

STUDIUL UNOR PARAMETRI BIOCHIMICI, CHIMICI ȘI CELULARI DIN PROBE DE URINA

**MARIOARA NICOLETA FILIMON¹, ROXANA POPESCU², SMARANDA RODICA
GOȚIA³, LAURA GOȚIA³, DOINA VERDES²**

¹ West University of Timisoara, Faculty of Chemistry-Biology-Geography,
Department of Biology, Pestalozzi, 16, 300115, Romania

² University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes" Timisoara, Departament of Cellular
and Molecular Biology, E. Murgu, 2, 300041, Timisoara, Romania

³ University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes" Timisoara, Departament of
Physiology, E. Murgu, 2, 300041, Timisoara, Romania

REZUMAT

Analizele parametrilor biochimici și celulari din probe de urina și sediment urinar se dovedește a fi necesară în oferirea de informații despre buna funcționare a rinichilor și de depistare a posibilelor afecțiuni. Analizele au fost realizate la un număr de 129 subiecți de sex feminin și masculin. Parametrii biochimici determinați au fost concentrația de glucoză, albumină, urobilinogen și pigmenții biliari. Parametrii chimici și celulari din sedimentul urinar testați sunt reprezentați prin: mucusul, flora bacteriană, sărurile amorfe, oxalatul de calciu, cilindrii, acidul uric și levurile. La subiecții de sex masculin prezența afecțiunilor hepatice este mai mare decât la cei de sex feminin fapt tradus prin incidența crescută a urobilinogenului în urina acestora. Abundența sărurilor amorfe și a oxalatului de calciu în sedimentul urinar la subiecții de sex feminin și masculin indică existența calculilor urinari. Cele mai frecvente afecțiuni determinate pe baza analizelor biochimice și a sedimentului urinar par a fi afecțiunile hepatice, infecțiile urinare și calculii urinari.

CUVINTE CHEIE: *glucoză, albumină, urobilinogen, oxalatul de calciu, cilindrii, acidul uric, sărurile amorfe*

INTRODUCERE

Analizele parametrilor biochimici și celulari din probe de urina și sediment urinar se dovedește a fi necesară în oferirea de informații despre buna funcționare a rinichilor, a întregului organism și de depistare a posibilelor afecțiuni renale.

Analizele biochimice se realizează cu ajutorul semiautomatelor sau cu stripuri care permit identificarea și determinarea cantitativă a parametrilor testați. Analiza și examinarea sedimentului urinar este extrem de eficientă și deloc costisitoare. El se bazează pe numărarea elementelor care apar la nivelul frotiurilor.

Sedimentul urinar este folosit pentru a depista afecțiuni glomerulare, necroze tubulare acute și pentru depistarea bolilor pre-renale acute suspectate clinic. Cercetările au fost efectuate pe pacienți internați care aveau diferite afecțiuni. Prezența celulelor epiteliale tubulare renale și al oxalaților au fost benefice în diagnosticul necrozei acute tubulare și în deteriorările rinichilor care

necesită dializă (Kanbay și colab., 2009). Alte afecțiuni renale care pot fi depistate utilizând analizele biochimice și celulare sunt - formarea de piatră ca urmare a creșterii concentrației de săruri amorphe și oxalați de calciu la nivelul urinei (Zghal și colab., 2005), evaluarea riscurilor de urolitiază și prevenirea acesteia (Serić și colab., 2009), diagnoza, clasificarea și terapia bolii numită gută sau hiperuricemie (Moriwaki și colab., 2009).

Metodele de determinare sunt diferite astfel: o metodă folosită pentru a determina saturarea relativă a urinei cu oxalat de calciu este cea care utilizează titrarea oxalat de calciu și se măsoară modificarea concentrației care induce creșterea oxalatului. Calculii renali par a fi rezultatul unei cristalizări a urinei dacă este suprasaturată cu 5 minerale (Baumann și Wacker, 1980).

