

Artículos Originales

CORRELACION ENTRE DOS METODOS PARA DETERMINAR URATOS

HOLTZ R.,
GARCES N.

Laboratorio, sección química clínica. Hospital Privado de Córdoba.

INTRODUCCION

El conocimiento actual del metabolismo de purinas y pirimidinas exige métodos sensibles y específicos que detecten confiablemente las hipo e hiper uricemias, así como las cantidades en colecciones de orina de 24 horas. Esas cifras son importantes señales orientadoras mientras no se disponga rutinariamente de las mediciones que permitan localizar con más exactitud el nivel en que una falla metabólica pueda causar alteraciones, cuyas consecuencias pueden, sin embargo, advertirse por los valores de uratos encontrados en sangre y en orina.

A los fines de establecer el grado de correlación entre dos métodos para determinar uratos, se corrieron determinaciones paralelas en sangre y en orina.

Ambos métodos usan uricasa para escindir el urato, con formación de alantoína, CO_2 y H_2O_2 . El método propuesto por Praetorius oxida a pH 9,3 y aprovecha la propiedad del urato de absorber específicamente la energía radiante que corresponde a los 293 nm. de modo que, obtenido un valor de extinción inicial, en esa longitud de onda, previo al agregado de uricasa a una muestra dada, la disminución de la extinción posterior a dicho agregado, hasta un valor constante, da cuenta de la cantidad de urato oxidado.

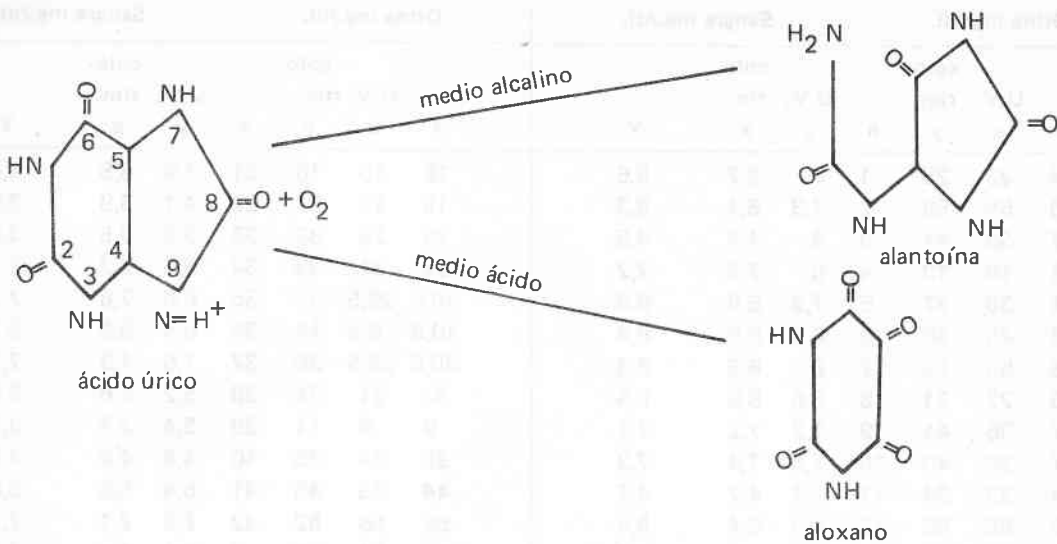
El método propuesto por Kageyama oxida a pH 7 y acopla una reacción de color aprovechando el H_2O_2 que en presencia de catalasa y metanol lleva a la condensación de Hantzsch habiendo sal de amonio

(fosfato) y acetil-acetona en el medio; el compuesto amarillo que se forma: 2-5diacetil-1-4dihidrolutidina, puede leerse a 410 nm.

El ácido úrico se encuentra en sangre en su totalidad como urato, dado la disociación del H^+ en posición 9 ($\text{pK} = 5,75$). El producto de solubilidad es:

[concentración urato x concentración Na] = $4,9 \times 10^{-5}$ cuando el suero está saturado. Para la concentración de Na sérico aprox. 130 m. Eq/l; a la concentración urato corresponde un valor de 6,4 mg./dl. de suero, pero —a veces— se encuentran concentraciones considerablemente mayores a estos límites de saturación calculados, probablemente debido a asociaciones flojas con albúminas y globulinas alfa 1, alfa 2 del plasma normal, como también a la gran tendencia de los uratos a formar soluciones sobre saturadas relativamente estables. La orina humana, que convierte gran parte del urato en ácido úrico, es capaz de llevar en solución dos o tres veces la cantidad que se disolvería en agua a un pH comparable, lo que se atribuye a varias sustancias, (urea, proteínas, mucopolisacáridos). El descenso de la temperatura disminuye la solubilidad de los uratos, conviene tenerlo en cuenta si las muestras de orina, no se procesan en un tiempo próximo a su recepción.

