**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

**ОШСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**ФАКУЛЬТЕТ МЕДИЦИНСКИЙ**

**КАФЕДРА «Общая, клиническая биохимия и патофизиология»**

**Отчет
по лабораторной работе № 3**

**по дисциплине «Биохимии»**

«**Определение концентрации глюкозы в сыворотке (плазме) крови.»**

 Студент: Анарбаева Айжамал

Группа: 2стом -5 «Б» - 18

Ош 2019

 **Цель:** Определить концентрации глюкозы в сыворотке (плазме) крови ,

**Задачи:**

1. Теоретически освоить биологическую роль глюкозы в организме.
2. Научиться определять количество глюкозы в крови ортотолуидиновым методом.
3. Сделать правильные расчеты и выводы по лабораторной работе.

**Принцип метода**. Глюкоза в присутствии глюкозооксидазы согласно реакции

 Глюкоза + О2 глюконолактон + Н2О2

Образующаяся перекись водорода под действием пероксидазы окисляет субстрат с образованием окрашенного продукта, определяемого фотометрически.

**Анализируемые пробы: с**вежая сыворотка (плазма) крови

**Реактивы:**

1. Буферный раствор рН 6,0.
2. Реагент (смесь ферментов)
3. Стандарт глюкозы 5,55 ммоль/л или 16,0 ммоль/л.
4. Дистиллированная вода
5. Депротеинирующий реактив (концентрат 30% ТХУ).

 **Оборудование:**

1. Фотоэлектроколориметр, длина волны 490 нм.
2. Кюветы, с длиной оптического пути 1,0 см (5 мм).

4. Дозаторы со сменными наконечниками.

5. Центрифуга.

6. Пипетки 0,01 мл, 0,25 мл, 1 мл.

**Проведение анализа:**

Компоненты и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Внести в пробирки | Опытная проба, мл | Калибровочная проба, мл | Контрольная (холостая проба), мл |
| Сыворотка крови,мл. | 0,2 | - | - |
| Стандарт глюкозы | - | 0,2 | - |
| Дистиллированная вода | - | - | 0,2 |
|  Рабочий реагент  | 2,0 | 2,0 | 2,0 |

Сыворотку перед анализом разводят дистиллированной водой в отношении 1:5 или 1:10 и результат умножают на коэффициент разведения.

Пробы тщательно перемещивают и инкубировать в течение 15 минут при температуре 370С при предварительно прогретом рабочем растворе. Измеряют оптическую плотность опытной пробы Еоп  и калибровочной Ек  на фотоэлектроколориметре контрольной (холостой) пробы.

**Расчеты:**

Концентрацию глюкозы (С, ммоль/л) определяют по формуле**:**

С = Еоп / Ест х 5,55 ммоль / л или 16,0 ммоль/л .

Еоп - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотности

Ек – оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотности.

5,55 или 16,0 ммоль/л – концентрация глюкозы в стандарте.

**Меры безопасности:**

1. Работать в специальной одежде и одноразовых перчатках.
2. Использовать только одноразовые наконечники к дозаторам для внесения реагентов каждой пробы.
3. Не следует смешивать реагенты разных серий.
4. Плотно закрывайте флаконы сразу после использования реагентов.

**Краткое теоретическое содержание**

Углеводы наряду с белками и липидами являются важнейшими химическими соединениями, входящими в состав живых организмов. У человека и животных углеводы выполняют важные функции: энергетическую (главный вид клеточного топлива), структурную (обязательный компонент большинства внутриклеточных структур) и защитную (участие углеводных компонентов иммуноглобулинов в поддержании иммунитета).

Углеводы (рибоза, дезоксирибоза) используются для синтеза нуклеиновых кислот, они являются составными компонентами нуклеотидных коферментов, играющих исключительно важную роль в метаболизме живых существ. В последнее время все большее внимание к себе привлекают смешанные биополимеры, содержащие углеводы: гликопептиды и глико-протеины, гликолипиды и липополисахариды, гликолипопротеины и т.д. Эти вещества выполняют в организме сложные и важные функции.

