



جَامَعَة
الْمَنَارَة
MANARA UNIVERSITY

الكيمياء الحيوية السريرية – القسم العملي
الجلسة السادسة
المشرف على القسم العملي:
د. زين كرميّا

جَامَعَة
الْمَنَارَة
MANARA UNIVERSITY

البولة Urea

مقدمة:

البولة هي المستقلب الرئيسي للبروتينات والحموض الأمينية حيث تنتج الأمونيا NH_3 بعمليات نزع الأمين على الحموض الأمينية وتدخل الأمونيا في حلقة البولة urea cycle في الكبد لتشكيل البولة، والأزوت في الجسم نوعان أزوت بروتيني وأزوت لا بروتيني حيث تشكل البولة 50-75% من المركبات الأزوتية غير البروتينية. تُطرح البولة عن طريق الكلية بنسبة 90% لذلك تعطي دلالة على الوظيفة الكلوية وبما أنها تتشكل في الكبد فهي تعطي دلالة على الوظيفة الكبدية. إلا أن هذه الدلالة تتأثر بعدة عوامل منها طبيعة الحمية الغذائية والنزف الهضمي والمعالجة بالكورتيزون بالإضافة للقصور الكلبي والكلوي.

الفرق بين البولة وحمض البول Uric acid: يتشكل حمض البول من النكليوتيدات البورينية التي تعطي حمض البول بتدخل أنزيم xanthine oxidase، أما البولة فتتشكل من الأمونيا الناتجة عن الحموض الأمينية بتفاعلات أنزيمية وإن انخفاض نسبة البولة الدموية يدل على ارتفاع نسبة الأمونيا ذات التأثير السمي العصبي.

التغيرات الفيزيولوجية والمرضية للبولة:

يبلغ تركيز البولة في المصل عند الإنسان في الحالات الطبيعية 15-40 mg/dL ويكون تركيز البولة في الدم أقل لدى الصغار والشباب مما هو عليه لدى الكبار حيث يزداد بعد عمر 50 سنة، كذلك تزداد البولة الدموية عند تناول وجبات غنية بالبروتينات ويمكن أن يكون هذا الارتفاع مستمراً لدى الأشخاص الذين اعتادوا على تناول نسبة عالية من البروتينات في وجباتهم.

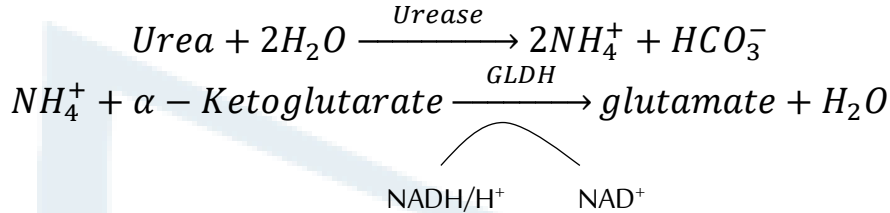
أسباب تؤدي إلى ارتفاع البولة:

- أمراض كلوية: معظم إصابات الكليتين قصور كلوي حاد أو مزمن، التهاب الكبد والكلية، تنخر النيبات الكلوية.
- أمراض قبل كلوية: التسمم ببعض المعادن الثقيلة مثل الزئبق، حالات التجفاف الشديدة نتيجة الإقياءات المتواصلة أو الاسهالات الشديدة، قصور القلب الاحتقاني CHF، زيادة تقويض البروتينات كما في فرط نشاط الدرق والأورام الخبيثة والحمى والتزوف الهضمية والمعالجة بال corticosteroids.
- أمراض بعد كلوية: حالات احتباس البول نتيجة انسداد المجاري البولية حصيات، أورام، تضخم البروستات.

وتنخفض البولة الدموية في حالات نقص الوارد الغذائي من البروتينات مثل سوء امتصاص، الحمية عن البروتينات وفي أمراض الكبد الشديدة والمراحل المتأخرة من الحمل وكذلك عند وجود أمراض استقلابية متعلقة بحلقة البولة مثل عوز أنزيم ما.