La oxidación en medio alcalino rompe el núcleo purina con formación de alantoína y CO_2 , también la uricasa cataliza esta reacción en cambio, en medio ácido el producto de oxidación es el aloxano que en presencia de sales de amonio forma el purpurato que aparece en la reacción de la murexida.



MATERIAL Y METODO

50 muestras de sangre y 44 muestras de orina se corrieron en el curso de dos meses en autoanalizador con equipo comercial (Boehringer) y también se procesaron en el espectrofotómetro Beckman D. U. 2 con lámpara de deuterio, usando sol. de uricasa del equipo comercial y tampón de borato pH 9,3 preparado en el laboratorio.

Proporciones en autoanalizador:

suero u orina diluida 1/10 0,075 ml.
 tampón pH 7 + enzimas sal
 de amonio y acetil-acetona 0.500 ml.

tiempo de incubación: 6 min. 30 seg.

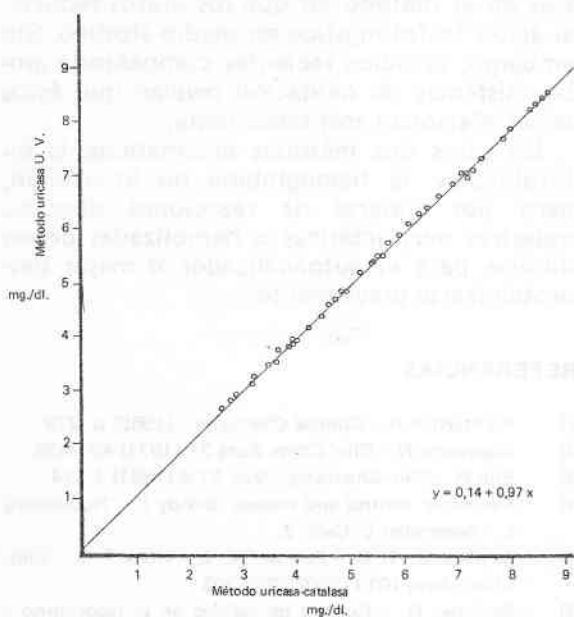
Ensayo para ultravioleta:

suero orina diluida 1/10 0,05 ml.
 tampón pH 9,3 2,5 ml.
 leer extinción inicial
 agregar uricasa 5U/ml 0,005 ml.
 tiempo de incubación: 5 min.
 leer extinción final.

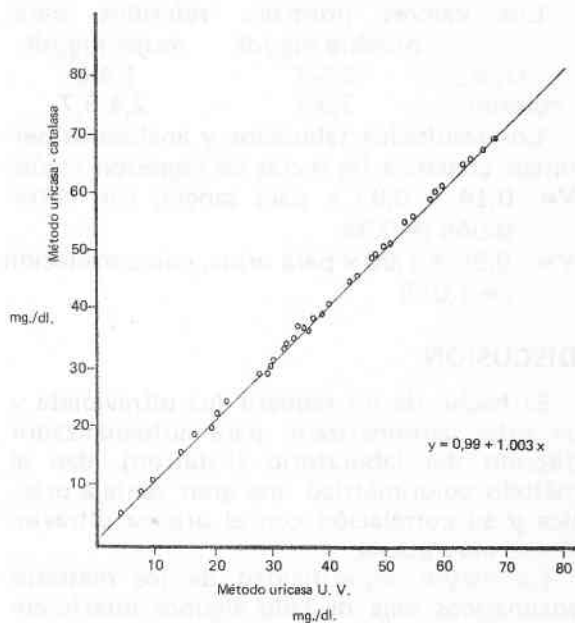
Sol: patrón: ácido úrico 5 mg./dl. se prepara diariamente a partir de la sol. madre 100 mg./dl. En cada corrida se incluyeron pooles para establecer los coeficientes de variación, C. V. que fueron de 6,06o/o para U. V. y 6,93o/o para el met. colorimétrico.

SANGRE

ORINA



Línea de regresión derivada de la ecuación calculada para sangre.



Línea de regresión derivada de la ecuación calculada para orina.

