
BIOQUÍMICA ANALÍTICA I CLÍNICA



CIÈNCIES BIOMÈDIQUES UB - PRIMAVERA 2017

ALBERT TORELLÓ PÉREZ

Índex

1	Variabilitat Clínica	2
	Mesura o determinació — 2	
2	Semiologia	6
	Valors de referència — 6 • Determinació de la capacitat discriminant — 6	
3	Control de qualitat	8
	Normativa aplicable — 8 • Control de qualitat — 8	
4	Proteïnes plasmàtiques	10
	Proteïnes plasmàtiques de transport — 10 • Proteïnes de fase aguda — 11 • Altres proteïnes — 12 • Determinació de la proteïna total — 13 • Interpretació clínica — 15 • Fraccionament de proteïnes — 15 • Mètodes immunològics per la detecció de proteïnes — 17	
5	Hemostàsia i coagulació	18
	Introducció — 18 • Hemostàsia primària — 19 • Hemostàsia secundària/Coagulació proteica — 24 • Fibrinòlisi — 28	
6	Hemoglobina i ferro	33
	La hemoglobina — 33 • Trastorns deguts a reaccions de l'hemoglobina — 34 • Trastorns a la síntesi de la globina — 35 • Desordres de la síntesi del grup hemo — 38 • Alteracions del metabolisme del ferro — 44 • Metabolisme del ferro — 50	
7	Enzimologia clínica	54
	Enzims — 54 • Estratègies bioquímiques per l'estudi clínic del metabolisme — 56 • Enzims marcadors habituals en enzimologia clínica — 59	
8	Disfuncions del metabolisme glucídic	68
	Regulació de la concentració de la glucosa sanguínia — 68 • Hiperglucèmia — 71 • Paràmetres clínics — 77 • Hipoglucèmia — 86 • Alteracions en el metabolisme de la fructosa i la galactosa — 89 • Intoleràncies — 91	
9	Disfuncions del metabolisme lipídic	92
	Conceptes generals — 92 • Paràmetres analítics — 96 • Dislipèmies — 100	
10	El fetge	106
	El fetge — 106 • Estudi de la funció excretora — 106 • Estudi de la funció excretora. Àcids biliars — 110 • Estudi de la capacitat detoxificant. Xenobiòtics. — 112 • Estudi de les capacitats biosintètiques i metabòliques — 113 • Alteracions hepàtiques — 116	
11	Aparell digestiu	118
	Malabsorció — 118 • Secrecions bucats — 119 • Secrecions gàstriques — 119 • Secrecions intestinals — 123	
12	Alteracions del metabolisme de nucleòtids	131
	Recanvi de nucleòtids — 131 • Hiperuricèmia — 133	
13	Funció tiroïdal	137
	Regulació de la unció tiroïdal — 137 • Hipertiroïdisme — 139 • Hipotiroïdisme — 140 • Marcadors clínics — 141 • Mètodes immunològics — 142	

14	Estudi de la funció renal	145
	Anatomia i fisiologia renal — 145 • Paràmetres bioquímics — 148 • Patologies renals — 149 • Anàlisi d'orina — 151	
15	Control del pH en el medi intern	162
	Control del pH — 162 • Fonts d'àcids — 162 • Fonts de bases i consum de protons — 163 • Tampons fisiològics — 163 • Mecanismes de compensació del pH — 167 • Alteracions de l'equilibri àcid-base — 169	
16	Control dels electròlits i l'aigua	175
	Aigua i ions corporals — 175 • Regulació de l'osmolalitat — 175 • Alteracions hidroelectrolítiques — 176 • Determinacions analítiques — 180	

1. Variabilitat Clínica

En les proves analítiques hi ha un rang de variabilitat, ja sigui per assumptes purament tècnics o estil de vida dels pacients (fumadors, ingestió de medicaments...).

Els paràmetres que s'analitzen s'anomenen magnituds bioquímiques d'un sistema. El sèrum i la orina són els principals fluids fisiològics que s'analitzen.

1.1 Mesura o determinació

Conjunt d'operacions que permeten donar un valor a una magnitud bioquímica concreta d'un sistema.

La mostra s'anomena espècimen, que és la porció de material original especialment seleccionada, provinent d'un sistema dinàmic, i que en el moment d'obtenir-lo s'assumeix que es representatiu del material orginal.

La variabilitat d'una determinació pot provenir de diferents fonts:

- Preanalítica o premetrològica: Presa de la mostra, conservació, transport. Són extra-analítiques.
- Biològica
- Iatrogènica: Relacionada amb el seguiment d'un tractament mèdic.
- Analítica i extraanalítica: És la que depèn del procés purament analític, de la tècnica i instrument.
- Postanalítica: Interpretació del resultat, confondre les mostres...

1.1.1 Variabilitat premetrològica

- Postura: En una posició ereta varia el volum de sang, ja que el líquid passa a l'espai intersticial. Augmentarà la concentració d'algunes magnituds.
 - Augmenta més un 5% la concentració d'albúmina, Fe, colesterol, fosfatasa àcida i fosfatasa alcalina.
 - Disminueix el Na, el K, el Ca, El Pi, la urea i la creatinina.
 - Augmenten hormones com les catecolamines, l'angiotensina, la renina, aldosterona, ADH

Els ions passen més fàcilment per l'espai intersticial.

- Si el temps de torniquet és molt gran es genera hipòxia (amb l'acidosi corresponent). Pot comportar dilatació venosa, i augmenta l'albúmina, colesterol, AST. L'acidosi es produeix per l'acumulació de CO₂ en sang.

-
- Hemòlisi: Alteració colorimètrica. Pot provocar uns valors alts de potassi. És important centrifugar la sang per aïllar el sèrum.
 - Temps fins a l'analítica.
 - El Na i el K separats d'hematies són estables fins a 7 dies en sèrum.
 - Glucosa: utilitzar un inhibidor de la seva degradació, com el NaF.
 - La fosfatasa alcalina és estable uns 7 dies a 4°C però la fosfatasa àcida no ho és.

L'exercici varia les magnituds bioquímiques de la següent manera:

- **Exercici moderat**

- Augmenta la glucosa, la insulina i el cortisol.
- Baixa el pH, el CO₂ en sang arterial però no en sang venosa.
- Augmenta la concentració plasmàtica d'enzims musculars, com la creatina quinasa o la LDH (deut a microtrenament de fibres muscualars).

- **Exercici intens**

- Disminució del volum plasmàtic
- Augment proteïnes plasmàtiques
- Augmenta la renina
- Disminueixen els TAG.
- Augmenten els àcids grassos lliures

- **Atletes amb valors**

Els viatges alteren els resultats per l'estrés i les alteracions dels ritmes circadianos:

- ACTH, cortisol, GH, prolactina, TSH
- Disminueixen les proteïnes sèriques a la nit (per la postura)
- Cicle menstrual: alteració estrògens, andrògens, prolactina, progesterona, colesterol, creatinina, ions...
- Pel que fa a les estacions, la sudoracuó o la deshidratació concentren els components plasmàtics.

L'alimentació varia:

- A la post-ingesta, augmenten els TAG i s'ha d'esperar fins a 12h, si s'ingereixen proteïnes augmenta la urea. Després de menjar, en general sempre augmenta la glucosa i s'ha d'esperar unes 6h.

-
- Les dietes vegetarianes donen alcalosi, ja que les verdures i les fruites tenen lactat i citrat que es degraden a CO₂ i H₂O i OH. La malnutrició i el dejuni causen la disminució de proteïnes plasmàtiques.
 - La obesitat augmenta el colesterol.
 - La ingestió d'alcohol provoca l'augment de la gamma glutamil transferasa i de la glucosa.
 - Tabac: Augmenta el CO, les catecolamines i el colesterol.
 - La cafeïna augmenta els TAG, cortisol i àcids grassos lliures.

La febre augmenta la insulina i el glucagó.

1.1.2 Variabilitat iatrogènica

Degut a tractament farmacològic del pacient. Poden produir la síntesi d'enzims, inhibeixen enzims, competeixen per la unió a proteïnes de transport.

Els opiacis augmenten la concentració plasmàtica d'enzims hepàtics.

Els diürètics tenen efectes diferents segons el tipus, però alteren la concentració d'ions i augmenten la glucosa i els compostos nitrogenats.

L'efecte depèn de la dosi del fàrmac, la durada del tractament i les característiques del pacient.

També hi pot haver variabilitat deguda a accions mèdiques. La hospitalització:

- Fins a 4 dies, disminueix el volum extracel·lular i augmenta l'hematòcrit.
- Més de 4 dies: hi ha retenció de fluids i excreció de Ca, Na i Pi (debat a la resorció òssia).

Cal fins a 3 setmanes per tornar a valors normals.

Hi pot haver errors d'identificació de la mostra o del pacient i de transcripció.

1.1.3 Variabilitat biològica intraindividual

Deguda a:

- Polimorfismes genètics
- Edat
- Gènere
- Raça
- Factors ambientals com l'altitud o la temperatura
- Estació

-
- Cicle menstrual

També és important la variació circadiana.

1.1.4 Variabilitat metrològica

És conseqüència del protocol de determinació i dels aparells de mesura. L'interval analític és l'interval de concentració en què es pot aplicar el mètode analític.

Precisió És una mesura de si diferents determinacions d'un mateix paràmetre i en un mateix espècimen donen o no resultats concordants.

- Imprecisió: Desviació estàndard d'un grup de mesures repetides.

Exactitud És una mesura de si la determinació d'un paràmetre en un espècimen dóna o no un valor proper al real.

- Inexactitud: Diferència entre la mitjana d'un grup de mesures repetides i el valor real.
- Límit de detecció: Resultat aïllat més petit que es pot distingir, amb certa probabilitat, d'un valor del blanc o valor de fons.

Interferència Efecte d'un component del propi espècimen o afegit (reactiu, conservant, diluent) que no produceix lectura sobre si mateix (vs Blanc) sobre l'exactitud de la mesura d'un component d'interès. És difícil d'evitar i cal minimitzar (sacàrids en la determinació de glucosa).

1.1.5 Variabilitat post metrològica

Deguda a:

- Transcripció de resultats
- Elaboració de l'informe
- Emissió de l'informe
- Interpretació de l'informe

1.1.6 Variabilitat patològica

Poden provocar canvis en una magnitud bioquímica. Variació superior a la variabilitat intraindividual.

La magnitud bioquímica alterada té valor semiològic si és produïda per un o pocs estats patològics.

2. Semiologia

2.1 Valors de referència

La població de referència és la població individus sans (normals). Per estudiar-ho, s'agafa una mostra de referència, que és un nombre assequible i representatiu de la població de referència.

Valors de referència Rang de resultat analític de la determinació d'un paràmetre bioquímic en espècimens d'individus de referència.

Capacitat discriminant Propietat de donar valors diferents en individus d'una població normal (\hat{E}) respecte els d'una població patològica (E).

2.2 Determinació de la capacitat discriminant

La capacitat discriminant es mesura amb:

- **Sensibilitat:** Probabilitat d'obtenir un resultat positiu en un individu de E (malalt).

$$\frac{PC}{PC + NF} \quad (1)$$

On PC són els positius certs i NF els negatius falsos. Seria el nombre de malalts detectats entre els malalts totals.

- **Especificitat:** Probabilitat d'obtenir un resultat negatiu en un individu de \hat{E} (encertar amb un sa).

$$\frac{NC}{NC + PF} \quad (2)$$

On NC són els negatius certs i PF els positius falsos. Seria el nombre de sans detectats entre els sans totals.

- **Eficàcia diagnòstica** És el quotient d'individus classificats correctament en la població de malalts (E) o de sans (\hat{E}) respecte el total de la mostra:

$$\frac{PC + NC}{PC + NF + NC + PF} \quad (3)$$

- **Valor predictiu** És la probabilitat de patir la malaltia quan el resultat és positiu i de no patir-la quan el resultat és negatiu.

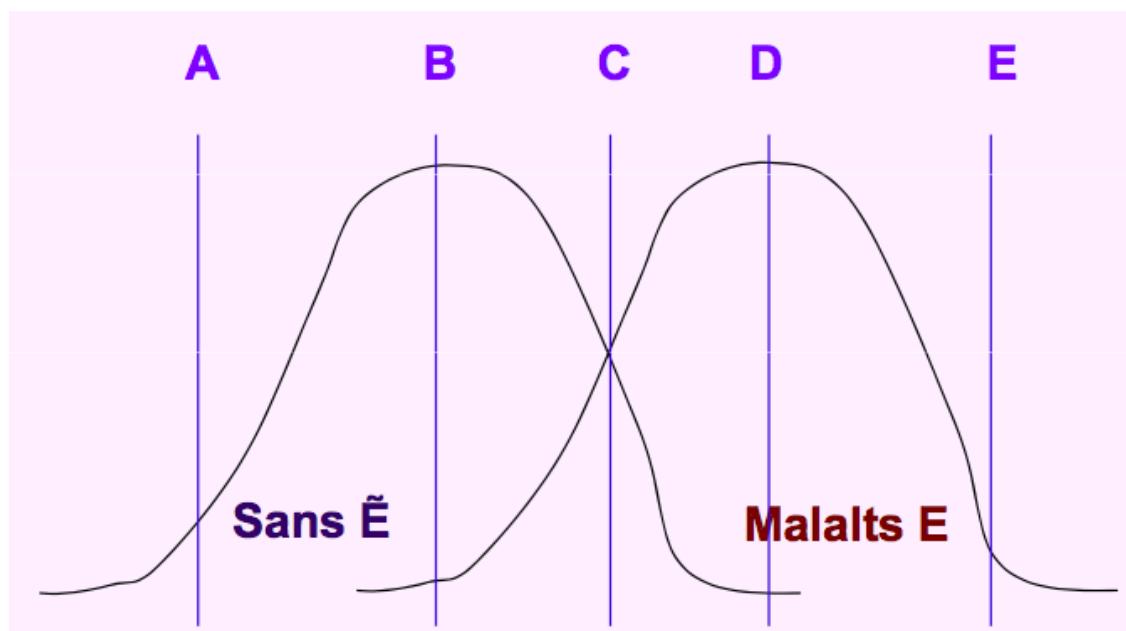
- Positiu: Probabilitat de patir-la si el diagnòstic és positiu:

$$\frac{PC}{PC + NF} \quad (4)$$

- Negatiu: Probabilitat de patir-la si el diagnòstic és negatiu:

$$\frac{NC}{NC + NF} \quad (5)$$

Exemple



- En A la sensibilitat és màxima (1) i l'especificitat és mínima (0)
- En B la sensibilitat és màxima (0.95) i l'especificitat és 0.5.
- En C la sensibilitat és 0.76 i l'especificitat és 0.75.
- En D la sensibilitat és 0.5 i l'especificitat és 0.95.
- En E la sensibilitat és mínima (0) i l'especificitat és màxima (1)

3. Control de qualitat

3.1 Normativa aplicable

El decret 76/1995, de 7 de març??, pel qual s'estableixen el procediment específic d'autorització administrativa dels laboratoris clínics i les normes reguladores de les activitats que s'hi realitzen.

És d'obligat compliment per tots els laboratoris clínics que treballen a Catalunya. Estableix les normatives i requisits que aquests han de complir, així com els tràmits a realitzar per a l'inici, la modificació i la baixa de l'activitat:

1. Requisits de personal i d'organització: tècnic facultatiu responsable i personal amb titulació adient.
2. Requisits físics: àrees diferenciades (àrea administrativa, àrea d'obtenció d'espècimens, àrea de realització d'anàlisis i àrea de neteja de material i d'eliminació de residus).
3. Requisits d'equipament: aparells i l'instrumental necessaris per als tipus d'anàlisis que realitzin.
4. Requisits de protecció i seguretat: sistemes de protecció i seguretat que els siguin d'aplicació d'acord amb la normativa vigent.

3.2 Control de qualitat

Segons el Decret 76/1995, el laboratori clínic ha d'establir el seu pla de garantia de la qualitat, que haurà d'incloure ineludiblement el control intern de la qualitat i la participació, almenys, en un programa d'avaluació externa de la qualitat. El laboratori ha de participar en el Programa de control de qualitat dels laboratoris clínics (PCQLC) del Departament de Sanitat i Seguretat Social.

Els objectius del control de qualitat és la detecció d'errors en la valoració de la magnitud d'origen analític o per manipulació de la mostra:

- Exactitud: Valor veritable (\bar{X}). Control de Qualitat Interna.
- Precisió: SD o CV. Control de Qualitat Externa.
- Relació de coeficients de variació. Control de Qualitat Externa.
- Índex de desviació estàndard. Control de Qualitat Externa.

3.2.1 Control de qualitat intern

Les estratègies són la valoració per duplicat de les mostres clíniques o la intercalació de materials de control en rangs de referència i patològics.

El procediment es basa en intercalar els controls en les sèries de mostres de manera aleatòria o amb l'ús de la condició de cecs (sense identificació) o semicecs (identificats amb valor desconegut).

Per valorar la qualitat interna s'usa el límit de variabilitat de control ($\bar{X} \pm SD$) i les regles de Westgard.

3.2.2 Control de qualitat extern

Busca comparar els resultats de controls en diferents laboratoris.

El procediment pot ser:

- **De garantia de qualitat diaris:** Comparen resultats sobre una mostra obtinguts amb un sol mètode i calculen la imprecisió i la inexactitud.
- **D'acreditació:** Comparen resultats sobre una mostra obtinguts amb un sol mètode i calculen la imprecisió i la inexactitud. S'atorga una certificació oficial.

Per valorar la qualitat interna s'usa el límit de variabilitat de control ($\bar{X} \pm SD$) i l'error total.

4. Proteïnes plasmàtiques

Hi ha 4 grans grups de proteïnes plasmàtiques:

- Transport: Sobretot de molècules hidrofòbiques. La majoritària és l'albúmina.
- Reactants de fase aguda
- Complement
- Immunoglobulines

4.1 Proteïnes plasmàtiques de transport

Aquests sistemes estan en equilibri:

$$P + L \rightleftharpoons P - L$$

Per ser efectiu, el lligand ha d'anar lliure en plasma (sense unió a proteïnes). Quan augmenta la concentració de proteïna transportadora, augmenta la concentració de complex proteïna-lligand i disminueix la quantitat de lligand lliure a la sang.

La tiroxina es transporta unida a albúmina o a una proteïna específica com la TBP.

Les proteïnes plasmàtiques s'analitzen segons el patró d'electroforesi. Les proteïnes que tenen un pI proper a 7 tenen poca mobilitat. Si tenen un pI més baix (6) ja corren més al gel. L'albúmina té un pI molt baix i corre molt, la prealbúmina encara té un pI més baix. La manera de distingir les proteïnes és mitjançant la revelació amb anticòs.

Per separar proteïnes segons el pI es fa electroforesi en un suport d'acetat de cel·lulosa i per separar per pes molecular es fa SDS-PAGE.

La **prealbúmina** és una proteïna de síntesi hepàtica de 55 kDa rica en Trp. Transporta T3 i T4; tot i que hi ha proteïnes específiques com la TBP. Té una concentració mitjana de 0.1-0.4 g/L i una vida mitjana curta. Es determina per immunoassaig.

La **albúmina** contribueix a la pressió osmòtica de la sang ja que és la proteïna més abundant (40-60%) i és de síntesi hepàtica amb uns 66 kDa. Les principals funcions són el transport d'àcids grassos, bilirrubina, hormones sexuals, cortisol... Té una vida mitjana alta en plasma (15-19 dies). La hiperalbuminèmia és símptoma de deshidratació. La hipoalbuminèmia pot ser símptoma de malabsorció d'aminoàcids o de malnutrició (síndrome de te i torrada), disfunció hepàtica, alcoholisme, inflamació crònica o lesió tissular.

La hiperhidratació és característica perquè produeix edemes en extremitats, p.e.

Es determina fent precipitar les globulines amb sulfat d'amoni i després determinant la concentració de proteïna total. Per precipitar les globulines s'afegeix un 40% de sulfat d'amoni i amb un 70% es precipiten totes les proteïnes. El sulfat d'amoni és molt soluble en aigua. Es pot determinar per la reacció amb colorants (verd de bromocresol), amb el problema que un % d'albúmina no reacciona amb el colorant.

La composició del líquid intersticial és similar a la de la sang, exceptuant les proteïnes que són massa grosses en general per passar l'endoteli.

La pressió osmòtica exercida per les proteïnes del plasma compensen la pressió sanguínia dels vasos i manté els vasos plens de líquid.

Altres proteïnes de transport són la **RBP** (proteïna fixadora de retinol), una proteïna de 21 kDa. Baixos nivells de RBP s'expliquen per un dèficit de Zn.

La **transferrina** és una proteïna de 77 kDa que transporta Fe_3^+ . Nivells alts de transferrina indiquen anèmia, ja que l'organisme busca compensar el dèficit de Fe.

4.2 Proteïnes de fase aguda

Són les proteïnes que canvien de concentració en processos inflamatoris (augmenten més d'un 25%). La variació es produeix abans que hi hagi símptomes clínics clars. La majoria són de mobilitat β en una electroforesi. Són unes 30 proteïnes de síntesi hepàtica. Hi ha proteïnes de fase aguda negatives (disminueixen quan hi ha infecció, que són l'albúmina, RBP, transferrina) i positives (augmenten quan hi ha infecció).

Hi ha 2 proteïnes de fase aguda positives importants:

- **Proteïna C reactiva:** Té una mobilitat electroforètic entre beta i gamma. Els seus nivells augmenten 2000 vegades en una infecció. Diagnòstic d'infeccions inespecífic, artritis reumatoide, lupus, leucèmia, postoperatori. S'uneix a la paret bacteriana, membrana de fongs... Activa el sistema del complement.
- α **antitripsina:** Té mobilitat α . Gran contingut en carbohidrats. Inhibeix moltes proteases, com la tripsina, la elastasa o la trombina. Es coneixen 33 variants genètiques. Baixos nivells indiquen diagnòstic de pèrdua severa de proteïnes i en síndrome d'estrés respiratori del nouvat. El dèficit congènit comporta alteracions pulmonars (emfisema per la proteòlisi d'elastina) i hepàtic (cirrosi per acumulació de proteïnes al fetge).
- La **ceruloplasmina** uneix ions de Cu i protegeix de la seva toxicitat. Augmenta en traumatismes i en la obstrucció biliar.

Grup III x1000	[normal]	[inflamació]	Temps resposta (h)
Proteïna C reactiva 30-65	0.0008-0.008 64-76	0.4 69-74	6-10 6-10
Grup II x2-4	[normal]	[inflamació]	Temps resposta (h)
α_1 -antiquimiotripsina	0.3-0.6	3	10
α_1 -antitripsina	0.78-2	7	?
α_1 -glicoproteïna àcida	0.5-1.4	3	24
Haptoglobina	1-3	6	?
Fibrinogen	2-4	10	?

TAULA 1: Concentració de proteïnes de fase aguda (g/L)

4.3 Altres proteïnes

4.3.1 Immunoglobulines

La IgG és la majoritària, al voltant del 70-75% i és una proteïna de 160 kDa.

