



# Estimation of Bilirubin In Serum of Blood

تقدير البليروبين في مصل الدم  
تجربة ( 5 )

Assistance Lecturer Zainab A. Jwad Al- Talebi

Babylon University - College of Science

Clinical Biochemistry  
2019

## أَسْمَاءُ أُخْرَى لِلْاِخْتِبَارِ الاسْمُ الرَّسْمِي الْمَعْتَمَد: البِيلِيرُوبِين.

- البِيلِيرُوبِين الكُلِّيَّ (TBIL) (Total bilirubin)
- البِيلِيرُوبِين غَيْر الْمَبَاشِر (Indirect bilirubin)
- البِيلِيرُوبِين لَدَى الْوَلِيد (Neonatal bilirubin)
- البِيلِيرُوبِين الْمَقْتَرَن (Conjugated bilirubin)
- البِيلِيرُوبِين الْمَبَاشِر Direct bilirubin
- البِيلِيرُوبِين غَيْر الْمَقْتَرَن Unconjugated bilirubin



# تحليل وظائف الكبد

- يتم تقسيم وظائف الكبد إلى ثلاث وظائف رئيسية كما يلي :
- 1. (وظائف تعتمد على قدرة الكبد التصنيعية ) ( Synthetic Function )

- ( Total Protein - TP ) البروتين الكلي

- ( Albumin - Alb ) الألبومين

- ( Globulin - Glob ) الكلوبولين

- 2. (وظائف تعتمد على سلامة خلايا الكبد و تسمى بإنزيمات الكبد ) ( Liver Enzymes )

- ( Aspartate Amino Transferase - AST ) إنزيم أسبرتات أمينو ترانسفيراز

- ( Alanine Amino Transferase - ALT ) إنزيم الانين أمينو ترانسفيراز

- ( Gamma Glutamyl Transferase - GGT ) إنزيم جاما جلوتاميل ترانسفيراز

- ( Lactate Dehydrogenase - LDH ) إنزيم نازعة الهيدروجين من لاكتات

3. (وظائف تعتمد على القدرة الاستخراجية للكبد) ( Function Excretory )
- ( Alkaline Phosphatase ) الفوسفاتيز القلوي
  - ( Bilirubin ) البيليروبين



# مقدمة Introduction

- البيليروبين هو صبغة صفراء برتقالية توجد في الصفراء Bile
- تتحطم كريات الدم الحمراء بشكل طبيعي بعد 120 يوماً من وجودها ضمن الدورة الدموية. متحوّلة إلى بيليروبين غير مقترن ( Unconjugated bilirubin ) .
- ويجري إنتاج ما يقرب من 150 إلى 350 ميليغراما من البيليروبين يوميا عند إنسان بالغ معافى ،
- 85% من مقدار البيليروبين مشتقا من كريات دم قديمة أو متضررة
- في حين تكون النسبة المتبقية وهي 15 % ناجمة عن نخي العظام أو الكبد ، ويكون معظم البيليروبين في الدم من النمط غير المقترن.

• يَجري حُمْلُ البيليروبين غير المَقْتَرَن إلى الكبد ، حيث تَقْتَرَن به الأَسْكَأَر ليصبح قابلاً  
للانحلال في الماء ويصبح اسمه البيليروبين المَقْتَرَن.

• يعبر البيليروبين المَقْتَرَن إلى الصفراء عن طريق الكبد ، ويتَعَرَّض إلى المزيد من عمليات  
التحلُّل بوساطة جراثيم خاصَّة في الأمعاء الدقيقة ، ويجري إفراغُه أخيراً في البراز ،  
لِتُعْطِيَ نَوَاجِحَ تَحُّطَمِ البيليروبين البراز لَوْنَه البني.



