

Metabolismul proteinelor. Determinarea hemoglobinei și bilirubinei.

1. Determinarea hemoglobinei ca cianmethemoglobină

Principiu

Hemoglobina este transformată în cianmethemoglobină prin tratare cu fericianură de potasiu și cianură de potasiu, iar absorbția de lumină a soluției de cianmethemoglobină se măsoară la 540 nm.

Reactivi

1. Reactiv Drabkin: 50 mg cianură de potasiu, 1 g bicarbonat de sodiu și 200 mg fericianură de potasiu se dizolvă în apă distilată și se aduce volumul la 1000 ml cu apă distilată.
2. Material biologic: sânge recoltat pe anticoagulant K₂EDTA

Mod de lucru

Se pipetează în eprubete conform tabelului:

Reactivi, ml	Probă	Martor
Reactiv Drabkin (ml)	5,00	5,00
Sânge (μl)	20	-
Apă distilată	-	20

Se lasă în repaus la temperatura camerei 20 de minute după care se măsoară absorbția de radiație la 540 m față de martor.

Conținutul în hemoglobină se calculează pe baza coeficientului molar de absorbție ($\epsilon = 11 \cdot 10^3$) și a masei moleculare a hemoglobinei (16144).

$$\text{grame hemoglobină/100 ml} = E_{\text{proba}} \times 36,8$$

Valori normale

Bărbați: 14 – 18 g hemoglobină/100 ml sânge

Femei: 12 - 16 g hemoglobină/100 ml sânge

Semnificația clinică

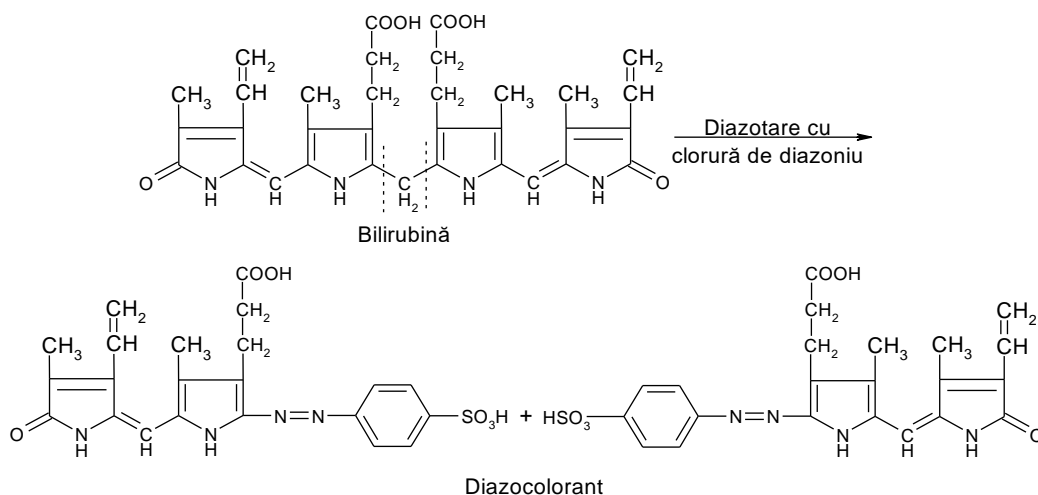
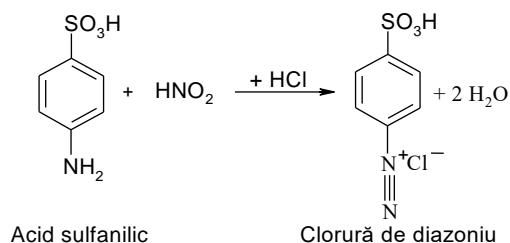
Valorile hemoglobinei scad în: anemii, LES, boală Crohn, insuficiența renală cronică, glomerulonefrită cronică, hemoglobinuria paroxistică nocturnă, hiperhidratare, infiltrația și supresia măduvei osoase.