Les IgA representen un 10-15% de les immunoglobulines i n'hi ha 2 classes. Es secreta en llàgrimes, suor, saliva, llet, bronquis i gastrointestinal i és més resistent a la degradació enzimàtica (contra virus i bacteris).

Les IgM representen un 5-10% de les immunoglobulines i estan al voltant dels 900 kDa.

Hi ha menys d'1% d'IgD i la IgE activa la secreció d'histamina (vasoactiu).

Quan disminueixen les immunoglobulines, pot ser per pèrdua de proteïnes general, dèficit en la síntesi o alteracions congènites.

Augmenten quan hi ha infeccions o en el cas de malalties autoimmunitàries.

Pel que fa als diferents tipus d'immunoglobulines

- Augmenten IgG en les respistes autoimmunes (especialment), hepatitis,...
- Augmenten IgA en les infeccions pell, budell, respiratori, renal...
- Augmenten IgM en les infeccions víriques i de la sang
- Augmenten IgE en l'asma, les al·lèrgies...

4.3.2 Proteïnes del complement

Són un conjunt de 20 proteïnes diferents de síntesi hepàtica. Poden interaccionar seqüencialment amb complexos Ag-Ab i membranes cel·lulars per destruir virus i bacteris. Activades provoquen alliberament histamina (permeabilitat vascular) i agregació plaquetària.

Baixos nivells de proteïnes del complement poden indicar:

- Malnutrició hepàtica
- Lupus
- Artritis reumatoide
- Glomerulonefritis
- Septicèmia

Altres proteïnes plasmàtiques són:

- Inhibidores de proteases
- Ferritina
- Mioglobina: Augmenta en cardiopaties, infart agut...
- Lisozima: Augmenta en tuberculosi, leucèmia...

4.4 Determinació de la proteïna total

Hi pot haver interaccions en l'índex de refracció si hi ha interferència per alts nivells de glucosa i colesterol.

El reactiu de Biuret fa reaccionar grups amino i enllaços peptídics en medi alcalí donant color violeta. Poden interferir la hemòlisi o terbolesa del medi (extracció amb èter).

El reactiu de Folin-Löwry fa reaccionar el fosfomolibdat amb aminoàcids aromàtics com Phe, Tyr o Trp que dóna color blau. És molt més sensible que el Biuret.

Es pot fer servir sense cap colorant, mesurant l'absorbància en l'espectre UV. Aquests mètodes són:

- Warburg i Christian mesuren A 260 i 280 nm. Cal tenir en compte que els àcids nucleics absorbeixen a 260 nm i s'ha de corregir aquest possible efecte. La concentració en [mg/mL] s'obté $factor \cdot A260$.
- El mètode Whittaker i Granum corregeix a 235 nm, ja que hi ha tampons que absorbeixen a 235 nm.

<i>Assay</i>	<i>Range</i>	<i>Comments</i>
Absorbance 280 nm	0.1–3 mg	Affected by aromatic content of protein and by some absorbing detergents, e.g. Tritons. Generally gives only rough estimate.
Absorbance 212 nm	1 μ g–1mg	Depends on absorbance by peptide bond, therefore sensitive and relatively invariable, <i>but</i> subject to substantial interference (e.g. acids).
(Micro) Biuret	0.1–1 mg	Employs peptide bond therefore little variation with protein composition. Turbidity in detergents can be reduced with 1,2-propanediol (82).
Bradford	1–100 μ g	Some variation with protein composition since relies on interaction with amino groups. Detergents can interfere. Variants on this scheme could be more sensitive or useful in some cases (83).
[³ H]Dansyl chloride	0.1–1 μ g	Reactive with amines, phenols, thiols and imidazoles. Sensitive but slow and complex procedure. Some detergents can interfere (84).
Fluorescamine	0.1–50 μ g	Fluorescent on reaction with primary amines under alkaline conditions. Relatively free of interference, simple procedures, rapid results (Roche).
(Micro) Lowry	1–50 μ g	Some variability with proteins, interfering detergents can be solubilized by SDS (79).
Manual ninhydrin	1–50 μ g	No protein variability since proteins are degraded to amino acids. High levels of detergents can interfere. Time consuming (77).
BCA (Pierce)	0.5–50 μ g	Very sensitive, easy to use and relatively free from interference.

FIGURA 1: Assajos per la determinació de proteïna

Un mètode molt usat actualment és el BCA, que és molt sensible.

4.5 Interpretació clínica

[Prot. total] (g/L)

Edat	Dones	Homes
18-30	66-77	70-78
30-65	64-76	69-74

[Albúmina] (g/L)

Edat	Dones	Homes
18-30	42-50	46-50
30-50	41-48	42-49
50-65	40-48	41-49

Transferrina	Prealbúmina	RBP
1.3-4	0.1-0.4	0.035-0.09

	IgG Resposta autoimmune	IgA Infecció pell, renal..	IgM Inf. vírica, malària..	IgE Al·lèrgies (kUI/L)
0-4 dies	7.0-14.8	0-0.033	0.05-0.3	
16-60 anys	6.5-15	0.76-3.9	0.4-3.45	0-380
> 60 anys	6.0-15.6	0.90-4.1	0.3-3.6	
Líquid CSF	0-0.055	0-0.006	0-0.013	
Saliva		0.11		

FIGURA 2: Concentració de proteïnes en plasma

Les causes d'un **augment** de proteïna total:

- Deshidratació o aplicació de torniquets
- Paraproteïnèmia: Augment de globulines, bàsicament.
- Processos inflamatoris crònics

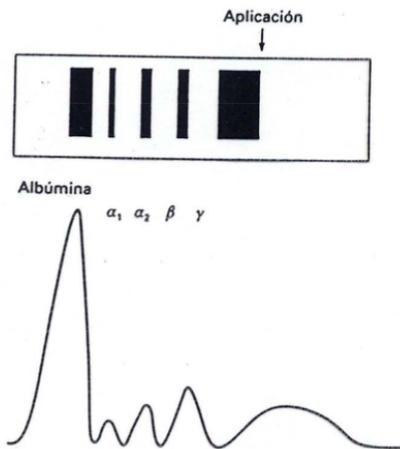
Les causes d'una **disminució** de la proteïna total:

- Sobrehidratació
- Pèrdua de proteïnes per síndrome nefròtica
- Síntesi deficient per l'aportació dietètica (Kwashiorkor, degut a una dieta pobra en proteïnes per un deslletament precoç), malabsorció severa i hepatopatia.

4.6 Fraccionament de proteïnes

- Fraccionament salí amb sulfat d'amoni.
- Fraccionament amb etanol
- Mètodes cromatogràfics (líquid-líquid o HPLC)
- Electroforesi

- En acetat de cel·lulosa es separen les proteïnes per pI i es tenyeix amb negre amido.
- En PAGE, com que s'afegeix SDS les proteïnes migren per mida. Es tenyeix amb blau de Coomassie.



El gel d'electroforesi es quantifica per densitometria. L'àrea per sota de cada pic és proporcional a la quantitat de proteïna. Es poden quantificar l'albúmina i les globulines α , β i γ .

FIGURA 3: Separació de proteïnes del sèrum per electroforesi en acetat de cel·lulosa

Fracció	%	[] g/dL
Albúmina	53.0-67.0	3.2-5.0
Globulines α_1	2.5-5.0	0.1-0.4
Globulines α_2	7.0-13.0	0.6-1.0
Globulines β	9.0-14.0	0.6-1.3
Globulines γ	10.0-21.0	0.7-1.5

FIGURA 4: Percentatges i concentracions de referència de les fraccions proteiques separades per electroforesi en acetat de cel·lulosa

4.6.1 Patrons electroforètics anòmals

- **Hiperproteïnèmia:** pèrdua d'intensitat de bandes (més acusat per l'albúmina)
- **Síndrome nefròtic:** es perden les proteïnes de baix pes molecular i es conserven les d'alt pes molecular
 - Disminueixen l'albúmina i les γ -globulines.
 - Augmenten les α_2 -globulines
- **Proteinúria tubular:** Degut a trastorns renals tubulars que comporten pèrdua de proteïnes. Disminueixen α , β i γ -globulines.
- **Cirrosi:** Augmenta γ -globulines i disminueix l'albúmina (dany hepàtic)

-
- **Reactants de fase aguda:** Augmenten les α_1 (antitripsina i glicoproteïna àcida) i les α_2 (haptoglobina).
 - **Dèficit de Fe:** Augmenta les b_1 (transferrina).
 - **Hipergammaglobulinèmies:** Augmenten les bandes específiques en regió γ corresponent als Abs monoclonals. Es dóna en processos inflamatoris, virals, ...
 - **Paraproteinèmies:** Apareixen bandes molt definides com en el mieloma múltiple o la macroglobulinèmia de Waldenström.

4.7 Mètodes immunològics per la detecció de proteïnes

Es basa en anticossos contra una proteïna en concret.

- Immunodifusió radial /simple o doble en gel d'agarosa
- Immunoelectroforesi
- Immunoturbidimetria: sèrum + Ac específic a 420 nm
- Nefelometria: sèrum + Ab específic (lectura de llum refractada 90°)
- Immunoassaig radioactius o enzimàtics (RIA, ELISA)

5. Hemostàsia i coagulació

5.1 Introducció

5.1.1 Hemostàsia

L'hemostàsia és l'equilibri entre factors anticoagulants i procoagulants. Els mecanismes de control són:

1. Vasoconstricció
2. Hemostàsia primària o formació del trombe plaquetari (blanc)
3. Hemostàsia secundària o coagulació (formació del coàgul de fibrina)
4. Fibrinòlisi o trencament del coàgul de fibrina

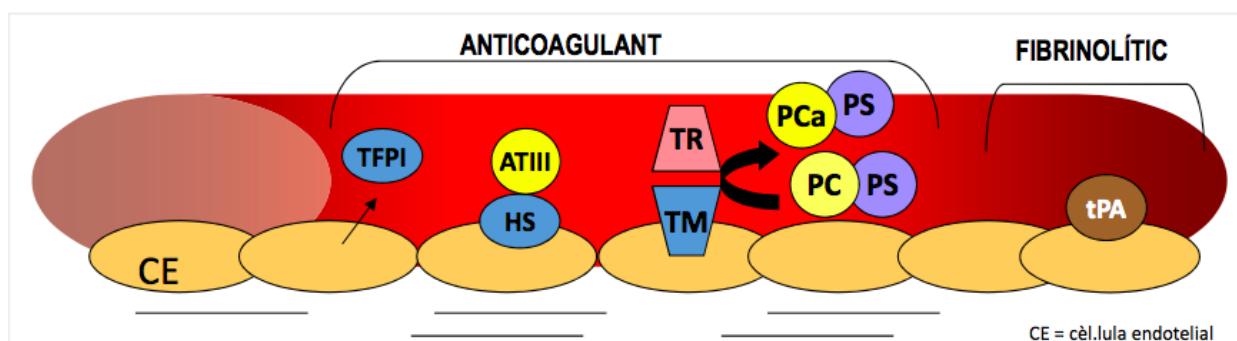
Les característiques d'aquesta resposta són:

- Resposta ràpida i temporal
- No ha d'ocluir la llum del vas lesionat
- Localitzada al lloc de la ferida
- Resistent al flux sanguini per tal d'evitar tromboembolismes

5.1.2 Paper de la cèl·lula endotelial

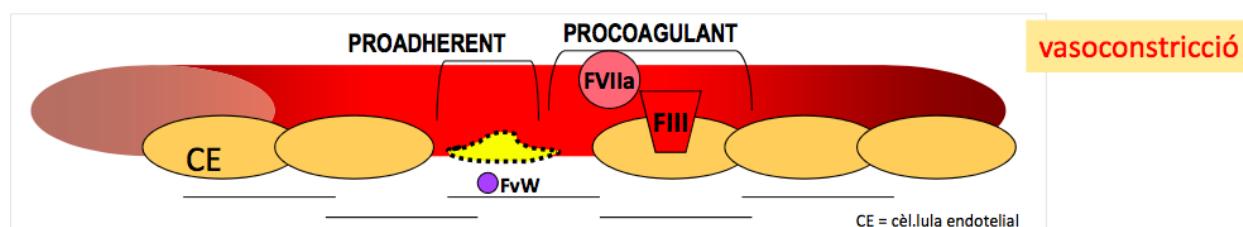
Les cèl·lules endotelials no pertorbades tenen efectes anticoagulants i fibrinolítics:

- Anticoagulants: per la producció de:
 - *Tissue factor pathway inhibitor* que forma part de la via extrínseca.
 - Heparansulfats que activen l'antitrombina III.
 - Trombomodulina: la qual unida a la trombina activa les proteïnes inhibidores de la coagulació, la proteïna C i la proteïna S.
- Fibrinolítics: degut a la protecció de *tissue plasminogen activator* (tPA).



Quan es pertorben les cèl·lules endotelials es produeixen efectes proadherents de plaquetes i procoagulants. Quan es trenca la paret d'un vas, s'exposa el subendoteli el qual expressa el factor de von Willebrand.

- Proadherents de plaquetes: per exposició del factor de von Willebrand (FvW) subendotelial.
- Procoagulants: per contacte del factor VIIa de coagulació circulant amb el factor III de coagulació tissular, el qual és produït per cèl·lules endotelials estimulades per endotoxines o citocines i per cèl·lules subendotelials del múscul llis constitutivamente.



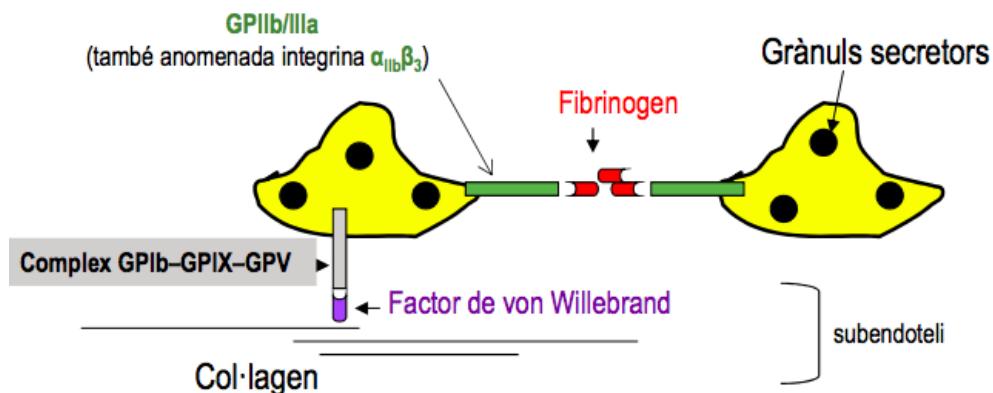
5.2 Hemostàsia primària

Quan l'endoteli es danya, s'exposa el teixit connectiu subjacent i s'hi adhereixen les plaquetes i es forma un trombe blanc. En paral·lel s'activa la hemostàsia secundària. S'alliberen factors de coagulació de plaquetes, cèl·lules danyades i del plasma (calci, vitamina K).

Les plaquetes són fragments citoplasmàtics dels megacariòcits, anucleats i rics en vesícules secretores, els quals es formen a la medul·la òssia i passen a circulació. Presenten glicoproteïnes (GP) inserides en la membrana que els permeten establir contactes entre elles i amb el subendoteli. A mesura que les plaquetes envelleixen, es fan més petites.

Típicament, les plaquetes tenen una forma arrodonida. Quan les plaquetes s'activen, adquireixen una forma estrellada.

Per tal que la plaqua s'uneixi al factor de von Willebrand, expressa glicoproteïnes tipus integrina i altres. El complex GPIb-GPIX-GPV s'expressa en plaquetes i uneix FvW. Un cop les plaquetes s'uneixen al FvW, les integrines plaquetàries GPIIb/IIIa s'uneixen al fibrinogen circulant. El fibrinogen pot fer de pont entre 2 integrines que estan en plaquetes diferents.



Els factors més importants que alliberen les plaquetes són ADP, serotonina, TXA2. El ADP, tromboxà, vWF reforcen la senyalització que activa a les plaquetes circundants i fa que es tornin més adherents permetent la agregació plaquetària. El tromboxà, la serotonin activen la vasoconstricció local que produceix i manté la contracció de la musculatura llisa vascular amb el que es disminueix el flux sanguini pel vas lesionat.

Els inhibidors de la funció plaquetària:

- **Aspirina:** l'àcid acetilsalicílic inhibeix la producció de TXA2 a partir d'àcid araquidònic en inactivar irreversiblement l'enzim ciclooxygenasa (COX). Després que el tractament amb aspirina s'atura, l'activitat de l'enzim retorna a mida que noves plaquetes s'incorporen a la circulació (la taxa diària de regeneració és d'aproximadament un 10%). Inhibeix l'agregació plaquetària.
- Els **àcids grassos omega 3** de la dieta o suplements dietètics: competeixen amb l'àcid araquidònic com a substrats per la COX i produueixen TXA3 que és biològicament inert.

La trombina també contribueix a l'activació de les plaquetes.

5.2.1 Patologies relacionades amb l'hemostàsie primària

Poden ser:

- **Origen vascular:** La paret vascular pot estar afectada per falta de resistència o impermeabilitat o manca de constricció. La vitamina C és crucial pel bon manteniment. Un síntoma és el sagnat de les genives.
- **Origen plaquetari:**
 - En el nombre:
 - * Baixa producció
 - * Distribució patològica: acumulació a la melsa causant esplenomegàlia
 - * Destrucció per malalties autoimmunes
 - En la funcionalitat

- * Adquirides: intoxicació per aspirina
- * Hereditàries:
 - Deficiència al factor de von Willebrand
 - Deficiència en glicoproteïnes de membrana plaquetària:
 - Gens de GPI α , GPIX, GPI β : Síndrome de Bernanrd Soulier (vWF)
 - Gens del sistema IIb-IIIa: Síndrome de Glanzmann (fibrinogen)
 - Deficiència en la formació de grànuls: Síndrome gris de la plaqueta i altres.

5.2.1.1 Malalties hereditàries de deficiència plaquetària

Poden ser degudes a:

- Deficiència del factor de Von Willebrand (Malaltia de Von Willebrand)
- Anormalitats de les plaquetes
 - Anormalitats dels receptors de proteïnes adhesives
 - * GPIb-IX-V complex (síndrome de Bernard-Soulier (SBS)*, platelet-type von Willebrand disease*)
 - * GPIIb-IIIa (α IIb β 3; malaltia de Glanzmann)
 - * GPIa-IIa (α 2 β 1)
 - * GPVI
 - * GPIV
 - Anormalitats dels receptors d'agonistes solubles
 - * Receptor del Tromboxà A2
 - * Receptor P2Y12 (ADP)
 - * Receptor α 2-adrenèrgic
 - Anormalitats dels grànuls plaquetaris
 - * δ -grànuls (d-storage pool deficiency, Hermansky-Pudlak syndrome, Chediak-Higashi syndrome, thrombocytopenia with absent radii syndrome*)
 - * α -grànuls (Gray platelet syndrome*, ARC syndrome*, Quebec platelet disorder*, Paris-Trousseau-Jacobsen syndrome*)
 - * α - i δ -grànuls (α , δ -storage pool deficiency)
 - Anormalitats de les vies de transducció de senyal
 - * Defectes primaris de secreció
 - * Anormalitats de la via de l'àcid araquidònic/tromboxà A2

-
- * Deficiència en $G\alpha q$
 - * Deficiència parcial selectiva de PLC- $\beta 2$
 - * Defectes en la fosforilació de pleckstrin
 - * Defectes en la mobilització de Ca^{2+}
 - Anormalitats del citoesquelet
 - * Desordres relacionats amb MYH9 (May-Hegglin anomaly, Sebastian syndrome, Fechtner syndrome, Epstein syndrome)*
 - * Wiskott-Aldrich syndrome*
 - * X-linked thrombocytopenia*
 - Anormalitats dels fosfolípids de membrana
 - * Scott syndrome

* Aquests desordres es presenten normalment amb trombocitopènia a més dels la disfuncionalitat.

5.2.1.2 Trombocitosi

Hi ha un elevat nombre de plaquetes, que pot ser per causes:

- **Primàries:** Per trastorns mieloproliferatius. Les cèl·lules dins de la medul·la òssia produueixen més plaquetes: trombocitèmia essencial o altres policitèmies (en les que també incrementen altres cèl·lules sanguínies).
- **Secundàries:** deguda a:
 - Infeccions
 - Malalties inflamatòries
 - Pèrdua de sang (la medul·la òssia respon incrementant la producció cel·lular)
 - Dany tissular per trauma o cirurgia
 - Alguns fàrmacs
 - Melsa inactiva o esplenectomia

5.2.2 Tests per avaluar la hemostàsia primària

5.2.2.1 Fragilitat capil·lar

Es fa servir el mànec de l'aparell per mesurar la pressió arterial o esfigmomanòmetre i es col·loca al voltant de la part superior del braç. S'infla fins a una pressió més o menys entre la sistòlica i la diastòlica de la persona (potser 100 mm Hg) i es deixa posat durant 4 a 6 minuts.

En una prova positiva, apareixen nombrosos punts vermells petits (petèquies) a la pell per sota del mànec. Aquestes petèquies són conseqüència de la fragilitat capil·lar.

En una àrea de 5 cm^2

- 0 a 10 = 1+
- 10 a 20 = 2+
- 20 a 50 = 3+
- 50 o més petèquies = 4+

L'examen de fragilitat capil·lar no és específic per l'escorbut.

5.2.2.2 Temps de sagnia

Es practica un tall de dimensions estandarditzades en el teixit subcutani (afecta a capil·lars) i es mesura el temps que tarda en bloquejar-se l'hemorràgia.

- Tècnica de Duke: tall a l'orella ($t < 3$ minuts).
- Tècnica d'Ivy: tall en l'avantbraç ($t < 6$ minuts).

El temps de sagnia depèn del número i funció de les plaquetes, la concentració de fibrinogen i la funció del vas, a part de les característiques del tall.

5.2.2.3 Recompte de plaquetes

Recompte de plaquetes al microscopi en cambra de recompte o en comptador automatitzat.

- $< 150 \times 10^9 / \text{L}$ Trombocitopènia asimptomàtica
- $< 50 \times 10^9 / \text{L}$ Hemorràgies espontànies

5.2.2.4 Mida de les plaquetes

La grandària de les plaquetes es pot observar en una pel·lícula de sang perifèrica.

- Volum normal: 7 - 10 fL
- Diàmetre normal: $2 \mu\text{m}$.

Un increment en el recanvi està associat a major volum, perquè les plaquetes recent formades a la medul·la òssia són més grans i la seva mida disminueix mentre envelleixen circulant en sang.

Les plaquetes grans també s'observen en algunes malalties genètiques com la síndrome de Bernard-Soulier.

A la síndrome de Wiskott-Aldrich les plaquetes són més petites del normal.

	Vasculopatia	Trombocitopenia	Trombopatia	Coagulopatia
Fragilitat	+	+	+	Normal
T sangria	Alt	Alt	Alt	Normal
Recompte	Normal	Baix	Normal	Normal

5.2.2.5 Temps d'agregació plaquetària

Es mesura la capacitat d'agents per induir l'activació i agregació de les plaquetes: la velocitat i magnitud.

