дати відповіді на запитання**

1. Порівняти ліпіди крові (хіломікрони, ЛДНГ, ЛНГ, ЛВГ) за ознаками: склад, функції, місце утворення, апобілки).

## ПРАКТИЧНА РОБОТА №11

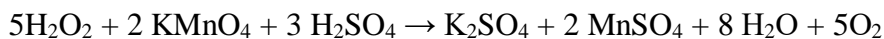
### Визначення активності каталази та вмісту сечової кислоти в біологічних рідинах

**Принцип методу.** Каталаза – фермент класу оксидоредуктаз, що каталізує розщеплення гідрогену пероксиду на воду і кисень:

*каталаза*



Метод базується на визначенні кількості гідрогену пероксиду, перетвореного ферментом за певний проміжок часу. Гідроген пероксиду розкладається каталазою, а його надлишок відтитрують за присутності сульфатної кислоти:



**Матеріальне забезпечення:** розведена кров (1:1000), дистильована вода, 1%-ний розчин H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 10 % розчин сульфатної кислоти, 0,1 н розчин KMnO<sub>4</sub>, колбочки, піпетки, бюретка.

**Хід роботи.** Розведену кров (1:1000) наливають по 1 мл у дві колбочки, додають по 7 мл дистильованої воли, в дослідну пробу додають 2 мл 1 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, а в контрольну – 5 мл 10 % розчину сульфатної кислоти. Дія каталази в кислому середовищі припиняється (у контрольній пробі), оскільки її рН оптимум – 7,4. Колбочки залишають на 30 хв. при кімнатній температурі. Потім до дослідної проби додають 5 мл 10 % розчину H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, а до контрольної – 2 мл 1 % р-ну H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Вміст колбочок титрують 0,1н р-ном KMnO<sub>4</sub> до появи стійкого рожевого забарвлення.

Каталазне число (Кч) розраховують за формулою:

$$K_{ч} = (A - B) \times 1,7$$

A – кількість мл 0,1 н р-ну  $KMnO_4$ , яка пішла на титрування контрольної проби;

B – кількість в мл 0,1 н р-ну  $KMnO_4$ , яка пішла на титрування дослідної проби.

У нормі каталазне число становить 10-15 одиниць.

Каталазне число – це кількість гідрогену пероксиду (мг), що розкладається в 1 мкл досліджуваної крові.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

**Клініко-діагностичне значення.** Біологічна роль каталази полягає у захисті організму від шкідливого впливу гідрогену пероксиду, який утворюється при внутрішньоклітинному окисненні різних сполук.

За умов норми каталазне число становить в крові 10-15 одиниць. Однак визначення каталазного числа без одночасного визначення кількості еритроцитів є недоцільним, оскільки кількість фермента є залежною від кількості еритроцитів. Тому в клініці використовують не каталазні числа, а показник каталази, в якому чисельником є каталазне число, а знаменником – кількість еритроцитів в 1 мл крові. Цей показник становить у нормі  $2-3 \cdot 10^{-6}$ .

Висока активність каталази спостерігається при перніціозній анемії та інших макроцитарних анеміях, при введенні в організм кофеїну, ацетонових тіл, алкоголю. Пониження активності ферменту спостерігається при злоякісних пухлинах, інфекційних захворюваннях, таких як черевний тиф, скарлатина, малярія, туберкульоз легень.

## Дослід 2. Кількісне визначення сечової кислоти в сечі.

**Принцип методу.** Метод ґрунтується на здатності сечової кислоти відновлювати фосфатвольфраматний реактив до фосфатвольфраматного синього, інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту сечової кислоти. Кількість фосфатвольфраматного синього визначають шляхом титрування червоною кров'яною сіллю. Остання окиснює фосфатвольфраматний синій і синє забарвлення зникає.

**Матеріальне забезпечення:** сеча, фосфатвольфраматний реактив Фоліна, 20% розчин натрію карбонату  $Na_2CO_3$ , 0,01н розчин калію фериціаніду  $K_3[Fe(CN)_6]$  (червона кров'яна сіль), стандартний розчин сечової кислоти (0,5 мг в 1 мл), мікробюретки, колбочки для титрування, піпетки, пробірки.

**Хід роботи:** Паралельно до 1,5 мл сечі та 1,5 мл стандартного розчину сечової кислоти додають по 1 мл 20% розчину натрію карбонату і по 1 мл фосфатвольфраматного реактиву Фоліна, змішують і титрують 0,01 н розчином калію фериціаніду до зникнення синього забарвлення.

Вміст сечової кислоти (в міліграмах) в добовій сечі вираховують за формулою:

$$0,75 \times B \times D$$

$$X = 1,5 \times C$$

де, 0,75 - кількість сечової кислоти у стандартній пробі, мг; B – кількість калію фериціаніду, що пішла на титрування дослідної проби сечі, мл; C – кількість калію

фериціаніду, що пішла на титрування стандартної проби сечової кислоти, мл; D – добовий діурез, мл.

Коефіцієнт перерахунку в одиниці СІ (ммоль/добу) дорівнює 0,0059.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

**Клініко-діагностичне значення.** Утворена в результаті розпаду пуринових основ сечова кислота виділяється нирками. У нормі в людини з сечею виділяється 1,60-3,54 ммоль/добу (270-600 мг/добу) сечової кислоти. Нормальний вміст сечової кислоти в сироватці крові становить для чоловіків – 240 – 530 мкмоль/л (0,05-0,06 г/л), для жінок приблизно на 25 % менше – 185-440 мкмоль/л (0,04-0,05 г/л). Гіперурикемія – зростання концентрації сечової кислоти у крові, гіперурикурія (гіперуриатурія) – збільшення вмісту сечової кислоти у сечі. Гіперурикемія викликає подагру, захворювання, що виникає за умов преципітації уратів у тканинах, у першу чергу, в суглобах. Сечова кислота та її солі надзвичайно погано розчиняються у воді, нормальні концентрації їх в рідинах організму наближені до межі розчинності. Для лікування подагри використовують препарати, що гальмують утворення сечової кислоти (алопуринол) або стимулюють виведення її нирками (антуран, цинхофен). У хворих на подагру значення концентрації сечової кислоти у крові майже завжди перевищує 0,075-0,080 г/л, а під час утворення у них подагричних ущільнень вміст її рідко буває нижчим ніж 0,08-0,09 г/л.