

Procjena hepatobilijarnog sustava Masne tvari

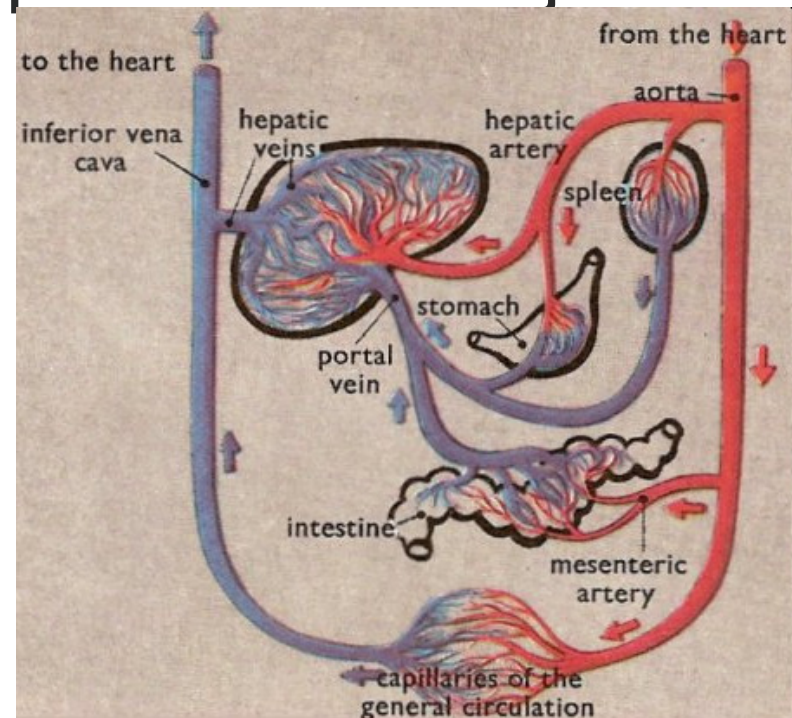
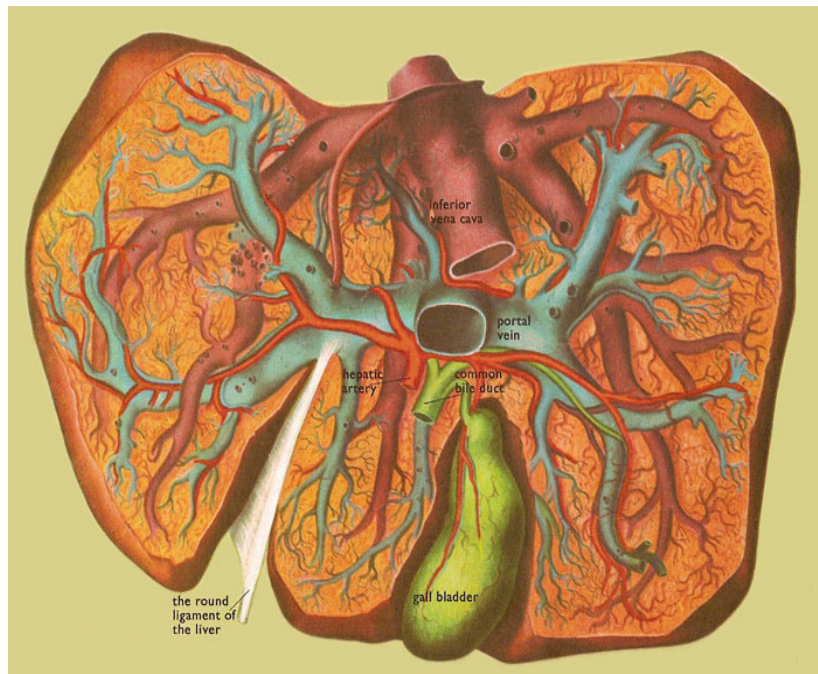
Lada Radin, dr. vet. med.

[Građa jetre - hepatociti]

- hepatociti čine aprox. 60% jetrenog tkiva
- mg ljudske jetre sadrži 170,000 hepatocita
- ostalo su: Kupfferove stanice (1/3 ostatka), lipociti, stanice endotela, limfociti
- fantastične mogućnosti regeneracije – psu treba 6-8 tjedana da regenerira 80% uništene ili izrezane mase jetre
- upravo zato ponovljeni jetreni testovi imaju veliko kliničko značenje

