Untersuchungen zum Glucosestoffwechsel – Vorbereitung

Jeder Versuchsschritt mit dem „Warum“ dahinter, dazu das Vorlesungs- und Klinikwissen, das du am Versuchstag und im begleitenden Seminar brauchst. Grundlage ist das Praktikumsskript (S. 21–36); Ergänzungen sind markiert.

1 Der Tag im Überblick

Du machst an dir selbst zwei klinisch-chemische Tests, mit denen man einen Diabetes mellitus erkennt und überwacht – einmal den **akuten** Blutzucker, einmal den **Langzeitwert**.

	Experiment 1 – Glucosetoleranztest	Experiment 2 – Glykiertes Hämoglobin
Frage	Wie schnell steigt und fällt dein Blutzucker nach einer Zuckerlast?	Welcher Anteil deines Hämoglobins ist dauerhaft verzuckert (HbA_1)?
Was zeigt es	Funktion der B-Zellen / Insulinwirkung **jetzt** (Momentaufnahme)	mittlerer Blutzucker der letzten **~8–12 Wochen** (Langzeit)
Methode	Blut zu 0/30/60/90 min → enteiweißen → **GOD/POD**-Farbtest, Photometer 500 nm	Kationenaustauscher trennt verzuckertes Hb ab → Photometer 405 nm
Ergebnis	Blutzuckerkurve zeichnen und bewerten	% HbA_1 von Eigen- und Diabetikerblut berechnen

Merke: Mitnehmen: Kittel, Schutzbrille, Taschenrechner, **Millimeterpapier** (für die Blutzuckerkurve), Skript. Experiment 1 ist an die Zeit gebunden – **die Uhr läuft, sobald du getrunken hast**, also zuerst alles vorbereiten.

Info: Du stichst dich selbst in die Fingerbeere (Kapillarblut). Wer das nicht an sich machen lassen will oder z. B. Diabetes/Gerinnungsprobleme hat, sagt das vorher dem Assistenten – man kann in der Gruppe auch an einer Versuchsperson arbeiten.

2 Hintergrund: Wie der Blutzucker geregelt wird

Der Nüchternblutzucker liegt beim Gesunden eng zwischen **3,3–5,5 mmol/l** (≈ 60–100 mg/dl). Ein einziges Hormon senkt ihn, mehrere heben ihn:

	Insulin	Antagonisten (Glucagon, Adrenalin, Cortisol)
Herkunft	B-Zellen der Langerhans-Inseln (Pankreas)	A-Zellen (Glucagon), Nebennierenmark (Adrenalin), Nebennierenrinde (Cortisol)
Wirkung aufs Blut	**senkt** den Blutzucker	**heben** den Blutzucker

	Insulin	Antagonisten (Glucagon, Adrenalin, Cortisol)
Wie	baut **GLUT4** in Fett- und Muskelzellen ein → Glucoseaufnahme ↑; in der Leber Glykolyse + Glykogensynthese ↑, Glykogenolyse ↓	setzen Glucose aus dem Leberglykogen frei (Glykogenolyse ↑), Gluconeogenese ↑

Nierenschwelle: Steigt der Blutzucker über ca. **10 mmol/l**, ist das Transportmaximum der Rückresorption im proximalen Tubulus überschritten – Glucose erscheint im Urin (**Glucosurie**). Daher der Name *Diabetes mellitus* = „honigsüßer Durchfluss“ (Zuckerharnruhr).

Diabetes mellitus ist die gestörte Blutzuckerregulation. Die beiden primären Formen:

	Typ 1 (juveniler Diabetes)	Typ 2 (Altersdiabetes)
Ursache	autoimmune Zerstörung der B-Zellen → **absoluter Insulinmangel**	**Insulinresistenz** (verminderte Insulinwirkung, z. B. zu wenige/unempfindliche Rezeptoren), später relativer Mangel
Beginn	oft jung, plötzlich (bei Ausbruch sind ~80 % der Inselzellen zerstört)	schleichend, lange unbemerkt; Risiko: Adipositas, Bewegungsmangel, Fettstoffwechselstörung
Insulinspiegel	niedrig/fehlt	anfangs normal bis hoch

Klinik: Bei Insulinmangel „hungern“ Fett- und Muskelzellen trotz hohem Blutzucker. Der Stoffwechsel stellt um: Lipolyse ↑ (Hyperlipämie), vermehrt Ketonkörper → **Ketoazidose**. Langzeitfolgen: Arteriosklerose, Retinopathie (Erblindung), Nephropathie, Neuropathie, Gangrän.