Es tracta la sang amb citrat, el citrat quilarà el Ca. Es centrifuga la sang a baixes revolucions. Al sobredenant quedaran les plaquetes i s'afegeixen diferents elements (ADP, collagen, ristocetin, arauidonat) que induceixen l'agregació plaquetària i es monitora l'absorbància. A mida que les plaquetes s'agregen, la intensitat de llum que travessa la mostra és superior. Es deixa una alíquota sense addició d'agent activador per valorar l'agregació espontània.

El significat diagnòstic és el següent:

- L'agregació està disminuïda quan les plaquetes són disfuncionals.
- La resposta als agents agregants és diferent segons l'origen de la disfunció.

Una resposta deficient a ristocetin i normal a altres agonistes indica deficiència en el complex GPIb-IX-V (síndrome de Bernard-Soulier) a les plaquetes o en el factor de von Willebrand (FvW) a plasma. La resposta a araquidonat està disminuïda en la intoxicació per aspirina.

5.3 Hemostàsia secundària/Coagulació proteica

El trombe blanc és inestable. Intervenen factors proteics, Ca, vitamina K.

5.3.1 Proteïnes i factors de coagulació

Els factors proteics poden ser zimògens activats per Serina proteases. La major part dels factors de coagulació es sintetitzen al fetge.

- Factor III, *tissue factor* o tromboplastina es produeix al teixit danyat i a les plaquetes activades.
- El Factor IV o Ca ve dels ossos, de la dieta, de les plaquetes.

-
- Factor VIII: plaquetes i cèl·lules endotelials. La deficiència produeix hemofília.
 - Factor XVI o de von Willebrand: plaquetes i subendotelii.

Els co-factors són el III (VIIa), el V (pro-trombinasa), el VIII (tenasa), el factor XV (XI, XII) i la proteïna S.

Factor IX dóna hemofília B, factor XI dóna hemofília C.

5.3.2 Cascada de coagulació

Hi ha 2 vies d'activació de la trombina:

- Intrínseca: El dany del vas activa zimògens, que convergeixen al factor X.
- Extrínseca: El trauma activarà el tissue factor, i s'activarà el factor X.

Intervenen Ca i fosfolípids de la superfície de les plaquetes.

El factor Xa i Va, que juntament amb fosfolípids i Ca formen el complex de la pro-trombinasa (activa la protrombina a la trombina).

El factor X s'activa per la tenasa. Hi ha dos complexes de tenasa:

1. VIIa i TF formen el complex de la tenasa extrínseca
2. IXa i VIIIa formen el complex de la tenasa intrínseca. Intervé el vWF, que estabilitza el factor VIII.

La via principal és l'extrínseca. La via intrínseca no és la més important en la iniciació de la coagulació. El complex de la tenasa extrínseca activa el factor IX, que activa la tenasa intrínseca.

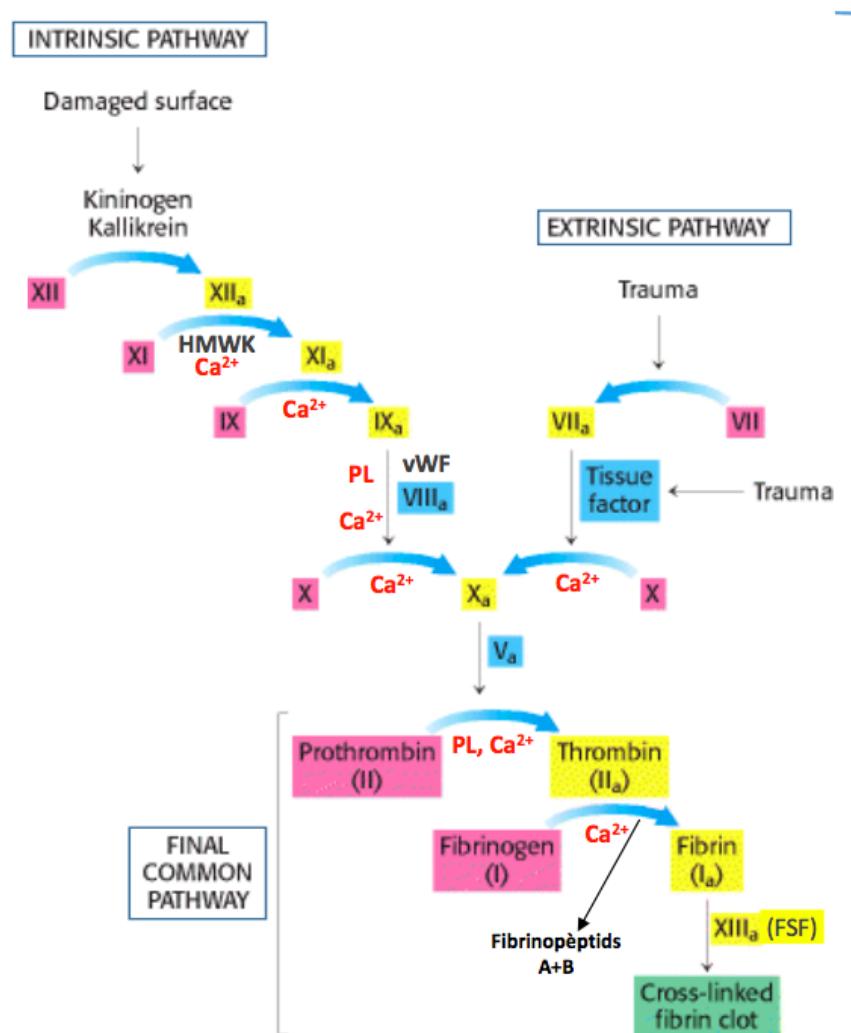


FIGURA 5: Visió clàssica de la cascada de coagulació

5.3.3 Tipus de factors de coagulació i mecanismes d'activació

Els factors de coagulació poden ser:

- Zimògens: II, IX, X, XI, XII, XIII
- Acceleradors: V, VII, VIII
- Co-factors: Ca²⁺, PL, vitamina K

5.3.3.1 Vitamina K

La vitamina K és liposoluble. Hi ha dues formes naturals, la vitamina K1 (filoquinona) que és abundant en vegetals verds i cereals i la vitamina K2 (menaquinona) produïda per bacteris en aliments fermentats i flora intestinal. Les formes sintètiques són les vitamines K3, K4 i K5.

Al fetge hi ha la epòxid reductasa que recicla la vitamina K oxidada i la redueix. La reducció és necessària per carboxilar factors de coagulació. El Ca s'uneix a aquests factors gamma-carboxilats. El Ca fa de pont entre fosfolípids i factors de coagulació.

La vitamina K (forma reduïda) és necessària per l'activitat de l'enzim γ -glutamil carboxilasa que transforma els residus de glutamat en γ -carboxiglutàmic que és un lloc d'unió per calci i necessari per la correcta funcionalitat de diversos factors de coagulació.

La deficiència en vitamina K és estranya, té lloc en malalties intestinals que impedeixen l'absorció o tractaments llargs amb antibiòtics. La vitamina K a dosis farmacològiques s'utilitza per tractar les deficiències i té també efectes beneficiosos en l'osteoporosi i càncer.

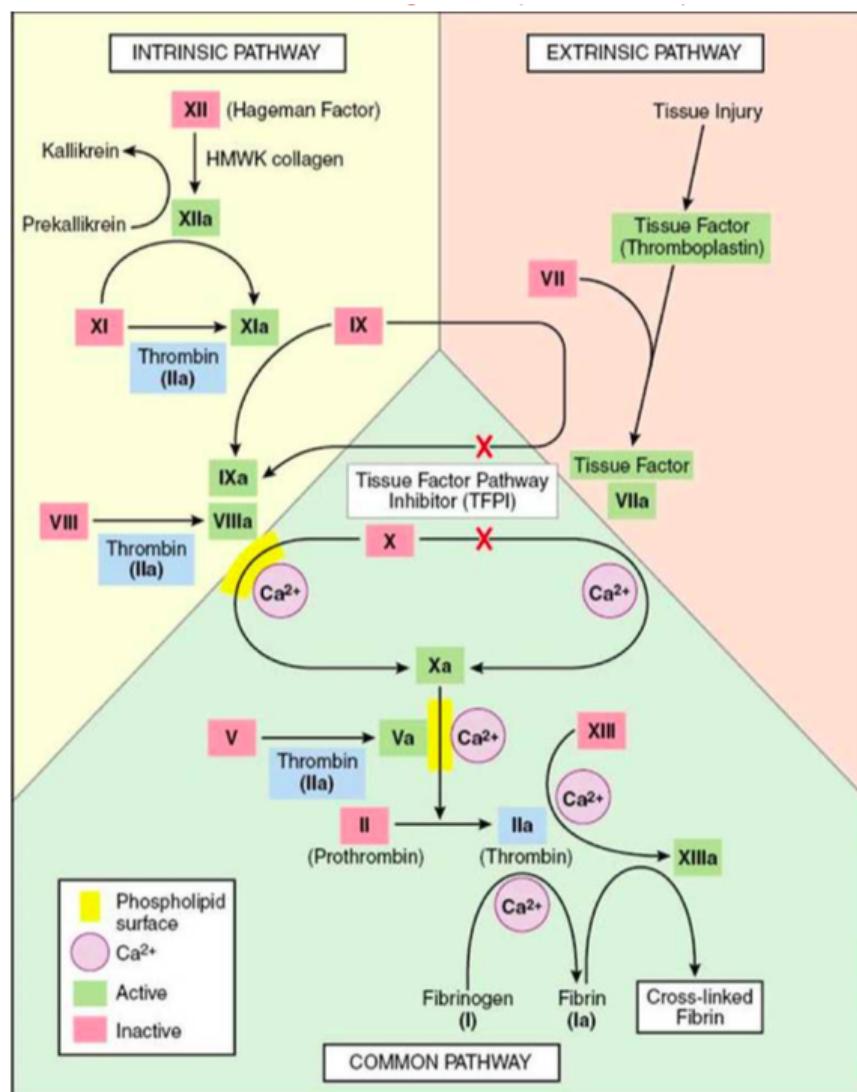
Diversos anticoagulants orals com la warfarina o el Sintrom actuen per bloqueig de la reducció i per tant reciclatge i disponibilitat de la vitamina K.

5.3.4 Visió actual de la coagulació

Hi ha circuits d'activació i inhibició per feedback. El factor XIII s'entrecreua amb la fibrina i estabilitza el coàgul.

Es sintetitza com a prepro-protrombina. Hi ha una proteòlisi que elimina el pèptid senyal. Després, la pro-protrombina és dependent de vitamina K. S'elimina el propèptid i finalment la protrombina pateix proteòlisi i genera la trombina.

Després de la iniciació de la cascada, el senyal es propaga i s'amplifica.



5.3.5 Formació del coàgul proteic

El fibrinogen és una proteïna soluble per la presència de pèptids rics en aminoàcids ionitzables que creen repulsió intermolecular. La hidròlisi d'aquests pèptids (per trombina) genera la fibrina amb alta capacitat d'agregació.

El procés finalitza amb l'establiment d'enllaços intermoleculars en la fibrina per acció del factor XIIIa (FSF: Fibrin-Stabilizing Factor).

La coagulació proteica consolida el trombe plaquetari.

5.3.6 Inhibició fisiològica de la coagulació

1. L'antitrombina (AT) s'uneix a la trombina o al factor Xa per un enllaç covalent i les inhibeix irreversiblement. Els complexos són eliminats pel fetge. AT és capaç d'inhibir totes les proteases activades durant la coagulació, encara que a un menor grau. L'AT és d'origen hepàtic.
2. La unió de la trombina al seu receptor trombomodulina (TM) permet la conversió de la proteïna C en proteïna C activada. La proteïna C activada s'uneix a la proteïna S i formen un complex que degrada els factors Va i VIIIa. Les proteïnes C i S són produïdes pel fetge.
3. Els productes de degradació de la fibrina (PDFs) inhibeixen la trombina.
4. TFPI (tissue factor pathway inhibitor) produït per les cèl·lules endotelials, inhibeix al factor Xa i la trombina.

5.4 Fibrinòlisi

El sistema fibrinolític dissol els coàguls petits i inadequats i també els que estan localitzats en llocs danyats un cop el vas sanguini s'ha recuperat. La dissolució del coàgul s'anomena fibrinòlisi.

Quan es forma un coàgul, s'hi incorpora el plasminogen. Tant els teixits del cos com la sang contenen substàncies capaces d'activar el plasminogen en plasmina o fibrinolisina, que és l'enzim plasmàtic actiu. Entre aquestes substàncies estan la trombina, el factor XII activat i l'activador tissular del plasminogen (t-PA9), sintetitzat per les cèl·lules endotelials de la major part dels teixits i s'allibera a la sang. El plasminogen també es pot activar per la uroquinasa (uPA). Un cop es forma la plasmina, pot dissoldre el coàgul dirigint la fibrina i inactivant substàncies com el fibrinogen, la protrombina i els factors V i XII.

Encara que la trombina té un efecte de retroalimentació positiva sobre la coagulació, aquesta queda limitada al lloc del dany. El coàgul no s'estén més enllà de la ferida cap a la circulació sistèmica, en part perquè la fibrina absorbeix a la trombina. Una altra raó per la limitació és que, donada la dispersió d'alguns dels factors de coagulació en la sang, les seves concentracions no són suficientment elevades com per provocar una coagulació disseminada.

A més; hi ha substàncies que retarden, suprimeixen o impedeixen la coagulació. La proteïna C activada (PCA) és un anticoagulant que inactiven els dos factors majoritaris no bloquejats per l'antitrombina i potencia l'activitat dels activadors del plasminogen.

5.4.1 Patologies relacionades amb la coagulació i la fibrinòlisi

5.4.1.1 Dèficits congènits en factors de coagulació. Hemofílies

La deficiències en el factor XII són asimptomàtiques. Les deficiències en els altres factors de coagulació plasmàtics són causa d'hemorràgies espontànies o post-traumàtiques. Són malalties autosòmiques recessives excepte les dels factors VIII, IX i vWF de tipus 1 i 2. Les deficiències més prevalents són:

- Hemofília A (factor VIII), el 45% és per inversió del gen.
- Hemofília B (factor IX)
- Malatia de von Willebrand -vWD -(vWF), varis subtipus

Les hemofílies A i B, clínicament indistingibles, presenten herència recessiva lligada al cromosoma X. Es manifesten en homes i en dones homozigots. Les dones heterozigotes poden tenir manifestacions lleus de la malaltia (per inactivació aleatòria del cromosoma X normal amb mosaic d'expressió del cromosoma X molt desfavorable). El factor de von Willebrand s'uneix al factor VIII i el concentra en els llocs de l'hemostàsia; també ajuda a que les plaquetes s'adhereixin a les parets dels vasos sanguinis i a que s'adhereixin entre elles. Els tipus 1 i 2 de vWD presenten herència autosòmica dominant, la del tipus 3 és autosòmica recessiva.

El tractament es fa per teràpia substitutiva del factor deficient (FVIII recombinant, plasma enriquit...).

Un altre dèficit congènit és el de fibrinogen.

A més de les hemofílies, hi ha altres dèficits no congènits; que són alteracions secundàries o adquirides:

- Insuficiència hepàtica
- Dèficit de vitamina K
- Dèficit de Ca^{2+}

5.4.1.2 Hipercoagulabilitat

La hipercoagulabilitat és la formació excessiva o en un lloc erroni de coàguls vasculars (trombosi). El tromb que es desplaça a un altre punt del sistema vascular on s'ha originat és un èmbol i pot obstruir el vas causant tromboembòlia.

Pot tenir diferents orígens:

- **Lesió endotelial:** s'exposa el subendotel i la inflamació que fa que les citoquines estimulin la producció del factor III.

-
- Traumatismes
 - Cirurgia
 - Aterosclerosi
- **Factors hemàtics:** Augment de la viscositat de la sang
 - Elevació de plaquetes (trombocitosi), eritròcits (policitèmia) o factors de coagulació.
 - Hiperreactivitat de les plaquetes (adhesió, agregació i activació incrementades).
 - **Alteració dels factors de coagulació**
 - Deficiència congènita en antitrombina III, proteïna C o S.
 - Disfibrinogenèmia o displasminogenèmia.
 - Polimorfisme del Factor V (Arg506->Gln, Factor V Leiden) que resulta en inactivació alentida per la proteïna C activada.
 - Síndrome antifosfolípid, degut a la presència d'anticossos que uneixen fosfolípids de la membrana cel·lular i estimulen la formació del coàgul. Aquests anticossos *in vitro* tenen l'efecte contrari, alenteixen APTT i per això s'anomenen Lupus anticoagulant.
 - Increment de PAI-1 que impedeix la fibrinòlisi.
 - Disminució de tPA o d'altres activadors del plasminogen.
 - **Descompensació en tractaments antihemorràgics**
 - **Factos hemodinàmics:** Fluc circulatori lent.
 - Sedentarisme
 - Dilatacions venoses (varius) per embaràs, edat, estrògens...
 - Compressions venoses (postura, mitjons, origen tumoral,...)
 - Cardiopaties

La coagulació disseminada intravascular (DIC) és una activació patològica de la coagulació que forma petits coàguls de sang dins dels vasos sanguinis en tot el cos i consumeix els components de la coagulació. Es produeix en resposta a la presència de tòxics a la sang, infeccions, traumes o càncer.

5.4.2 Tests per avaluar la coagulació i la fibrinòlisi

El **temps de coagulació** és una prova que es fa en plasma citratat i sense plaquetes i mesura el temps de formació del coàkul de fibrina per espectrofotometria o altres tècniques.

- **APTT o PTT:** S'addiciona Ca^{2+} (CaCl_2), caolí (mineral) que activa el sistema de contacte, i cefalina (fosfolípid). S'anomena també test de la cefalina per això. Mesura la via intrínseca. Els valors normals són de 25-40 segons. S'usa per diagnosticar trastorns d'hemorràgia i per monitoritzar la teràpia amb heparina.
- **Temps de trombina:** S'addiciona trombina. Mesura l'absència o alteració de fibrinògen o bé la presència d'anticoagulants tipus antitrombina.
- **Temps de reptilasa:** S'addiciona reptilasa (activitat similar a trombina però resistent a la inhibició per heparina o PDFs). Avalua la funcionalitat del fibrinogen i efectors antitrombina. La reptilasa es purifica del verí de la serp *Bothrops atrox*, actua separant el fibrinopèptid A del fibrinogen i deixa el fibrinopèptid B.
- **Temps de Quick:** S'addiciona Ca^{2+} (CaCl_2) i factor III (tromboplastina, TF). Mesura la via extrínseca. El temps normal és de 10-15 segons. S'usa per avaluar els trastorns de coagulació. Serveix per monitoritzar els tractaments amb warfarina i Sintrom.

L'International normalized ratio (INR), per estandarditzar variacions degudes a diferents activitats dels lots de FIII. La dosi del fàrmac s'ajusta per mantenir l'INR en els valors de referència. A l'inici del tractament, el monitoratge i control de la coagulació és més freqüent i a mesura que els nivells de coagulació s'han estabilitzat els controls s'aniran espaiant en el temps (3-4 setmanes).

- **Temps de coagulació (test de barreja):** Test realitzats en plasma citratat i utilitzats per distingir entre deficiències de factors i presència de factors inhibidors (Lupus anticoagulants o anticossos específics contra factors). Es barreja el plasma del pacient 1:1 amb un plasma normal que conté 100% del factor. El factor es trobarà per tant a una concentració superior 50% en la barreja.
 - Normalitzat: Que el temps de coagulació es corregeixi amb la barreja de plasmes indica deficiència de factor.
 - No normalitzat: La manca de correcció del temps de coagulació amb la barreja de plasmes indica presència d'un inhibidor.

Les proves de fibrinòlisi es basen en el temps de lisat:

- **Titulació de productes de degradació del fibrinogen (PDF):** Els PDFs inhibeixen la trombina. Es realitza amb partícules de làtex que porten un anticòs específic. Si augmenten aquests productes vol dir hi ha més fibrinogenòlisi, fibrinòlisi o ambdues.

-
- **Temps de lisi del coàgul de fibrina:** Es realitza amb sang coagulada (o plasma) en un tub de vidre a 37°C. La lisi no s'ha de produir abans de 4h.
 - **Temps de lisi d'eoglobines (ELT):** Es precipiten les eoglobines (fibrinogen, PAI-1, tPA, plasminogen, α 2-antiplasmina, FVIII) a pH 5,2 (acètic) d'un plasma citratat. Es resuspenen i es coagulen amb CaCl₂ a 37°C. Es mesura el temps fins a la desaparició del coàgul superior a 180 min, en intervals de 10 min. També es pot mesurar espectrofotomètricament.

5.4.3 Tractament antitrombòtic

Els tractaments afecten diversos nivells de la hemostàsie:

- **Fibrinolítics o trombolítics** (degraden directament el trombe)
 - Convencionals: estreptoquinasa o uroquinasa
 - De nova generació: tPA, prouroquinasa, ...
- **Antiagregants o antiplaquetaris:** aspirina, tifusal, dipiridamol, ...
- **Anticoagulants**
 - *Heparines:* vigilar si les heparines produueixen trombocitopènia. El control hemostàtic es duu a terme per APTT (Tiems de tromboplastina parcial).
 - *Antivitamines K:* Disminueixen el factor II, VII, IX i X.
 - * Varfaran: warfarina sòdica; Sintrom: acenocumarina
 - * Controls imprescindibles INR (Ratio Internacional Normalitzat)
 - INR = TQpacients/TQcontrol (Test de Quick)
 - 1.6 < INR < 2.5
 - INR < 1.6: S'ha d'augmentar la dosi
 - INR > 2.5: S'ha de disminuir la dosi

6. Hemoglobina i ferro

6.1 La hemoglobina

La hemoglobina és una proteïna globular que dona la coloració vermella de la sang. Responsable del transport de O₂. Té un pes de 64,45 kDa.

Els nivells normals són de 16g/100 mL en homes i de 14g/100 mL en les dones.

Un home de 70 kg té 900 g d'hemoglobina. El bescanvi d'hemoglobina és de 0,3 g/h (sintetitzats i destruïts).

Classificació de les malalties relacionades amb la hemoglobina:

- Reaccions de l'hemoglobina
 - Metahemoglobinèmia hereditària
- Síntesi de la globina
 - Hemoglobinopaties estructurals
 - * Anèmies drepanocítiques
 - * Metahemoglobinèmia congènita
 - * Eritrocitosis (alterada afinitat per O₂)
 - Talassèmies (hemoglobines alterades)
 - * α -talassèmies
 - * β -talassèmies
- Síntesi i degradació del grup hemo
 - Porfíries agudes
 - * Porfíria aguda intermitent
 - * Coproporfíria hereditària
 - * Porfíria variegata
 - Porfíries no agudes
 - * Porfíria eritrohepàtica (eritropoiètica)
 - * Porfíria eritropoiètica congènita
 - * Porfíria congènita (Intoxicació per plom)
- Alteracions del metabolisme del ferro

- Anèmia ferropènica (manca de ferro)
 - * Pèrdua crònica de sang
 - * Ingesta inadequada de ferro
- Anèmia sideroblàstica (mala utilització del ferro)
- Hemocromatosis (sobrecàrrega de ferro)

6.1.1 Estructura

Hi ha 6 tipus de globines, que en la seva combinatòria generen els diferents tipus d'hemoglobina que trobem en humans. Aquests tipus són: α , β , γ , δ , ϵ , ζ .

