

2. ΟΥΡΙΑ ΑΙΜΑΤΟΣ (U)

Η ουρία του αίματος μαζί με την κρεατινίνη το ουρικό οξύ και τα αμινοξέα, αποτελούν τις μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ουσίες του αίματος (ουσίες μη πρωτεϊνικού αζώτου).

Η ουρία είναι το σημαντικότερο τελικό προϊόν του μεταβολισμού των πρωτεϊνών και η σύνθεση της γίνεται στο ήπαρ. Εισέρχεται στο αίμα και αποβάλλεται από τους νεφρούς (στα εσπειραμένα σωληνάκια μαζί με το νερό, όπου στη συνέχεια το 40% περίπου της ουρίας επαναρροφάται λόγω της επαναρρόφησης του νερού) στα ούρα. Ο προσδιορισμός της ουρίας γίνεται στον ορό του αίματος αλλά μπορεί να γίνει και στο πλάσμα και το ολικό αίμα γιατί η συγκέντρωση της είναι σταθερή.

Φ.Τ. ουρίας αίματος: 20 – 50 mgr/dl, **ουρίας ούρων:** 20 – 35 gr/24ωρο

Αύξηση (ουραιμία):

- Αυξημένος μεταβολισμός των πρωτεϊνών π.χ. ασπία, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, μη ρυθμιζόμενος σακχαρώδης διαβήτης κ.λ.π.
- Διαταραχές της νεφρικής λειτουργίας (νεφρική ανεπάρκεια)
- Προνεφρικές διαταραχές λόγω ελάττωσης του όγκου του αίματος που περνάει από τους νεφρούς (αφυδάτωση, αρτηριοσκληρυνση, υπόταση κ.λ.π.)
- Μετανεφρικές διαταραχές (απόφραξη ουροφόρων οδών)
- Καρδιακή ανεπάρκεια, εντερική ή προστατική απόφραξη κ.λ.π.

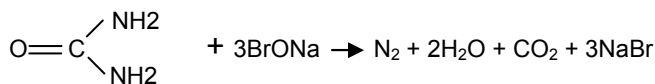
Ελάττωση:

- Αυξημένη σύνθεση πρωτεϊνών (τελευταίο τρίμηνο κύησης, νεογνά)
- Ηπατική ανεπάρκεια (ηπατίτιδα κ.λ.π.)
- Μειωμένη απορρόφηση πρωτεϊνών (διατροφή με λίγο λεύκωμα)

Προσδιορισμός ουρίας:

A. Μέθοδος Kowarsky (Ογκομετρική):

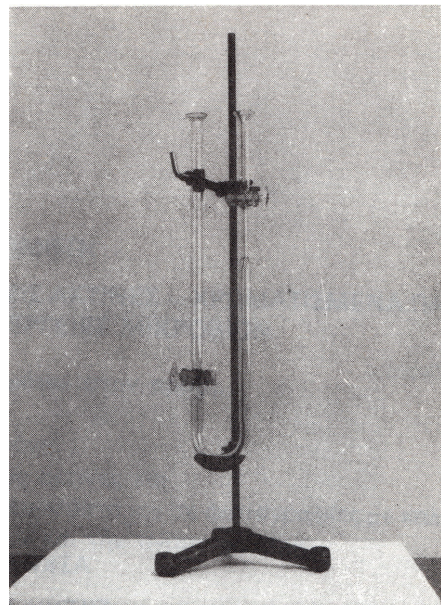
Η μέθοδος στηρίζεται στον υπολογισμό του όγκου του αερίου αζώτου (N₂) που εκλύεται από την αντίδραση της ουρίας με το υποβρωμιώδες νάτριο ως εξής:



Η μέτρηση του όγκου του αζώτου γίνεται με το ουριόμετρο Kowarsky.