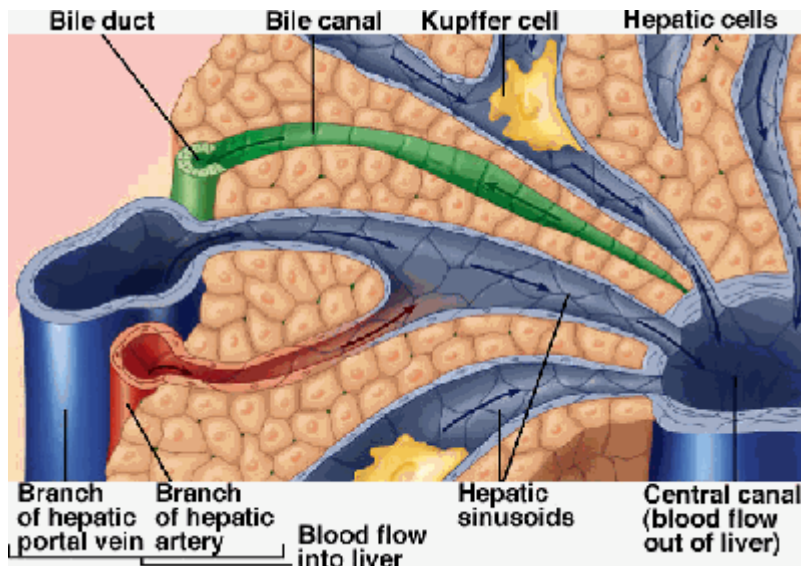
[Opskrba krvlju]

- a. hepatica - ?
- v. portae - ? – 80% protoka krvi u jetri

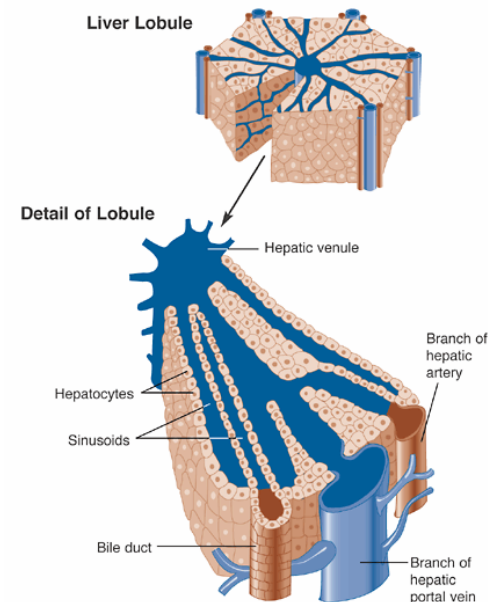


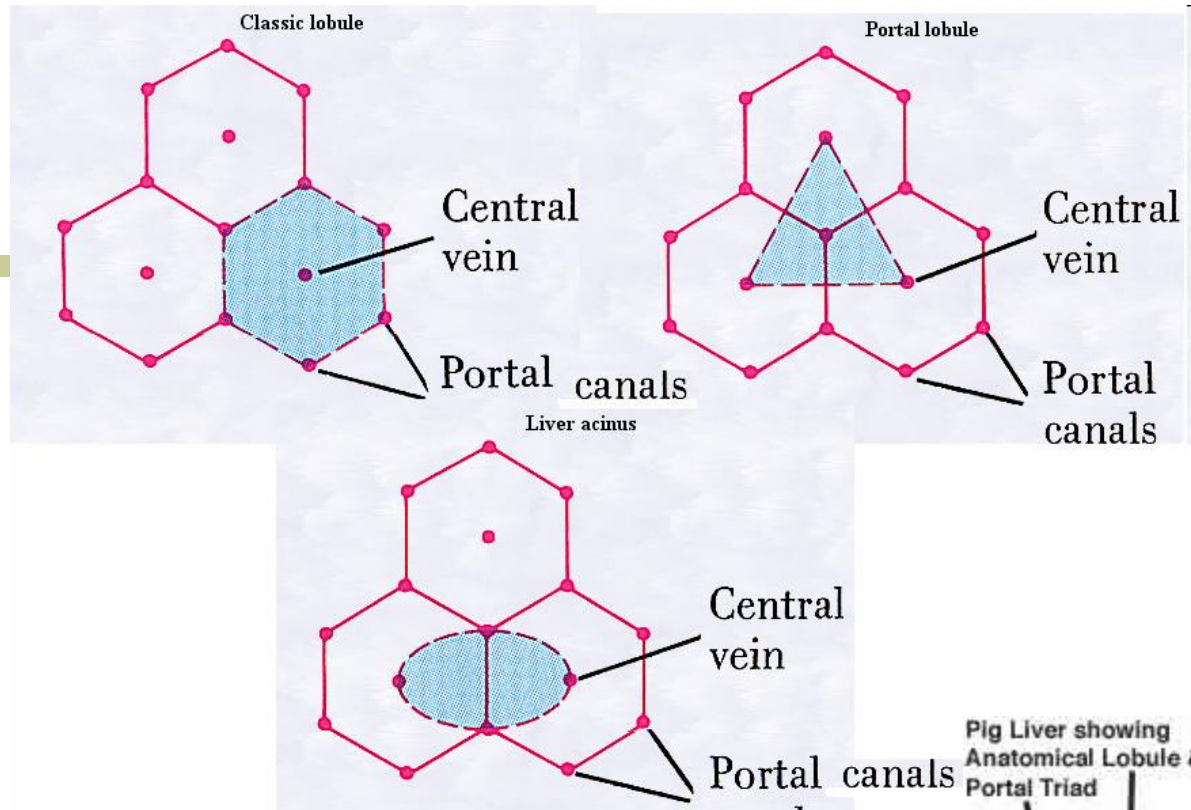
[stvaranje žuči – struktura jetre]