La hemoglobina és un heterotetràmer $\alpha_2\beta_2$ en adults. Presenta cooperativitat amb l'oxigen. També té al·losterisme amb el 2,3-difosfoglicerat, un intermediari de la glicòlisi que només es troba en eritròcits. Això facilita l'alliberació d'oxigen als teixits.

Es sintetitza als reticulòcits (eritròcits immadurs).

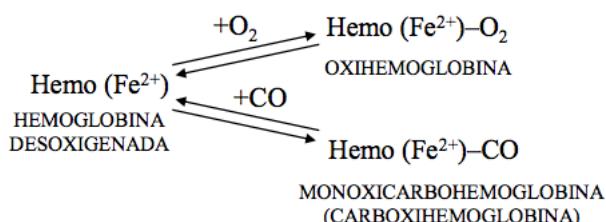
La hemoglobina presenta diferents subunitats segons l'estadi de desenvolupament de l'individu:

- Adult:
 - Hemoglobina A1 ($\alpha_2\beta_2$)
 - Hemoglobina A2 ($\alpha_2\delta_2$)
- Fetal: Cadenes $\alpha_2\gamma_2$
- Embrió:
 - Grower I: $\zeta_2\epsilon_2$
 - Grower II: $\alpha_2\epsilon_2$
 - Portland: $\zeta_2\gamma_2$

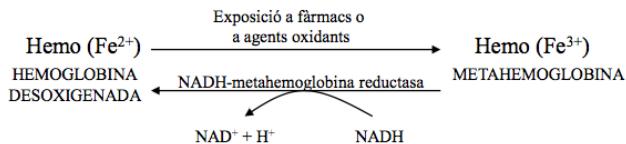
Hi ha 2 loci d' α -globina al cromosoma 16 i un locus de β -globina al cromosoma 11.

6.2 Trastorns deguts a reaccions de l'hemoglobina

La carboxihemoglobina presenta menys afinitat per l'hemoglobina.



Molt fàrmacs o agents oxidants poden provocar la formació de metahemoglobina (amb Fe_3^+), que mitjançant la NADH-metahemoglobina reductasa la torna a reduir.



La metahemoglobinèmia hereditària és una deficiència en NADH-metahemoglobina reductasa. El Fe del hemo s'oxida en 25 % a Fe_3^+ . Es manifesta amb cianosi (coloració fosca a la pell). Es tracta amb fàrmacs que redueixin la metahemoglobina. És una malaltia molt greu.

6.3 Trastorns a la síntesi de la globina

6.3.1 Hemoglobinopaties estructurals

Les mutacions perjudicials desapareixen, però les altres poden sobreviure (els heterozigots resisteixen més que els homozigots). Algunes mutacions són innòcues.

6.3.1.1 Hemoglobina S. Anèmia drepanocítica

Es dóna un canvi d'aminoàcid Glu->Val a la cadena beta. És insoluble a baixes pressions de O_2 . Els glòbuls vermells presenten una morfologia falciforme. Quan està desoxigenada, la hemoglobina es polimeritza i es deformen els eritròcits. Els heterozigots presenten poques vegades símptomes greus

Es va originar a Africa i confereix resistència a la malària. La presenten un 40 % de la població africana i un 10% dels negres americans.

La Hb pot polimeritzar formant fibres de 3000 Å. Hi ha cicles successius de forma de falç i normal. La forma de falç es trenca als capil·lars per falta de flexibilitat. L'anèmia s'agreua amb oxidants.

Altes concentracions d'HbS d'afinitat baixa per O_2 no donen cap problema fins l'administració d'un agent oxidant.

L'anèmia és menys severa si és dependent d'HbF. Els pacients tendeixen a augmentar la proporció d'HbF en l'adult. Els homozigots d'Orient Mitjà són asimptomàtics ja que tenen un 18% d'HbF.

El diagnòstic es fa per electroforesi de la hemoglobina o per examen microscòpic d'un frotis de sang.

Encara no hi ha tractament, encara que hi ha fàrmacs en estudi. La profilaxi es basa en una bona nutrició i higiene, contra la malària. En cas d'infecció, s'actua sobre l'agent infeccios. Si es fa una transfusió quan es dona la primoquina ja que és oxidant i es pot agreujar l'anèmia.

6.3.1.2 Hemoglobinopaties inestables

S'han descrit més de 100 hemoglobinopaties. Es produeix la formació de cossos d'inclusió intraeritrocítics (cossos de Heinz), que són precipitacions d'hemoglobina. Consisteix en una sèrie de petites granulacions que se situen a la perifèria dels hematies. Es produeix en malalties congènites.

Hemoglobina	Posicions de la cadena β de la hemoglobina									
	1	2	3	6	7	26	63	67	121	146
A (normal)	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	His	Val	Glu	His
S (de cèl.lules falciformes)				Val						
C				Lys						
G San José					Gly					
E						Lys				
M Saskatoon							Tyr			
M Milwaukee								Glu		
O Arabia									Lys	

FIGURA 6: Composició parcial en aminoàcids en la cadena β humana normal i algunes hemoglobines amb cadenes β anormals. Altres hemoglobines tenen cadenes α anormals.

6.3.1.3 Eritrocitosis

Alteració en l'afinitat per O_2 . En casos lleus no requereix farmacologia. L'afinitat és més alta degut a canvis que eviten la unió de 2,3-difosfoglicerat. Es produeix una hipòxia lleu (augment d'eritròcits).

6.3.1.4 Metoglobinèmia

Alteració en l'afinitat per O_2 . Augmenta la metoglobinina (que és hemoglobina amb Fe^{3+}). Els eritròcits perden la capacitat de transportar O_2 i produeix cianosi.

Ens podem trobar:

- Metoglobinèmia adquirida: Producida per fàrmacs, oxidants...
- Metoglobinèmia congènita: Per deficiència de la citocrom-b5-reductasa o en presència d'hemoglobina M.

Hi ha Hb inestables, com la M que s'oxiden molt fàcilment a Fe^{3+} . Hi ha 5 tipus d'hemoglobina M, són mutacions al centre de la unió de la globina al grup hemo. No hi ha afectació en heterozigosi. L'homozigositat hauria de ser letal però no ho és.

Les manifestacions clíniques són:

- Cianosi amb 1.5-2 g d'HbM (malaltia congènita del cor hi ha cianosi amb 5g d'Hb desoxigenada/100 mL).
- Cianosi en el naixement en HbM de cadena alfa.

-
- Cianosi als 6 mesos si el defecte està en *beta*.
 - És convenient fer el diagnòstic per descartar cianosi d'origen cardíac, que és molt greu.

6.3.2 Talassèmies

Són malalties en les que hi ha deficiència de globina, la poca que hi ha és normal. Les causes són:

- Deleció gènica
- Defectes en el processat de RNA
- Mutacions sense sentit
- Mutacions stop

Les β -talassèmies són més greus perquè només hi ha un locus gènic de cadena β -globina.

6.3.2.1 β -Talassèmies

La síntesi de la cadena β està disminuïda o és nul·la. No està alterada la síntesi de la cadena α .

- β^0 -talassèmia: No hi ha síntesi de cadena β de la globina (augmenta la HbA_2). En homozigots, la HbF i HbA2 està augmentada; tenen anèmia microcítica hipocròmica i els eritròcits tenen mida i forma normals. Els heterozigots són asimptomàtics.
- β^+ -talassèmia: Síntesi de la cadena β disminuïda (augmenta la HbA_2). Els homozigots tenen els mateixos símptomes que l'anterior.
- $\delta\beta$ -talassèmia: Síntesi de la cadena β i δ de globina disminuïdes. La gravetat depèn de si està compensada per una síntesi de cadena γ .
- $\gamma\delta\beta$ -talassèmia: No hi ha síntesi de cadena γ i δ i la cadena β està disminuïda.

6.3.2.2 α -Talassèmies

Alterada la síntesi de la cadena α . Es sintetitzen en excés les cadenes γ (hemoglobina de Bart) i les cadenes β (hemoglobina H).

- α^0 -Talassèmia: No hi ha síntesi de la cadena α de globina. La hemoglobina de Bart (tetràmer de δ) representa el 80-90 % de la hemoglobina total. És mortal ja que la HbBart no pot transportar O_2 .
 - Homozigots: Es produeix hidropsia fetal (mort del fetus al 3r trimestre de l'embaràs o a les 24h del part).

-
- Heterozigots: Hi ha microcitosis. La hemoglobina de Bart és el 2-20% de tota la hemoglobina i tenen la HbF i HbA2 normals.
 - α^+ -Talassèmia: La síntesi de la cadena α està disminuïda. En els nounats la hemoglobina de Bart (δ_4) representa el 5-10% de la hemoglobina.
 - Homozigots: Tenen microcitosi i anèmia discreta.
 - Heterozigots: És asimptomàtica. No presenten hemoglobina de Bart.
 - Hemoglobinopatia H: Els nounats tenen més del 5% de la hemoglobina en forma d'-hemoglobina de Bart. En l'adult, la HbH representa entre el 2-40% de la hemoglobina. Les manifestacions clíniques comprenen anèmia hemolítica amb reticulocitosi, esplenomegàlia, hepatomegàlia.

Estudi bioquímic

L'estudi de les hemoglobines s'efectua aprofitant la seva mobilitat electroforètica:

- Fracció de metahemoglobina: En situacions normals, representa menys del 1,5 % de la hemoglobina en sang. En el cas de la metahemoglobinèmia per deficiència de citocrom-b5-reductasa augmenta un 10-30 %.
- Fracció d'hemoglobina F ($\alpha_2\gamma_2$): En situacions normals representa menys de l'1 % de la hemoglobina en adult. Té una major afinitat per O₂ (el D-2,3-difosfoglicerat s'uneix més a la desoxihemoglobina A que a la desoxihemoglobina F). Augmenta en β^0 -talassèmies i en β^+ -talassèmia homozigòtiques. Es troba inalterada en β^0 -talassèmies i en β^+ -talassèmia heterozigòtiques.
- Fracció d'hemoglobina A₂ ($\alpha_2\delta_2$): En una situació normal representa 2,5-3% de la hemoglobina en adult. Es troba augmentada en β -talassèmia heterozigòtica, β^0 -talassèmia homozigòtica i en β^+ -talassèmia homozigòtica. Es troba disminuïda en α^0 -talassèmia.
- Fracció d'hemoglobina H (β_4): Incapaç de transportar O₂, és molt afí i no el pot alliberar. Es troba augmentada en α^0 -talassèmia.
- Fracció d'hemoglobina de Bart (δ_4): Incapaç de transportar O₂, és molt afí i no el pot alliberar. Es troba augmentada en α^0 -talassèmia.

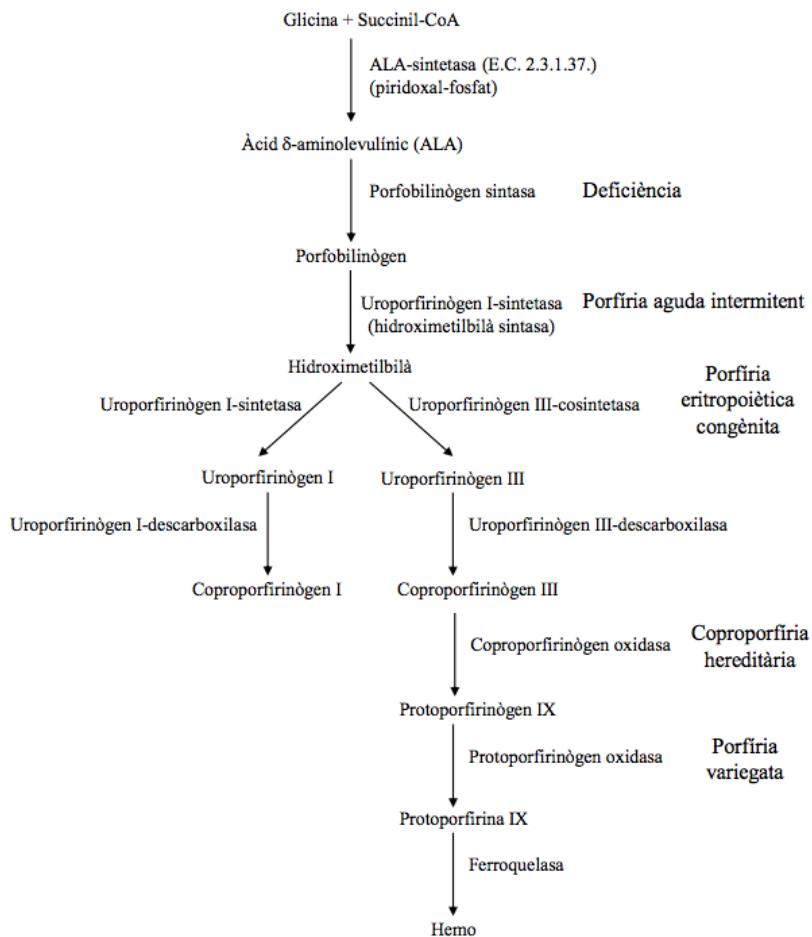
6.4 Desordres de la síntesi del grup hemo

La síntesi del grup hemo té lloc un 85% en eritròcits i un 15% en el fetge.

La biosíntesis del grup hemo parteix de succinil-CoA i glicina. Alteracions en la síntesi del grup hemo produeixen porfiríies.

Síntesi del grup hemo

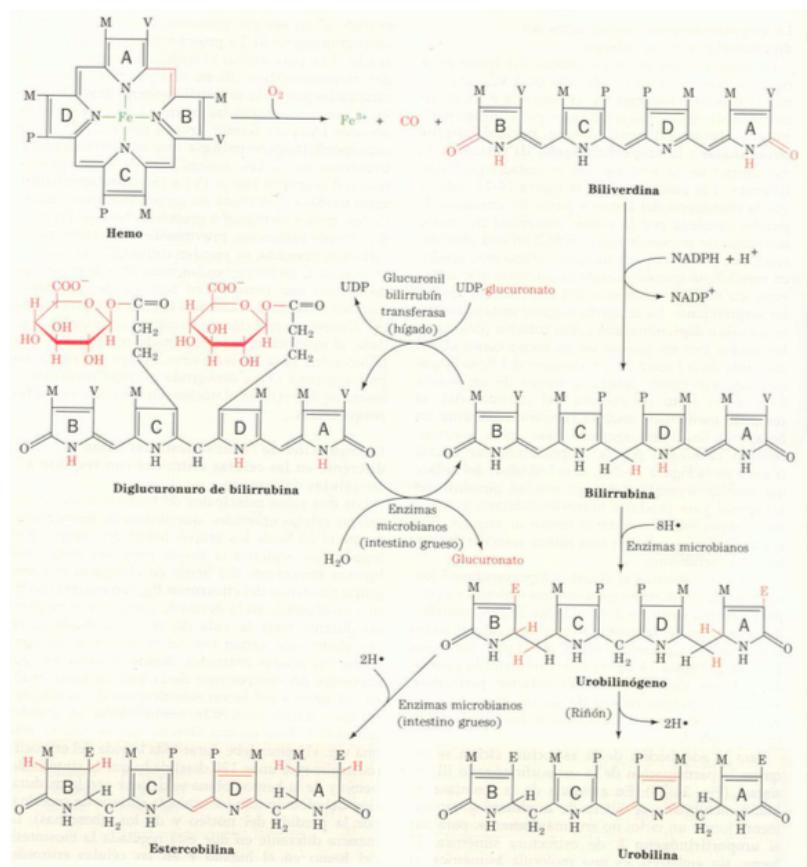
La glicina és un dels precursores principals de les porfirines. La síntesi de porfirines permet la formació dels grups hemo. Un dels intermediaris d'aquesta síntesi és el porfobilinogen que és un cromòfor.



Degradació del grup hemo

Segueix el procés següent:

- 1) Quan el Fe s'elimina del grup hemo, la porció no fèrrica de l'hemo es converteix en biliverdina, un pigment verdós, i després en bilirubina, un pigment groc-ataronjat.
- 2) La bilirubina entra a la sang i es transporta cap al fetge.
- 3) Al fetge, la bilirubina s'allibera per les cèl·lules hepàtiques a la bilis, la qual passa al duodè i després a l'intestí gros.
- 4) A l'intestí gros, els bacteris converteixen la bilirubina en urobilinogen.
- 5) Part de l'urobilinogen es reabsorbeix cap a la sang, es converteix en un pigment groc anomenat urobilina i s'excreta a la orina.
- 6) La major part de l'urobilinogen s'elimina per la femta en forma d'un pigment marró anomenat estercobilina, que li dóna a la matèria fecal el seu color característic.



6.4.1 Porfíries

Els principals enzims implicats en les porfíries són:

- **ALA-sintasa:** Activitat baixa, però influïble per medicaments i esteroides. Presenta retroinhibició pel grup hemo i per l'hemina (hemo-Fe(III)).
- **Uroporfirinògen sintasa:** Control secundari. Quan té una activitat baixa, s'acumula ALA (àcid δ-aminolevulínic) i PBS (porfobilinogen). Una activitat alta provoca una excessiva producció de porfirines lliures.

Hi ha 2 tipus de porfíries:

- 1) Porfíries agudes: Presenten un quadre abdominal, psiquiàtric i autònom.
 - (a) Porfíria aguda intermitent
 - (b) Coproporfíria hereditària
 - (c) Porfíria variegata
- 2) Porfíries no agudes: Associades a fotosensibilitat de la pell.
 - (a) Porfíria hepatocutània
 - (b) Protoporfíria eritropoiètica
 - (c) Porfíria congènita

6.4.1.1 Porfíries agudes

N'hi ha 3:

6.4.1.1.1 Porfíria aguda intermitent

És la més freqüent. S'hereta amb caràcter autosòmic dominant. Es tracta d'una deficiència en hidroximetilbilà sintasa (E.C. 4.3.1.89.). Afecta a 3 dones per cada 2 homes.

Els símptomes són dolor abdominal espasmòdic, vòmits, estrenyiment, febre, leucocitosi, hematúria. Hi ha casos d'hipertensió, neuritis perifèrica, alteracions del comportament o psicosi.

Hi ha un augment de l'-ALA sintetasa i una disminució de la uroporfirinogen I sintetasa i la $\delta_4 - 5\alpha$ -reductasa.

L'anàlisi bioquímic es basa en un augment dels nivells d'àcid δ -aminolevulínic i porfobilinogen en orina, una secreció inapropiada d'ADH. Transitòriament, poden augmentar la bilirubina i la fosfatasa alcalina.

6.4.1.1.2 Coproporfíria hereditària

S'hereta amb caràcter autosòmic dominant. És una deficiència en coproporfirinogen-oxidasa (E.C. 1.3.3.3.). Els pacients són asimptomàtics o presenten lleus símptomes neurològics, abdominals o psiquiàtrics. Hi ha casos d'atacs aguts.

Hi ha una excreció constant de coproporfirina III en femta. També hi ha una excreció de forma intermitent de coproporfirina, àcid δ -aminolevulínic i porfobilinogen en orina.

S'atribueix a un bloqueig del pas coproporfirina III → protoporfirina, una inducció de ALA-sintetasa o les dues coses a la vegada.

6.4.1.1.3 Porfíria variegata

Hi ha una deficiència en protoporfirinogen-oxidasa (E.C. 1.3.3.4.). Afecta de manera igual a homes i dones. Predomina entre la població blanca d'Àfrica. Apareix entre la tercera i quarta de??cada de la vida.

Els símptomes són similars als de la porfíria aguda intermitent, amb lesions cutànies.

Durant els atacs aguts; hi ha un augment d'àcid δ -aminolevulínic, porfobilinogen i porfirines en orina. Les porfirines fecals estan molt elevades i l'ALA-sintetasa també.

6.4.1.2 Porfíries no agudes

En trobem 4:

6.4.1.2.1 Porfíria hepàtica-cutània (hepatocutània)

Els casos familiars són rars. És un grup de porfíries adquirides. Els símptomes són lesions cutànies.

Està associada a malaltia hepàtica (estímul alcohòlic, tractament amb estrògens, ingestió de hexaclorobenzè).

Hi ha una excreció elevada d'uroporfirina en orina. Els valors de PBG i ALA són normals.

6.4.1.2.2 Protoporfíria eritrohepàtica (eritropoiètica)

S'hereta amb caràcter autosòmic dominant. Afecta típicament a eritròcits i a fetge. Els malalts presenten una lleu fotosensibilitat cutània. Apareix els primers anys de la vida o en l'etapa adulta.

Es troba una elevada quantitat de protoporfirina a la circulació. També hi ha nivells fecals elevats de protoporfirina i coproporfirina (fluorescència de la femta). Finalment, hi ha una activitat excessiva de ALA sintasa.

6.4.1.2.3 Protoporfíria eritropoiètica congènita

S'hereta amb caràcter autosòmic recessiu. És poc freqüent i es manifesta just després del part. Aquesta malaltia és la base bioquímica de la llegenda del "home-llop".

La orina presenta un color vermell (excreció de coproporfirina i uroporfirina). Els pacients tenen eritrodòncia (dipòsits vermells fluorescents a les dents), anèmia hemolítica, intensa fotosensibilitat cutània (úlceres i cicatrius), aparició de pèls fins a la cara i extremitats.

També hi ha esplenomegàlia i anèmia hemolítica. Els malalts tenen una mort precoç.

És degut a un defecte enzimàtic de la uroporfininogen III cosintetasa. Hi ha un augment de l'ALA-sintetasa.

6.4.1.2.4 Intoxicació per plom

Els símptomes per intoxicació per plom són dolors abdominals, estrenyiment... es deuen a la inhibició d'alguns delsenzims de síntesi del grup hemo.

Hi ha una disminució d'ALA-deshidratasa, ferroquelatasa i oxidasa del coproporfirinogen.

Els análisis al laboratori mostren un augment d'ALA i coproporfirines en orina.

Anàlisi de la porfirina

UP = uroporfirina; CP = coproporfirina; PP = protoporfirina; ↑ = augment; ↑↑ = gran augment; N = normal.