Lucrarea conține rezultatele analizelor probelor de urină și sediment urinar la subiecții testați și sunt reprezentate prin concentrația de glucoză, albumină, urobilinogen și pigmenții biliari, respectiv prin mucusul, flora bacteriană, sărurile amorphe, oxalatul de calciu, cilindrii, acidul uric și levurile.

MATERIALE ȘI METODE

Pregătirea urinei pentru determinările calitative

Se folosește numai urina de dimineață, proaspătă. Se centrifughează 3-4 minute la 1000 turații/minut pentru a se evita alterarea sedimentului organizat, în special cilindrii. Supernatantul se răstoarnă în altă eprubetă ce va folosi la efectuarea determinărilor calitative, iar depozitul rămas folosește la citirea sedimentului (Kondi, și colab., 1981; Anghel și Rusu, 2007).

Determinarea calitativă a proteinelor

Metoda fotometrică cu acid sulfosalicilic - Proteinele din urină precipită cu acid sulfosalicilic, iar turbiditatea rezultată se determină fotometric și este proporțională cu cantitatea de proteine din probă. Se determină gramele de proteină din urină prin metoda fotometric, după ce, în prealabil urina a fost tratată cu acid sulfosalicilic (Păunescu și Dumitrașcu, 1999; Dumitrașcu, 2002).

Determinarea de glucoza din urină

Determinarea calitativă a glucozei urinare prin metoda Nylander. Glucoza reduce nitratul bazic de bismut la bismut, de culoare neagră. Atunci când reacția este pozitivă, trebuie să fie controlată cu reactiv Benedict sau Fehling, deoarece precipitatul de culoare neagră poate să fie dat și de sulfura de bismut. Unele substanțe care conțin sulf, cum ar fi albumina sau cistina, se pot elimina prin urină formând un precipitat negru de sulfură de bismut (Dumitrașcu, 2002).

Urobilinogenul și pigmenții biliari din urină

Examenul biochimic al urobilinogenului și al pigmentilor biliari se realizează cu ajutorul bandetelor sau stripurilor urinare. Această modalitate de a efectua partea de biochimie urinară constituie una din cele mai moderne metode de analiză. Bandetele reactive sunt benzi dreptunghiulare, dintr-un material plastic, pe suprafața cărora sunt dispuse câmpuri reactive specifice pentru fiecare component de determinat prezent în urină. Cele mai moderne stripuri prezintă zece

zone reactive specifice pentru zece componente. Pe lângă aceste 10 zone reactive mai este prezentă o zonă albă, nereactivă care se mai numește zonă de compensare. Cu ajutorul acestei zone aparatul compensează colorația proprie urinei pentru evaluarea următoarelor componente: leucocite, nitriți, proteine, glucoză, corpi cetonici, urobilinogenul și bilirubina.

Determinarea parametrilor din sedimentul urinar

În mod normal urina conține următoarele elemente: cilindrii și celule epiteliale de la nivelul nefronilor, bazinetului, ureterelor, vezicii urinare și uretrei; resturi de mucus; spermatozoizi de la nivelul prostatei; câteva eritrocite și leucocite. Se trece o cantitate de urină (10 mL) într-o eprubetă de centrifugă; se centrifughează 5 minute la 2500 rpm; se decantează supernatantul; sedimentul obținut prin centrifugare: se recoltează cu o pipetă Pasteur; se picură pe o lamă curată; se acoperă cu o lamelă; se examinează la microscop (Păunescu și Dumitrașcu, 1999).

Parametrii biochimici și celulari din probele de urina și sedimentul urinar au fost determinați la un număr de 129 subiecții împărțiți în două grupe: A. bărbați – 46 și B. femei – 83.

