

1- Título práctica de laboratorio: TOLERANCIA A LA GLUCOSA

2- OBJETIVOS

Generales:

- Determinar cuantitativamente la glucosa presente en muestras biológicas y hacer inferencias sobre el estado de salud del donador de las muestras.

Específicos:

- Emplear el método espectrofotométrico para cuantificar la glucosa presente en una muestra de sangre.
- Obtener con tiras reactivas la concentración de glucosa en muestra de orina del paciente además de otras sustancias como cetonas y bilirrubina, leucocitos, etc.
- Determinar el estado metabólico del paciente a nivel de glucosa y asociarlo a posibles alteraciones metabólicas.

3- REFERENTES CONCEPTUALES

Como referentes conceptuales los estudiantes deberán consultar los siguientes tópicos:

- Estructura de los carbohidratos.
- ¿Por qué los carbohidratos son considerados la primera fuente de energía?
- Valores de referencia de la glicemia pre, posprandial y gestacional.
- Acciones de la insulina y el glucagón sobre la glucosa.
- Acciones e importancia de los transportadores de glucosa GLUT Y GSLT
- Fisiopatológica de la diabetes mellitus I y II(DM I, DM II) y de la Hipoglicemia.
- Relación de la DM con las neuropatías, hepatopatías y nefropatías.

4- MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Materiales y equipos

- Espectrofotómetro.
- Baño de María a 37°C.
- Micropipetas para medir volúmenes de 10 μ L y 1000 μ L.
- Puntas para micropipetas.
- Centrífuga.

Reactivos

- Kit de reactivos GLUCOSA OXIDASA/PEROXIDASA de laboratorio BioSystems, para medir la concentración de glucosa in- vitro.
- Muestra sanguínea (suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar).
- Muestra de orina (recogido mediante procedimiento estándar).
- Tiras reactivas para análisis de orina.

Materiales que debe traer el estudiante

- 1. Marcador indeleble.
- Toallas absorbentes.

5-PROCEDIMIENTO

1. Determinación de Glucosa en sangre. .

- Para la realización de la prueba el paciente debe estar en ayunas por lo menos 8 horas y no haber ingerido alcohol. Inicialmente se le hará la toma preprandial y luego se le dará la carga de glucosa (75g / 250mL de agua o desayuno cargado de azúcares), posteriormente se tomará la muestra posprandial a los 60 o 90 minutos. Las muestras se recolectan de sangre venosa por una persona idónea integrante del grupo de docentes y de manera aséptica, mediante una jeringa. La instrucción de la preparación de las muestras y la manipulación de las mismas se realizará antes de iniciar la práctica.
- Luego de centrifugar las muestras, se llevará a cabo la cuantificación de la glucosa en sangre utilizando un kit específico. Posteriormente realizar los respectivos análisis de acuerdo a los datos obtenidos.
- Sacar el reactivo para glucosa de su empaque y permitir atemperarlo a temperatura ambiente, posteriormente, tomar 3 celdas (o tubos) y rotular con los nombres: Blanco, Patrón y muestra. Con las micropipetas apropiadas realice las siguientes mediciones de volúmenes.

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón de glucosa (S)	--	10 µL	--
Muestra	--	--	10 µL
Reactivo A	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- Agitar bien e incubar los tubos o celdas durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25°C) o durante 5 minutos a 37°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y de la Muestra a 500 nm frente al Blanco. El color es estable durante al menos 2 horas.

Realización de los cálculos.

- La concentración de glucosa en la muestra se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de la muestra } C_m = \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{patrón}}$$

Donde $C_{\text{patrón}} = 100$; el valor obtenido se encontrará en unidades mg/dL de glucosa.

2. Determinación de glucosa en orina.

- En un frasco de recolección estéril, realizar la recolección de una muestra de orina en estado de ayuno que no supere las 12 horas de ayuno.
- Descartar la primera mitad de la micción y tapar el frasco cuidadosamente.
- En el laboratorio, introducir la tira reactiva en la orina y retirar rápidamente, dejarla secar a temperatura ambiente.
- Comparar la coloración con la tabla guía del envase de las tiras.
- Determinar los valores y analice el estado metabólico del paciente conjuntamente con los valores de glucosa en sangre.

6 PREGUNTAS DE PROFUNDIZACIÓN

1. ¿Cuál es la importancia diagnóstica de la hemoglobina glicosilada *Hb A1C*?
2. Describa brevemente en que consiste la glucólisis anaerobia y la aerobia.
3. ¿Cómo es el mecanismo de entrada de la glucosa a una célula muscular?
4. ¿Cuál es la importancia metabólica de la gluconeogénesis?
5. ¿Cuáles son los paraclínicos solicitados para diagnóstico y seguimiento de paciente hipoglicémico e hiperglicémico?
6. ¿Cuáles son las principales recomendaciones debe darse a un paciente con hipo o hiperglicemia?
7. ¿De acuerdo a los otros aspectos evaluados con las tiras en la orina (diferentes a la glucosa), explique, qué otras situaciones patológicas se podrían inferir?

7 BIBLIOGRAFÍA

1. BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain) 09/2014. Quality System certified according to EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards of Glucose.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood, ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Baynes J. Bioquímica Médica. 3a Ed. Editorial Elsevier. España; 2011.
5. Koolman J, Klaus-Heinrich Röhm K-H. Bioquímica Humana. 4 Ed. Editorial Médica Panamericana. Argentina; 2012.
6. Laguna J, Piña E. Bioquímica de Laguna. 6a Ed. Editorial Manual Moderno. México; 2007.
7. López J, Fernández A. Fisiología del Deporte. 3a Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires; 2006.
8. Pratt Ch. Bioquímica. 2 Ed. Editorial. Manual Moderno. México: 2008.