Trastorns	Eritròcit			Orina				Femta		
	UP	CP	PP	ALA	PBG	UP	CP	UP	CP	PP
Porfiria aguda intermitent	N	N	N	↑↑	↑↑	↑	↑ / N	N	N	N
Coproporfiria hereditària	N	N	N	↑	↑	N	↑	N	↑	N
Porfiria variegata (atacs aguts)	N	N	N	↑	↑	↑ / N	↑ / N	N	↑	↑↑
Porfiria eritropoiètica congènita	↑↑	↑↑	↑	N	N	↑↑	↑	N	↑	N
Porfiria eritropoiètica	N	N	↑↑	N	N	N	N	N	↑	↑
Porfiria simptomàtica	N	N	N	N	N	↑↑	↑	N	↑ / N	↑ / N
Intoxicació per plom	N	↑ / N	↑	↑	↑ / N	N	↑	N	N	N

FIGURA 7: Observacions bioquímiques típiques associades amb el trastorn de les porfirines

Compost	Intèrval de referència
Eritròcit	
Coproporfirina	0,5 – 2 µg/dl (0,75 – 3 nmol/l)
Protoporfirina	4 – 52 µg/dl (7,2 – 93,6 nmol/l)
Orina	
ALA	1,5 – 7,5 ml / 24 h (11,2 – 57,2 µmol / 24 h)
PBG	< 1 mg / 24 h (< 4,4 µmol / 24 h)
Coproporfirina	50 – 160 µg / 24 h (0,075 – 0,24 µmol / 24 h)
Uroporfirina	10 – 30 µg / 24 h (0,012 – 0,037 µmol / 24 h)
Femta	
Coproporfirina	0 – 500 µg / 24 h (0 – 0,75 µmol / 24 h)
Protoporfirina	0 – 600 µg / 24 h (0 – 1,08 µmol / 24 h)

FIGURA 8: Valors de referència de les porfirines i els seus precursors

Totes les porfirines tenen un espectre UV pròxim al visible. Es veu una intensa banda a 400 nm (Banda de Soret) que emet fluorescència vermella. Es poden quantificar valors de $2 \cdot 10^{-4} \mu\text{mol/L}$. La solubilitat disminueix en reduir grups hidroxil i carboxils:

- PBS i uroporfirina: s'excreten en orina
- Protoporfirina: via bilis, s'excreta en femta
- Coproporfirina s'excreta en orina com a coproporfirinogen

La determinació d'**ALA i PBG** es fa pel mètode de Watson (1941). El PBG es condensa amb p-dimetil-aminobenzaldehid en àcid clorhídrat (reactiu d'Ehrlich) i forma un complex magenta.

Les **porfirines** es determinen amb una extracció amb dissolvent orgànic (àcid acètic, acetat d'etil), una extracció d'HCl o bé per determinació espectrofotomètrica o fluorimètrica.

La determinació d'**ALA-deshidratasa** és molt útil en intoxicacions per plom (a més de plumbèmia, coproporfirines i ALA). El mètode de Bonsignore mesura el PBG produït (el PBG es transforma a porfirina durant l'assaig). El mètode de Tomokumi mesura l'ALA consumida.

6.5 Alteracions del metabolisme del ferro

L'anèmia és una condició patològica en què la concentració d'hemoglobina és molt baixa, i hi ha una pèrdua de la capacitat del transport d'oxigen.

Compost	Intèrval de referència
Eritrocit	
Coproporfirina	0,5 – 2 µg/dl (0,75 – 3 nmol/l)
Protoporfirina	4 – 52 µg/dl (7,2 – 93,6 nmol/l)
Orina	
ALA	1,5 – 7,5 ml / 24 h (11,2 – 57,2 µmol / 24 h)
PBG	< 1 mg / 24 h (< 4,4 µmol / 24 h)
Coproporfirina	50 – 160 µg / 24 h (0,075 – 0,24 µmol / 24 h)
Uroporfirina	10 – 30 µg / 24 h (0,012 – 0,037 µmol / 24 h)
Femta	
Coproporfirina	0 – 500 µg / 24 h (0 – 0,75 µmol / 24 h)
Protoporfirina	0 – 600 µg / 24 h (0 – 1,08 µmol / 24 h)

FIGURA 9: Valors de referència de la concentració d'hemoglobina

Els eritròcits són discs bicòncaus de $2 \mu\text{m}$ d'amplada i $7 \mu\text{m}$ de diàmetre. Un 66% és aigua i un 33% és Hb. Tenen una vida mitjana de 120 dies. Moren fagocitats a la melsa, fetge i medul·la òssia.

La funció principal és donar suport a la hemoglobina per transportar O₂ i CO₂. Es transporta el 20% del CO₂ produït als teixits contribueixen en la capacitat tamponadora de la sang.

La eritropoesi és el procés de producció d'eritròcits. Regulat per la hormona eritropoetina (regulada per la quantitat de O₂ que arriba als teixits).

Hi ha 2 tipus d'anèmies:

- Anèmies arregeneratives per fallida a la eritropoiesis:
 - Fallida qualitativa: lesió de la cèl·lula mare pluripotent
 - * Aplàsia medular
 - * Aplàsia medicamentosa
 - * Fibrosis medular
 - * Anèmia mieloptísica per invasió medular (neoplàsies, mielomes, etc.)
 - * Mecanisme autoimmune
 - Fallida quantitativa: alteració de la maduració eritroblàstica
 - * Carencials (per déficit de cianocobalamina, folats o ferro).
 - * Diseritropoiètiques (bloqueig del ferro, talassèmies i bloqueig de la síntesi del grup hemo)
 - * Mixtes, per neoplàsies, cirrosis, infeccions o lesions renals
- Anèmies regeneratives:
 - Per pèrdua d'eritròcits: hemorràgiques
 - Per augment de la destrucció dels eritròcits: hemolítiques
 - * Anèmies hemolítiques congènites:
 - Anomalies de la membrana (esferocitosis, eliptocitosis, xerocitosis, etc.)
 - Alteracions enzimàtiques (dèficit de glucosa-6-P deshidrogenasa, dèficit de piruvat kinasa, etc.)
 - Hemoglobinopaties (talassèmies i hemoglobinopaties estructurals)
 - * Anèmies hemolítiques adquirides:
 - Autoimmunes i postransfusionals
 - Causes mecàniques (anèmia microangiopàtica)
 - Causes infeccioses o químiques
 - Causes desconegudes (hemoglobinúria paroxística nocturna)
 - Per recuperació d'una anèmia carencial tractada

6.5.1 Anèmies megaloblàstiques

Són degudes al dèficit de cianocobalamina o folat; que intervenen en la síntesi de DNA, que estarà disminuïda. Hi ha una alteració de l'eritropoèsi (asincronia madurativa entre nucli i citoplasma de cèl·lules precursores de l'eritròcit). L'eritropoèsi és ineficaç.

Les causes principals d'anèmies megaloblàstiques són:

- Deficiència de cobalamina
 - Dèficit en l'alimentació (vegetarians estrictes)
 - Dèficit de secreció del factor intrínsec (Anèmia perniciosa):
 - * Per la destrucció de mucosa gàstrica o post-gastrectomia
 - * Per l'existència d'un factor intrínsec biològicament inactiu
 - * Per l'existència d'anticossos contra el factor intrínsec
 - Alteració del budell prim: Malabsorció o parasitació per *Dibothriocephalus latius*.
 - Deficiència de transcobalamina
 - Augment de les necessitats de cianocobalamines: Embaràs o augment de la proliferació cel·lular.
- Deficiència de folat
 - Dèficit en la dieta
 - Malabsorció
 - Interferències farmacològiques en la seva metabolització.
 - Augment de les necessitats: Embaràs o augment de la proliferació cel·lular.

6.5.1.1 Anàlisi bioquímic

Augmenta el Fe oxidat ja que no es pot utilitzar de forma adequada pel transport d'oxigen. Pot augmentar el folat i la B12 en plasma si s'ingereix però hi ha una malabsorció. També s'analitza el nombre d'eritròcits en sang.

En les anèmies mieloblàstiques degudes al dèficit en cobalamina; hi ha una disminució de la cobalamina en plasma i un augment del metilmalonat en orina ja que no es pot oxidar a succinat per manca de cobalamina.

6.5.1.2 Prova de Schilling

Estudia la causa de la disminució de cobalamina per diferenciar entre anèmia perniciosa i malabsorció. Es basa en l'administració al pacient de 2 càpsules per via oral:

1. ^{57}Co -cianocobalamina + factor intrínsec
2. ^{58}Co -cianocobalamina sense factor intrínsec

Després s'administra cianocobalamina per via intramuscular. Aquesta injecció satura el transportador sanguini (transcobalamina II) i obliga la secreció via orina de la cobalamina ingerida. Després es mesura la radioactivitat en orina 24 h després de la injecció.

Els resultats poden ser:

- Excreció no alterada de cianocobalamina (11-30% per ^{58}Co i per ^{57}Co). Deguda a:
 - Deficiència alimentària de cianocobalamina (iguals que en individus sans: excreció de cianocobalamina disminuïda, sense canvis en administrar el factor intrínsec (< 4% per ^{58}Co i per ^{57}Co)
 - Síndrome de malabsorció
 - Malabsorció secundària a anomalies intestinals o pancreàtiques
 - Infecció per *Dibothrioccephalus latus*
 - Deficiència de transcobalamina II
- Excreció de cianocobalamina disminuïda amb augment de la seva eliminació després d'administrar el factor intrínsec (5% per ^{58}Co i 5-14% per ^{57}Co). Degut a:
 - Anèmia perniciosa
 - Gastrectomia
 - Anticossos contra el factor intrínsec al suc gàstric

6.5.2 Anèmies hemolítiques

La vida mitjana d'un eritròcit és de 120 dies. L'hemòlisi és l'eliminació d'eritròcits per cèl·lules del sistema mononuclear-fagocític. Hi ha 2 tipus:

- **Hemòlisi extravascular.** En teixits amb alta activitat fagocítica de macròfags (melissa, medul·la òssia i fetge)
- **Hemòlisi intravascular.** En alguns casos, la hemòlisi és a la sang, que alliberen la hemoglobina, que s'uneix ràpidament a la cadena α de la haptoglobina i és captada pel fetge.

En l'anèmia hemolítica, hi ha una hemòlisi intravascular molt activa deguda a defectes intraeritrocitaris i a factors externs de l'eritròcit.

Es sobrepassa l'activitat del fetge per sintetitzar haptoglobina. Es troba:

- Augment d'Hb en plasma
- Augment de bilirubina no esterificada en plasma
- Si la Hb en plasma és superior a 0,1 mM hi haurà hemoglobinúria
- Augment de Fe³⁺ durant el període hemolític, a la fase regenerativa pot disminuir

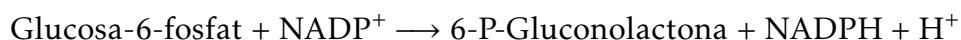
La hemoglobina s'oxida a metahemoglobina. La metahemoglobina es dissocia i allibera hematina. La hematina forma un complexe amb l'àlbumina (metahemàlbumina) o és eliminada amb la hemopexina (una β-globulina hepàtica).

6.5.2.1 Anèmies hemolítiques degudes a dèficits enzimàtics

Són anèmies cròniques degudes a la deficiència d'algún enzim eritrocitari en les quals l'eritròcit no presenta anomalies morfològiques. El procés hemolític té causes ambientals, que es pot identificar per la presència d'hemoglobinúria.

6.5.2.1.1 Dèficit de glucosa-6-fosfat deshidrogenasa

És el dèficit enzimàtic més freqüent. L'activitat G6PDH és un 15% inferior del normal. Afecta especialment a negres, al sud de la Xina i als països mediterranis. Presenta un patró d'herència associat al sexe. Es creu que aquest defecte pot protegir contra la malària



El NADPH als eritròcits redueix el glutatió i protegeix dels peròxids tòxics. Com que hi ha deficiència en glucosa-6-fosfat deshidrogenasa provoca un augment de metahemoglobina.

Les persones amb aquesta deficiència poden presentar anèmia hemolítica quan:

- Ingesta de faves (favisme)
- Ingesta de primaquina (antipal·lúdic)
- Processos infecciosos

6.5.2.1.2 Dèficit de piruvat quinasa

És un defecte hereditari autosòmic recessiu, que afecta sobretot a Europa i Amèrica.

Els eritròcits presenten dificultats de conservar quantitats adequades de ATP en el seu interior.

6.5.2.2 Anèmies hemolítiques autoimmunes

Es generen autoanticossos que causen hemòlisi extravascular. Poden ser degudes a:

- Incompatibilitat de grup sanguini ABO o Rh
- Infeccions víriques que alteren la superfície de l'eritròcit
- Administració de fàrmacs que s'uneixen a la membrana de eritròcits

6.5.2.2.1 Anèmia hemolítica amb anticossos calents

Els “anticossos calents” són els que actuen a la temperatura corporal Són IgG no fixadores de complement.

Augmenta la fragilitat a l’osmosi, fet que provoca la hemòlisi. Els indicadors bioquímics són:

- Augment de bilirubina no esterificada al plasma
- Augment de LDH plasmàtic
- Augment d’uroobilinogen en orina

La prova de Coombs és una prova que busca anticossos que puguin fixar-se als glòbuls vermells i causar la seva destrucció prematura.

La prova de Coombs directa s'utilitza per detectar anticossos que ja s'han fixat a la superfície dels glòbuls vermells. Moltes malalties i fàrmacs poden provocar que això passi. Aquests anticossos algunes vegades destrueixen els glòbuls vermells i provoquen anèmia. El seu proveïdor d'atenció mèdica pot recomanar aquest examen si vostè té signes o símptomes d'anèmia o icterícia (color groguenc a la pell o els ulls).

La prova de Coombs indirecta busca anticossos que estan surant en la sang. Aquests anticossos podrien actuar contra determinats glòbuls vermells. Aquest examen gairebé sempre es fa per determinar si vostè pot tenir una reacció a una transfusió de sang.

Un resultat normal es coneix com un resultat negatiu. Això vol dir que no hi va haver agrupació de cèl·lules i que vostè no té anticossos per als glòbuls vermells.

6.5.2.2.2 Anèmia hemolítica amb anticossosfreds

Els “anticossosfreds” són crioaglutinines (que actuen a baixa temperatura). Són IgM fixadores de complement. Tenen la màxima activitat a 4°C.

Al diagnòstic es detecten les crioaglutinines. La prova de Coombs directa dóna resultats positius.

6.5.2.2.3 Anèmia hemolítica provocada per fàrmacs

A vegades el fàrmac actua com haptè i l??eritròcit com a portador. Es produeixen anticossos fixadors de complement, que produeixen la hemòlisi.

Altres vegades, els anticossos contra els fàrmacs actuen com “anticossos calents”, que produeix la hemòlisi.

6.6 Metabolisme del ferro

En condicions normals, el Fe^{3+} i el Fe^{2+} té una concentració de 70 mmol. Es troba:

- 80% en hemoglobina, mioglobina i citocroms
- 20% en proteïnes de reserva (ferritina, hemosiderina)
- 0,1% en proteïnes de transport (transferrina)

El ferro absorbit en una dieta equilibrada (20-40 μmol) és similar a l'excretat. Una dieta equilibrada d'entre 10,5 i 12,5 kJ aporta 200-400 μmol de ferro. La carn, el peix i els cereals són els que aporten més ferro; els ous i les verdures en tenen menys.

Al duodè s'absorbeix el 10% del ferro ingerit. Els infants i les dones absorbeixen més ferro. Les dones han de compensar la pèrdua de la menstruació (uns 270 μmol al mes).

A les cèl·lules de la mucosa intestinal té lloc l'absorció del Fe, que després passa a la sang. Després, s'uneix a la transferrina que està saturada en un 30%. Cada transferrina fixa 2 ions Fe^{2+} . Després la transferrina s'uneix a un receptor específic i entra a la cèl·lula per pinocitosi. Els hepatòcits i els eritròcits són els que tenen més receptors de transferrina. Aquest Fe es destina a:

- 65% síntesi d'hemoglobina
- 10% síntesi de mioglobina
- 5% síntesi de citocroms
- 20% acumulació en ferritina i hemosiderina

Per altra banda, els principals dipòsits de ferro a l'organisme són:

- Macròfags de la medul·la òssia
- Melsa
- Fetge

6.6.1 Alteracions del metabolisme del ferro

Les alteracions del metabolisme del ferro poden ser per:

- Dèficit: Anèmia ferropènica
- Sobrecàrrega: Hemocromatosi

La disminució d'hemoglobina pot ser deguda a:

- 90% per dèficit de ferro (anèmia ferropènica)
- 10% per trastorn del metabolisme

- Arribada insuficient de ferro als eritroblasts
- Trastorns congènits de síntesi del grup hemo (anèmia sideroblàstica)

L'estudi bioquímic del ferro es basa en:

- [Fe²⁺] + [Fe³⁺] en plasma:** Hi ha variació intra i interindividual. En l'home és un entre un 15 i un 20% més elevada que en la dona. En la dona es produeixen variacions mensuals (menstruació). Segueix un cicle circadià. Disminueix en:
 - Estats d'anèmia ferropènica
 - Malalties infeccioses, inflamatòries cròniques i neoplàsies
- [Transferrina] en plasma:** És una glicoproteïna β_1 -globulina de 80000 g/mol. Es sintetitza al fetge i no té tantes fluctuacions com el ferro:
 - Augmenta en l'embaràs
 - Augmenta en estats d'anèmia ferropènica
 - Disminueix en síndrome nefròtic, malnutrició i malalties cròniques
- [Ferritina] en plasma:** Relacionada amb les reserves de ferro disponibles. Hi ha variabilitat biològica individual (6,5% menor que la del ferro). No presenta ritmes circadians.
 - Disminueix en l'anèmia ferropènica (abans que es manifestin els símptomes)
 - Augmenta en hepatopaties, malalties inflamatòries i neoplàsies
- [Protoporfirina (Zn)] en sang:** Indica la disponibilitat de ferro. En general la relació $\frac{\text{Protoporfirina(Zn)}}{\text{Hemoglobina(Fe)}}$ és baixa. En l'últim pas de síntesi s'incorpora el Fe²⁺. Disminueix en:
 - Anèmia ferropènica
 - Talassèmia, hepatopaties, neoplàsies, intoxicació per plom

6.6.2 Anèmia ferropènica

Poden ser:

- Anèmia per dèficit de ferro:** Poden ser fisiològiques provocades per pèrdues de sang com la menstruació en dones en estat fèrtil o en nens en creixement. També pot ser deguda a una alimentació deficient pobre en carn i vitamines.
- Anèmia secundària per pèrdua crònica de sang:** Pot tenir diverses causes:

-
- Patològiques: Lesions del tub digestiu
 - Benignes
 - * Varius esofàgiques (cirrosi hepàtica)
 - * Gastritis (ingesta excessiva d'antiinflamatoris)
 - * Ulcus gàstric o duodenal
 - * Hèrnia de hiat
 - * Tumors benignes (pòlips adenomatosos)
 - * Morenes (hemorroides)
 - Malignes
 - * Carcinoma gàstric
 - * Neoplàsies del budell prim
 - * Carcinoma de colon
 - Pèrdua per via genitourinària
 - Metrorragia per fibromatosis uterines
 - Infeccions
 - Neoplàsies
 - Diverticulosi
 - Vasculitis
 - Malaltia de Rendu-Osler
 - Hemosiderosis pulmonar idiopàtica
 - Donació repetida i voluntària de sang

3) Anèmia secundària per ingestà inadequada de ferro: Pot ser per:

- Dietes molt inadequades (països subdesenvolupats)
- Malalties de l'aparell digestiu
 - Aquilia gàstrica
 - Gastrectomia
 - Malaltia celíaca
 - Colitis ulcerosa
- En nens, la ingestà de substàncies que bloquegen l'absorció del ferro
 - Geofàgia
 - Ingesta de guix

6.6.3 Anèmia sideroblàstica

Està causada per una mala utilització del ferro a la síntesi del grup hemo. Pot ser:

- **Anèmia sideroblàstica hereditària:** Està lligada al cromosoma X.
- **Anèmia sideroblàstica secundària adquirida:** Pot estar causada per:
 - Ingesta d'etanol, plom, isoniazida, cicloserina, cloramfenicol
 - Sideroblasts en anell (amb hemosiderina al nucli) molt augmentats a la medul·la òssia
 - Acumulació de ferro al mitocondri
 - Augment de ferro en plasma
 - Augment de ferritina en plasma

6.6.4 Hemocromatosi

En aquest cas, es troben nivells elevats de ferro i ferritina plasmàtica. La transferrina està disminuïda en plasma. El diagnòstic es fa mitjançant una biòpsia hepàtica on s'examina el contingut de ferro dels hepatòcits amb una tinció immunohistoquímica.

Poden ser:

- **Hemocromatosi hereditària:** Té caràcter recessiu i s'ha associat amb l'antigen HLA-A3.
- **Hemocromatosi secundària:** Que pot ser deguda a:
 - Administració repetida de transfusions
 - Augment de l'absorció (degut a anèmia crònica)
 - Ingesta de ferro excessiva a la dieta
 - Hepatopatia crònica (cirrosi)

7. Enzimologia clínica

7.1 Enzims

L'enzimologia clínica és un conjunt de tècniques destinades a detectar la presència i a quantificar l'activitat d'enzims en mostres biològiques:

- Presència d'enzims que no es trobin normalment en concentracions significatives
- Variacions en els nivells d'enzims que poden trobar-se normalment en mostres biològiques
- Isoenzims (formes diferents d'un enzim)

Es poden utilitzar enzims com a reactius específics per quantificar la concentració de metabòlits.

Un enzim és un biocatalitzador proteic. Es localitzen en tots els teixits corporals. Es determinen mitjançant la reacció enzimàtica. Un holoenzim està format per un apoenzim (porció proteica) i coenzim (porció no proteica no sempre necessària). L'activitat enzimàtica es pot veure reduïda si no hi ha apoenzim o coenzim.

Els enzims tenen destrucció citoplasmàtica o mitocondrial. A la circulació es poden eliminar per catabolisme que alliberarà aminoàcids i grups prostètics per la síntesi de noves proteïnes i/o enzims.

Tots els enzims sèrics tenen un origen cel·lular. Apareixen al sèrum com a conseqüència d'una lesió cel·lular (en petites quantitats de la degradació cel·lular). Les activitats enzimàtiques del sèrum són útils pel diagnòstic de malalties particulars o anomalies fisiològiques.

Quan les cèl·lules estan en proliferació, augmenta la síntesi d'enzims i s'atura el seu catabolisme. En l'estat d'inactivació, hi ha un descens de la síntesi d'enzims i augmenta la seva degradació degut a la carència de cofactors.

Els enzims difonen a la limfa, passen a la sang on s'inactiven (pèrdua de grups prostètics, canvis conformacionals) i es catabolitzen. Els enzims es destrueixen en fagòcits, melsa, endotelials, cèl·lules sanguínes.

L'ús de certs enzims per diagnosticar malalties és per circumstàncies històriques. No és normal que un enzim que funciona sigui substituït per un altre, a no ser que la utilitat diagnòstica sigui molt millor.

7.1.1 Lesió cel·lular

Hi ha enzims i metabòlits intracel·lulars i extracel·lulars en una situació normal. Si hi ha una lesió cel·lular, es detecten enzims i metabòlits intracel·lulars a la sang.

Els enzims intracel·lulars poden aparèixer al plasma degut als processos normals de recanvi cel·lular. L'increment dels enzims pot ser degut a la lesió cel·lular o a l'augment de la proliferació.