# البيليروبين (Bil) Bilirubin

- في هذا الاختبار، يتم فحص كمية البيليروبين العام- المباشر وغير المباشر - في مصل الدم. البيليروبين هو ناتج تحلل الهيموجلوبين (وهو بروتين الدم الذي يعطيه لونه الأحمر).
- بعد أن تتقدم خلايا الدم الحمراء بالسن ، تتكسر وتقوم الخلايا البالعة بأكلها ،
- ثم ينقسم بروتين الهيموجلوبين إلى قسمين: "هيم" و"جلوبين".
- يتحول جزيء الـ"هيم" إلى بيليروبين، ويتم نقله إلى الكبد، حيث يتم إفرازه من الكبد عبر سائل المرارة.
- في الكبد، تكون معظم كمية البيليروبين مرتبطة بمادة تدعى الـ"غلوكورونيد (Glucuronide)" ، ليتحول إلى ثنائي كلوكورونات البيليروبين (المباشر) وذلك قبل أن يتم إفرازها عبر المرارة "بيليروبين المباشر". القابل للذوبان في الماء ، ثم يخرج عن طريق الكبد مع الصفراء في القنوات المرارية
- البيليروبين غير المتصل بالغلوكورونيد يُسمّى "بيليروبين غير مباشر"، بينما يطلق على البيليروبين المتصل بهذه المادة اسم الـ"بيليروبين المباشر"

• لذلك يوجد نوعان من البيليروبين هما :

• البيليروبين غير المباشر وهو ما قبل الارتباط و غير قابل للذوبان في الماء ، BIL  
( Indirect Bilirubin - ID . ) -

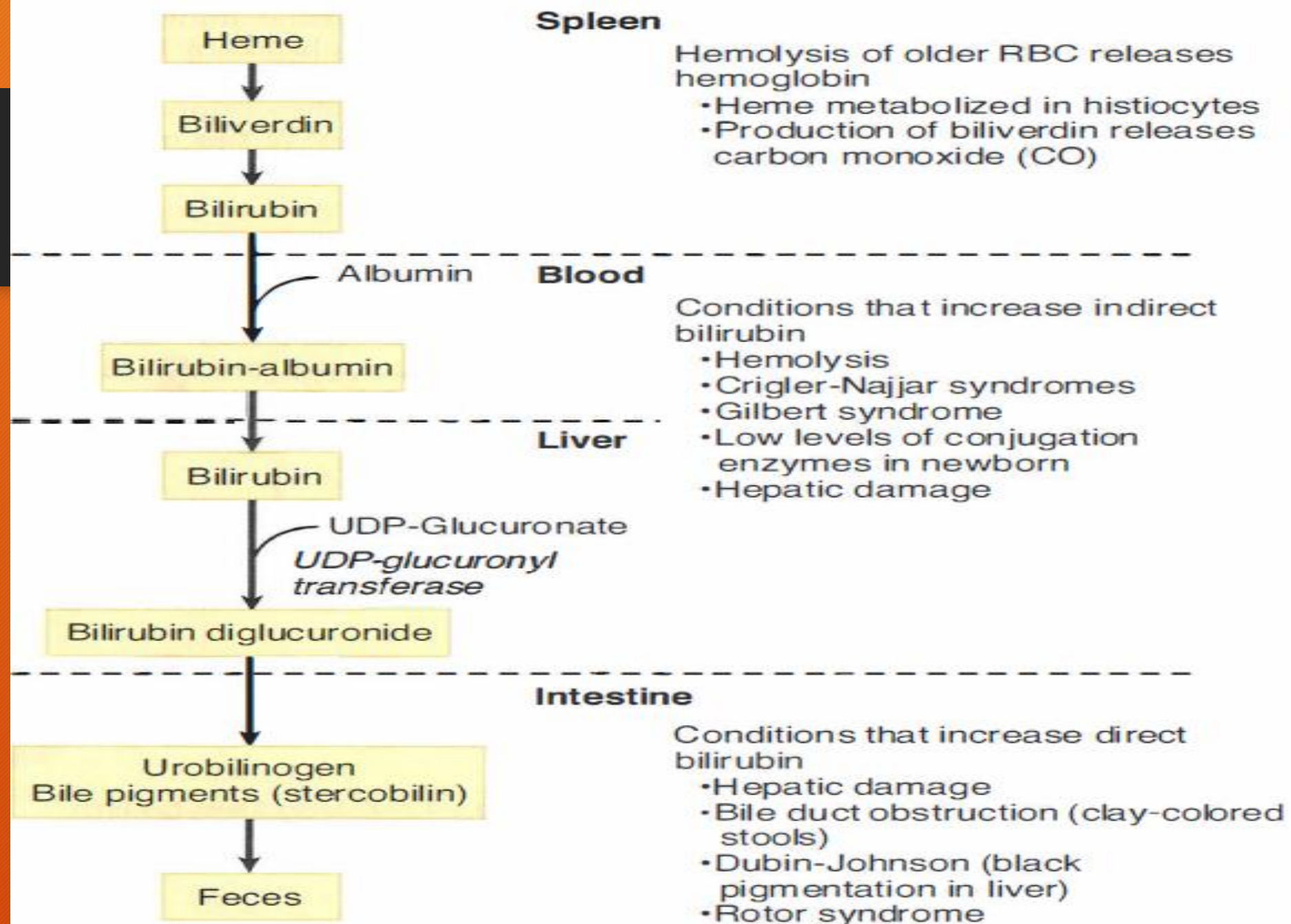
• البيليروبين المباشر وهو ما بعد الارتباط و هو قابل للذوبان في الماء BIL  
( Direct Bilirubin - D . )

