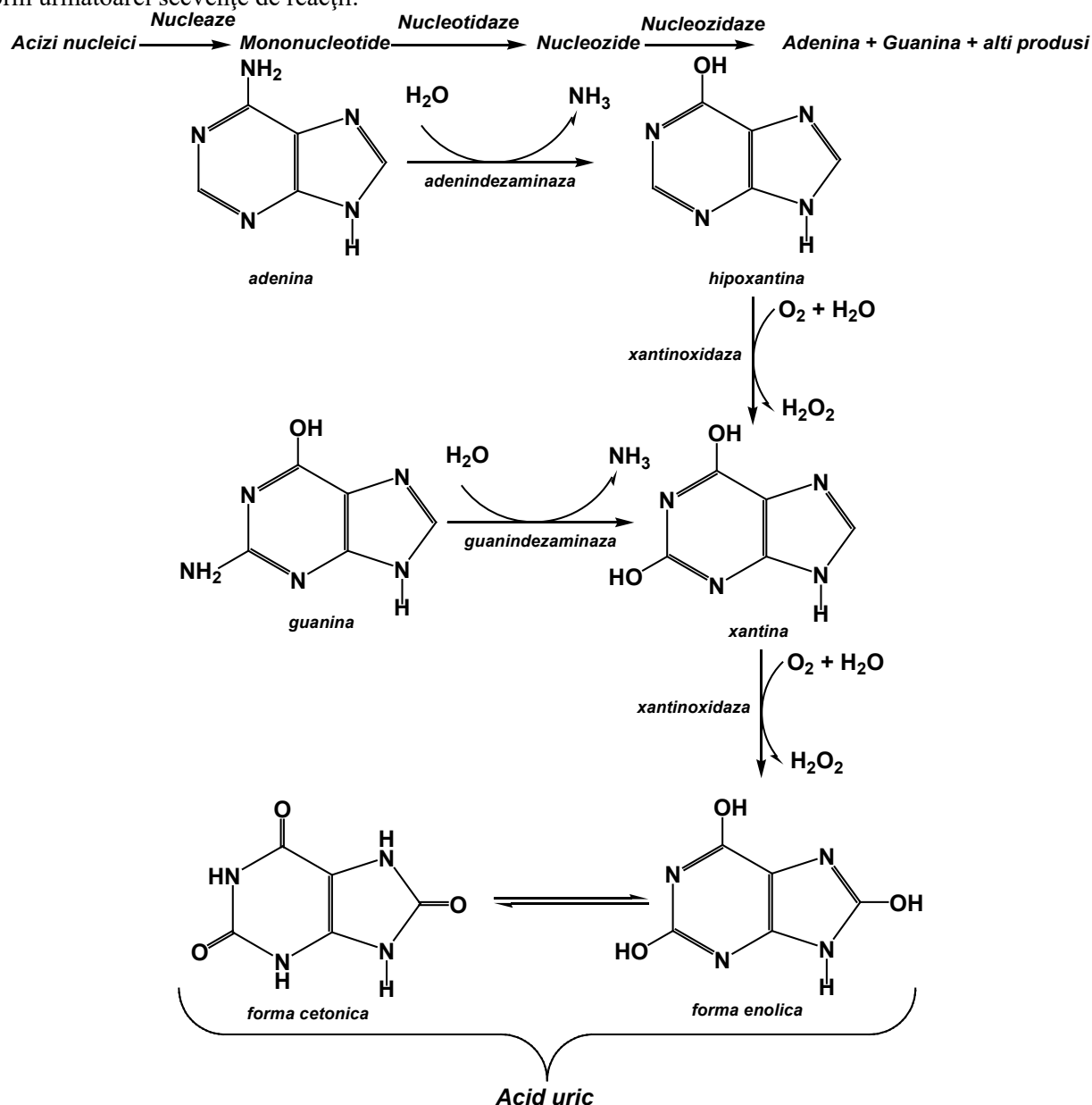


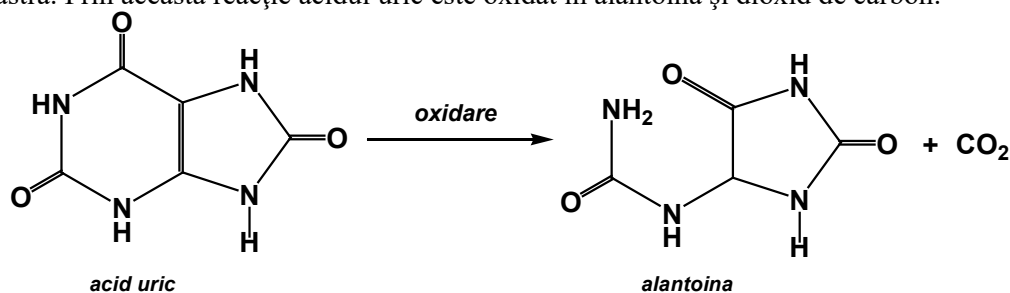
# DETERMINAREA CANTITATIVĂ A ACIDULUI URIC

Acidul uric este produsul final al catabolismului bazelor purinice rezultate prin hidroliza enzimatică a acizilor nucleici în organismul omului și primatelor. La unele reptile (șerpi, șopârle) și la păsări azotul se elimină din organism în principal sub formă de acid uric. Eliberarea bazelor purinice din molecula acizilor nucleici are loc conform următoarei secvențe de reacții:



## Principiul metodei:

Acidul uric reduce, în mediu alcalin, reactivul fosfowolframic (Reactiv Folin – Ciocâlțeu), la un complex de culoare albastră. Prin această reacție acidul uric este oxidat în alantoină și dioxid de carbon:



Intensitatea culorii complexului format, proporțională cu cantitatea de acid uric din mediul de reacție, se determină spectrofotometric la lungimea de undă de 710 nm.

