

Vybraná vyšetření ledvin a mozkomíšního moku

Praktické cvičení z lékařské biochemie

Všeobecné lékařství

Lenka Fialová, Libuše Kadlecová



2024/2025

Obsah

ÚLOHA 1 – STANOVENÍ KONCENTRACE KREATININU V SÉRU A V MOČI.....	3
ÚLOHA 2 – VÝPOČET CLEARANCE ENDOGENNÍHO KREATININU A DALŠÍCH BIOCHEMICKÝCH PARAMETRŮ PŘI FUNKČNÍM VYŠETŘENÍ LEDVIN	3
ÚLOHA 3 – STANOVENÍ KONCENTRACE KYSELINY MOČOVÉ V SÉRU A V MOČI.....	4
ÚLOHA 4 – STANOVENÍ KONCENTRACE CELKOVÉ BÍLKOVINY V MOČI A MOZKOMÍŠNÍM MOKU	5
ÚLOHA 5 – HODNOCENÍ ELEKTROFORÉZY BÍLKOVIN V MOČI.....	5
ÚLOHA 6 – HODNOCENÍ IZOELEKTROFOREOGRAMŮ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU A SÉRA	6
ÚLOHA 7 – STANOVENÍ KONCENTRACE Na^+ VE VZORKU MOČI POTENCIOMETRICKY	6

Úloha 1 – Stanovení koncentrace kreatininu v séru a v moči

Reagencie:

K analýze je použita komerční souprava CREATININE, Erba Lachema s.r.o.

1. Kyselina pikrová (5 mmol/l) 
2. Hydroxid sodný (0,183 mol/l) 
3. Standardní roztok kreatininu (koncentrace bude uvedena na štítku)
4. Sérum – neznámý vzorek
5. Moč – neznámý vzorek (ředění uvedeno na štítku)

Pracovní postup:

Do připravených zkumavek napipetujte příslušná množství podle tabulky:

Odměřit v ml:	Vzorek séra (zkumavka 1)	Vzorek moči (zkumavka 2)	Standard (zkumavka 3)	Slepý vzorek (zkumavka 4)
Hydroxid sodný	0,8	0,8	0,8	0,8
Sérum	0,05	–	–	–
Moč (ředěná)	–	0,05	–	–
Standardní roztok	–	–	0,05	–
Čištěná voda	–	–	–	0,05
Všechny zkumavky promíchejte a inkubujte 1 – 5 minut při pokojové teplotě a pak přidejte				
Kyselina pikrová	0,2	0,2	0,2	0,2

Promíchejte a přesně po 30 s odečtěte při vlnové délce 500 nm proti čištěné vodě počáteční absorbance slepého vzorku (A_0), vzorků séra ($A_{\text{séra}}$) a moči ($A_{\text{moči}}$) a standardu (A_{st}) (1. měření). Přesně po 90 s po 1. měření odečtěte konečnou absorbanci slepého vzorku, vzorků séra a moči a standardu. Po odečtení absorbancí slepého vzorku od příslušných absorbancí vzorků séra, moči a standardu při 1. a 2. měření se vypočte rozdíl absorbancí mezi 2. a 1. měřením absorbancí ($\Delta A_2 - \Delta A_1$) (viz tabulka v protokolu).

Úloha 2 – Výpočet clearance endogenního kreatininu a dalších biochemických parametrů při funkčním vyšetření ledvin

Z naměřených hodnot kreatininu v séru a moči v úloze 1 vypočítejte clearanci endogenního kreatininu a další parametry podle příslušných vztahů.

Úloha 3 – Stanovení koncentrace kyseliny močové v séru a v moči

Reagencie:

K analýze je použita komerční souprava BioSystems - kyselina močová (urikasa/peroxidasa)

1. Pracovní roztok:

fosforečnanový pufr 10 mmol/l (pH 7,8)

detergent 1,5 g/l

dichlorfenolsulfonát 4 mmol/l

urikasa > 2 nkat/ml

askorbát oxidasa > 8,3 μ kat/ml

peroxidasa > 1,66 μ kat/ml

4-aminoantipyrin 0,5 mmol/l

2. Standard kyseliny močové (koncentrace bude uvedena)

3. Sérum – neznámý vzorek

4. Moč – neznámý vzorek

Postup:

Do připravených zkumavek napipetujte příslušná množství podle tabulky:

Odměřit v ml:	Vzorek séra (zkumavka 1)	Vzorek moči (zkumavka 2)	Standard (zkumavka 3)	Slepý vzorek (zkumavka 4)
Pracovní roztok	1,0	1,0	1,0	1,0
Sérum	0,025	–	–	–
Moč	–	0,025	–	–
Standard	–	–	0,025	–
Čištěná voda	–	–	–	0,025

Promícháme a inkubujeme při teplotě 37 °C 5 min. Po skončení inkubace změříme absorbanci vzorku séra, moči a standardního roztoku proti slepému vzorku při 550 nm v 1 cm kyvetě. Zbarvení je stále minimálně 30 min.

Výpočet clearance a frakční exkrece kyseliny močové

Z naměřených hodnot kyseliny močové v úloze 3 vypočítejte clearance a frakční exkreci kyseliny močové

Úloha 4 – Stanovení koncentrace celkové bílkoviny v moči a mozkomíšním moku

Reagencie:

Pro analýzu je použita komerční souprava Celková bílkovina 600 M firmy SKALAB, Svitavy.

1. Pufr:

Benzoan sodný	6,94 mmol/l
Kyselina jantarová	100,00 mmol/l
Molybdenan sodný	0,12 mmol/l
Šťavelan sodný	2,09 mmol/l
Detergenty a stabilizátory	

2. Chromogen

Pyrogallolová červen	0,14 mmol/l
Stabilizátory	

3. Standardní roztok bílkoviny

2,0 g/l

4. Moč – neznámý vzorek (infekční materiál)

5. Mozkomíšní mok (likvor) – neznámý vzorek (infekční materiál)

Postup:

Připravíme a označíme 4 zkušavky. Pipetujeme do nich příslušné roztoky podle tabulky:

Odměřit v ml	Zkušavka 1 Vzorek moči	Zkušavka 2 Vzorek likvoru	Zkušavka 3 Standard	Zkušavka 4 Slepý vzorek
Moč	0,02	–	–	–
Likvor	–	0,02	–	–
Standard	–	–	0,02	–
Čištěná voda	–	–	–	0,02
Pufr	0,5	0,5	0,5	0,5
Chromogen	0,5	0,5	0,5	0,5
Obsah zkumavek promícháme a necháme inkubovat 5 minut při laboratorní teplotě. Změříme absorbanci vzorku likvoru a standardu proti slepému vzorku v 1 cm kyvetě při vlnové délce 600 nm.				

Úloha 5 – Hodnocení elektroforézy bílkovin v moči

Postup a vyhodnocení:

K dispozici budou již hotové elektroforeogramy bílkovin v moči. Vyhodnoťte 3 z nich. Zakreslete polohu frakcí a určete, o jaký typ proteinurie se jedná.

Úloha 6 – Hodnocení izoelektroforeogramů mozkomíšního moku a séra

Postup a vyhodnocení:

Do protokolu překreslete izoelektroforegramy mozkomíšního moku a séra u dvou pacientů. Určete, o jaký typ se jedná, a uveďte, u kterého onemocnění by se mohl vyskytovat.

Úloha 7 – Stanovení koncentrace Na^+ ve vzorku moči potenciometricky

Reagencie:

1. Roztoky 1 – 3 (0,1 mol/l, 0,01 mol/l a 0,001 mol/l) pro kalibraci pH/mV-metru pro stanovení Na^+ (NaCl, kyselina octová 100 % a 4,09 g ethanolamin)

2. Ředící pufr (1,98 g kyseliny octové 100 % a 4,09 g ethanolaminu v 1000 ml deionizované vody, pH 9,9)
3. Vzorek moči o neznámé koncentraci Na^+

Pracovní postup:

- a. Neznámý vzorek moči je naředěn 10× ředícím pufrem.
- b. Dle přiloženého návodu k pH/mV-metru změřte elektrodové potenciály v kalibračních roztocích NaCl 1 – 3 a v naředěném vzorku moči.
- c. Výsledky zapište do tabulky.