• مجموع النوعين يطلق عليه البيليروبين الكلي- ( Total Bilirubin - T. BIL )

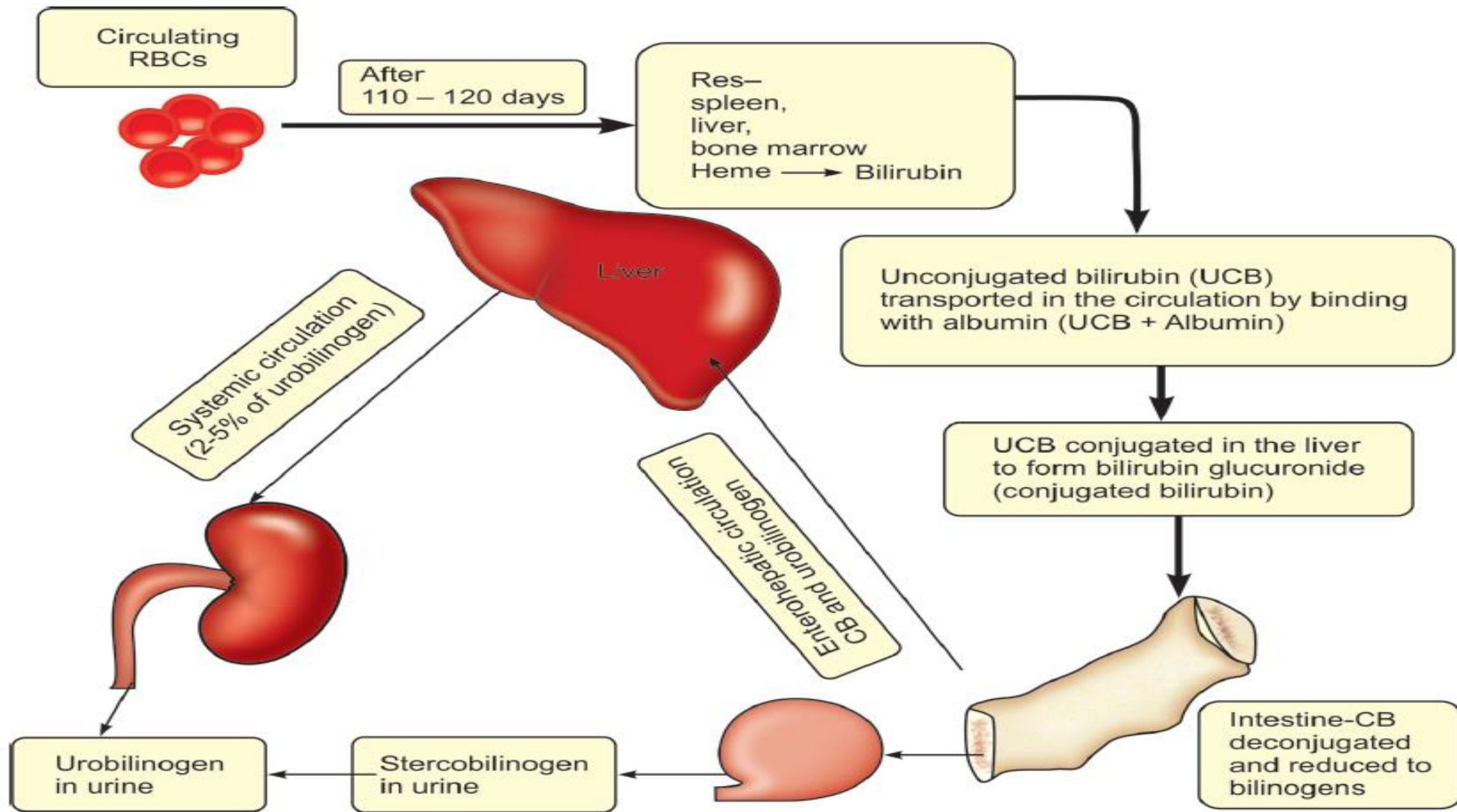
• يتراوح المستوى الطبيعي ل البيليروبين الكلي ما بين ٣,٥ إلى ١٩ ميكرو مول لكل لتر دم