Info: Sekundärer Diabetes: nach Pankreaserkrankung/-entfernung, bei chronischer Lebererkrankung oder Überwiegen kontrainsulinärer Hormone (Akromegalie, M. Cushing, Phäochromozytom).

3 Experiment 1 – Glucosetoleranztest Schritt für Schritt

Prinzip: Nach dem Trinken einer definierten Zuckermenge steigt der Blutzucker rasch an und normalisiert sich beim Gesunden innerhalb von ~2 h wieder. Du misst ihn zu vier Zeitpunkten und zeichnest den Verlauf.

Merke: Schritte 1–4 **sofort** und ohne Pause durchführen, erst dann in Ruhe weiterlesen. Jede Probe wird in Perchlorsäure geworfen – das **enteiweißt** (fällt die Plasmaproteine), sonst stören sie die Messung.

1. **Vorbereiten und Nullwert nehmen** · t = 0 min

   Vier Eppis mit je **500 µl Perchlorsäure** (0,35 mol/l) beschriften: 0, 30, 60, 90 min. Mit der **Kapillarpipette** 0,05 ml Blut aus der Fingerbeere nehmen (Kapillare ganz voll, keine Luftblase), in das Eppi „0 min“ werfen und **sofort gut schütteln**.

2 **Zuckerlast trinken** · Uhr starten

Ein glucosehaltiges Getränk (500 ml, „Cola“) trinken und den **Zeitpunkt notieren** – ab jetzt läuft die Uhr für alle weiteren Proben.

3 **Proben nach 30, 60, 90 min** · + Standard

Zu jedem Zeitpunkt 0,05 ml Kapillarblut nehmen, in den passenden Eppi mit vorgelegter Perchlorsäure werfen, schütteln. Irgendwann nebenbei einen **5. Eppi** ansetzen: 500 µl Perchlorsäure + **50 µl Glucose-Standard** (5,55 mmol/l) – das ist dein Bezugswert.

4 **Zweimal zentrifugieren** · 10 min nach der letzten Probe

10 min nach der letzten Enteiweißung alle 5 Eppis **4 min bei 10 000 rpm** zentrifugieren (ein 6. Eppi mit 500 µl Wasser als Gegengewicht). Überstände vorsichtig in neue Eppis umfüllen und **nochmals 4 min bei 10 000 rpm**. Der klare Überstand enthält die Glucose ohne Protein.

5 **Farbreaktion (GOD/POD) und Messung** · Photometer 500 nm

6 Küvetten mit je **1,0 ml Glucose-Reagenz**. Nach Tabelle pipettieren, mit Parafilm abdecken, invertieren, **10 min** bei Raumtemperatur stehen lassen.

Küvette	Leerwert	Standard	Proben 1–4 (0/30/60/90 min)	Nullabgleich
Zusatz zum Reagenz	0,05 ml Aqua dest.	0,05 ml Standard (enteiweißt)	je 0,05 ml Probe (enteiweißt)	nur Wasser + Reagenz

Photometer bei **500 nm** gegen die Nullabgleich-Küvette (Wasser + Reagenz) auf null stellen (*Zero*), dann Standard und alle Proben messen.

Info: Warum 500 nm? Die Chemie läuft in zwei Schritten: **Glucose-Oxidase (GOD)** oxidiert Glucose zu Gluconsäure + H_2O_2; **Peroxidase (POD)** nutzt das H_2O_2, um Phenol + 4-Aminophenazon zu einem roten Farbstoff zu kuppeln. Die Farbtiefe (Extinktion bei 500 nm) ist proportional zur Glucosemenge.