7.1.2 Mesura de la concentració dels enzims

- **Concentració de massa:** Quantitat de l'enzim.
- **Concentració catalítica:** Activitat de l'enzim. És el més usat. Es pot expressar com a:
 - Activitat enzimàtica: Quantitat d'enzim que transforma un micromol de substrat per minut a 25°C. Es poden fer servir UI o katalis.
 - Activitat específica: Unitats de l'enzim per mil·ligram de proteïna
 - Activitat molecular o molar: Número de molècules de substrat trasformades per minut per una sola molècula d'enzim
- Concentració d'isoformes: Permet discriminar el teixit d'origen.

L'activitat enzimàtica pot variar degut a la temperatura, pH, concentració de substrat, força iònica... La prova s'ha d'adecuar a les concentracions òptimes de l'enzim.

7.1.3 Distribució cel·lular dels enzims

Citosol	Mitocòndria	Membrana	Lisosoma
Alanina aminotransferasa Aspartat aminotransferasa (c) lactat deshidrogenasa Malat deshidrogenasa (c) Creatina quinasa	Aspartat aminotransferasa (m) Glutamat deshidrogenasa Malat deshidrogenasa (m)	Fosfatasa alcalina Gamma glutamil transferasa 5'-nucleotidasa	Fosfatasa àcida Glucosidasa

FIGURA 10: Localització subcel·lular d'enzims amb importància clínica

La presència d'enzims mitocondrials en sèrum és indicatiu de dany greu.

La detecció d'una isoforma permet fer un diagnòstic més precís. Es poden detectar per:

- Diferència de càrrega neta (cromatografia, electroforesi, isoelectroenfocament)
- Acció selectiva de determinades substàncies (inhibició selectiva)
- Tècniques immunològiques (immunoinhibició, enzimimmunoassaig)

Poden alliberar-se els enzims encara que no hi hagi necrosi històrica (augment de la permeabilitat de les membranes) als teixits. Exemple: delirium tremens.

La fosfatasa alcalina és un marcador per malalties hepatobiliars. En canvi, hi ha altres enzims més bons com la leucinaminopeptidasa o la 5'-nucleotidasa.

Un altre exemple és la GPT (hepatopatia) que no ha estat substituïda per la ornitina-carbamoił-transferasa o iditol-deshidrogenasa.

7.1.4 Interès diagnòstic dels enzims

Les anàlisis enzimàtiques representen fins un 20% de les proves bioquímiques. Els laboratoris de bioquímica clínica poden determinar entre 12-15 enzims diferents.

Actualment s'han determinat més de 60 enzims en sèrum, dels quals:

- Alguns es determinen habitualment al laboratori
- Alguns són reflex de diverses malalties, però no es determinen degut a la seva dificultat
- Alguns són importants a nivell de recerca, i només es determinen en situacions clíniques especials

Grup	Enzims
A. Utilitzats habitualment en la majoria dels laboratoris clínics	Fosfatasa alcalina, fosfatasa àcida, lipasa, amilasa, ASAT (GOT), ALAT (GPT), LDH, CPK (CK)
B. Clínicament útils, però no tant utilitzats com els anteriors	Seudocolinesterasa, LAP, 5'N, GGT, Ald, PHI, ICD, OCT, HBD, ID, LPS, D Hidroxibutirato deshidrogenasa
C. Principalment interessants en recerca; utilitzats en poques clíniques o en cap	α -Lecitinasa, LPL, aliesterasa, fructosa-6-aldolasa, MD, β -glucuronidasa, GD, guanasa, GR Lipoproteïna lipasa Glutamat deshidrogenasa Glutatona reducida
D. Utilitzades només en circumstàncies especials	Ceruloplasmina (per malaltia de Wilson), seudocolinesterasa (per enverinament amb insecticides o apnea prolongada per tractaments amb relaxants musculars), muramidasa (per leucèmia), ECA (per sarcoidosi) <small>Enzima convertidor de angiotensina</small>
E. Dades escasses per a ser utilitzats clínicament (o utilitat nul.la)	ATPasa (alcalina i àcida), heroinesterasa, procainesterasa, DNAses (I i II), colesterolesterasa, glucokinasa, fosfoglucomutasa, triosa-P-isomerasa, gliceralehid-3-P-deshidrogenasa, fosfoglycerat-deshidrogenasa, enolasa, 3-P-kinasade l'àcid glicèrid, piruvatkinasa, enzim màlic, fumarasa, succinat deshidrogenasa, G6PDH, 6-PGDH, ribosa-5-P-isomerasa, transketolasa, tripeptidasa, dipeptidases, oxitokinasa, aminooxidases, arginasa, adenosin-desaminasa, bencidinoxidasa

FIGURA 11: Enzims usats en clínica

7.2 Estratègies bioquímiques per l'estudi clínic del metabolisme

Els enzims es poden estudiar de diferents maneres:

1. Determinació de la concentració de metabòlits en líquids i teixits biològics
2. Determinació d'activitats enzimàtiques en líquids i teixits biològics
3. Diferenciació de les formes isoenzimàtiques
4. Anàlisi de la resposta metabòlica en front proves diagnòstiques específiques

7.2.1 Cinètica de les reaccions enzimàtiques monosubstrat

Si:

- L'espectrofotòmetre absorbeix el substrat, l'absorbància disminuirà en funció del temps.
- L'espectrofotòmetre absorbeix el producte, l'absorbància augmentarà en funció del temps.

S'ha d'escollir la longitud d'ona on es distingeixi l'absorció del substrat de la del producte.

7.2.2 Procediments per a mesurar la velocitat de transformació

Hi ha 2 tipus:

1. Procediments discontinus:

- (a) A un punt.- Es mesura l'absorbància de la mostra i de un blanc al cap d'un temps determinat.

$$v = \frac{A_t - A_{Blanc}}{t} \quad (6)$$

- (b) A dos punts.- Es mesuren 2 absorbàncies (A_1, A_2) a dos temps (t_1, t_2).

$$v = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} \quad (7)$$

- (c) A tres o més punts.- Es mesura l'absorbància a diversos valors de temps (mesurar dos punts pot ser inexacte).

$$v = \frac{\Delta A}{\Delta t} \quad (8)$$

2. Procediments continus: Es mesura l'absorbància continuament durant un temps determinat.

$$v = \frac{dA}{dt} \quad (9)$$

7.2.3 Aplicació de tècniques enzimàtiques combinades

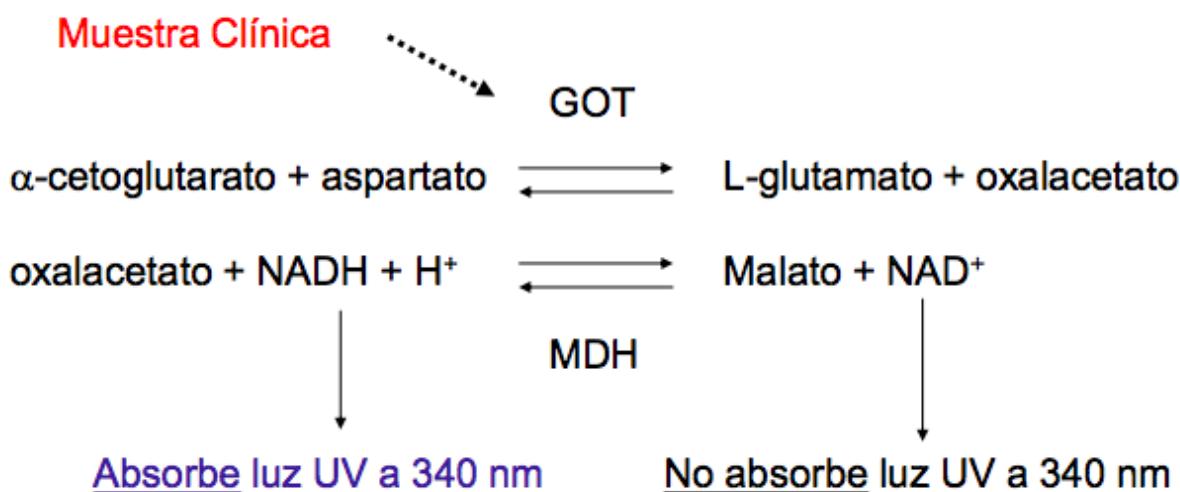
La concentració dels enzims és molt baixa (nmol) i per tant es mesura la seva activitat (o bé s'aplica immunoanàlisi).

Hi ha 3 fases de l'activitat enzimàtica:

1. Període de latència. La velocitat va augmentant progressivament.
2. Estat estacionari. La velocitat és proporcional a la concentració de l'enzim.
3. Fase final.- la velocitat disminueix progressivament és on es fa l'anàlisi)

7.2.3.1 Determinació de l'aspartat aminotransferasa (GOT)

La malalt deshidrogenasa té concentracions molt baixes, per tant s'aplica a reaccions aco-blades. Es mira l'activitat de l'enzim anterior o posterior.



La pèrdua d'absorbància a 340 nm és proporcional a l'activitat GOT.

7.2.4 Procediment general d'anàlisi per espectrofotometria visible o UV

L'espectroscòpia estudia els sistemes mitjançant la seva interacció amb les radiacions electromagnètiques. Un sistema és un conjunt de partícules materials (àtoms, molècules).

- Absorció
- Emissió
- Difracció

L'espectrometria d'absorció molecular UV-visible és molt utilitzada en clínica. Estudia l'absorció de la radiació magnètica ultravioleta i visible. Permet mesurar la concentració d'una substància.

L'espectre electromagnètic és el conjunt de totes les longituds d'ona.

En un laboratori clínic s'utilitza amb més freqüència les regions visible i ultraviolada.

Els espectrofotòmetres poden ser de:

- Feix simple: Primer es posa el blanc com a referència i després la mostra.
- Feix doble: Detecta el blanc i la mostra alhora.

7.3 Enzims marcadors habituals en enzimologia clínica

Els més freqüents són:

Enzim	Malaltia
Fosfatasa àcida	Carcinoma prostàtic
Fosfatasa alcalina	Fetge, malaltia òssia
Amilasa	Malaltia pancreàtica
gamma-glutamiltranspeptidasa	Malaltia hepàtica
Glutamat aminotransferasa	Fetge, malaltia cardíaca
Aspartat aminotransferasa	Fetge, malaltia cardíaca
Alanina transferasa	Fetge, malaltia cardíaca
Lactat deshidrogenasa	Fetge, cor, hematies
Creatina quinasa	Cor, múscul, cervell

TAULA 2: Enzims més freqüents i malalties relacionades

Alguns enzims (lactat deshidrogenasa, aldolasa, fosfohexoisomerasa, malat deshidrogenasa) es troben en múltiples teixits, pel que per reforçar el valor diagnòstic d'aquests enzims s'han d'analitzar els isoenzims.

El tamany dels enzims i la ubicació intracel·lular és molt important a nivell d'alliberació. L'alliberació citoplasmàtica és un dany reversible però el mitocondrial produueix afectacions agudes.

Altres enzims són en 1 o 2 teixits:

- Ornitin-carbamoil-transferasa, OCT; iditol deshidrogenasa, ID al fetge
- Creatina quinasa: al múscul esquelètic, miocardi i cervell
- Fosfatasa àcida: pròstata

L'augment dels enzims sèrics denota necrosi en malalties hepàtiques, pancreàtiques i miocàrdiques:

- Fosfatasa alcalina: malalties òssies i hepatobiliars
- Fosfatasa àcida: càncer de pròstata
- Amilasa, lipasa: pancreopaties
- Glutamat-oxalacetat-transaminasa (GOT) = aspartat-aminotransferasa (ASAT): malalties cardíques i hepàtiques
- Glutamat-piruvat-transaminasa (GPT) = alanina aminotransferasa (ALAT): malalties cardíques i hepàtiques

En el cas de la lactat deshidrogenasa hi ha diferents isoenzims:

-
- LDH1: Miocardi
 - LDH5: Fetge

L'aspartat aminotransferasa té 2 isoenzims hepàtics:

- AST1: Citosol, passa al plasma amb facilitat. Reflecteix canvis lleus a la membrana plasmàtica.
- AST2: És mitocondrial i el seu pas al plasma és complicat. Reflecteix lesions necròtiques als hepatòcits.

7.3.1 Pancreatitis

És una inflamació dels conductes pancreàtics. Incrementa l'alliberació d'enzims digestius pancreàtics com:

- α -amilasa pancreàtica
- Lipasa pancreàtica
- Tripsina

7.3.1.1 α -amilasa

És un component important de la saliva (S) i del suc pancreàtic (P). Els isoenzims S i P es poden separar per electroforesi. Són enzims de petit tamany que travessen el LCR i a orina, on es poden detectar.

Fins als 5 anys és indetectable i és un bon marcador de pancreatitis.

- **Pancreatitis aguda:** Augmenta l'amilasa en sèrum i orina en 3h. Torna a la normalitat en 5-10 dies.
- **Pancreatitis crònica i fibrosi quística:** Disminueix l'amilasa en sèrum-
- **Hiperamilasèmia:** Nivells alts d'amilasa en sang degut a:
 - Diabetis amb cetoacidosi
 - Intoxicació alcohòlica
 - Insuficiència renal crònica
 - Lesions en glàndules salivals
 - Malalties de tractes biliars i intestinals

La macroamilasa és un complex d'amilasa amb immunoglobulines o polisacàrids (no passa a orina).

7.3.2 Fosfatasa àcids. Carcinoma de pròstata

La fosfatasa àcida és un enzim que allibera grups fosfat a pH àcid. Mostra una activitat elevada en pròstata (10-100 cops més elevada que en altres teixits). Té isoformes en eritròcits, plaquetes i pròstata.

Augmenta molt en carcinoma de pròstata descapsulat. La isoforma prostàtica es pot distingir de les altres perquè és inhibible per tartrat.

7.3.3 Marcadors hepàtics

Els més importants són:

- Transaminases
- γ -glutamil transpeptidasa (marcador de membrana i canalicle biliar i d'alcoholisme)
- Fosfatasa alcalina

7.3.3.1 γ -glutamil transpeptidasa

Transfereix residus de glutamat d'un pèptid a un aminoàcid per transportar-lo a través de la membrana plasmàtica. Abunda a la membrana plasmàtica de les cèl·lules del tracte biliar, els túbuls renals i l'epiteli intestinal. La γ -glutamil transpeptidasa normal del plasma és l'hepatòtica.

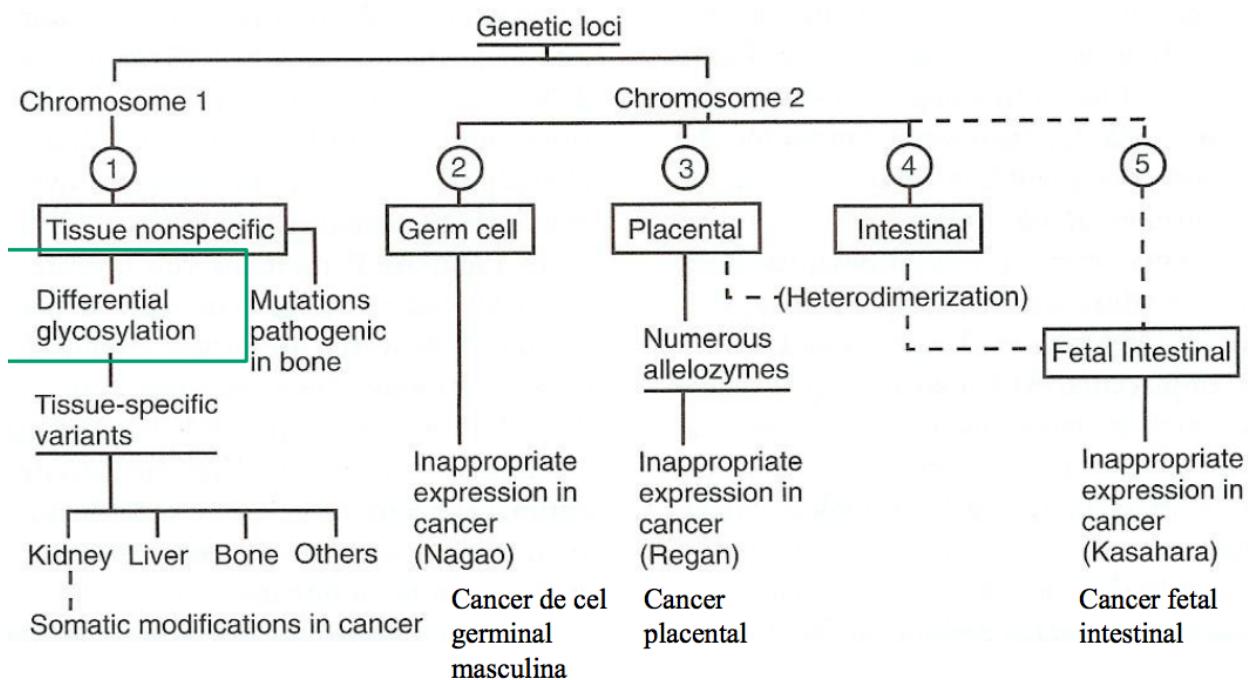
Els valors de referència són una mica elevats en nounats i en pacients obesos o alcohòlic. Hi ha diverses formes moleculars, no està clar si són isoenzims o productes de degradació. Augmenta molt en colestasis intra o extrahepatòtica. Augmenta però no tant en dany hepatocel·lular i també augmenta en alcoholisme, serveix com a control d'abstinença. Els nivells poden variar amb:

- Fàrmacs (anticonceptius i altres)
- Diabetis, hipertiroïdisme, artritis reumatoide, malalties renals...

7.3.3.2 Fosfatasa alcalina

Hi ha múltiples formes moleculars de fosfatasa alcalina que deriva de fetge, os o intestí.

Origins of Alkaline Phosphate Isoforms



De forma fisiològica, els nens i les embarassades (per la placenta) presenten una activitat elevada de fosfatasa alcalina.

De manera patològica, la fosfatasa alcalina es troba elevada en:

- Malalties hepàtiques (sensible però poc específic)
- Malalties òssies: Paget, osteomalàcia i osteomielitis
- Altres: alteracions endocrines, neoplàsiques o per fàrmacs

Malaltia hepatobiliar		Malaltia òssia		Altres processos	
Ictericia obstructiva	↑↑↑	Osteítis deformant	↑↑↑	Fractures en consolidació	↑
Cirrosi biliar	↑↑↑	Raquitisme	↑↑	Creixement normal	↑
Colestasi intrahepàtica	↑↑↑	Osteomalacia	↑↑	Embaràs (darrer trimestre)	↑
Lesions que ocupen espai (granulomes, abscessos, carcinoma metastàsic)	↑↑	Hiperparatiroidisme	↑↑	Hipofosfatàsia	↓
Hepatitis vírica	↑	Malaltia òssia metastàsica	↑↑	Malnutrició	↓
Mononucleosi infecciosa	↑↑	Sarcoma osteogènic	↑↑↑		
Cirrosi (alcohòlica)	↑				

Les isoformes difereixen en:

- Mobilitat electroforètica
- Inhibició diferencial (calor o inhibidors)
- Reconeixement per anticossos

-
- Especificitat de substrat i Km

De moment, els isoenzims no s'utilitzen pel diagnòstic. Si es tracta amb neuroamini-dasa, que trenca els sucres, i així poder separar les diferents isoformes d'os, fetge...

Malalties musculars

Hi ha 2 tipus:

- Malalties coronàries: Falta d'oxigen al miocardi
 - Infart de miocardi (isquèmia a les cèl·lules del cor)
 - Insuficiència cardíaca congènita
 - Angina de pit
- Malalties musculars: es trenquen les cèl·lules musculars i alliberen els seus enzims a la sang.
 - Distròfies musculars (Duchenne)
 - Poliomiocitosi (malaltia autoimmunitària)
 - Miopaties metabòliques hereditàries (enzims glicòlisi)

7.3.4 Infart de miocardi

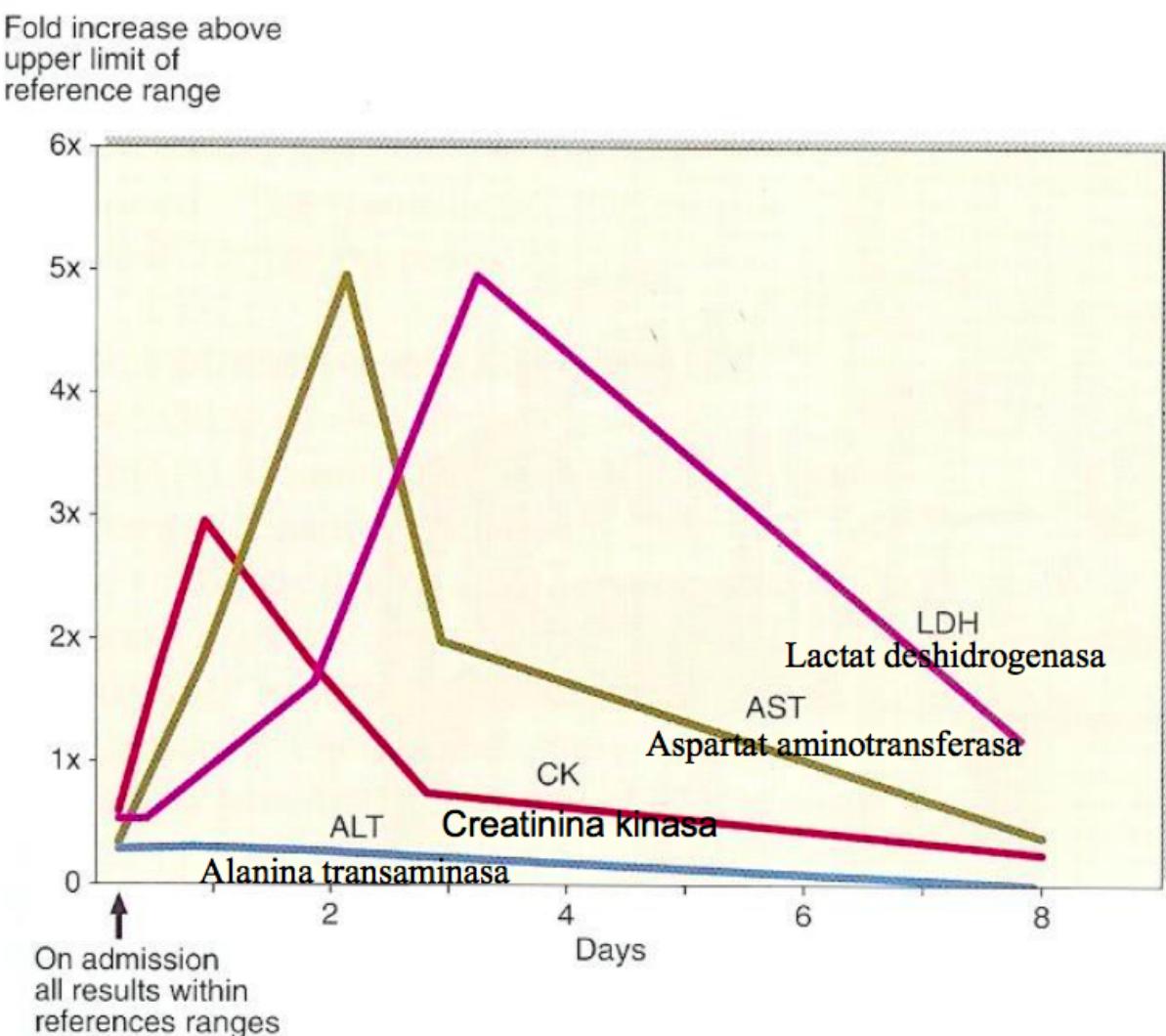


FIGURA 12: Canvis en la cinètica d'alguns enzims durant i post infart de miocardi

7.3.4.1 Creatina quinasa

La creatina és un substrat energètic del múscul. És un marcador primerenc de l'infart de miocardi.

