

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА

Опыт № 1: Обнаружение лактозы в молоке.

В молоке дисахарид лактозу обнаруживают реакцией Фелинга, содержащего комплексно связанные с виннокислой кислотой ионы Cu^{2+} . В результате реакции образуется оксид меди (I), выделяющийся в виде красного осадка Cu_2O .

Предварительно осаждают белки молока добавлением трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и фильтруют. К 10 каплям фильтрата добавляют 10 капель дистиллированной воды, 10 капель NaOH и 6 капель реактива Фелинга. Смесь нагревают. Отмечают характер появляющегося окрашивания.

Опыт № 2: Обнаружение крахмала в хлебе.

На поверхность кусочка хлеба наносят каплю раствора йода. Отмечают характер появляющегося окрашивания.

Опыт № 3: Количественное определение глюкозы крови глюкоксидазным методом.

Принцип метода. Глюкоза окисляется кислородом воздуха при каталитическом действии глюкоксидазы (КФ 1.1.3.4; β -D-глюкозо- O_2 -оксидоредуктаза) с образованием перекиси водорода и δ -глюконолактона. Образовавшуюся перекись водорода определяют по индофеноловой реакции аминокантипирина с хромогеном, катализируемой пероксидазой (КФ 1.11.1.7; донор: перекись водорода-оксидоредуктаза). Количество образовавшегося красителя при соблюдении рабочих условий пропорционально содержанию глюкозы. Интенсивность окраски определяют на фотоэлектроколориметре.

Воспроизводимость методики: коэффициент вариации не более 5%.

Техника выполнения. Готовят три пробы: опытную, калибровочную и контрольную по следующей схеме:

	Опытная	Калибровочная	Контроль
Рабочий раствор (мл)	2,00	2,00	2,00
Инкубируют 5 мин при 37°C, после чего добавляют:			
Сыворотка крови (мл)	0,1	–	–
Калибровочный раствор (мл)	–	0,1	–
Дистиллированная вода (мл)	–	–	0,1

Содержимое пробирок встряхивают, инкубируют точно 30 мин при 37°C и фотометрируют против воды в кювете с длиной хода луча 1 см при 490 нм. Фотометрирование должно длиться не более 5 мин.

Расчет результатов. Содержание глюкозы (ммоль/л) в опытной пробе рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{оп}} = \frac{A_{\text{оп}}}{A_{\text{эт}}} \times C_{\text{эт}} = \frac{A_{\text{оп}}}{A_{\text{эт}}} \times 10,$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация глюкозы в крови, мМ; $A_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытной пробы; $A_{\text{к}}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, $C_{\text{эт}}=10$ ммоль/л.

Опыт № 4: Тест толерантности к глюкозе (ТТГ).

Для подтверждения диагноза сахарного диабета допускается использовать пробу, состоящую в определении содержания глюкозы в крови через 2 ч после приема обследуемым 75 г глюкозы. Диагностические критерии нарушенной толерантности к глюкозе (латентный сахарный диабет) и сахарного диабета указаны в таблице.

	Содержание глюкозы, мМ			
	Венозная кровь		Капиллярная кровь	
	цельная кровь	Плазма	цельная кровь	Плазма
Здоровые люди: натощак через 2 ч после нагрузки	< 5,6 < 6,7	< 6,4 < 7,8	< 5,6 < 7,7	< 8,9
Нарушенная толерантность: натощак через 2 ч после нагрузки	5,7–6,7 6,7–9,9	6,5–7,8 7,8–11,0	5,7–6,7 7,7–11,0	6,5–7,8 8,9–12,1
Сахарный диабет: натощак через 2 ч после нагрузки	> 6,7 > 10,0	> 7,8 > 11,1	> 6,7 > 11,1	> 7,8 > 12,2

Проба с однократной нагрузкой. На протяжении 3 сут до проведения нагрузки обследуемый придерживается диеты, содержащей достаточное количество углеводов (1,75 г/кг), но не слишком богатой белком и жирами.