Valorile hemoglobinei cresc în: deshidratare, poliglobulie, policitemia vera, AVC, tumori cerebrale, encefalită.

2. Determinarea bilirubinei serice cu metoda Jendrassik-Grof

Principiu

Bilirubina formează cu acidul sulfanilic diazotat un colorant azoic a cărui absorbție de lumină este proporțională cu conținutul în bilirubină. Bilirubina conjugată reacționează direct cu acidul sulfanilic diazotat (bilirubina directă), iar bilirubina totală se determină în prezența unui accelerator de cafeină/benzoat. Bilirubina indirectă (neconjugată) se determină prin calcul din diferență.



Reactivi (Fluitest BIL T/D, Analyticon)

Bilirubină totală și directă:

1. R1: Acid sulfanilic 29 mmoli/l; HCl 0,17 moli/l
2. R2: Azotit de sodiu 25 mmoli/l
3. R3: Cafeină 0,26 moli/l; Benzoat de sodiu 0,52 moli/l
4. Tartrat 0,93 moli/l; NaOH 1,9 moli/l
5. NaCl 0,9% (ser fiziologic)
6. Material biologic: ser nehemolizat, nelipemic

Interferențe

- Hemoliza conduce la valori fals scăzute din cauză că în multe determinări crește absorbanta probei martor.
- Serurile lipemice dau valori fals crescute din cauza efectului de turbiditate.
- Bilirubina este distrusă de lumină și căldură, aspecte de care trebuie ținut seama atunci când se fac determinări.

Mod de lucru

1. Bilirubina directă

Reactivi (μl)	Probă	Martor
R1	200	200
R2	50	-
NaCl 0,9 %	2000	2000
Ser	200	200

Se lasă **exact** 5 minute la temperatura camerei. Se măsoară absorbanta probei față de martor la 540 nm.

$$\text{mg bilirubină directă/dL} = A_p \times 13,7$$

2. Bilirubina totală

Reactivi (μl)	Probă	Martor
R1	200	200
R2	50	-
R3	1000	1000
Ser	200	200
Se incubeaza 30 minute la temperatura camerei.		
R4	1000	1000
Se incubeaza 5 minute la temperatura camerei		

Se măsoară absorbanta probei față de martor la 578 nm.

$$\text{mg bilirubină totală/dL} = \text{Ap} \times 10,8$$

unde Ap – absorbanta probei

10,8 – factor calculat pe baza coeficientului molar de absorbție al colorantului

azoic

$$\text{Bilirubină indirectă} = \text{Bilirubină totală} - \text{Bilirubină directă}$$

Valori normale

Bilirubină directă: < 0,2 mg/dl

Bilirubină totală: < 1,0 mg/dl

Bilirubina indirectă: < 0,8 mg/dl

Semnificație clinică

Bilirubina directă crește în:

- cauze hepatocelulare: hepatită, ciroză, leziuni toxice, infecții severe, insuficiență cardiacă dreaptă
- cauze colestatice: ficat gras, abces hepatic, tumori hepatice, sarcină, icter obstructiv
- cauze medicamentoase: indometacina, metildopa, tetraciclina, fenotiazine, estrogeni, steroizi anabolizanți, citostatice, tuberculostatice (icterul devine vizibil când bilirubina totală > 2mg%).

Bilirubina indirectă crește în:

- cauze hemolitice: anemie hemolitică, resorbția hematoamelor, infarct pulmonar, hemoragie intestinală, policitemia vera, hiperbilirubinemia de șunt
- cauze hepatocelulare: hepatită, ciroză, leziuni toxice, infecții severe, insuficiență cardiacă dreaptă, icter juvenil intermitent, hipertiroidie, șunt portocav, rifampicină, steroizi
- cauze colestatice: ficat gras, abces hepatic, tumori hepatice, sarcină, icter obstructiv (dar mult mai puțin decât bilirubina directă).