Parametrii biochimici determinați au fost concentrația de glucoză, albumină, urobilinogen și pigmentii biliari. Parametrii chimici și celulari din sedimentul urinar testați sunt reprezentați prin: mucusul, flora bacteriană, sărurile amorphe, oxalatul de calciu, cilindrii, acidul uric și levurile.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Analizând valorile parametrilor biochimici la subiecții de sex masculin constatăm prezintă caprezintă diferențe în funcție de subiect. În ceea ce privește concentrația de albumină se remarcă că numai 2,17% din subiecți prezintă valori crescute traduse prin proteinurie. Prezența glucozei în concentrație ușor crescută se constată la 21,73% din subiecți, dar valoarea obținută nu permite stabilirea glicozuriei. Urobilinogenul în concentrație crescută se constată la 6,52% din subiecți, valoarea obținută ne permite stabilirea unor posibile afecțiuni hepatice. Pigmentii biliari nu se regăsesc în concentrație crescută la nici unul din subiecții de sex masculin a căror urină a fost testată.

Analizând valorile parametrilor biochimici la subiecții de sex feminin constatăm în ceea ce privește concentrația de albumină că numai 1,21% din subiecți prezintă valori crescute, traduse prin proteinurie. Urobilinogenul în concentrație crescută se constată la 2,43% din subiecți, valoarea obținută ne permite stabilirea unor posibile afecțiuni hepatice. Glucoza ușor crescută se constată la 8,53% din subiecții, ceea ce sugerează forme ușoare de glicozurie.

Testarea pacienților cu proteinurie cu rezultate pozitive la determinarea leucocitelor cu ajutorul stripurilor stă la baza ipotezei inflamațiilor renale neinfecțioase. Se evaluează urina de la 676 pacienți și se constată că proteinuria apare în 39% din cazuri, iar leucocituria în 5,1% cazuri. Prezența proteinuriei implică și prezența leucocitelor (Koss și colab., 2006).

Parametri minerali și celulari din sedimentul urinar la subiecții de sex masculin se prezintă astfel: flora bacteriană este prezentă abundent la 4.34% din subiecți ceea ce indică existența unor infecții urinare, prezența sărurilor amorfe în exces la 2.17% din subiecți indică existența calculilor urinari la acești subiecți, prezența levurilor în exces la 2.18% din subiecți indică posibile infecții urinare.

Determinarea concentrației acidului uric este esențială în diagnoza, clasificarea și terapia bolii numită gută sau hiperuricemie. S-a descoperit o discrepanță între probele proaspete și cele conservate (Moriwaki și colab., 2009).

Hiperuricemia este un factor de risc recunoscut pentru boala cardiovasculară. Studiul a fost alcătuit dintr-un grup de 30 pacienți cu hipertensiune și fără hiperuricemie (25% bărbați) și un grup de control format din 25 subiecți sănătoși (25% bărbați). Valori crescute ale acidului uric sunt asociate cu aterogeneza independente de hipertensiunea arterială (Borza și colab., 2009).

Parametrii minerali și celulari din sedimentul urinar la subiecții de sex feminin se prezintă astfel: flora bacteriană este abundentă la 1,21% din subiecți ceea ce indică existența unor infecții urinare, prezența sărurilor amorfe și a oxalatul de calciu în exces la 1,21% din subiecți indică existența calculilor urinari la acești subiecți.

Urina sumară conține inhibitori ai cristalelor de oxalat de calciu. Un asemenea inhibitor este nefrocalcina, o glicoproteină care se găsește în rinichi și conține câteva reziduri de acid gama-carboxiglutamic în moleculă. Acesta este responsabil cu inhibarea creșterii cristalelor. Abilitatea subiecților de a inhiba oxalatul de calciu nu a diferit înainte și după administrarea de inhibitor (Worcester și colab., 1993).

Rata sedimentării cristalelor în suspensie de oxalat poate fi determinată spectrometric din probele de urină. După agitare, o rată redusă de sedimentare a cristalelor a fost înregistrată în suspensii care conțin citrat în concentrații cuprinse între 0.33 și 1.67 mmol/L. Viteza de sedimentare a fost redusă în prezența unei concentrații de 0.3-3.3 % din urină, cu inhibarea sedimentării cristalelor de oxalat de calciu atunci când concentrația de urină a fost mărită. Concentrațiile fiziologice de citrat pot inhiba agregarea cristalelor de oxalat de calciu (Tiselius și colab., 1993).