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ:

1. Τριχλωροξικό οξύ 10%
2. Διάλυμα Kowarsky (κορεσμένο). Αυτό αποτελείται από 350 gr NaCl και 150 gr K₂SO₄ σε 1000 ml D.W. Βράζεται μέχρι σχηματισμού κρούστας και ψύχεται.
3. NaOH 33% (Φυλάσσεται στο ψυγείο)
4. Br₂ (υγρή χημικά καθαρή ουσία)
5. NaOBr (υποβρωμιώδες νάτριο)
Σε 30 ml NaOH 33% προστίθεται 1 ml Br₂ με συνεχή ανάδευση μέχρι να διαλυθεί το βρώμιο.
6. Αλκοόλη (οινόπνευμα εμπορίου 96°)



Εικόνα34: Ουριόμετρο Kowarsky τοποθετημένο σε στατώ

ΤΕΧΝΙΚΗ: (εξεταστέο – διήθημα)

- 5 ml αίμα (ολικό) + 5 ml τριχλωροξικό οξύ 10% σε δοκιμαστικό σωληνάριο. Καλή ανάμειξη και διήθηση (απολευκωμάτωση).
- Γεμίζουμε το δεξιό σκέλος του ουριόμετρου Kowarsky με το αντιδραστήριο Kowarsky (να καλύψει τη δεξιά άνω στρόφιγγα)
- Φέρεται ορισμένη ποσότητα διηθήματος στο άνω της στρόφιγγας αριθμημένο τμήμα του υοειδή σωλήνα του ουριόμετρου. Κατόπιν με τη στρόφιγγα μεταφέρεται στο κυρίως και επίσης αριθμημένο τμήμα του σωλήνα χωρίς να περάσει αέρας και κλείνεται η στρόφιγγα.
- Προστίθεται ίση με το διήθημα ποσότητα NaOBr η οποία και μεταφέρεται στο κυρίως τμήμα του σωλήνα και κλείνεται η στρόφιγγα, οπότε γίνεται η αντίδραση. Το εκλυόμενο N₂ εκτοπίζει μέρος από το αντιδραστήριο Kowarsky αφού ανοίξουμε την στρόφιγγα στο αριστερό κάτω σκέλος του ουριόμετρου. Στο άνω δεξιά τμήμα του σωλήνα, προστίθεται μικρή ποσότητα αλκοόλης (0,5 ml).
- Μετά από ολιγόλεπτη παραμονή μετράται ο όγκος του εκλυθέντος N₂ και υπολογίζεται η ποσότητα της ουρίας από τον τύπο:

$$\frac{10XE}{\frac{T}{2} \cdot \chi\Delta} = \text{gr}^0/_{100} \text{ ουρίας} \quad \text{όπου:}$$

E: όγκος εκλυόμενου αζώτου σε ml από το εξεταστέο (διήθημα)

Δ: όγκος διηθήματος

T: όγκος εκλυόμενου αζώτου από το τυφλό

Τυφλό: Εκτελούμε την πιο πάνω διαδικασία, βάζοντας στο ουριόμετρο 1 ml διαλύματος ουρίας 1⁰/₁₀₀. Ο όγκος του εκλυόμενου N₂ αποτελεί το T.

Το άζωτο που αντιστοιχεί στην ουρία λέγεται BUN (Blood Urea Nitrogen) (άζωτο ουρίας αίματος).

Αν πολλαπλασιάσουμε το BUN επί 2,14 μας δίνει τα gr της ουρίας επειδή 60 gr ουρίας περιέχουν 28 gr αζώτου (BUN) από τον μοριακό της τύπο (CO(NH₂)₂).

3. ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ αίματος (ορού)

Το ουρικό οξύ είναι το τελικό προϊόν του μεταβολισμού των πουρινών (αδενίνη, γουανίνη) του οργανισμού (ενδογενές ουρικό οξύ), αλλά και του μεταβολισμού των πυρινοπρωτεϊνών της τροφής (εξωγενές). Το περισσότερο ουρικό οξύ του αίματος βρίσκεται στον ορό (ή πλάσμα), γι αυτό και ο προσδιορισμός του γίνεται στον ορό.

Φ.Τ. ουρικού οξέος: (ορού): Άνδρες: 3,5 – 7,5 mgr/dl

Γυναίκες: 2,5 – 6,2 mgr/dl

Παιδιά: 2,0 – 5,5 mgr/dl

(ούρων): 250 – 750 mgr/24ωρο

Αύξηση (υπερουρικαιμία):

- Ουρική αρθρίτιδα
- Κληρονομική προδιάθεση
- Κατάχρηση οινοπνευματωδών ποτών
- Κρεοφαγία
- Αυξημένος καταβολισμός νουκλεϊνικών (πυρινηκών) οξέων (λευχαιμία, κακοήθης ή αιμολυτική αναιμία, ακτινοβολίες, πολλαπλό μύελωμα κ.λ.π.) ή αυξημένος ρυθμός καταστροφής ιστών (πνευμονία, στεφανιαία νόσος)
- Ελαττωμένη απέκκριση ουρικού οξέος (νεφρική βλάβη κ.ά.)