طرائق معايرة البولة:

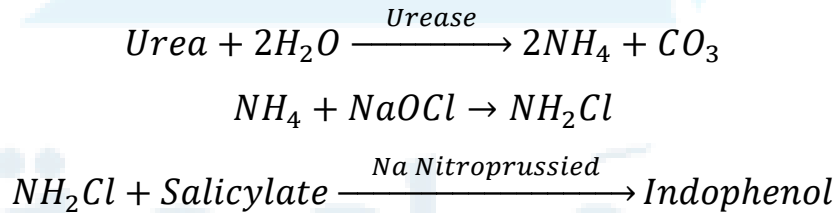
(1) الطريقة الأنزيمية:



حيث أن GLDH: Glutamate Dehydrogenase، تجرى هذه الطريقة في المخابر المتقدمة وهي طريقة حركية يقاس فيها فرق الامتصاصية ΔA لأشعة الـ UV بين المواد الداخلة والناجمة عن التفاعل والذي يتناسب طرماً مع تركيز البولة. يملك NADH امتصاصية في مجال الـ UV عند طول موجة 340 nm بخلاف NAD^+ حيث يحدث نقصان لشدة الامتصاصية مع مرور الزمن ويقاس هذا الفرق ويضرب بالـ factor المحسوب بناء على المحلول العياري. وتتميز هذه الطريقة بالنوعية العالية والسرعة.

(2) Modified Berthelot Reaction:

وهي الطريقة الأكثر استخداماً في مخابر التحليل وتعد طريقة نوعية وحساسة. تعتمد هذه الطريقة على تفاعل الأمونيا الناتجة عن فعل urease على البولة مع المركبات الفينولية لإعطاء معقد أخضر اللون، لكن طراً على هذه الطريقة تعديلات كثيرة بسبب طول فترة الحضانة وقلّة حساسية التفاعل حتى وصلت إلى الشكل التالي:



أهم التعديلات التي طرأت على الطريقة:

- تقصير فترة الحضانة بإضافة مسرعات للتفاعل مثل نيتروبروسيد الصوديوم والهيبيوكلوريت.
- إضافة الوقاء الفوسفاتي لضمان فعالية كلور الأمين إذ يجب ضبط pH الوسط بين 10.5-11.5 لأن كلور الأمين يتفكك في pH أقل من 10.5 ويتثبط في pH أعلى من 11.
- إضافة EDTA لمخلبة المعادن التي قد تثبط أنزيم urease بسبب وجود زمرة السلفهيدريل -SH في المراكز الفعالة للأنزيم مما يجعله حساساً لوجود آثار زهيدة من المعادن.
- زيادة حساسية التفاعل باستخدام الساليسيلات عوضاً عن الفينول حيث أن استبدال الهيدروجين في نواة الفينول بزمرة معطية للإلكترون أدى إلى زيادة حساسية التفاعل وأفضل هذه المركبات هي الساليسيلات.

ملاحظة: يوجد أنزيم اليورياز في البقوليات وبعض الجراثيم (الملتوية البوابية والمتقلبات). ولا توجد مركبات في المصل عدا البولة تتحلل باليورياز لذلك تعد المعايرة بهذه الطريقة نوعية.

القسم العملي:

قم بتحضير الأنابيب التالية:

	Blank	Standard	Sample
Standard	-	10 µL	-
Sample	-	-	10 µL
Reagent A	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

- امزج الأنابيب جيداً ثم احضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق أو بدرجة 37 °C لمدة 5 دقائق.
- قم بإضافة 1 mL من **Reagent B** إلى كل من الأنابيب السابقة.
- امزج الأنابيب جيداً ثم احضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق أو بدرجة 37 °C لمدة 5 دقائق.
- قم بقياس الامتصاصية عند طول موجة 600 nm.
- احسب التركيز المجهول وفق ما يلي:

$$C_{sample} = \frac{A_{sample}}{A_{standard}} \times C_{standard}$$