

Лабораторная работа «Диагностика атеросклероза»

Вам даны 4 пациента с разной маркировкой

1 вариант - зеленая,

2 вариант - желтая,

3 вариант - красная,

4 вариант – малиновая

Необходимо выполнить две лабораторные работы, по результатам исследований которых нужно сформулировать заключение о наличии или отсутствии атеросклероза и развитии возможных осложнений у данного пациента.

1. Определение холестерина ферментативным методом

Принцип метода. Определение холестерина в сыворотке крови основано на использовании сопряженных ферментативных реакций. При гидролизе эфиров холестерина **холестеролэстеразой** образуется свободный холестерин. Образовавшийся и имеющийся в пробе холестерин окисляется кислородом воздуха под действием **холестеролоксидазы** с выделением эквимолярного количества пероксида водорода. Под действием **пероксидазы** перекись водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации холестерина в пробе.

Ход работы.

Внести в пробирки:	Опытная проба	Стандартный раствор
Образец сыворотки крови, мл	0,5	-
Стандартный раствор 5 ммоль/л, мл	-	0,5
Рабочий реагент, мл	2,5	2,5

Пробы тщательно перемешать и инкубировать пять минут в термостате при 37°C.

Измерить оптическую плотность опытной и стандартной пробы против дистиллированной воды при длине волны 500 нм.

	«зеленая» маркировка	«желтая» маркировка	«красная» маркировка	«малиновая» маркировка
Общий холестерин	$E_{ст} 0,1$	$E_{ст} 0,1$	$E_{ст} 0,1$	$E_{ст} 0,1$
	$E_{оп} 0,08$	$E_{оп} 0,14$	$E_{оп} 0,1$	$E_{оп} 0,16$

РАСЧЕТЫ

Концентрацию холестерина определяют по формуле: $(E_{оп}/E_{ст}) \times C_{ст}$, где:

$E_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы;

$E_{ст}$ – оптическая плотность стандартной пробы;

$C_{ст}$ – концентрация стандарта 5 ммоль/л;

Нормальное содержание холестерина в сыворотке крови – 5,17 ммоль/л;

Пограничное содержание 5,2- 6,5 ммоль/л.

2. Определение β -липопротеинов (ЛПНП)

Принцип метода. Липопротеины низкой и очень низкой плотности образуют нерастворимые комплексы с гепарином в присутствии хлористого кальция. Степень помутнения раствора прямо пропорциональна концентрации ЛПНП.

Ход работы. В пробирку в 2 мл хлористого кальция приливают 0,5 мл сыворотки, тщательно перемешивают и определяют оптическую плотность (E_1) при 640 нм. Затем в пробу добавляют 0,5 мл 1% раствора гепарина, тщательно перемешивают и точно через 4 минуты снова определяют оптическую плотность (E_2) при тех же условиях.

	«зеленая» маркировка	«желтая» маркировка	«красная» маркировка	«малиновая» маркировка
β -ЛПНП	$E_1 0,3$	$E_1 0,1$	$E_1 0,2$	$E_1 0,1$
	$E_2 0,6$	$E_2 0,7$	$E_2 0,6$	$E_2 0,8$

РАСЧЕТЫ

Концентрацию ЛПНП определяют по формуле: $(E_1 - E_2) \times 10 \text{ г/л}$

Нормальное содержание ЛПНП в сыворотке – 3-4,5 г/л.

Диагностическое значение определения холестерина

Общий холестерин.

Гиперхолестеринемия наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, гипотиреозе, механической желтухе, нефрозах, болезни Иценко-Кушинга.

Гипохолестеринемия обнаружена при гипертиреозе, туберкулезе, анемии, голодании, паренхиматозной желтухе, при адиссоновой болезни, врожденных гемолитических анемиях, острых панкреатитах, полиневритах, колитах, при расстройствах питания. При заболеваниях печени снижается количество эфирносвязанного холестерина. При этом падение пропорционально степени нарушения функции печени.

ЛНП. Возрастание концентрации холестерина липопротеинов низкой плотности свидетельствует об атеросклерозе и наблюдается при сахарном диабете, гипотиреозе, острых гепатитах, при резкой гипопротеинемии, у лиц с ишемической болезнью сердца, обусловленной коронарным атеросклерозом.