És un enzim abundant al múscul esquelètic, al miocardi i al cervell. Augmenta molt en infart de miocardi, distròfia muscular, poliomiositis (miopatia inflamatòria idiopàtica), miopatia alcohòlica...

L'enzim és un dímer de 2 tipus de cadenes M i B, generant diferents isoenzims:

- BB (CK1): fetge, pulmó, ronyó, intestí, cervell
- MB (CK2): cor (25%)
- MM (CK3): cor (75%) i en múscul esquelètic. Més abundant en sèrum.

La detecció es pot fer per mètodes enzimàtics (CK totals), per electroforesi, cromatografia de bescanvi iònic i immunoinhibició.

La CK2 és específic de l'infart de miocardi. Augmenta després de 2-4 hores de l'infart amb un màxim d'activitat a les 12-36 hores. Es separa per electroforesi o cromatografia. Als 2-3 dies, la creatina quinasa ja disminueix.

La CK1 apareix en plasma quan hi ha carcinomes de pròstata, colon, pulmó i esòfag.

La CK3 (MM) apareix després de fer exercici intens.

La creatina quinasa catalitza aquesta reacció:



Els valors de referència en homes són superiors als de les dones (menys massa muscular en les dones).

La creatina quinasa també augmenta en:

- Afeccions musculars: rabdomiòlisis, polimiositis, dermatomiositis (miopatia inflamatòria idiopàtica), distròfies.
- Traumes: cremades, cirurgia, xoc elèctric
- Altres circumstàncies: hipotiroïdisme, administració d'algunes drogues
- Situacions lleus: administració d'injeccions, exercici físic intens

7.3.4.2 Lactat deshidrogenasa

És un marcador tardà d'infart de miocardi. És un enzim molt abundant en múscul, hematies (compte amb l'hemòlisi post extracció), fetge i ronyó.

Augmenta molt en anèmia megaloblàstica, carcinoma extès, xoc sever o hipòxia.

Augmenta en infart de miocardi o pulmonar, algunes leucèmies, algunes anèmies, mononucleosi infecciosa i distròfia muscular.

No augmenta gairebé en problemes hepàtics.

- Infart de miocardi: LDH puja més lentament que AST (aspartat transaminasa) i LDH es manté 10-14 dies.
- Infart pulmonar: Augmenta LDH i AST normal.

La LDH està formada per 4 subunitats H i/o M en un total de 135 kDa. Al sèrum normal predomina H_3M i després H_4, H_2M_2, M_3H i M_4 . En l'infart de miocardi, la forma H_4 predomina sobre la H_3M . La M_4 predomina en dany hepàtic o de múscul esquelètic.

La detecció es pot fer per mètodes enzimàtics (LDH total), per electroforesi (la isoforma H té major mobilitat), chromatografia de bescanvi iònic, immunoinhibició o assaigs calòrics (H_4 resisteix a 65°C durant 30 min).

La LDH fa la següent reacció:



Té una estructura terramèrica rica en triptòfan. Presenta una conformació β considerablement plegada. Cada monòmer fixa una molècula de tiroxina, que és una prealbúmina fixadora de tiroxina (PAFT), però la globulina és 100 vegades més afí per la tiroxina. Forma complexes amb la vitamina A, amb la prealbúmina fixadora de retinol (PFR).

7.3.4.3 Transaminases

Són enzims que passen un grup amino d'un oxoàcid a un aminoàcid.

- **AST o GOT o ASAT: aspartat aminotransferasa**
 - Augmenta en malaltia hepatobiliar, cardiovascular o muscular.
 - Augmenta en infart de miocardi i disminueix al 5è dia. L'augment és proporcional a la necrosi.
 - Augmenta en distròfia muscular i en triquinosis.
- **ALT o GPT: alanina aminotransferasa**
 - Augmenta en destrucció hepatocel·lular
 - No s'altera en problemes muscualars

AST i ALT també s'alteren en:

- Diabetis mellitus, mononucleosis, lupus, febre tifoidea, càncer, fàrmacs
- Valors baixos en situacions de déficit de la vitamina fosfat de piridoxal.

7.3.4.4 Marcadors no enzimàtics

En trobem de diferents tipus:

- **Mioglobina** (detectable a les 1-3h de l'infart)
- Cadenes lleugeres de la **miosina**
- **Tropònines I i T** (detectables de les 3-12h de l'infart, es mantenen elevades de 10-15 dies). Ajuden a la contracció de l'actina

Mecanisme	Exemple	Enzims	Comentaris
I. Nivells augmentats en el sèrum			
A. Alliberació augmentada			
1. Necrosis	Infart de miocardi	ASAT (GOT), LDH, ALS, MD, GR, CK, HBD, RNAsa i altres	
	Hepatitis aguda	ASAT (GOT), ALAT (GPT), OCT, ICD, ID, GD, LDH, ALS, PHI, MD, GR, FA, LAP i altres	Nivells augmentats d'alguns enzims (FA) poden representar un augment de la producció i la seva alliberació a partir de cèl·lules necròtiques i una excreció disminuïda
	Pancreatitis aguda	amilasa, lipasa, lecitinasa, tripsina, DNAsa I	
2. Permeabilitat augmentada: membranes cel·lulars sense necrosi	Distròfia muscular progressiva, delirium tremens, dermatomiositis	CK, ALS, PHI, MD, ASAT (GOT), ALAT (GPT)	
B. Augment de la font histica d'enzims; augment de l'alliberació a partir del teixit o ambdós	Malaltia neoplàstica (carcinoma, limfoma), leucèmia granulocítica	DL, ALS, PHI, MD, GR, glucuronidasa	
	Anèmia megaloblàstica	LDH, ALS, PHI, MD	Pot ser el resultat d'un augment en el nombre de megaloblasts, destrucció intramedular augmentada o d'ambdós
	Lesions osteoblàstiques (malaltia de Paget, sarcoma osteogènic, fractures en consolidació, raquitisme, ...)	FA, ATPasa	
C. Alteració en l'excreció d'enzims	Úlcera pèptica Urèmia	Pepsinògen Amilasa	Nivells augmentats d'amilasa, secundaris a fracàs renal i d'origen incert
	Ictericia obstructiva	FA, LAP, 5'N, GGT	Importància relativa d'una excreció disminuïda i una producció augmentada

Mecanisme	Exemple	Enzims	Comentaris
II. Nivells disminuïts en el sèrum A. Formació disminuïda			
1. Genètica	Hipofosfatasia Malaltia de Wilson Acolinesterasèmia	FA Ceruloplasmina Seudocolinesterasa	
2. Adquirida	Hepatitis Inanició	Seudocolinesterasa Amilasa (AMS)	
B. Inhibicions d'enzims	Enverinament amb insecticides	Sudocolinesterasa	
C. Manca de cofactors	Embaràs? Cirrosi?	ASAT	Deficiència en piridoxina o metabolisme deficient en aquest coenzim (?)

8. Disfuncions del metabolisme glucídic

8.1 Regulació de la concentració de la glucosa sanguínia

8.1.1 Metabolisme de la glucosa

La glucosa és un constituent habitual de la dieta i és el principal substrat que utilitzen les cèl·lules per aconseguir energia. La digestió dels polisacàrids comença a la boca per acció de l'amilasa salival, que s'inhibeix amb el pH de l'àcid gàstric. El procés digestiu continua a la llum intestinal per l'acció de l'amilasa pancreàtica, que produeix dextrines i maltosa. Les disacaridases de la mucosa intestinal hidrolitzen els disacàrids en monosacàrids, els quals s'absorbeixen a l'intestí prim per transportadors específics i son conduits cap al fetge a través de la circulació portal.

La glucosa també es pot obtenir per gluconeogènesi. El principal precursor és el lactat, tot i que també ho són alguns aminoàcids com lalanina, a més del glicerol i el piruvat. Els teixits en què es pot sintetitzar la glucosa disposen d'enzims sintètics, sobretot el fetge i el ronyó.

La glucosa pot seguir diverses vies metabòliques en funció de la situació en la que es trobi dins l'organisme:

- 1 Pot ser utilitzada per obtenir energia. La glucòlisi té lloc al citoplasma, no requereix oxigen i es forma adenosina trifosfat (ATP), nicotinamida adenina dinucleòtid reduït (NADH) i piruvat. En condicions aeròbiques, el piruvat penetra al mitocondri, es descarboxila i es forma acetil-CoA, que participa al cicle de Krebs. L'oxidació final es produeix a la cadena respiratòria en que es genera ATP per fosforilació oxidativa. En condicions anaeròbiques, el piruvat citosòlic es converteix en lactat per l'acció de la lactat deshidrogenasa (LDH), que recupera el NADH citosòlic i permet el manteniment de la glucòlisi.
- 2 La glucosa pot entrar en la via de les pentoses-fosfat i formar ribosa per la síntesi d'àcids nucleics i poder reductor citosòlic en forma de NADH. Aquest és necessari per la síntesi de lípids i esteroides, en reaccions d'hidroxilació i anabòliques. El NADPH també és important en diverses reaccions antioxidants que neutralitzen els peròxids orgànics i d'hidrogen que es produeixen al metabolisme.
- 3 Si l'organisme no necessita glucosa, l'emmagatzema en forma de glicogen, sobretot al múscul i al fetge. Durant els períodes breus de dejú s'evita el descens brusc de la glucèmia gràcies a l'alliberació de glucosa per part dels dipòsits de glucogen renal i hepàtic. La glucogenòlisi en aquests teixits manté l'homeostasi de la glucosa, ja que conté l'enzim glucosa-6-fosfatasa, necessària per la desfosforilació de la glucosa i el seu transport a l'exterior cel·lular. El glucogen muscular no contribueix al manteniment de la glucèmia perquè les cèl·lules musculars no disposen d'aquest enzim. Si el període de dejú és més prolongat, la glucèmia es manté gràcies a la gluconeogènesi.

si i els cossos cetònics procedents dels àcids grassos es converteixen en el principal substrat energètic.

- 4 A part del metabolisme energètic, la glucosa pot utilitzar-se com base hidrocarbonada per la síntesi d'altres compostos, com els àcids grassos.

8.1.2 Entrada de glucosa a la cèl·lula

La glucosa és una molècula polar, per la qual cosa la seva entrada a les cèl·lules ha de ser mediada per transportadors, que poden ser dependents d'energia (SGLT) o no (GLUT).

- Els transportadors SGLT-1 i SGLT-2, situats a la membrana apical de les cèl·lules de l'epiteli intestinal i renal, interioritzen la glucosa en contra de gradient, ajudats pel co-transport de sodi.
- Existeixen 13 tipus de transportadors GLUT, que interioritzen la glucosa per difusió facilitada i que es diferencien per la seva distribució, sensibilitat hormonal i afinitat pel sucre.

Transportador	Teixit	Característiques
GLUT1	Ubiquí	Molt afí. Km = 1 mM
GLUT2	Ronyó, pàncrees, intestí, fetge	Poc afí. Km = 17 mM
GLUT3	Cervell	Molt afí. Km < 1mM
GLUT4	Múscul esquelètic i cardíac, teixit adipós	Sensible a insulina, Km = 5mM

TAULA 3: Transportadors GLUT

L'entrada de glucosa a l'interior de les cèl·lules del múscul i del teixit adipós depèn del transportador dependent d'insulina GLUT4. Sense estimulació, els transportadors GLUT4 estan emmagatzemats en vesícules citoplasmàtiques. Quan la insulina s'uneix als seus receptors de membrana, aquests canvien la seva conformació i adquireixen activitat tirosina-quinasa, s'autofosforil·len i fosforil·len altres proteïnes en una cascada de senyalització. Com a resultat, es produeix una translocació de les vesícules cap a la membrana cel·lular, fet que augmenta la concentració de transportadors GLUT4 i per tant, augmenta l'entrada de glucosa a l'interior del miòcit o adipòcit. Finalitzat l'estímul, les vesícules es tornen a interioritzar de nou per un mecanisme dependent de clatrina. El nombre de transportadors GLUT4 depèn de l'estat de l'individu. Per exemple, l'exercici, la dieta, el dejú o la gestació modifiquen el nombre de receptors i la seva afinitat per la insulina.

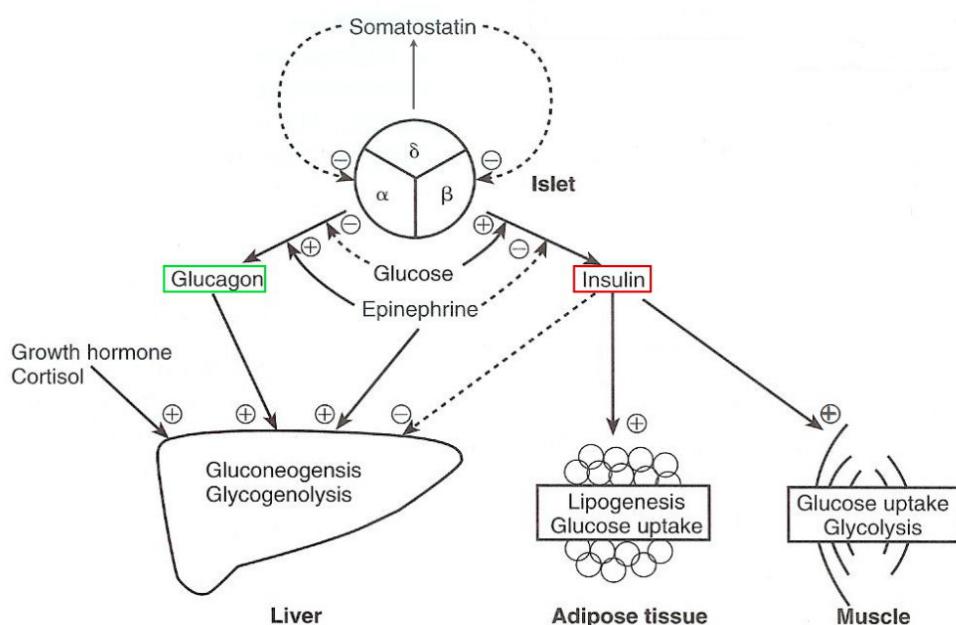
8.1.3 Regulació de l'homeostasi de la glucosa

La glucosa plasmàtica es manté dins d'un interval bastant estret, de 4 a 6mmol/L (70-110 mg/dL). El control de la concentració de glucosa en sang és conseqüència d'un complex sistema endocrí, en el qual únicament la insulina té la funció de disminuir la glucosa

després de la ingestà. En canvi son diverses les hormones hiperglucemiantes; la somatotropina o hormona inhibidora del creixement (GHIH) secretada per les cèl·lules delta pancreàtiques, la tiroxina o T4 secretada per les cèl·lules fol·liculars de la glàndula tiroide, l'epinefrina generada a les glàndules suprarenals a partir dels aminoàcids fenilalanina i tirosina, el cortisol produït també per les glàndules suprarenals i el glucagó secretat per les cèl·lules alfa pancreàtiques.

Hipoglucemiants	Hiperglucemiants
Insulina	Glucagó
	Adrenalina
	Somatotropina
	Tiroxina
	Cortisol

TAULA 4: Hormones que regulen la glucèmia



Les hormones contrarreguladores de la insulina provoquen un increment de la glucosa plasmàtica gràcies a les seves accions sobre la captació de glucosa, la glucogenòlisi o la gluconeogènesi. Un excés d'alguna d'aquestes hormones pot causar hiperglucèmia. Per tant, la glucosa plasmàtica es regula amb major dificultat en condicions que cursen amb elevacions d'aquestes hormones, com en malalties (hipercortisolisme), estrès (elevació de l'adrenalina) o embaras (augment del lactògen placentari).

El glucagó és una hormona de 29 aminoàcids que es sintetitza a les cèl·lules alfa dels illots de Langerhans del pàncrees. La hipoglucèmia estimula la seva secreció i les seves accions són oposades a les de la insulina: al fetge estimula la glucogenòlisi i la gluconeogènesi per incrementar els nivells sanguinis de glucosa, mentre que al teixit adipós promou la lipòlisi, amb producció de glicerol i àcids grassos.

Després de la ingestió de glucosa, es produeix una situació transitòria d'hiperglucèmia que provoca l'alliberació d'insulina. Aquesta hormona estimula la captació de glucosa per part dels miòcits i adipòcits, així com la síntesi de glucogen hepàtic. El resultat final és la recuperació de l'equilibri amb el descens de la glucèmia. En canvi, en situacions d'hipoglucèmia, les cèl·lules alfa del pàncrees produeixen glucagó, que s'uneix als seus receptors del fetge i estimula la glucogenòlisi i la gluconeogènesi, que condueixen a un ràpid increment de la glucosa, fins a recuperar la normoglucèmia.

8.2 Hiperglucèmia

La [Glucosa] > 7,7 mmol/L (140 mg/dL).

8.2.1 Diabetis

La diabetis mellitus és un grup de malalties metabòliques caracteritzat per la hiperglucèmia resultant de defectes en la secreció d'insulina, en l'acció de la insulina o ambdues. Si la hiperglucèmia excedeix la capacitat de reabsorció renal, es produeix glucosúria. Conjuntament amb la glucosa s'excreta aigua per un procés de diuresi osmòtica, que causa una sensació de set (polidipsia).

La primera classificació oficial va ser establerta per la OMS al 1985 però posteriorment va ser eliminada per la ADA. La American Diabetes Association (ADA) va proposar al 1997, actualitzada al 2013, una classificació de la diabetis en quatre grups:

1. De tipus 1: Insulinodependent
2. De tipus 2: No insulinodependent (amb obesitat o sense)
3. Gestacional
4. Altres tipus:
 - Defectes genètics de la funció de les cèl·lules β -pancreàtiques
 - Defectes genètics de l'acció de la insulina
 - Malalties del pàncrees exocrí
 - Endocrinopaties
 - Provocada per fàrmacs o drogues
 - Infeccions
 - Auto-immunes

A part de la diabetis en sí, es pot donar una disminució de la tolerància a la glucosa que també pot estar causada per una malaltia pancreàtica o una disfunció hormonal.

8.2.1.1 Diabetis mellitus de tipus 1

La diabetis de tipus 1, antigament denominada diabetis insulinodepenent o diabetis juvenil, és la responsable del 10-15% dels casos. Aquesta malaltia és més freqüent en nens i adolescents, tot i que es pot desenvolupar a qualsevol edat. Es caracteritza per un deficiència absolta d'insulina deguda a l'atac immunològic contra les cèl·lules beta-pancreàtiques. En aquesta activació auto-immune intervenen factors genètics, factors ambientals, vírics o químics. Els determinants genètics son importants i la freqüència augmenta en relació a certs antígens del complex major d'histocompatibilitat (HLA) propis de malalties auto-immunes. De fet, aquests pacients són propensos a tenir altres alteracions auto-immunes. Com a conseqüència, es produeixen anticossos anti-cel·lulars dels illots que reaccionen amb antígens presents al seu citoplasma: anticossos anti-insulina, anticossos anti-descarboxilasa de l'àcid glutàmic (GAD) i anticossos de les tirosines fosfatas AI-2 i IA-2B. L'existència d'aquests anticossos es presenta en un 90% dels pacients al moment del diagnòstic.

La diabetis de tipus 1 normalment s'inicia de forma brusca amb símptomes com políuria, polidipsia i pèrdua de pes, i la cetoacidosi sol ser la primer manifestació clínica de la malaltia en nens i adolescents. En altres casos, la hiperglucèmia en dejú no és excessiva, però es produeix hiperglucèmia greu i cetoacidosi davant una situació d'estrés, com pot ser una infeció. El grau de destrucció de les cèl·lules beta és bastant variable, i és ràpida en nens i més lenta en adults. Alguns pacients adults poden tenir certa activitat residual de les cèl·lules beta, suficient per prevenir la cetoacidosi durant anys. Altres són dependents de l'administració d'insulina per sobreviure i corren el risc de patir cetoacidosi greu. En aquests casos, la falta de secreció d'insulina es reflexa analíticament per una concentració indetectable de pèptid C.

Algunes formes de diabetis tipus 1 no tenen una etiologia coneguda i es coneixen com diabetis idiopàtica. Aquests pacients no secreteuen insulina i tenen predisposició a cetoacidosi, però no poden de manifest auto-immunitat ni relació amb antígens HLA.

8.2.1.2 Diabetis mellitus de tipus 2

Aquesta malaltia es deu a la combinació d'una resistència perifèrica a l'acció de la insulina i a la disfunció de les cèl·lules beta-pancreàtiques que les incapacita per respondre de forma eficient i compensar la resistència. La diabetis de tipus 2, anteriorment coneguda com diabetis insulina independent, és la que té una prevalença més alta, entre el 80 i el 90 % dels casos. Generalment apareix en adults de més de 40 anys, el risc augmenta amb l'edat, l'obesitat i la falta d'exercici físic, tot i que cada cop és més freqüent en nens i adolescents. És més freqüent en dones amb diabetis gestacional prèvia i amb individus amb hipertensió i hiperlipèmia. S'associa amb una forta predisposició genètica, major que la diabetis de tipus 1, però és una associació molt complexa i no està clarament definida. Podrien estar involucrats gens relacionats amb la secreció o l'acció de la insulina, de la ingestió o del metabolisme lipídic. No es relaciona amb virus ni es detecten autoanticossos anti-cel·lulars dels illots.

La diabetis de tipus 2 és d'aparició insidiosa i els pacients poden estar anys sense di-

agnosticar, perquè la hiperglucèmia es desenvolupa gradualment i als estadis inicials els símptomes no són evidents. Durant aquest període asimptomàtic, es pot demostrar l'alteració del metabolisme hidrocarbonat mesurant la concentració de glucosa plasmàtica ni dejú o realitzant una sobrecàrrega oral de glucosa. En general, la malaltia es manifesta per les seves complicacions: infeccions, úlceres de difícil curació, alteracions retinàries o renals, etc.

Els diabètics de tipus 2 rarament presenten cetoacidosi de forma espontània.

