

LABORATORIO "A" DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO Y NITROGENO DE UREA

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO

En el catabolismo de los ácidos nucleicos, las bases purínicas liberadas por hidrólisis de sus nucleótidos son parcialmente reutilizadas en el proceso de síntesis metabólica, pero sufren en parte un proceso de oxidación a ácido úrico pasando por la formación de xantina (2,6-dioxipurina). En la mayoría de los mamíferos el ácido úrico (sustancia muy poco hidrosoluble) prosigue su degradación catabólica dando lugar a la alantoína, compuesto de excelente solubilidad que es rápidamente excretado por vía renal. En el hombre y en los antropoides falta la enzima necesaria para este último paso catabólico, la uricasa, y en consecuencia se elimina el ácido úrico como producto final del metabolismo de las purinas.

La solubilidad máxima del ácido úrico en plasma sería de unos 8.5 a 8.8 mg/dl, y a un pH de 7.4 aproximadamente el 98% del ácido úrico total se encuentra bajo su forma de sal monoalcalina. También se encuentra presente en los hematíes, y en condiciones de equilibrio su concentración eritrocitaria es aproximadamente la mitad de la plasmática.

Debido a su muy mala solubilidad en los líquidos orgánicos, el ácido úrico es un catabolito potencialmente peligroso capaz de conducir a la constitución de formaciones cristalinas. El adulto medio tiene un contenido total aproximado de 1.2 g de ácido úrico en el cuerpo, lo cual puede considerarse una reserva miscible con un recambio alto. El ácido úrico de esta reserva procede de tres orígenes: 1) catabolismo de purinas endógenas, 2) catabolismo de purinas exógenas y 3) excreción renal/intestinal.

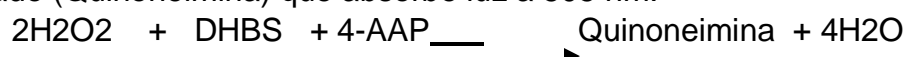
La mayor parte de la formación de ácido úrico tiene lugar en el hígado, por su gran actividad de xantino oxidasa; el adulto medio excreta aproximadamente de 0.4 a 0.8 g de ácido úrico en orina cada 24 horas. Los valores de referencia varían con el método, edad, factores raciales, sexo, factores sociales y factores geográficos.

Como un metabolito del metabolismo de las purinas, ácidos nucleicos y nucleoproteínas, los niveles anormales de ácido sérico pueden indicar un desorden en el metabolismo de estas sustancias.

La metodología para la determinación de la concentración de ácido úrico se basa en la reacción de Trinder, un método enzimático colorimétrico que involucra dos reacciones acopladas. En la primera, la enzima uricasa cataliza la oxidación del ácido úrico a alantoína, con la producción de peróxido de hidrógeno (H₂O₂):



En la segunda reacción, la enzima peroxidasa cataliza la reacción del peróxido de hidrógeno con el 3,5- dicloro-2-hidroxibencilsulfonato (DHBS) y 4-amino antipirina (4-AAP) para formar un compuesto coloreado (Quinoneimina) que absorbe luz a 505 nm.



La cantidad de luz absorbida es directamente proporcional a la cantidad de colorante formado y, por lo tanto, a la concentración de ácido úrico en la muestra.

DETERMINACION DE NITROGENO DE UREA

La urea es un residuo de la descomposición de las proteínas y por lo tanto está directamente relacionada con la cantidad de proteínas que comemos. Normalmente, los riñones filtran la urea de la sangre, pero cuando los riñones no funcionan bien, la cantidad de urea filtrada es menor y aumenta en la sangre.

El aumento de urea puede producir malestar digestivo (náuseas y vómitos) y cuando los niveles son muy altos, alteraciones en el nivel de conciencia (uremia).

La urea se forma en el hígado, es filtrada y absorbida por los riñones. Constituye la fracción de nitrógeno no proteico más importante en la mayoría de los líquidos biológicos.

En el hombre, es el principal producto final del metabolismo proteico. Representa el 85% del nitrógeno urinario, por lo que no resulta sorprendente el papel fundamental que juega el riñón en la regulación sistémica de los niveles de urea. Un aumento de la concentración sérica de urea se interpreta como una posible disfunción renal.

La reabsorción renal de urea es mayor cuando el flujo es lento y menor cuando aumenta la diuresis. Los niveles séricos de urea están relacionados con la dieta y el metabolismo proteico.

