

Musterbeispiel für eine Einleitung und ein Protokoll zu einem Versuchstag

Einleitung zum Praktikum:

„Glucose- und Lactatkonzentration in unterschiedlichen metabolischen Phasen“

Neben der Bestimmung von Enzymaktivitäten (z.B. Lactatdehydrogenase, Creatinkinase) kommt der Bestimmung von Metaboliten (z.B. Glucose, Lactat, Harnsäure, Ketonkörper) eine wichtige Rolle in der klinischen Diagnostik zu. Mit ihrer Hilfe lassen sich z.B. Stoffwechselerkrankungen und Organschädigungen erkennen. Darüber hinaus kann anhand von Metabolitbestimmungen der Erfolg einer Therapie überprüft werden. Am heutigen Versuchstag sollen wir die zugrunde liegende Methodik am Beispiel der Konzentrationsbestimmung von Glucose und Lactat im Blut erarbeiten. Dabei erlernen wir die Abnahme von Kapillarblut und erfahren, welche experimentellen Voraussetzungen erfüllt sein müssen, um eine Metabolitbestimmung durchzuführen zu können. Außerdem wird der Unterschied zwischen direkter Photometrie und einfachen- und gekoppelten optischen Tests erarbeitet.

Am heutigen Versuchstag müssen wir nüchtern erscheinen. Ein Proband nimmt nach der ersten Blutabnahme 100g Glucose in gelöster Form zu sich, der zweite Proband eine Mahlzeit aus 3 Brötchen und Proband drei isst 2 Eier. Der vierte Proband läuft nach der ersten Blutabnahme 4x schnellst möglich um das Gebäude der Biochemie. Im Anschluss wird von allen Probanden in den angegebenen Zeitabständen Blut abgenommen.

Das abgenommene Blut wird mit Perchlorsäure versetzt, um alle Stoffwechselprozesse zu stoppen und die beteiligten Enzyme zu inaktivieren. Nach Zentrifugation werden die Metabolit-haltigen klaren Überstände neutralisiert, erneut zentrifugiert und Aliquote entsprechend der vorliegenden Pipettierschema zu Bestimmung von Glucose und Lactat eingesetzt. Anders als bei der Enzymbestimmung muss bei Metabolitbestimmungen dafür gesorgt werden, dass mind. 99% des Metaboliten umgesetzt werden, um eine Quantifizierung zu erlauben. Außerdem muss das Endprodukt photometrierbar sein. Dazu setzen wir ein Meßenzym ein, das den Metaboliten umsetzt und ein Indikatorenzym, das das entstehende Produkt in einer zweiten Reaktion aus dem Gleichgewicht entzieht und ein zweites Produkt liefert, welches im Photometer nachweisbar ist.

Die gemessenen Konzentrationen sind in Abhängigkeit von der Zeit in einer Graphik dazustellen und unterschiedliche Kurvenverläufe sind zu diskutieren.

Leider konnte ich mir anhand von Script und meinem Lehrbuch nicht erklären, warum bei einem Perchlorsäurestopp zwischen Blut- und Plasmametabolitkonzentrationen nicht differenziert werden kann.

Protokoll zum Praktikum:

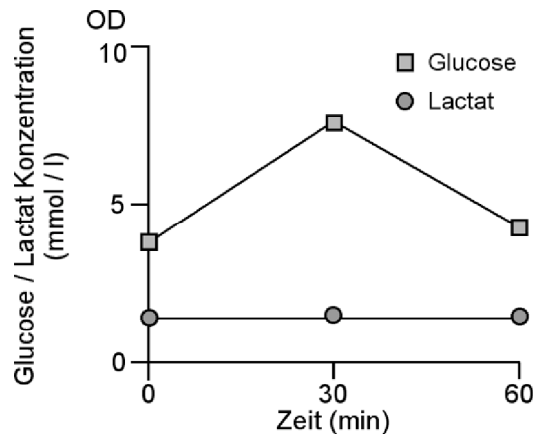
„Glucose- und Lactatkonzentration in unterschiedlichen metabolischen Phasen“

Durchführung: Die Blutabnahme erfolgte entsprechend der Angaben im Script, ebenso wie die weitere Aufarbeitung und die Metabolitbestimmung selbst.