4 Auswertung Experiment 1

Blutzucker jeder Probe gegen den Standard rechnen und gegen die Zeit auf Millimeterpapier auftragen:

$$\text{Blutglucose [mmol/l]} = (E_{Probe} / E_{Standard}) \times 5{,}55$$

Den Kurvenverlauf mit den klinischen Grenzwerten vergleichen (orale Glucosebelastung, Kapillarblut):

Blutzucker (mmol/l)	0 min (nüchtern)	30 / 60 min (Maximum)	120 min
normal	< 5,5	< 8,9	< 6,7
Grenzbereich	5,5 – 7,2	8,9 – 11,1	6,7 – 7,8
pathologisch	> 7,2	> 11,1	> 7,8

Merke: Diagnostisch am wichtigsten ist der **2-Stunden-Wert**: über **7,8 mmol/l** spricht für Diabetes mellitus. Ein Maximum über 11,1 mmol/l nach 30–60 min ist verdächtig.

Klinik: Der Test **provoziert** hohe Werte – bei schon bekanntem (manifestem) Diabetes ist er überflüssig und sogar gefährlich. Umgekehrt deckt er auch **Hypoglykämien** auf (z. B. Insulinom), wenn die Werte unter der Norm bleiben.

5 Hintergrund: Glykiertes Hämoglobin (HbA_1c)

Glucose kann sich **nichtenzymatisch** (ohne Enzym) an Aminogruppen des Hämoglobins hängen – ans N-terminale Valin oder an Lysin-Seitenketten. Weil der Erythrozyt die gleiche Glucosekonzentration wie das Plasma hat, läuft das umso mehr, je höher der Blutzucker ist. In zwei Schritten:

Glucose (Aldehyd) + freie Aminogruppe

↓

***Schiff-Base** (labil, reversibel)*

↓

***Amadori-Umlagerung** → stabiles Ketoamin (**irreversibel**)*

Einmal verzuckertes Hämoglobin bleibt es für die ganze Lebensdauer des Erythrozyten (**~120 Tage**). Der HbA_1-Wert ist deshalb ein **Integral über den Blutzucker** der letzten Wochen – ideal zur Langzeitkontrolle.

	Gesunde	schlecht eingestellter Diabetiker
Anteil HbA_1 am Gesamt-Hb	4 – 7 %	bis 18 – 20 %

Info: Trennprinzip: HbA_1 und normales Hb unterscheiden sich in der **Ladung**. Durch die angehängte Glucose wird HbA_1 etwas **negativer**. An einem schwach sauren **Kationenaustauscher** (pH 7,0) bindet deshalb nur das normale Hb; das verzuckerte HbA_1 bleibt im **Überstand** und wird dort gemessen.

6 Experiment 2 – Glykiertes Hämoglobin Schritt für Schritt

Drei Blutproben parallel: **E** = Eigenblut, **S** = Standard (grün, 6,8 % HbA_1), **D** = Diabetikerblut (rot). Du misst für jede den HbA_1-Überstand (E1) und das Gesamt-Hb (EG).

Info: Dieser Versuch ist nicht an die Uhr gebunden – am besten in einer Wartezeit von Experiment 1 (z. B. zwischen 30 und 60 min) einschieben.

1 **Hämolysate herstellen** · Zellen aufschließen

250 µl Lysereagenz in Eppi „E“ vorlegen, Eigenblut mit der Kapillare hineinwerfen, gut schütteln, 5 min stehen lassen. Mit dem grünen „S“ und roten „D“ Eppi genauso (dort sind 50 µl Blut schon vorgegeben, nur 250 µl Lysereagenz dazu), ebenfalls 5 min.

2 **HbA_1 abtrennen** · Kationenaustauscher

Von jedem Hämolysat (vorher schütteln) **50 µl** in die bereitstehenden Eppis mit **Ionenaustauschermatrix** geben, **5 min gleichmäßig sanft schwenken** (nicht absetzen lassen). **10 min bei 2000 rpm** zentrifugieren, Überstand (~700 µl) abnehmen, in neuen Eppi, **nochmals 10 min bei 2000 rpm**.

3 **HbA_1-Überstand messen (E1)** · Photometer 405 nm

Klaren Überstand in eine Küvette. Eine Wasserküvette „W“ für den Nullabgleich. Bei **405 nm** gegen Wasser messen → das ist **E1** (je Probe E, S, D).

4 **Gesamt-Hämoglobin messen (EG)** · Photometer 405 nm

Drei Reagenzgläser mit je 5 ml Wasser (E, S, D). Je **20 µl Hämolysat** hineingeben, mit Parafilm abdecken, schwenken, 5 min stehen lassen. Bei **405 nm** gegen Wasser messen → das ist **EG**.