Efectul ingerării de glucoză a fost testat pe subiecți cu pietre la rinichi și pe subiecți normali. Excreția renală de calciu și oxalat de calciu a crescut semnificativ. După administrare de 100 g glucoză s-a simțit o creștere a pH-ului la pacienții sănătoși și la cei cu pietre la rinichi. Glucoza a cauzat o creștere nesemnificativă a saturării urinii cu oxalat de calciu și acid uric. Aceste date sugerează că, consumul de glucoză poate duce la o descreștere a saturării urinii (Gluszek, 1998).

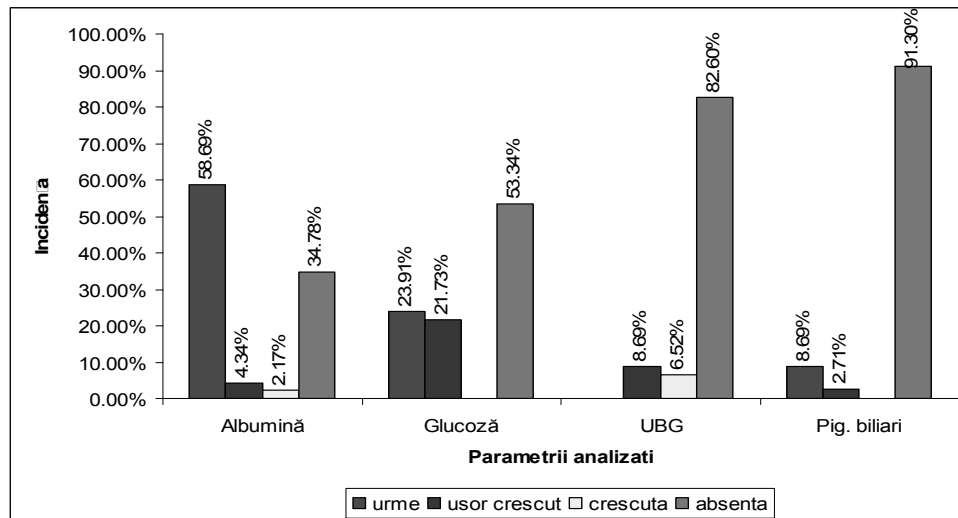