Orina mg./dl.				Sangre mg./dl.				Orina mg./dl.				Sangre mg./dl.			
colo-				colo-				colo-				colo-			
U.V. rim.				U.V. rim.				U.V. rim.				U.V. rim.			
Y	x	y	n	y	x	Y	Y	x	y	n	y	x	Y		
24	23	25	1	8	8,7	8,6	16	15	16	31	7,6	8,5	8,4		
56	55	58	2	7,3	8,4	8,3	18	17	21	32	4,1	3,9	3,9		
37	36	41	3	4	4,4	4,5	29	28	32	33	3,8	3,5	3,5		
11	10	13	4	6	7,3	7,2	32	31	33	34	6,6	7,2	7		
31	30	37	5	7,3	6,9	6,8	30,5	29,5	33	35	8,6	7,8	7,7		
46	45	39	6	6,6	6,6	6,6	10,5	9,5	14	36	6,4	5,8	5,7		
56	55	53	7	6	6,3	6,3	30,5	29,5	30	37	7,6	7,3	7,3		
23	22	31	8	8,6	8,6	8,5	32	31	31	38	5,2	5,6	5,6		
37	36	44	9	7,2	7,2	7,1	9	8	11	39	3,4	3,3	3,3		
37	36	40	10	7,5	7,4	7,3	35	34	36	40	4,4	4,9	4,9		
34	33	34	11	5,1	4,7	4,7	44	43	45	41	5,4	5,6	5,6		
86	85	86	12	5,3	5,4	5,4	59	58	62	42	7,6	7,1	7,1		
69	68	70	13	8,1	7,1	7,1	52	51	62	43	8,4	7,9	7,8		
69	68	65	14	6,9	5,9	5,9	34	33	22	44	4	5,2	5,2		
48	47	51	15	2,6	2,7	2,8				45	3	3,6	3,6		
37	36	32	16	4,6	4,8	4,8				46	4,7	4,8	4,8		
40	39	44	17	5,8	5,5	5,5				47	6,9	6,1	6,1		
66	65	68	18	4	4,2	4,2				48	3,4	3,6	3,6		
56	55	53	19	5,3	6,1	6,1				49	4	4	4		
61	60	54	20	3,3	3,9	4				50	5,2	5,4	5,4		
41	40	45	21	2,6	2,8	2,9									
60	59	53	22	7,3	6,4	6,4	$\bar{x} =$	$\bar{y} =$		$\bar{y} =$	$\bar{x} =$				
65	64	59	23	2	2,6	2,7	39,07	40,06		5,48	5,47				
47	46	47	24	5,8	5,4	5,4	a =	0,99		a =	0,14				
38	37	32	25	3,6	3,6	3,7	b =	1,00		b =	0,976				
39	38	39	26	4,4	3,8	3,8	r =	1,025		r =	0,94				
34	33	30	27	4,4	4,2	4,2									
39	38	38	28	3,6	3,2	3,2									
5	4	4	29	5	3,9	3,9									
30	29	30	30	5,7	4,6	4,6									

Tabla de valores obtenidos en sangre y orina por ambos métodos.

Los valores normales referidos para:
hombre mg./dl. mujer mg./dl.

U. V.: 2,5-7 1,4-6
colorim.: 3,5-7 2,4-5,7

Los resultados tabulados y analizados permiten construir las rectas de regresión según:
 $Y = 0,14 + 0,97 x$ para sangre, con correlación $r = 0,94$

$Y = 0,99 + 1,00 x$ para orina, con correlación $r = 1,025$

DISCUSION

El hecho de no requerir luz ultravioleta y de estar automatizado para autoanalizador discreto del laboratorio (Vitatron), dan al método colorimétrico una gran ventaja práctica y su correlación con el uricasa ultravioleta es muy buena.

La mayor especificidad de los métodos enzimáticos deja de lado algunos interferentes —ácido ascórbico, glutation, cistina, cisteína, ergotioneína, cafeína—, que pueden ser importantes en ciertas circunstan-

cias en el método en que los uratos reducen al ácido fosfotúngstico en medio alcalino. Sin embargo, estudios recientes comparando ambos sistemas de oxidación revelan que éstos se correlacionan aceptablemente.

En estos dos métodos enzimáticos, la bilirrubina y la hemoglobina no interfieren, pero por tratarse de reacciones directas, muestras muy ictericas o hemolizadas deben diluirse para el autoanalizador o mejor desproteinizarse previamente.

REFERENCIAS

- 1) Richterrich R. - Clinical Chemistry - (1969) p. 279.
- 2) Kageyama N. - Clin. Chim. Acta 31 (1971) 421-426.
- 3) Elin R. - Clin. Chemistry - Vol. 27-6 (1981) 1.114.
- 4) Metabolic control and disease. Bondy P - Rosemberg L. - Seegmiller E. Capl. 2.
- 5) Sanders G. T. B. - Pasman A. J. - Hoek F. J. - Clin. Chim. Acta 101 (1980) 2999-303.
- 6) Bertone, R. - Control de calidad en el laboratorio - Actualización (1979).
- 7) Praetorius E. and Poulsen H Scandinavian J. - Clin. & Lab. Invest. 1953.