7 Auswertung Experiment 2

Für jede Probe das Verhältnis von abgetrenntem HbA_1 (E1) zum Gesamt-Hb (EG) bilden – das ist der Faktor **F**:

$$F = E1 / EG$$

Der Standard hat einen bekannten HbA_1-Anteil von **6,8 %**. Darüber eicht man und rechnet Eigen- und Diabetikerblut proportional um:

$$\% HbA_1 (Probe) = (F_{Probe} / F_{Standard}) \times 6{,}8\ \%$$

	E1	EG	F = E1/EG	% HbA_1
Standardblut	messen	messen	F_S	6,8 (gesetzt)
Eigenblut	messen	messen	F_E	$(F_E/F_S) \times 6{,}8$
Diabetikerblut	messen	messen	F_D	$(F_D/F_S) \times 6{,}8$

Merke: Erwartung: Eigenblut im Normbereich (4–7 %), Diabetikerblut deutlich höher. Dass HbA_1 **im Überstand** bleibt, ist der ganze Trick – das normale Hb wurde vom Austauscher „weggefangen“.

Klinik: **Sicherheit:** Perchlorsäure und Lysereagenz reizen Haut/Augen – bei Kontakt sofort mit viel Wasser spülen. Mit Blut arbeiten: Handschuhe, benutzte Lanzetten/Kapillaren in den Abwurf, Probenreste beim Assistenten abgeben. Zentrifuge immer ausbalancieren (gegenüberliegende Plätze).

8 Fürs Seminar: Hämoglobin kompakt

Im begleitenden Seminar werden die klinischen Grundlagen abgefragt. Das Wichtigste zum Hämoglobin:

Thema	Das musst du sagen können
Struktur	Tetramer aus 4 Untereinheiten (HbA: 2α + 2β), jede mit einem **Häm** (Protoporphyrin IX + Fe^{2+}). Fe^{2+} bindet O_2 reversibel; nur das zweiwertige Eisen kann das (Fe^{3+} = Methämoglobin, bindet kein O_2).
O_2-Bindungskurve	**sigmoidal** wegen **Kooperativität**: die erste O_2-Bindung erleichtert die nächsten (T→R-Zustand). Myoglobin dagegen hat eine **hyperbole** Kurve (ein Häm, speichert O_2 im Muskel).
Bohr-Effekt	Mehr CO_2 / niedriger pH / mehr 2,3-BPG → Kurve nach **rechts** (geringere O_2-Affinität) → Hb gibt im Gewebe mehr O_2 ab. In der Lunge umgekehrt.

Thema	Das musst du sagen können
Pufferwirkung	Hb puffert H^+ (Histidinreste); desoxygeniertes Hb nimmt leichter H^+ auf → unterstützt den CO_2-Transport (Haldane-Effekt).
Hämoglobinopathien	**quantitativ**: Thalassämien (zu wenig α- oder β-Ketten). **qualitativ**: **Sichelzellanämie** – Glu6Val in der β-Kette, desoxygeniertes HbS polymerisiert → sichelförmige Erythrozyten.

Info: Verwechsle das nicht: **glykiertes Hb (HbA_1c)** = nichtenzymatisch angehängte Glucose, Diabetes-Langzeitwert. **HbA_2, HbF, HbS** = andere Hämoglobin-Varianten/-Ketten. „Glykiert" ≠ „glykosyliert" (letzteres wäre enzymatisch).

Fragen fürs Seminar

Erst selbst beantworten, dann die Antworten auf der nächsten Seite ansehen. Sie decken die „Allgemeinen Fragestellungen“ des Skripts ab.

1. Wie hält der Körper den Blutzucker konstant – welches Hormon senkt, welche heben ihn?
2. Was ist die Nierenschwelle, und wie hängt sie mit dem Namen „Diabetes mellitus“ zusammen?
3. Worin unterscheiden sich Typ-1- und Typ-2-Diabetes?
4. Wie misst der GOD/POD-Test die Glucose?
5. Warum wird das Blut vor der Glucosemessung mit Perchlorsäure versetzt?
6. Welcher Wert im Glucosetoleranztest ist diagnostisch am wichtigsten?
7. Wie entsteht glykiertes Hämoglobin, und warum eignet es sich als Langzeitwert?
8. Warum trennt der Kationenaustauscher HbA_1 vom normalen Hämoglobin?
9. Warum ist die O_2-Bindungskurve von Hämoglobin sigmoidal, die von Myoglobin aber hyperbol?
10. Was bewirkt der Bohr-Effekt?