Su utilidad clínica se basa en su importancia en la evaluación de la función renal. Entre las variables preanalíticas que incrementan su valor sérico están el sexo –es mayor en hombres que en mujeres-, la edad, alcalosis, amonio, bilirrubina, creatina, creatinina, hemoglobina, ácido úrico, plomo y la hemólisis. Mientras que entre los que lo disminuyen están el embarazo, la ingesta inadecuada de proteínas, la ingesta de agua y el tabaco.

Enfermedades como nefroesclerosis, tuberculosis renal, necrosis cortical, gota crónica, malignidad, hiperparatiroidismo y el síndrome de Reye disminuyen sus niveles séricos; mientras que la acromegalia, fibrosis quística, cirrosis hepática, falla hepática, hepatitis tóxica, preeclampsia, eclampsia, síndrome nefrótico y enfermedad celíaca los disminuyen.

Entre las drogas que aumentan su concentración sérica están alopurinol, aminoácidos, aspirina, cisplatino, ciclosporina, furosemida, gentamicina, neomicina, tetraciclina, hidroclorotiazida, interleukina 2, pentamidina, tertratolol, ketoprofeno, anfotericina B, captopril, carbamacepina, cimetidina, etc; y entre las que la disminuyen están la hormona del crecimiento, prednisona, ácido ascórbico, heparina, amikacina, iodoacetato, parametasona, fenotiazinas, etc.

Actualmente es más común expresar las concentraciones de urea en términos de nitrógeno de urea (BUN).

MATERIALES

- Suero para las determinaciones químicas
- Reactivo enzimático colorimétrico para la determinación de urea y ácido úrico
- Soluciones estándar de:
 - o Ácido Úrico
 - o Urea
- Cubetas
- Micropipetas
- Puntas para micropipetas
- Fotómetro
- Reloj

1. PROCEDIMIENTO ACIDO URICO

- 1) Marcar tres tubos de ensayo como B (Blanco), St (Standard) y M (Muestra –escribir el número de muestra).
- 2) Proseguir de acuerdo con el siguiente esquema:

Pipetear en los tubos marcados	TUBOS		
	B	St	M
Solución estándar de ácido úrico	----	20 µl	----
Suero del paciente	----	----	20 µl
Reactivo de ácido úrico	1000 µl	1000	1000 µl

- 3) Incubar por 5 minutos a 37°C.
- 4) Leer las absorbancias del estándar (ASt) y la muestra (AM), poniendo el aparato en cero con el blanco de reactivos (B), a una longitud de onda de 505 nm
- 5)
- 6) Determinar la concentración de ácido úrico utilizando la ecuación de Beer-Lambert

2. NOTAS:

- 1) LA CONCENTRACIÓN DEL ESTÁNDAR TIENE UNA VALOR DE 10 mg/dl
- 2) LOS VALORES DE REFERENCIA SON:

Mujeres: 2.6 – 6.0 mg/dl

Hombres: 3.5 – 7.2 mg/dl

2. PROCEDIMIENTO NITROGENO DE UREA

- a) Tomar dos tubos limpios
- b) Identificar los dos tubos de la siguiente forma: uno como **St** (de estándar) y uno como **M** (de muestra)
- c) Colocar en los dos tubos 1000 µl de reactivo para la determinación de Nitrógeno de Urea
- d) Programar el espectrofotómetro a 340 nm y ponerlo en cero con blanco de agua estilada

Segundo Año

- e) Agregar al tubo St **10** μ l (microlitros) de solución estándar de BUN, activar inmediatamente el cronómetro y transferir a la cubeta de lectura
- f) Introducir la cubeta al espectrofotómetro y a los 30 segundos leer la primera absorbancia del estándar y anotarla como **Ast1**
- g) Leer la segunda absorbancia del estándar 60 segundos después de la primera y anotarla como **ASt2**
- h) Sacar la cubeta del fotómetro, descartar su contenido y golpearla sobre papel absorbente para eliminar el exceso de líquido remanente
- i) Repetir los pasos E, F Y G utilizando el suero del paciente en vez del estándar, anotando las absorbancias correspondientes como AM1 (a los 30 segundos) y AM2 (60 segundos después de la primera lectura)
- j) Calcular las diferencias de absorbancia del estándar (Δ St) y de la muestra (Δ M) con la fórmula de Beer-Lamberth.

Los valores de referencia son: 4.7 -23.4 mg/dl