- hepatociti čine kanalikule – žučni kanalići – žučni kanali – ductus hepaticus
- jetreni režnjići (lobuli), sastavljen od mnoštva gredica (acinusa)

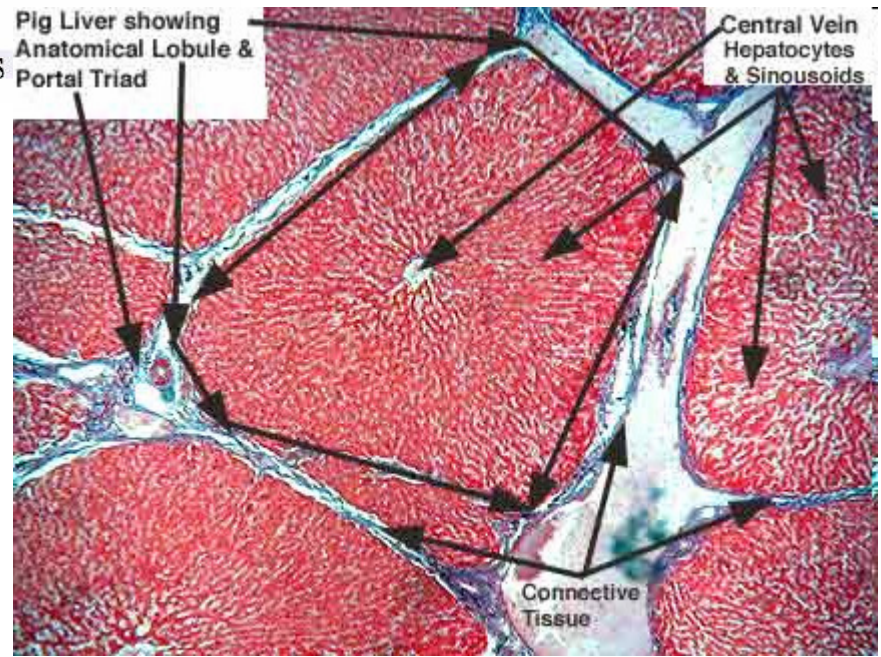


<http://www.daviddarling.info/encyclopedia/L/liver.html>





<http://faculty.une.edu/com/abell/histo/histolab3d.htm>



[Uloga jetre]

- sinteza albumina, glukoneogeneza, sinteza kolesterola, metabolizam aminokiselina, stvaranje ureje, oksidativni metabolizam, uklanjanje žučnih kiselina iz portalne krvi
- lipogeneza, stvaranje ketona, glikoliza, stvaranje glutamina, metabolizam unesenih tvari (ksenobiotika), metabolizam amonijaka
- imunološki odgovor (Kupfferove stanice)

[Jetreni testovi]

- enzime grupiramo:
 - ozljede jetrenog tkiva i procesi reparacije tkiva
 - zadržavanje žuči (kolestaza) i aplikacija nekih lijekova
- njihova koncentracija u serumu ovisi o:
 - aktivnost unutar tkiva
 - lokacija unutar stanice
 - brzini uklanjanja iz plazme
 - tipu, težini, trajanju stimulusa/ozljede
 - vrsti životinje