• ٠,١ إلى ١,٠ مل جرام لكل مل لتر دم )





**Figure:** Heme Catabolism and Bilirubin



**Fig. 18A-1:** Formation and fate of bilirubin



## القيم الطبيعية Normal Value

- من الطبيعي ملاحظة كميات ضئيلة من البيليروبين في الدم.
- البيليروبين المباشر (المقترن): ( 0 - 0.3 ) ملغ / 100 ميليلتر.
- البيليروبين الكلي: ( 0.3 - 1.9 ) ملغ / 100 ميليلتر
- عند حديثي الولادة: تعيق مستويات البيليروبين المرتفعة تنامي خلايا الدماغ لدى المواليد الجدد (اليرقان النوي)
- وقد تسبب تخلفاً عقلياً وإعاقات في التعلم والنمو وفقدان حاسة السمع أو مشاكل في حركات العين. (Kernicterus)
- من المهم ألا يرتفع بيليروبين الدم كثيراً عند حديثي الولادة.
- وقد تتجم المستويات المرتفعة من البيليروبين عن التحلل المتسارع لكريات الدم الحمراء بسبب اختلاف الزمر الدموية بين الأم ومولودها.

# استخدام مستويات البيليروبين لتحديد :

- اسباب الاضطراب الكبدي ، أو المستويات المتزايدة من البيليروبين الى :.
1. قد تنجم المستويات المتزايدة من البيليروبين الكلي أو غير المقترن عن فقر الدم الانحلالي أو المنجلي أو الوَبيل
  2. قد تنجم عن ردة فعل تجاه عملية نقل الدَّم.
  3. وعند ارتفاع مستوى البيليروبين المقترن ، فقد يكون هناك نوع من الانسداد في القنوات الكبديّة أو الصفراوية
  4. أو قد يكون ذلك بسبب رضّ في الكبد أو تشمّع (تليّف) الكبد أو ردة فعل دوائية أو إدمان مزمن على تناول الكحول.
  5. قد تسبّب الأمراض الوراثية التي تؤدّي إلى استقلاب غير طبيعي للبيليروبين ارتفاعا في مستويات البيليروبين (مثل بعض المتلازمات المرضيّة)