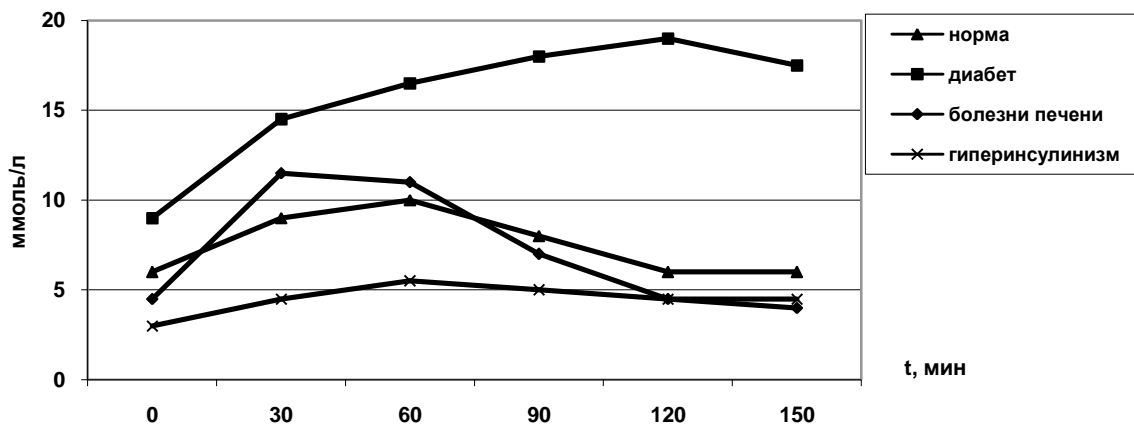
Однократная нагрузка глюкозой заключается в пероральном приеме раствора. Содержащего 75 г глюкозы (ее растворяют в 200 мл теплой кипяченой воды или некрепкого чая и выпивают в течение не более 5 мин).

Кровь из пальца берут до нагрузки, а также через 1 и 2 ч после приема глюкозы (иногда рекомендуется дополнительное взятие крови через 1,5 ч после нагрузки).

При проведении ТТГ у детей изменяются дозы вводимой глюкозы: детям в возрасте от 1,5 г до 3 лет рекомендуется давать глюкозу. Исходя из соотношения 2 г/кг, от 3 до 12 лет – 1,75 г/кг, после 12 лет – 1,25 г/кг. У детей содержание глюкозы натощак колеблется от 2,92 до 4,75 ммоль/л.

Патофизиологические механизмы изменения концентрации глюкозы в процессе выполнения ТТГ. Первый подъем уровня глюкозы (30-ая мин) отражает силу рефлекторного раздражения при попадании глюкозы в пищеварительный тракт. Дальнейшее увеличение концентрации глюкозы (30 мин – 1 ч) связано в основном с особенностями всасывания углеводов (у здорового человека через час после нагрузки концентрация глюкозы обычно на 50-75% превышает исходный уровень). Наступающее затем снижение содержания глюкозы (1-2 ч) – отражает продукцию инсулина, а также функциональную активность парасимпатического отдела вегетативной НС, состояние печени и др. жизненно важных органов (рис. 1).

Рис. 1. Гликемические кривые при ТТГ



Клиническое значение исследования углеводного обмена с использованием ТТГ. При сахарном диабете, гиперфункции передней доли гипофиза, щитовидной железы, коры и мозгового слоя надпочечников, поражении центральной и расстройстве вегетативной НС, инфекционных и воспалительных заболеваниях, токсикозах, анемии, панкреатите наблюдается высокий подъем кривой и замедленное ее возвращение к исходному уровню. Нагрузка глюкозой у обследуемых в большинстве случаев сопровождается переходом глюкозы в мочу. У больных аденомой островков Лангерганса, гипотериозом график, отражающий изменение концентрации глюкозы, характеризуется низким исходным уровнем кривой и низкой ее вершиной. Особенно типичны в этом плане кривые у больных с гиперинсулинизмом, энцефалитом и некоторыми другими состояниями.