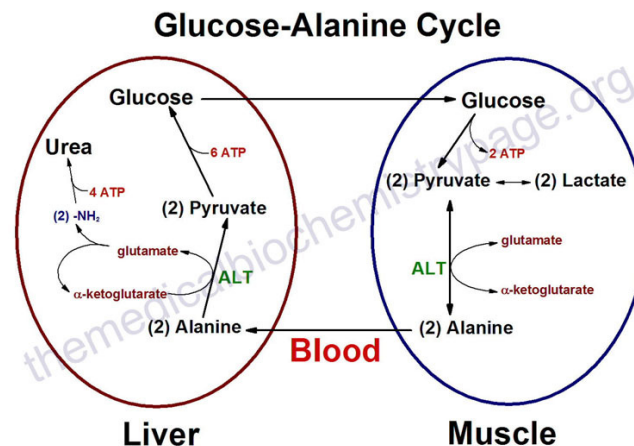
Enzimi “curenja” – aminoTRANSFERAZE

- kataliziraju REVERZIBILNI PRIJENOS AMINOSKUPINE između AMINOKISELINA i KETOKISELINA →
 - pri tome nastaje nova AMINOKISELINA
- za djelovanje potreban KOENZIM –
PIRIDOKSAL- FOSFAT – vitamin B6
- u organizmu ima **više aminotransferaza** (prenose aminoskupine sa različitih α -AK)
- 2 široko rasprostranjene u organizmu: AST i ALT

ALT i AST

■ alanin aminotransferaza – ALT

- visoka aktivnost u citoplazmi hepatocita pasa, mačaka i primata; dijagnostički nevažna u konja i preživača
- brzo nakon akutne ozljede hepatocita “curi” iz stanica
- povišenje koncentracije u plazmi govori o opsegu oštećenja



[ALT i AST]

- **aspartat aminotransferaza – AST**
 - visoka aktivnost u jetri, ali i mišićima
 - pogodna za testove u konja i preživača (ako znamo da nema ozljede mišića)
 - vraća se na normalne vrijednosti brže od ALT-a, korisno mjeriti učestalo (svakih 2–5 dana)
 - SD i GLDH

[Kolestaza i lijekovi]

- AP i GGT
 - miruju u oštećenoj stanici, nalaze u staničnoj membrani
- koncentracija ne skače naglo, nego se diže kroz vrijeme
- zadnji se vraćaju na normalne vrijednosti
- glukokortikoidi, antikonvulzivi

1. ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI ALT U KRVNOM SERUMU/PLAZMI

- **KEMIKALIJE: reagens**
- **RADNA OTOPINA: reagens otopiti u odgovarajućoj količini destilirane vode**
- **UZORAK ZA ANALIZU: serum/plazma**
- **UVJETI ODREĐIVANJA:**
 - valna duljina: 340 nm
 - staklena kiveta: 1 cm
 - temperatura: 30 °C

ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI ALT U KRVNOM SERUMU/PLAZMI

	<u>PROBA</u>
<u>REAGENS</u>	2,0 ml
<u>UZORAK</u>	0,2 ml

- dobro promiješati, inkubirati 1 minutu na 30 °C.
- točno nakon 1 minute izmjeriti apsorbanciju
- ponoviti očitavanje apsorbancije nakon 3 minute
- izračunati srednju vrijednost

$$\Delta A / \text{min} = (1. \text{ očitavanje} - 2. \text{ očitavanje}) / 3$$

- RAČUN: ALT, U/L = $\Delta A / \text{min} \times 1746$

[BILIRUBIN]

- filmić!
- razlika konjugirani/nekonjugirani bilirubin
- što je **žutica?**

- 3 uzroka žutice:
 - povećano razaranje eritrocita
 - teška primarna intrahepatička bolest jetre
 - otežani/spriječeni otok žuči

2. ODREĐIVANJE UKUPNOG BILIRUBINA U KRVNOM SERUMU/PLAZMI

- **KEMIKALIJE:** reagens I, reagens II, reagens III.
- **RADNA OTOPINA:** radni reagens I
- **UZORAK ZA ANALIZU:** serum/plazma
- **UVJETI ODREĐIVANJA:**
 - valna duljina: 546 nm
 - staklena kiveta: 1 cm
 - temperatura: 37°C

2. ODREĐIVANJE UKUPNOG BILIRUBINA U KRVNOM SERUMU/PLAZMI

- 0 instrumenta: destilirana voda
- postupak za određivanje UKUPNOG BILIRUBINA

	PROBA	SLIJEPA PROBA
UZORAK	0,1 ml	0,1 ml
RADNI REAGENS I	1 ml	-
REAGENS I	-	1 ml

- dobro promiješati i ostaviti na sobnoj temp. zaštićeno od svjetla
- točno nakon 10 minuta izmjeriti apsorbanciju probe (Ap) i slijepe probe (Asp) prema destiliranoj vodi.
- **UKUPNI BILIRUBIN ($\mu\text{mol/l}$) = (Ap – Asp) x 214**

[KOLeSTeROL – gdje i zašto?]

