**Ćwiczenie 1**

**Cel:** Oznaczenie stężenia triglicerydów w surowicy krwi

**Odczynniki:** Zestaw diagnostyczny BioSystems SA

**Materiał:** Surowica krwi

**Zasada metody:** Trigicerydy są oznaczane po enzymatycznej hydrolizie przez lipazę. Wskaźnikiem jest chinonoimina, która tworzy się z nadtlenku wodoru, 4-aminoantypiryny i 4-chlorofenolu w reakcji katalizowanej przez peroksydazę. Intensywność zabarwienia chininoiminy jest proporcjonalna do stężenia trójglicerydów w badanej próbce i może być zmierzona spektrofotometrycznie (przy λ=500 nm).

 lipaza

trójglicerydy + H2O ---- → glicerol + kwasy tłuszczowe

 GK

glicerol + ATP --------→ glicerolo-3-fosforan + ADP

 GPO

 glicerolo-3-fosforan + O2 -----→ H2O2 + 3-fosfodihydroksyaceton

 peroksydaza

 H2O2 + 4-AAP + 4-CP ---------→ chinonoimina + 2H2O

GK = kinaza glicerolowa

GPO = oksydaza glicerolo-3-fosforanowa

4-AAP = 4-aminoantypiryna

4-CP = 4-chlorofenol

**Wykonanie:**

1. Przygotować trzy probówki i oznaczyć je jako: próba ślepa, standard, próba badana
2. Odpipetować do probówek roztwory według tabeli poniżej:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Próba ślepa** | **Standard** | **Próba badana** |
| **Odczynnik** | 2 ml | 2 ml | 2ml |
| **OGRZEWAĆ W ŁAŹNI WODNEJ 37⁰C PRZEZ OK. 5 MIN, NASTĘPNIE DODAĆPOZOSTAŁE ODCZYNNIKI:** |
| **Woda** | 20 µl | - | - |
| **Standard TG (200 mg%)** | - | 20 µl | - |
| **Próba badana (surowica)** | - | - | 20 µl |

1. Dokładnie wymieszać zawartość probówek i inkubować w 37⁰C przez 5 minut.
2. Odczytać absorbancję standardu i próby badanej wobec próby ślepej przy 500 nm.

**Wyniki:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Standard** | **Próba badana** |
| **Absorbcja przy 500 nm** |  |  |

**Obliczenia:**

Stężenie próby badanej = Absorbcja próby badanej / Abs standardu × Stężenie standardu

Stężenie standardu: ..........................

Wyliczone stężenie triglicerydów w surowicy: ...................................................

**Interpretacja kliniczna dla oceny ryzyka arteriosklerozy:**

podejrzenie: >150 mg%

zwiększone: >200 mg%

**Interpretacja wyniku:**