- لا تستدعي المستويات المنخفضة من البيليروبين أي قلق ، ولا تتطلب مراقبة لها.
- رغم أن المستويات المرتفعة من البيليروبين قد تكون ذات تأثير سمي في تنامي الدماغ عند حديثي الولادة (حتى عمر 4 أسابيع) ، ولكنها لا تحدث التأثير نفسه لدى الأطفال الأكبر سناً أو البالغين ، وذلك بسبب أن هناك حاجزاً كيميائياً بين 2
- الدم والدماغ يكون أكثر نضجاً عند هذه الفئات العمرية ، ويمنع البيليروبين من التسرب نحو الخلايا الدماغية. ولكن ارتفاع مستويات البيليروبين لدى البالغين أو الأطفال يعد حالة طبية ينبغي مراقبتها وعلاجها.
- لا يوجد البيليروبين بشكل طبيعي في البول. ولكن ما دام أن البيليروبين المقترن قابل للانحلال في الماء ، فمن الممكن أن يطرح من الجسم عن طريق البول عند ارتفاع مستوياته في الجسم. ويشير وجود البيليروبين في الجسم عادةً إلى انسداد في قناة الصفراء أو القنوات الكبدية ، أو وجود التهاب كبدي أو ضرر كبدي آخر.
- 4 يكون مستوى البيليروبين أعلى قليلاً عند الذكور منه عند الإناث. وقد تنقص التمارين المجهدة من مستويات البيليروبين.

## مبدأ فحص البيليروبين

يتم تحويلها بحمض السلفانيليك ديازوتيزيد إلى أزوبيليروبين الملون ويتم قياسه Spectrophotometrically.

من انواع البيليروبين هما:

1. البيليروبين في مصل الدم - البيليروبين-بالجلوكويورونويد
2. والبيليروبين الحر المتحد بالالبومين- يطلق عليه المباشر،
3. الفرق بين القياسات total و البيليروبين المباشر يمكن حساب البيليروبين غير المباشر.



# TOTAL BILIRUBIN البيليروبين الكلي

## 1. Pipette into labelled tubes:

TUBES	Reagent Blank	Sample Blank	Sample	CAL
Distilled water	100 µL	–	–	–
Sample	–	100 µL	100 µL	–
CAL	–	–		100 µL
RT	–	1.0 mL	–	–
Working reagent	1.0 mL		1.0 mL	1.0 mL

## DIRECT BILIRUBIN البيليروبين المباشر

1. Mix thoroughly and let the tubes stand for **2 minutes** at room temperature.
2. Read the absorbance (A) of the sample blanks at 540 nm against distilled water.
3. Read the absorbance (A) of the samples at 540 nm against the reagent blank.
4. The color is stable for at least 60 minutes at room temperature.



# DIRECT BILIRUBIN البيليروبين المباشر

## 1. Pipette into labelled tubes:

TUBES	Reagent Blank	Sample Blank	Sample	CAL
Distilled water	100 µL	–	–	–
Sample	–	100 µL	100 µL	–
CAL	–	–		100 µL
RD	–	1.0 mL	–	–
Working reagent	1.0 mL		1.0 mL	1.0 mL

# **DIRECT BILIRUBIN** البيليروبين المباشر

- 2. Mix thoroughly and let the tubes stand for exactly 5 minutes at 37°C.**
- 3. Read the absorbance (A) of the sample blanks at 540 nm against distilled water.**
- 4. Read the absorbance (A) of the samples at 540 nm against the reagent blank.**



## CALCULATIONS الحسابات

mg/dL total or direct bilirubin =

$$\frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{Sample blank}}}{A_{\text{cal}}} \times C_{\text{cal}}$$

If results are to be expressed as SI units apply:

$$\text{mg/dL} \times 17.1 = \mu\text{mol/L}$$

# REFERENCE VALUES القيم الطبيعية

## ADULTS

Total	Direct
Up to 1.0 mg/dL	Up to 0.2 mg/dL

## NEWBORNS (TOTAL BILIRUBIN)

Age	Premature سابق لأوانه	Full- term كامل المدة
Up to 24 h	1.0 - 6.0 mg/dL	2.0 - 6.0 mg/dL
Up to 48 h	6.0 - 8.0 mg/dL	6.0 - 7.0 mg/dL
3-5 days	10.0 - 15.0 mg/dL	4.0 - 12.0 mg/dL

- It is recommended that each laboratory establishes its own reference range.