Ελάττωση:

Παθολογική ελάττωση του ουρικού οξέος είναι σπανιότερη και παρατηρείται στη νόσο Wilson, το σύνδρομο Fanconi, την ακρομεγαλία κ.ά.

Επειδή γενικά τα άλατα ουρικού οξέος έχουν μικρή διαλυτότητα όταν βρίσκονται

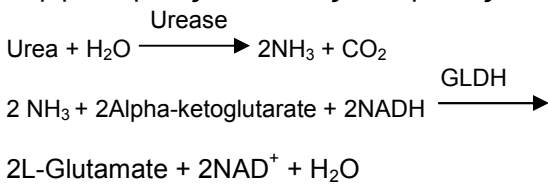
σε μεγάλες συγκεντρώσεις, καθιζάνουν στους ιστούς (ουρική αρθρίτιδα, ουρικοί τόφοι) ή στους νεφρούς (νεφρική βλάβη, λίθοι)

Ο προσδιορισμός του ουρικού οξέος στα ούρα, γίνεται με μια από τις μεθόδους που χρησιμοποιούμε για τον ορό αίματος (μέθοδος ουρικής), αφού πριν αραιώσουμε τα ούρα 1/10 με D.W.

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΥΡΙΑΣ (Μέθοδος Ουρεάσης)
(Ενζυματική μέθοδος)

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ενζυματικός προσδιορισμός της ουρίας σύμφωνα με τις ακόλουθες αντιδράσεις:



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Talke H. Schubert G.E., Klin. Wochersche 43, (1965), 174

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- | | |
|------------------|--------------|
| 1. Tris buffer | pH 8.0 |
| a-ketoglutarate | 15 mmol/l |
| 2. ADP | 1,5 mmol/l |
| GLDH | 1000 U/l |
| Urease | 30000 U/l |
| NADH | 0,32 mmol/l |
| 3. Standard urea | 50 mgr/dl |
| | 0,5 gr/l |
| | 8,325 mmol/l |

ΔΕΙΓΜΑ

Ορός
Πλάσμα με ηπαρίνη
Ούρα

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ορός – πλάσμα 15 – 45 mgr/dl
Ούρα 20 – 35 gr/24ωρο

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Έως 400 mgr/dl (4 gr/l) (66,6 mmol/l)

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Για εφαρμογή σε ημιαυτόματους ή αυτόματους αναλυτές ζητήστε πληροφορίες.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Παρασκευή χρωμογόνου: Διαλύστε το περιεχόμενο της φιάλης 2 (enzyme) με το περιεχόμενο της φιάλης 1 (buffer)

ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Σε σκοτεινή φιάλη: 2 ημέρες 20 – 25° C
7 ημέρες 2 – 8° C

ΤΕΧΝΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Μήκος κύματος: 340 nm
Θερμοκρασία: 30° C
Μηδενισμός: Έναντι blank

Φέρετε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου.

	BLANK	STAND	ΔΕΙΓΜΑ
Χρ. αντιδρ.	2 ml	2 ml	2 ml
Standard	-	0,02 ml	-
Δείγμα	-	-	0,02 ml

Αναμείξτε και μετρήστε την Abs του δείγματος και την Abs του Standard σε 30 sec και μετά σε 90 sec.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

A. Δείγματος X 50 = Ουρία mgr/dl
A. Standard

ΣΗΜΕΙΩΣΗ

Αν η συγκέντρωση της ουρίας υπερβαίνει το όριο γραμμικότητας, επαναλαμβάνεται η τεχνική με αραιωμένο δείγμα (ορό ή ούρα) 1/2 ή 1/10 ανάλογα την τιμή της συγκέντρωσης. Στη συνέχεια πολλαπλασιάζουμε την νέα τιμή επί 2 ή 10 αντίστοιχα. Έτσι επιτυγχάνουμε την ακριβή μέτρηση της συγκέντρωσης εντός της γραμμικότητας της μεθόδου.