FIG. 1. Parametri biochimici la subiecții de sex masculin

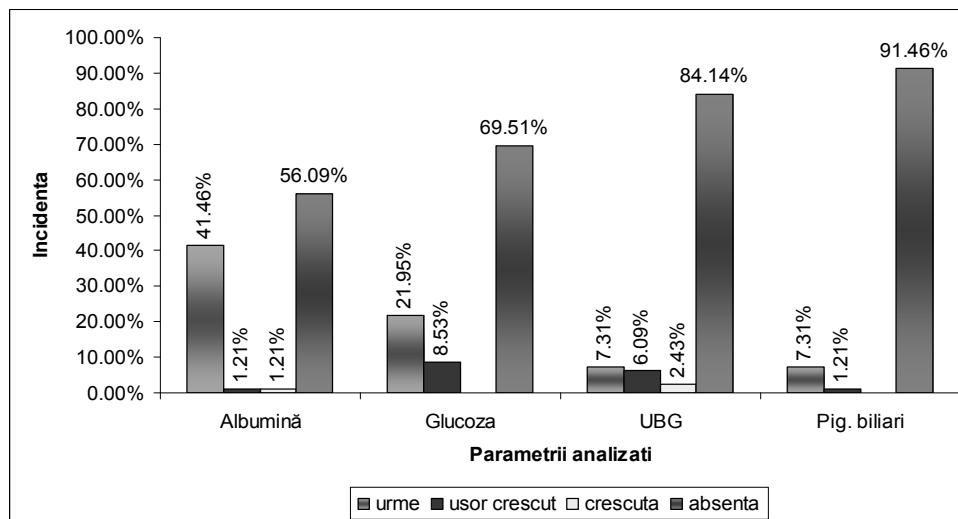


FIG. 2. Parametri biochimici la subiecții de sex feminin

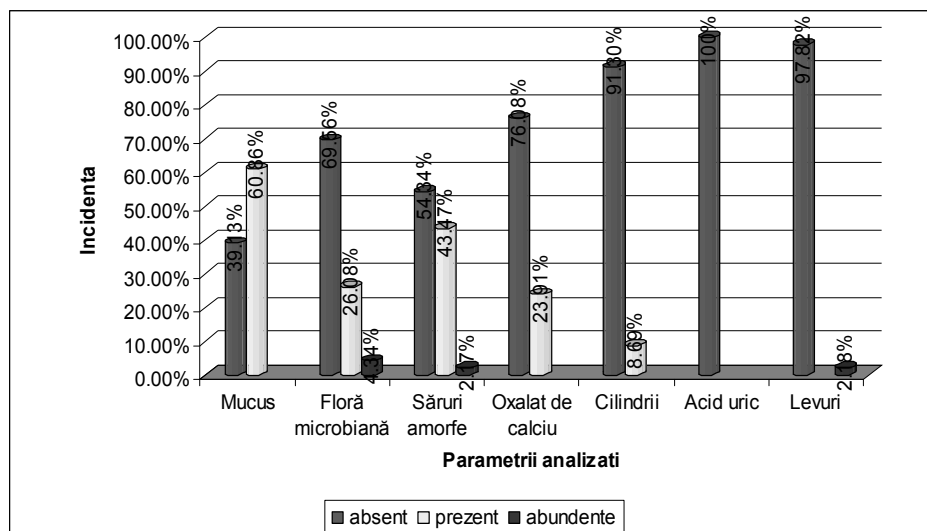


FIG. 3. Parametri din sedimentul urinar la subiecții de sex masculin

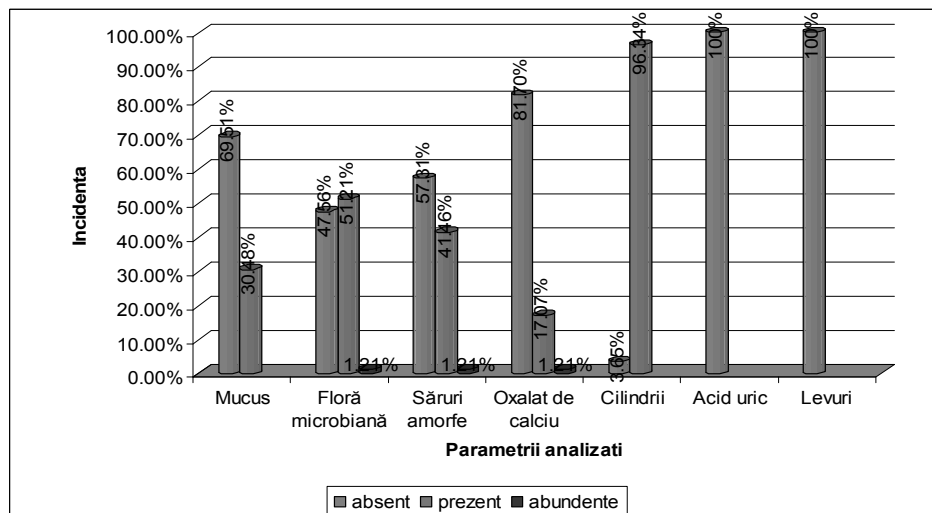


FIG. 4. Parametri din sedimentul urinar la subiecții de sex feminin

CONCLUZII

La subiecții de sex masculin prezența afecțiunilor hepatice este mai mare decât la cei de sex feminin fapt tradus prin incidența crescută a urobilinogenului în urina acestora.