## Reactivi:

- Reactiv fosfowolframic (Reactiv Folin – Ciocâlțeu):** *Preparare:* se amestecă 10 g wolframat de sodiu cu 75 ml de apă distilată și 8 ml de acid ortofosforic 85% într-un balon de 200 – 250 ml. La balon se adaptează un refrigerent ascendent și se fierbe conținutul timp de 4 – 6 ore. După fierbere soluția din balon devine incoloră. Dacă nu s-a decolorat se impune adăugarea a 1 – 2 picături de brom. Pentru a fi îndepărtat excesul de brom soluția se fierbe fără refrigerent timp de 10 – 15 minute. După răcire se transvazează soluția într-un balon cotat de 100 ml și se completează la semn cu apă distilată.
- Soluție de acid tricloracetic 20%**
- Soluție stoc de acid uric 20 mg%:** *Preparare:* se introduc 100 mg de acid uric într-un balon cotat de 500 ml și se adaugă 25 ml soluție de carbonat de litiu 0,5% și 25 ml de apă distilată. După dizolvarea acidului uric se pipetează în balon 12,5 ml formaldehidă și se completează volumul la semn cu apă distilată. Această soluție este stabilă la rece aproximativ 1 lună.
- Soluție etalon de acid uric 2 mg%:** *Preparare:* se diluează 1 ml de soluție stoc de acid uric la un volum de 10 ml cu apă distilată. 1 ml din această soluție conține 0,02 mg de acid uric.
- Soluție saturată de carbonat de sodiu.**

### Mod de lucru

#### a) În sânge

Într-o eprubetă de centrifugă se măsoară 1 ml de ser sanguin, 2 ml de apă distilată și 1 ml de soluție de acid tricloracetic. Conținutul eprubetei se amestecă prin scuturarea ușoară a acesteia și se lasă la temperatura camerei 15 minute. Apoi se centrifughează la 3000 rot/min timp de 15 minute.

Ulterior se va lucra conform tabelului următor:

Reactivi	Probă	Etalon	Control
Supernatant (ml)	2	-	-
Soluție etalon de acid uric (ml)	-	0,5	-
Soluție de acid tricloracetic (ml)	-	0,5	0,5
Apă distilată (ml)	-	1	1,5
Soluție saturată de carbonat de sodiu (ml)	0,9	0,9	0,9
Reactiv Folin – Ciocâlțeu (fosfowolframic) (ml)	0,1	0,1	0,1

Se agită și se lasă la temperatura camerei pentru 10 minute. Apoi se vor citi probele la lungimea de undă de 710 nm față de controlul reactivilor.

#### Calculul rezultatelor:

$$\text{mg acid uric} / 100 \text{ ml ser} = \frac{E_{\text{proba}}}{E_{\text{etalon}}} \times 0,01 \times \frac{4}{2} \times 100$$

Unde:  $E_{\text{proba}}$  – extincția probei cu ser  
 $E_{\text{etalon}}$  – extincția etalonului.

#### b) În urină

Urina din 24 de ore se va recolta într-un vas corespunzător care conține 10 ml de hidroxid de sodiu 10% adăugat pentru a împiedica precipitarea uraților.

Pentru lucru se va dilua 1 ml de urină la un volum de 10 ml cu apă distilată.

Pentru determinare la 0,2 ml de urină diluată se adaugă 1,8 ml de apă distilată, 0,9 ml de soluție saturată de carbonat de sodiu și 0,1 ml de reactiv Folin – Ciocâlțeu (fosfowolframic). Se amestecă și se lasă în repaus 10 minute la temperatura camerei.

În paralel se vor prepara un etalon și un control după cum urmează:

Reactivi	Etalon	Control
Soluție etalon de acid uric (ml)	0,5	-
Soluție de acid tricloracetic (ml)	0,5	0,5
Apă distilată (ml)	1	1,5
Soluție saturată de carbonat de sodiu (ml)	0,9	0,9
Reactiv Folin – Ciocâlțeu (fosfowolframic) (ml)	0,1	0,1

După un repaus de 10 minute la temperatura camerei se va efectua citirea la spectrofotometru a probei și a etalonului folosind pentru calibrarea aparatului proba de control. Citirea se va efectua la lungimea de undă de 710 nm.

#### Calculul rezultatelor:

$$\text{mg acid uric} / 24 \text{ ore} = \frac{E_{\text{proba}}}{E_{\text{etalon}}} \times 0,01 \times \frac{10}{0,2} \times V$$

Unde:  $E_{\text{proba}}$  – extincția probei cu urină;

$E_{\text{etalon}}$  – extincția probei etalon;  
 $V$  – volumul (ml) de urină din 24 de ore.

***Importanța practică a dozării acidului uric:***

Valorile normale ale concentrației acidului uric sunt de 2 – 5 mg / 100 ml de ser sanguin și se 400 – 700 mg / volumul de urină din 24 de ore.

Creșterea cantității de acid uric în sânge și în urină este constatată după o alimentație bogată în purină.

Dozarea acidului uric în sânge are o importanță deosebită pentru depistarea stadiilor inițiale ale bolilor de rinichi și a gutei.

Conținutul de acid uric în sânge și în urină crește într-o serie de stări patologice, corelate cu catabolizarea intensă a nucleoproteinelor: leucemii după radioterapie, leucopenie, policitemie, insuficiență renală, alergii, intoxicații cu plumb și cu mercur.

Scăderea nivelului acidului uric în serul sanguin și în urină se observă în anemii, după administrarea de medicamente uricozurice etc.