Antworten

1. **Wie hält der Körper den Blutzucker konstant – welches Hormon senkt, welche heben ihn?**
   Insulin (B-Zellen des Pankreas) senkt ihn: es baut GLUT4 in Fett-/Muskelzellen ein und fördert in der Leber Glykolyse und Glykogensynthese. Die Antagonisten Glucagon, Adrenalin und Cortisol heben ihn durch Glykogenolyse und Gluconeogenese.
2. **Was ist die Nierenschwelle, und wie hängt sie mit dem Namen „Diabetes mellitus“ zusammen?**
   Ab ca. 10 mmol/l Blutzucker ist das Transportmaximum der Glucose-Rückresorption überschritten, Glucose erscheint im Urin (Glucosurie). „Diabetes mellitus“ = honigsüßer Harnfluss.
3. **Worin unterscheiden sich Typ-1- und Typ-2-Diabetes?**
   Typ 1: autoimmune Zerstörung der B-Zellen → absoluter Insulinmangel, meist jung. Typ 2: Insulinresistenz (verminderte Insulinwirkung), oft bei Adipositas, schleichend; Insulin anfangs normal oder erhöht.
4. **Wie misst der GOD/POD-Test die Glucose?**
   Glucose-Oxidase oxidiert Glucose zu Gluconsäure und H_2O_2; Peroxidase nutzt das H_2O_2, um ein Chromogen (Phenol + 4-Aminophenazon) zu einem roten Farbstoff zu kuppeln. Die Extinktion bei 500 nm ist proportional zur Glucosemenge.
5. **Warum wird das Blut vor der Glucosemessung mit Perchlorsäure versetzt?**
   Zur Enteiweißung: die Plasmaproteine werden gefällt und abzentrifugiert, damit sie die photometrische Messung nicht stören.
6. **Welcher Wert im Glucosetoleranztest ist diagnostisch am wichtigsten?**
   Der 2-Stunden-Wert: über 7,8 mmol/l spricht für einen Diabetes mellitus. Ein Maximum über 11,1 mmol/l nach 30–60 min ist verdächtig.
7. **Wie entsteht glykiertes Hämoglobin, und warum eignet es sich als Langzeitwert?**
   Glucose addiert nichtenzymatisch an Aminogruppen des Hb (Schiff-Base → Amadori-Umlagerung, irreversibel). Es bleibt für die Lebensdauer des Erythrozyten (~120 Tage) bestehen, ist also ein Integral über den Blutzucker der letzten Wochen.
8. **Warum trennt der Kationenaustauscher HbA_1 vom normalen Hämoglobin?**
   Durch die angehängte Glucose ist HbA_1 etwas negativer geladen. Bei pH 7,0 bindet nur das positivere normale Hb an den sauren Kationenaustauscher; HbA_1 bleibt im Überstand und wird dort gemessen.
9. **Warum ist die O_2-Bindungskurve von Hämoglobin sigmoidal, die von Myoglobin aber hyperbol?**
   Hämoglobin hat vier Untereinheiten und bindet O_2 kooperativ (die erste Bindung erleichtert die folgenden, T→R-Übergang). Myoglobin hat nur ein Häm, keine Kooperativität – daher hyperbol und mit höherer O_2-Affinität (O_2-Speicher im Muskel).
10. **Was bewirkt der Bohr-Effekt?**
    Niedriger pH, viel CO_2 und 2,3-BPG senken die O_2-Affinität (Kurve nach rechts) → im Gewebe gibt Hb mehr O_2 ab; in der Lunge umgekehrt.

Quelle: Praktikumsskript Biochemie II WS 2026/27 (Girzalsky, Erdmann), „Untersuchungen zum Glucosestoffwechsel“, S. 21–36 (Glucosetoleranztest, glykiertes Hämoglobin, allgemeine Fragestellungen) · Hämoglobin-Grundlagen aus BC I.