Abundența sărurilor amorfe și a oxalatului de calciu în sedimentul urinar la subiecții de sex feminin și masculin indică existența calculilor urinari.

Cele mai frecvente afecțiuni determinate pe baza analizelor biochimice și a sedimentului urinar par a fi afecțiunile hepatice, infecțiile urinare și calculii urinari.

BIBLIOGRAFIE

- **Anghel, A., Rusu V.**, Experimente de Chimie și Biochimie Medicală, Editura Eurostampa, 2007.
- **Baumann, J. M. Wacker, M.**, The direct measurement of inhibitory capacity to crystal growth of calcium oxalate in undiluted urine and in other inhibitor containing solutions, *Urological Research*, 8 (3), p. 171-175, 1980
- **Borza, C., Savoiu, G., Cristescu, C., Noveanu, L., Șerban, C., Duicu C., Răducan, A., Ghete, M.**, Nivelele serice crescute de acid uric sunt asociate cu aterogeneza independent de hipertensiune, *Revista Română de Medicină de Laborator*, 15 (2), p. 138, 2009
- **Dumitrașcu, V.**, Medicină de laborator. Biochimia urinii, Editura Orizonturi Universitare, Timișoara, 2002
- **Gluszek, J.**, The effect of glucose intake on urine saturation with calcium oxalate, calcium phosphate, uric acid and sodium urate, *International Urology and Nephrology*, 20 (6), p. 657-663, 1998
- **Kanbay, M., Kasapoglu, B., Perazella, M.A.**, Acute tubular necrosis and pre-renal acute kidney injury: utility of urine microscopy in their evaluation- a systematic review, DOI: 10.1007/s11255-009-9673-3, 2009
- **Kondi, V., Natalia, M., Dancescu, P.**, Laborator clinic, Editura Medicală, București, 1981. Kondi, V., Natalia, M., Dancescu, P., Laborator clinic, Editura Medicală, București, 1981
- **Koss, S., Perl, A., Wieder, A., Frank, R., Vento, S., Trachtman, H.**, Proteinuria and renal disease: prognostic value of urine dipstick testing for leukocytes, *Pediatric Nephrology*, 21 (4), p. 584-587, 2006
- **Moriwaki, Y., Yamamoto, T., Takahashi, S., Yamakita, J-I., Tsutsumi, Z., Hada, T.**, Decrease in Urinary Uric Acid Concentrations after Urine Storage, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 486, p. 393-397, 10.1007/0-306-46843-3_75, 2009
- **Păunescu V., Dumitrașcu, V.**, Medicină de laborator. Biochimie clinică, Editura Orizonturi Universitare, Timișoara, 1999
- **Serić, V., Dutour-Sikirić, M., Mihaljević, I., Tucak-Zorić, S., Bilić-Curčić, I., Babić-Ivancić, V.**, Metabolic and physico-chemical urolithiasis parameters in the first morning urine, *Collegium Antropologicum*, 33(2), p. 85-92, 2009
- **Tiselius, H.G., Fornander, A.M., Nilsson, M.A.**, The effects of citrate and urine on calcium oxalate crystal aggregation, *Urological Research*, 21 (5), p. 163-366, 1993
- **Worcester, E.M., Sebastian, J.L., Hiatt, J.G., Beshensky, A.M., Sadowski, J.A.**, The effect of warfarin on urine calcium oxalate crystal growth inhibition and urinary

FILIMON Marioara Nicoleta și colab., Studiul unor parametri biochimici, chimici și celulari din probe de urină

excretion of calcium and nephrocalcin, *Calcified Tissue International*, 53 (4), p. 242-248, 1993

- **Zghal, A., Fella, H., Zerelli, L., Daudon, M., Belkehia, C., Ben Ammar, S.,** Variation of biochemical parameters of the first morning urine during month of Ramadan, *Tunis Med.*, 83(10), p. 591-594, 2005