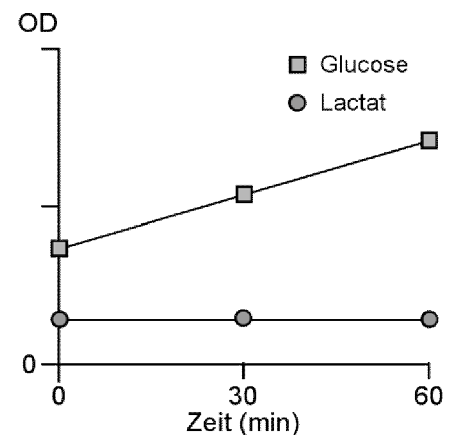
Ergebnisse:

A) Verlauf von Glucose und Lactat nach OGT.

Die Blutglucosekonzentration stieg innerhalb von 30min von 4,4 mmol/L auf 7 mmol/L an und fiel dann innerhalb von weiteren 30 min wieder auf 5,2 mmol/L. Die Blutlactatkonzentration von 1,8 mmol/L blieb während des Versuchszeitraums unverändert.

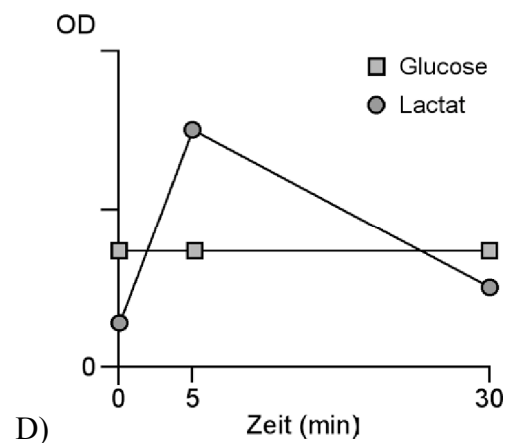


B) Verlauf nach Stärke-Belastung. Die Blutglucose stieg innerhalb von 60 min kontinuierlich von 4,0 mmol/L über 5,9 mmol/L bis auf 7,1 mmol/L. Die Blutlactatkonzentration von 1,8 mmol/L blieb während des Versuchszeitraums unverändert. Der gegenüber A verzögerte Anstieg erklärt sich aus der vorgeschalteten Stärkeverdauung



C) Verlauf nach einer Protein-/Fettbelastung. Weder der Blutglucosespiegel (4,5 mmol/L) noch die Lactatkonzentration von (1,2 mmol/L) änderten sich innerhalb des Versuchsintervalls von 60 min.

D) Verlauf nach mittelschwerer Arbeit. Die Blutglucosekonzentration blieb unverändert. Dagegen war die Lactatkonzentration 5 min nach dem Lauf von 1,5 mmol/L auf 9 mmol/L angestiegen. Nach weiteren 25 min war der Wert wieder auf 3 mmol/L abgefallen. Der Anstieg auf 9 mmol/L lässt auf eine untrainierte Person schließen.



Alle Messungen lieferten die erwarteten Ergebnisse. Unterschiede in den Werten von Nüchtern-glucose und Lactat rühren zum einen von der Stelle der Blutabnahme und insbesondere von Fehlern in der Befüllung der Kapillarröhrchen mit Blut. Fehler an dieser Stelle wirken sich auf alle nachgeschalteten Messungen aus.

Anwendungen unserer Versuche liegen in der Sportmedizin, wo die Lactatbelastung ein wichtiges Kriterium für den Trainingszustand ist, oder aber im Training genutzt wird, um Leistung an der aeroben/anaeroben Schwelle zu protokollieren.

Der OGT erlaubt die Erkennung einer verzögerten Insulinfreisetzung, Diabetes, aber auch eines Insulinoms. Beim 75g Test gilt ein 2-Stundenwert von >11 mmol/l (> 200 mg/dl) als Kennzeichen für das Vorliegen eines Diabetes, Werte zwischen $7,7 - 11$ mmol/l werden als gestörte Glucosetoleranz bewertet. Alle heutigen Messungen waren unauffällig, so dass wir beruhigt den weiteren Praktikumsversuchen entgegensehen können.