- metabolit steroida – STEROLNA JEZGRA
- nalazi se u st. membrani, a krvlju cirkulira na nosačima
- građevni element stanične membrane – održava njen integritet i elastičnost
- transport preko membrane, signalizacija i provodljivost u živčanom tkivu
- u stanici: prekursor nekih biokemijskih putova
- prekursor za sintezu vit. D, steroidnih hormona, žučnih kiselina

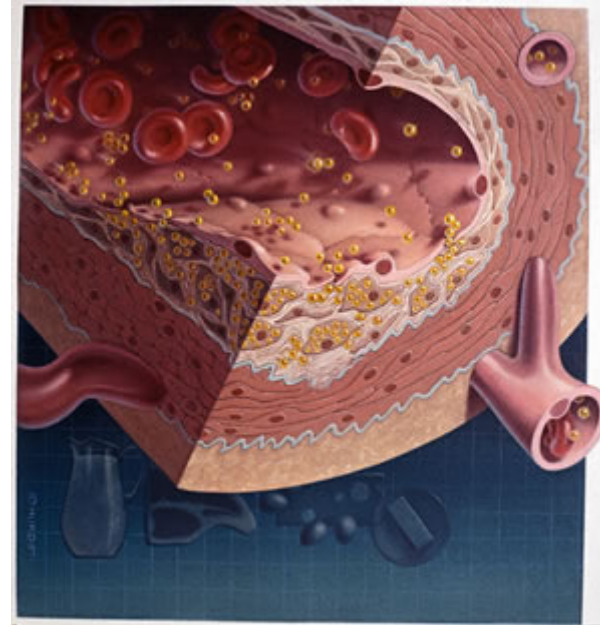
3. ODREĐIVANJE UKUPNOG KOLeSTeROLA

Uvjeti određivanja:

Valna duljina: 500 nm

Staklena kiveta: 1 cm

Temperatura: 25 °C



Pribor i kemikalije: reagens, standard (5,17 mmol/L), epruveta, pipete

Uzorak za analizu: serum, plazma

3. ODREĐIVANJE UKUPNOG KOLeSTeROLA

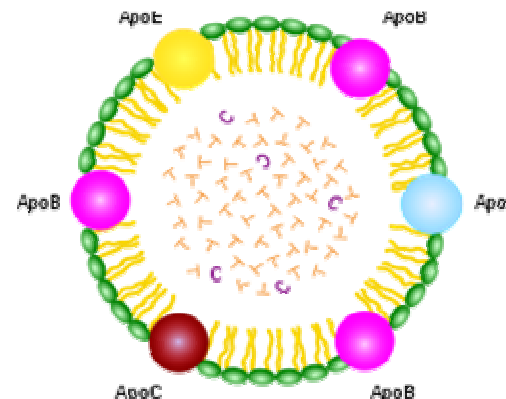
	Slijepa	Standard	Proba
Standard	-	10 µl	-
Uzorak	-	-	10 µl
Reagens	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

- promiješati i inkubirati 15 minuta.
- očitati adsorbanciju probe (A_p) i standarda (A_s) prema slijepoj probi.

$$\text{RAČUN: ukupni kolesterol, mmol/L} = \frac{A(p)}{A(s)} \times 5,17$$

[KOLeSTeROL – otkud?]

- 80% stvara se u jetri, 20–ak % unosi se hranom (egzogeni)
- većinom iz trans i zasićenih masti
- homeostatski regulatorni mehanizam potiče proizvodnju kada je unos hranom smanjen i obrnuto
- netopiv je u vodi, pa se u krvotoku prenosi u/na **lipoproteinima**



[LiPOProteini]

- podijeljeni prema gustoći –
 - hilomikroni
 - VLDL – very low density lipoproteins
 - IDL
 - LDL
 - HDL – **high** density lipoproteins



[Koji od liPOProteina radi ŠTO?]

hilomikroni – nose trigliceride (masti) iz t. crijeva do jetre, skeletnog mišićja, masnog tkiva

VLDL – nose novostvorene trigliceride iz jetre u masno tkivo

LDL – nose kolesterol iz jetre po tijelu – “loš kolesterol”

HDL – skupljaju kolesterol iz tkiva i vraćaju ga u jetru – “dobri kolesterol”

kolesterol sam po sebi nije loš, već KOLIČINA, smjer i nosači određuju njegovu potencijalnu lošu sudbinu

[Zašto je LDL “loš kolesterol”?]

- LDL koji se sastoji od manjih građevnih elemenata veće gustoće lakše prolazi kroz endotel
- ima tendenciju nakupljanja u stijenjkama krv. žila