С нарушением обмена углеводов тесно связан ряд заболеваний: сахарный диабет, галактоземия, нарушение в системе депо гликогена, нетолерантность к молоку и т.д.

Следует отметить, что в организме человека и животного углеводы присутствуют в меньшем количестве (не более 2% от сухой массы тела), чем белки и липиды; в растительных организмах за счет целлюлозы на долю углеводов приходится до 80% от сухой массы, поэтому в целом в биосфере углеводов больше, чем всех других органических соединений вместе взятых можно определить как альдегидные или кетонные производные полиатомных (содержащих более одной ОН-группы) спиртов или как соединения, при гидролизе которых образуются эти производные.

**Клинико-диагностическое значение**

Нормальное содержание глюкозы в сыворотке крови человека определяемое ортотолуидиновым методом, колеблется в пределах 3,33-4,99 ммоль/л (60–90 мг %). Увеличение содержания глюкозы в крови (гипергликемия). Наблюдается при сахарном диабете, остром панкреатите, панкреатических циррозах, эмоциональных стрессах, после эфирного наркоза, обильного приема углеводов с пищей, а также при повышении гормональной активности ряда желез. Снижение уровня глюкозы в крови (гипогликемия) встречается при поражении паренхимы печени, нарушении ферментативной активности при распаде гликогена: недостаточной функции щитовидной железы, надпочечников, гипофиза; передозировке инсулина при лечении сахарного диабета, нарушении всасывания углеводов, отравлениях фосфором, бензолом, хлороформом, при недостатке приема с пищей углеводов, после больших потерь крови.

**Результаты к лабораторной работе № 3**

1) Правильно подготовила все данных растворов. Инкубировала 15 минут при температуре 370С при предварительно прогретом рабочем растворе. Измеряла оптическую плотность опытной пробы Еоп  и калибровочной Ек  на фотоэлектроколориметре (ФЕКе) контрольной (холостой) пробы.

**Выводы:**

1. Провела лабораторную работу, приготовила данных растворов, исследовала глюкозы в сыворотке крови, определила концентрацию глюкозы (С, ммоль/л) по формуле**:**

С = Еоп / Ест х 5,55 ммоль / л или 16,0 ммоль/л .

Получила результаты: 5,55 или 16,0 ммоль/л – концентрация глюкозы **в стандарте.**

***Результаты данного эксперимента можно применить на практике для:***

* Для постановления диагноза заболеваний

Тест № 1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № вопроса | ответы |  |
|  | г | + |
|  | б | + |
|  | в | + |
|  | б | + |
|  | в | + |
|  | в | + |
|  | в | + |
|  | б | + |
|  | а | + |

**Оценка выполнения лабораторной работы.**

1. студент группы 2стом -5 «Б» - 18 Анарбаева Айжамал правильно определила цель и задачи занятия;

2. выполнила лабораторную работу в полном объеме

3. Анарбаева Айжамал при выполнении отчета соблюдены последовательность разъяснения теоретической части и порядок выполнения измерений;

3. хорошо ответила на теоретические вопросы занятия.

4. выполнила тестовое задание.

5. правильно сформулировала выводы.

В представленном отчете аккуратно и хорошо выполнены все записи, таблицы и выводы;

**Критерии оценки "5" - 1,3 балла**

|  |  |
| --- | --- |
| Общий балл 2,5 | **Балл набранный студентом** |
| Теоретическая часть  | 0,5 | **0, 5 балла** |
| Тестовое задание  | 0,3 | **0,3** |
| Объяснение порядка выполнения эксперимента  Проведение вычислений Выводы по проведенной работе  | 0,5 | **0,5** |
|  всего | **1,3** |

Студент группы 2стом -5 «Б» - 18 Анарбаева Айжамал набрала общий балл - 1,3

что соответствует критерию *отлично* - 5