## المدلول السريري CLINICAL SIGNIFICANCE

• الزيادة المفرطة في بيليروبين الدم " Hyperbilirubinemia

" (ارتفاع غير طبيعي من البيليروبين، سواء مقترن أو غير مقترن) في البلازما يعتبر مؤشرا لاضطراب في استقلاب البيليروبين. ويتسبب الإفراط في إنتاج البيليروبين أو بضعف في المسار الأيضي.

• الزيادة في إنتاج البيليروبين عادة ما يكون سببها تدمير الكريات الحمراء السريع الناجمة عن أمراض الدم مثل فقر الدم haemolytic anemia

## المدلول السريري CLINICAL SIGNIFICANCE

• الارتفاع المضطرب في البيليروبين المباشر و كذلك الفوسفاتاز القلوي ALP و بنفس النسبة يشير إلى

1. انسداد القنوات الصفراوية و كذلك التهاب القنوات الصفراوية

2. إذا كان الارتفاع في البيليروبين أكثر من الارتفاع في الفوسفاتاز القلوي ، فيحدث ذلك في حالات التهاب الكبد الوبائي و كذلك حالات تكسر الدم



# المدلول السريري CLINICAL SIGNIFICANCE

في الأطفال حديثي الولادة قد يكون سبب زيادة البيليروبين :

1. Rh عدم توافق فصيلة الدم، أو غيرها
  2. وتعفن الدم ،
  3. عدم نضج وظائف الكبد ،
  4. أو مجموعة متنوعة من عيوب وراثية في تصريف البيليروبين. بسبب ضعف نقص إنزيم
  5. عتبة مادية في تدفق البيليروبين مثل انسداد مراري (الصفراوية).
- يؤدي فرط بيليروبين الدم إلى اليرقان (ترسب البيليروبين unconjugated في المخ والخلايا العصبية)
  - أو اليرقان (تلون الأغشية المخاطية والصلبة والجلد الناجم عن ترسب صبغة البيليروبين)

- يصل المستوى الطبيعي ل البيليروبين المباشر إلى ٧ ميكرو مول لكل لتر دم -
- يزداد مستوى البيليروبين في ثلاث حالات مختلفة :

- ١) أمراض الكبد المؤدية إلى عدم قدرته الكافية على ارتباط و استخراج البيليروبين و يؤدي ذلك إلى ارتفاع البيليروبين المباشر و غير المباشر ، و يسمى هذا النوع ب ( الصفراء الخلوية الكبدية )
- ٢) انسداد القنوات المرارية ، مما يؤدي إلى استرجاع البيليروبين المباشر إلى الكبد و منه إلى الدم ( مما يؤدي إلى ارتفاع هذا النوع من البيليروبين ، و يسمى هذا المرض ب ( الصفراء الانسدادية )

- ٣) تكسر كريات الدم الحمراء أكثر من قدرة الكبد على ارتباط البيليروبين مما يؤدي إلى زيادة البيليروبين غير المباشر في الدم ، و يحدث ذلك في الأمراض المؤدية إلى تكسر كريات الدم الحمراء ، و يسمى هذا النوع ب ( صفراء تكسر كريات الدم الحمراء ) ، و يحدث هذا النوع أيضا في الأطفال حديثي الولادة نتيجة لنقص نشاط أو غياب نشاط الإنزيم الخاص بعملية الارتباط ، و يسمى هذا النوع ب ( الصفراء الطبيعية الوليدية ) أو ( يرقان حديثي الولادة ) و تحدث في الأسبوع الأول بعد الولادة