8.2.1.3 Diabetis mellitus gestacional

Durant l'embaras, es produeix un increment de la resistència a la insulina de forma fisiològica, sobretot en el segon i tercer trimestre. Les embarassades es tornen resistentes a la insulina per permetre que els nutrients arribin fàcilment al fetus (major biodisponibilitat de substrat). Aquesta resistència es compensa normalment al produir una major quantitat d'insulina per evitar hiperglucèmies. Les embarassades que no aconsegueixen mantenir la concentració de glucosa en sang dins dels valors normals desenvolupen diabetis gestacional. Aquesta condició afecta al 2-4 % de la població obstètrica. Generalment coincideix amb l'augment del lactogen placentari que també contribueix a la resistència a la insulina. Després del part, la situació es pot normalitzar per la davallada d'hormones de l'embaras. No obstant, algunes dones tenen una resposta més exagerada i continuen amb un quadre d'hiperglucèmia i poden arribar a desenvolupar diabetis de tipus 2. Un 20 % de les dones que fan diabetis gestacional esdevenen diabètiques de tipus 2. Aquesta situació es pot evitar mitjançant un control periòdic durant l'embaras.

8.2.1.4 Diabetis mellitus d'altres tipus

Les malalties que lesionen sèriament el pàncrees, com la pancreatitis o el carcinoma pancreàtic, poden provocar diabetis mellitus. També algunes infeccions víriques poden afectar a les cèl·lules beta. Alguns síndromes genètics com el de Down, Klinefelter o Turner, a vegades estan associats amb diabetis. Les malalties endocrinològiques que causen una elevació de les hormones contra-reguladores de la insulina també poden provocar diabetis, que desapareix quan disminueix la concentració d'hormona alterada. A més, moltes drogues o tòxics com l'àcid nicotínic i els glucocorticoides poden alterar la secreció d'insulina.

Les diabetis de tipus MODY estan associades a defectes monogènics de la funció de les cèl·lules beta i es transmeten de forma autosòmica dominant. Produeixen la hiposecreció insulínica, la hiperglucèmia abans dels 25 anys i representen el 2- 5 % de les diabetis juvenils. La forma més freqüent és una mutació al gen HNF (factor nuclear hepatocitari) al cromosoma 12. També s'han trobat mutacions al ADN mitocondrial.

S'han descrit alguns casos d'anormalitats genètiques amb herència autosòmica dominant, que tenen com a resultat la incapacitat de convertir la pro-insulina a insulina i produeixen intolerància lleugera a la glucosa.

8.2.2 Estadis pre-diabètics

Aquestes serien situacions clíniques patològiques on ja hi està establert un quadre clar d'hiperglucèmia. Des del punt de vista clínic ens interessa detectar els grups de població que poden esdevenir diabètics.

- **IFG (Impaired fasting glucose):** Estat pre-diabètic, en el qual el nivell de glucosa en sang durant el dejuni és constantment més alt del normal (5,6-6,9mmol/l). No obstant això, el nivell no és prou alta com per ser diagnosticats com diabetis mellitus. L'analítica es torna a repetir al cap de 15 dies per confirmar els nivells. Aquest estat pre-diabètic s'associa amb la resistència a la insulina i l'augment de risc de la patologia cardiovascular, encara que de menor risc que la intolerància a la glucosa (IGT). IFG pot progressar a diabetis mellitus tipus 2 si no es fan canvis d'estil de vida. Molts d'ells tenen respostes normals a una prova de tolerància a la glucosa.
- **IGT (Impaired Glucose Tolerance):** Estat pre-diabètic en el qual els nivells de glucèmia en dejú apunten a una normalitat però si sotmetem al pacient a una sobre-carrega oral de glucosa es posa de manifest una dificultat per processar la glucosa. Els nivells de glucèmia estarien per sobre del normal. Seria un estat previ al IFG.

A la diabetis de tipus 2 transcorre un període de temps de 5 anys de mitja abans que apareguin els símptomes clínics. Per això, la ADA recomana realitzar determinacions periòdiques a aquelles persones majors a 45 anys que superin un index de massa corporal de $25\text{kg}/\text{m}^2$. D'aquesta manera s'aconsegueix un diagnòstic a temps i es limiten les complicacions a llarg termini.

8.2.3 Criteris diagnòstics de la diabetis mellitus

Durant dècades, el diagnòstic s'ha basat en demostrar la hiperglucèmia, bé mesurant la glucosa basal en dejú o després de la sobrecàrrega oral de glucosa. Recentment, s'han revisat els criteris diagnòstics i s'ha inclòs la mesura de l'hemoglobina A1c (HbA1c), un marcador de glucèmia crònica, que reflexa la glucèmia mitjana dels últims 2-3 mesos.

A part de tenir funció diagnòstica, l'hemoglobina A1c també s'utilitza per monitoritzar els diabètics per veure si el tractament és correcte. Aquesta hemoglobina es caracteritza per incorporar glúcids de manera espontània en funció de la seva vida mitja. Aquests glúcids son un reflex dels nivells de glucèmia. Les proves clíniques mesuren el seu grau de glicació. Un grau de glicació lleugerament elevat (5,7-6,4%) és indicador que la persona pot estar iniciant diabetis. L'affinitat per l'oxigen no es veu afectada.

- HbA1c > 6,5%
- Glucèmia en dejú de 8 hores. FPG > 7mmol/L (126mg/dL)
- Glucèmia elevada al cap de 2 hores d'una sobrecàrrega oral de glucosa. > 11,1 mmol/L (200mg/dL).

- Símptomes clàssics de diabetis i glucèmia aleatòria > 11,1 mmol/L (200mg/dL).

S'entén com a símptomes clàssics: gana, set, ganes constants d'orinar. Una analítica aleatòria no és necessari que sigui en dejuni.

		Tipus 1 (abans IDDM ó Tipus I)	Tipus 2 (abans NIDDM o Tipus II)
Edat habitual		<30	>35
Símptomes		Poliuria Polidipsia Polifagia	Assimptomàtica
Aspecte físic		Consunció Deshidratació Pèrdua consciència	Obesitat
Cetoacidosi		Molt freqüent	Absent
Resposta a insulina		Sensible	Resistent
Tractament	<i>Dieta Insulina Altres fàrmacs</i>	Insuficient Essencial (ràpida + lenta) -----	Suficient A vegades Metformina, sulfonilurees
Origen	<i>Herència poligènica Factors ambientals</i>	Al·lels MHCI Virus	Múltiples alteracions Dietes grasses, obesitat, edat

8.2.4 Simptomatologia clínica

La hiperglucèmia no controlada pot causar trastorns greus, tant aguts com a llarg plaç, que afecten seriosament a la qualitat de vida. Per evitar complicacions, és fonamental realitzar un seguiment analític de la glucèmia capilar, la glicohemoglobina i la microalbuminúria.

8.2.4.1 Complicacions agudes de la diabetis

Les principals complicacions metabòliques agudes associades amb la hiperglucèmia son la cetoacidosi diabètica i el coma hiperosmolar no cetòsic.

La cetoacidosi diabètica és la descompensació metabòlica més característica del diabètic de tipus 1. Té lloc generalment per un factor desencadenant com una infecció, augment d'hormones contra-reguladores de la insulina, estrès, malaltia associada, inadequada administració d'insulina, fàrmacs, etc. La deficiència d'insulina, a més de causar hiperglucèmia, afecta al metabolisme de les proteïnes i lípids. El fetge entra en una situació paradòxica perquè augmenta les senyals e manera que mobilitza glucosa i crea glucosa de novo. El que al inici era un déficit d'insulina al final es veu ageujat pel comportament hepàtic. El catabolisme de proteïnes produceix una acumulació de substrats gluconeogènes i un augment de la producció de compostos nitrogenats. A part d'això, la lipòlisi causa un increment del substrat gluconeogènesi glicerol i dels àcids grassos lliures (hiperlipèmia). Cal recordar que la lipoproteïna lipasa és sensible a la insulina. La degradació d'aquests produceix cossos cetònics a partir de l'acetil-CoA, responsables de la cetonèmia i cetonúria. Aquests compostos són de naturalesa àcida i poden provocar un

estat d'acidosi metabòlica amb un increment de hiat aniónic. També pot tenir lloc una lleugera elevació del lactat plasmàtic que pot contribuir a l'acidosi. La proporció de cosos cetònics en plasma depèn de l'estat redox i sol ser: β -hidroxibutirat (78%), acetoacetat (20%) i acetona (2%). A la cetoacidosi metabòlica es produeix un increment en la concentració de NADH, fet que afavoreix la producció de β -hidroxibutirat i s'arriba a establir una proporció 15:1. Durant la solució del procés, es pot produir un increment de acetoacetat degut al restabliment de la relació NADH/NAD⁺. Si es realitza un seguiment de la cetoacidosi mesurant l'existència de cetones amb el test de nitroprussiat, l'increment d'acetoacetat causa major reacció, tot i que la concentració de cetones totals disminueix. Per tant, hi ha un desequilibri d'electròlits, híbrid i de pH.

El coma hiperosmolar no cetòsic és la complicació aguda més freqüent en diabètics de tipus 2, que es produeix, sobretot, en persones ancianes, en les quals la deshidratació no és compensada per una major ingestió de líquids. El factor desencadenant sol ser una infecció aguda. La fisiopatologia del coma hiperosmolar no cetòsic és molt diferent de la cetoacidosi descrita anteriorment. Es caracteritza per una hiperglucèmia greu (pot superar 35 mmol/L) amb diurèsi osmòtica i una gran deshidratació. No obstant, la producció d'insulina evita la cetosi. La notable osmolaritat plasmàtica ocasiona una important alteració de la consciència, que pot arribar al coma, i si no es tracta adequadament, pot ser mortal.

$$\text{OSMOLARITAT PLASMÀTICA} = 2 * [\text{NA}] + [\text{GLUCOSA}]$$

8.2.4.2 Complicacions cròniques de la diabetis

Els pacients diabètics presenten un elevat risc de desenvolupar complicacions cròniques i son freqüents les que afecten als vasos circulants de petit calibre (microangiopatia) i els vasos de gran calibre (macroangiopatia).

La microangiopatia són les lesions de la paret de la microvasculatura, caracteritzades per un augment del gruix de la membrana basal, amb la conseqüent disminució de la llum del vas. Les alteracions es localitzen majoritàriament a la retina, els ronyons i el sistema nerviós i provoquen retinopatia, nefropatia i neuropatia.

- La **retinopatia** és la causa més freqüent de ceguera no congènita als països occidentals. Un elevat percentatge dels pacients diabètics de tipus 1 presenta algun signe de retinopatia als 15-20 anys del diagnòstic. La capa de la retina s'emplena de taques blanques, que es corresponen a les zones on s'ha produït alguna hemorràgia o aneurisme. La pèrdua de visió serà gradual.
- La **nefropatia** es deu a un augment del gruix de la membrana basal del glomèrul renal, que afecta a la permeabilitat i s'eliminen proteïnes per l'orina. En situacions d'hiperglucèmia, el glomèrul deixa passar bona part de la glucosa. Com que la capacitat de reabsorció per part del túbul proximal està saturada, es perd una quantitat important per l'orina. Cal recordar que la glucosa és un osmòlit i requereix aigua per la seva excreció, que contribueix a la sensació de set. També es perden electròlits associats com el Na, K, Cl, etc. La presència de glucosa al glomèrul malmet la

funció glomerular, augmentant la mida dels porus i tenint un impacte directe sobre les càrregues negatives de l'epiteli fenestrat. Per detectar a temps la insuficiència renal, quan encara és reversible, es determina la microalbuminúria, a més de la creatinina i el seu aclariment renal. L'àlbumina és abundant en orina per dues raons: és la proteïna circulant més abundant i té un pes molecular de 65kDa, just el límit del porus.

- La **neuropatia** es produeix per una lesió en les fibres nervioses degut a una alteració de la mielina i de la irrigació. Com a conseqüència, pot tenir lloc una pèrdua de la sensibilitat, percepcions incorrectes i dolor excessiu.

La macroangiopatia es deu a una alteració de la macrovasculatura per alteració del metabolisme lipídic i del desenvolupament d'arteriosclerosi amb afectació del cor, el cervell i la circulació perifèrica. La persona diabètica presenta un risc cardiovascular augmentat de 2-4 cops respecte els pacients sans. També presenta una elevada incidència de malaltia cerebro-vascular i vascular perifèrica. Les lesions de la macroangiopatia diabètica son semblants a les plaques d'ateroma dels no-diabètics, però en diabètics apareixen més precoçment i evolucionen més ràpidament.

L'excés de glucosa circulant modifica de manera no enzimàtica les proteïnes sanguínies que incorporen glúcids. Aquestes reaccions químiques depenen de la concentració de glucosa i del temps d'exposició de les proteïnes a la glucosa. Les APO de les lipoproteïnes de baixa densitat també poden patir glicosilació, que facilita la seva oxidació i la seva pèrdua afinitat, de manera que hi ha tendència a acumular LDL. Molts diabètics estan en tractament amb estatinas. Per altra banda, la glicosilació del col·lagen causa una pèrdua d'elasticitat. Les proteïnes que formen part de la paret del vas no es recanvien en molts anys, per la qual cosa l'alteració es va acumulant.

8.3 Paràmetres clínics

8.3.1 Mètodes químics

N'hi ha bàsicament 2:

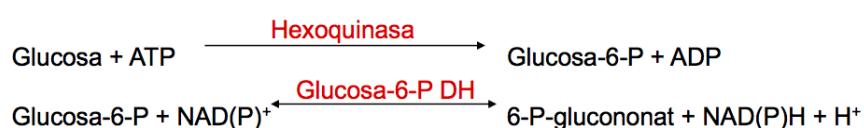
- **Ortoluïdina:** Mètode colorimètric. Reacció entre amines aromàtiques i la glucosa en medi àcid.
- **Reacció de Benedict (Cu_2^+):** Mètode colorimètric basat en la reducció del coure. La glucosa reacciona amb el coure i genera òxids de coure, que donen coloració.

8.3.2 Mètodes enzimàtics

Els mètodes més utilitzats son els enzimàtics, basats en la glucosa-oxidasa, la glucosa deshidrogenada i la hexoquinasa, ja que son específics per la glucosa. A més, son ràpids i automatitzables. Aquests mètodes permeten quantificar la glucosa en diferents líquids biològics, com el plasma, l'orina o el LCR.

La gent que s'ha de controlar la glucèmia disposa d'uns aparells en els quals diposita una gota de sang i disposa de la determinació a l'instant. Als laboratoris també hi han tires reactives (mètode semi-quantitatius)

- **Hexoquinasa/ Glucosa-6P-DH:** L'hexocinasa transforma la glucosa en la glucosa-6P, la qual és posteriorment oxidada a 6-fosfogluconat i genera NADH. L'increment de l'absorvància a 340 nm és directament proporcional a la concentració de glucosa. Aquest mètode té l'inconvenient que no és lineal en concentracions elevades de glucosa i els reactius tenen una estabilitat limitada. És el mètode de referència actual. El mètode de referència es aquell que obligatòriament han de tenir a punt tots els laboratoris perquè una mateixa mostra pugui ser valorada en diferents laboratoris. És una manera de saber com és de precisa i exacte la determinació.



- **Glucosa oxidasa/ Peroxidasa:** Es basa en l'oxidació per la glucosa-oxidasa de la glucosa a àcid glucorònic i H_2O_2 . La peroxidasa catalitza la reacció del H_2O_2 amb un acceptor d'oxigen i forma un compost colorimètric (reacció de Trinder). L'increment de color és proporcional a la quantitat de glucosa. La glucosa-oxidasa és més específica que la hexoquinasa i només reacciona amb la β -D-glucosa, per la qual cosa és necessari afegir una mutarrotasa per afavorir el desplaçament de la forma alfa a beta. Com que està acoblat a la reacció de Trinder, aquest mètode és susceptible a interferències per compostos reductors que consumeixen peròxid d'hidrogen, com l'àcid ascòrbic, la bilirubina o l'àcid úric. Es poden produir resultats de glucosa falsament disminuïts.
- **Glucosa deshidrogenasa:** Mesura la formació de NADH a 340nm durant l'oxidació de la α -D-glucosa a D- gluconolactona.

8.3.2.1 Variabilitat pre-metrològica

El més habitual és realitzar la determinació en sang venosa de sèrum o plasma. La glucèmia en sang arterial és lleugerament superior. S'a de fer en sèrum o plasma i no pas en sang total perquè sinó hauríem de tenir en compte la concentració de glucosa intraeritrocitaria. Els eritròcits capten la glucosa i disminueixen la concentració lliure. Per això, la glucèmia és menor en sang total. Diversos factors poden afectar la variabilitat pre-metrològica, com l'edat o els fàrmacs. Els corticoides o diürètics augmenten la glucèmia.

Un cop presa la mostra, cal ser ràpids en fer la determinació per evitar el metabolisme eritrocitari. Generalment es du a terme una desproteinització prèvia per evitar interferències. L'estabilitat de la mostra es manté 8h a 25C o 72h a 4C.

8.3.3 Sobrecàrrega oral de glucosa

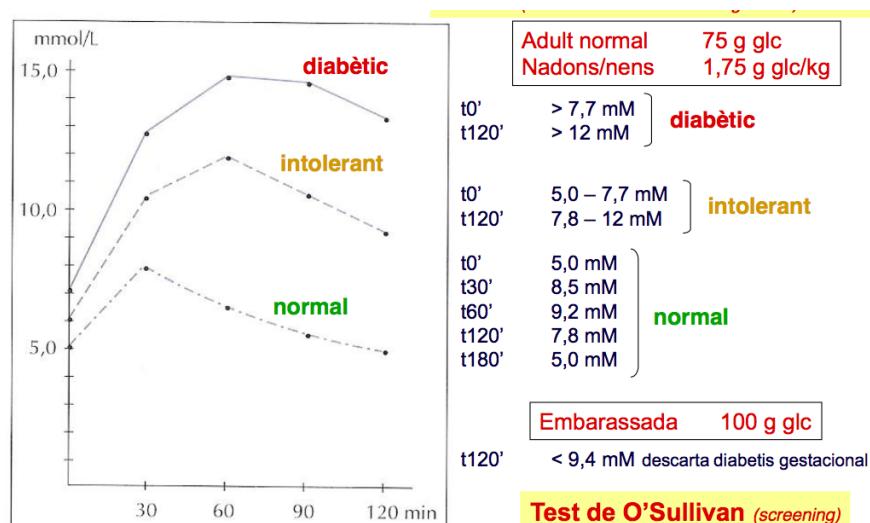
Suposem que la determinació de glucèmia en una analítica estàndard dona un valor sospitós en la part alta del rang dels IGF. Abans de sotmetre a la persona a altres proves es repeteix al cap d'una setmana o 15 dies, temps on se li demana a la persona que no canvi els seus hàbits. Si en la segona determinació ens torna donar un valor sospitós, es sotmet al pacient a un test de resposta: el test de tolerància oral a la glucosa.

La prova de sobrecàrrega oral de la glucosa es basa en realitzar determinacions seriades de glucosa durant 2 hores abans i després de que el pacient ingereixi oralment 75 grams de glucosa o 1,75g/kg de pes fins a un màxim de 75 grams. Normalment, la glucèmia supera en algun moment els 11,1mmol/L (200mg/dL), però descendeix als 120 minuts per sota dels 7,8 mmol/L (140 mg/dL). Els intolerants no normalitzen els valors al final de la prova. Els diabètics de tipus 2 en dejuni ja tenen nivells elevats i després de l'administració de glucosa no fan un pic abrupte sinó un plateau.

És una de les proves diagnòstiques per la diabetis perquè té una major sensibilitat que la glucosa plasmàtica. No obstant, és necessari que el pacient estigui en dejú de 10-12 hores i hagi establert una rica dieta en hidrats de carboni durant els 3 dies anteriors. Durant la prova s'ha de mantenir repòs ja que l'exercici o l'adrenalina pot alterar la determinació

El test de tolerància oral a la glucosa es fa en:

- Dona embarassada: Volem diagnosticar si està en risc de desenvolupar diabetis gestacional.
- Gent que comença a tenir intolerància a la glucèmia (IGT)
- Pacients amb nefropaties, neuropaties, retinopaties. Volem saber si aquestes alteracions que són molt característiques de la diabetis són causades per la diabetis.
- Pacients on l'anàlítica sanguínia supera el límit normal: $[gluc] > 140 \text{ mg/dL}$ ($7,7 \text{ mmol/L}$).
- Estudi epidemiològic en un sector de la població on el percentatge de diabètics de tipus 2 és més alt.



En el cas de la diabetis gestacional, és un test molt estès en embarassades. Un 20% de les diabètiques gestacionals poden desenvolupar diabetis de tipus 2 a la llarga. S'ha de controlar la hipoglucèmia de l'embrió. Als nadosn molts cops se'ls hi dona aigua amb sucre. El risc de desenvolupar diabetis gestacional és molt elevat, excepte per les que es consideren de baix risc menors de 25 anys, amb pes normal i absència d'història diabètica familiar. L'estudi es realitza durant les 24-28 setmanes de gestació i en la primera visita a les dones d'alt risc amb obesitat, majors a 35 anys, amb glucosúria o antecedents familiars.

Hi han dos estratègies pel test de sobrecàrrega oral de la glucosa en embarassades:

- One step: Mesures en dejuni, al cap d'1 i 2 hores de la sobrecàrrega. Si qualsevol dels 3 paràmetres estan per sobre dels llindars es declara diabetis.
 - Two steps: Primer es fa el Test O-Sullivan i si dona positiu es sotmet a una sobrecàrrega en dejuni amb 100 grams mesurant a 0,1,2,3 hores. Si dos dels 4 paràmetres superen els llindars es considera diabetis gestacional.
1. Test O'Sullivan: No és necessari que la pacient estigui en dejú. Consisteix en una sobrecàrrega oral de 50 grams de glucosa i la determinació de la glucèmia al cap d'una hora, en la que no es pot superar els 7,7 mmol/L (140 mg/dL). Si es sobrepassa aquest valor es sotmeta la pacient a la sobrecàrrega oral de glucosa estàndard.
 2. Sobrecàrrega oral de glucosa estàndard: Un altre dia es realitza la prova amb 100 grams de glucosa (el volum de distribució de les embarassades és major). Indicarà diabetis gestacional si es compleixen dos valors superiors als següents: 10mmol/L 1 hora després; 8,6 mmol/L 2 hores després i 7,7 mmol/L 3 hores després.

8.3.4 Resposta a insulina

La glucosa no es normalitza correctament per la manca d'acció de la insulina, ja sigui perquè no es produceix o perquè no és reconeguda pels seus receptors. Quan es fa la determinació de la glucèmia, es podria per en paral·lel la determinació de la insulinèmia. Seria efectiu però no és fa de manera habitual pel seu elevat cost.

En situació normal, la glucèmia i la insulinèmia van lligades. Molts cops en situacions d'obesitat, el pàncrees secreta insulina però la glucèmia no aconsegueix normalitzar-se. Aquesta és la situació típica de la resistència insulínica en diabètics de tipus 2.

De rutina no es fa la determinació d'insulina però pot ser d'interès quan:

- Hipoglucèmia inexplicable: Increment en la concentració circulant d'insulina.
- Hipoglucèmia deguda a tumors: Hi han tumors que secreten hormones; en concret l'insulinoma secreta insulina.
- Hipoglucèmia per sobredosi d'insulina exògena en un diabètic de tipus 1.

La determinació d'insulina i pèptid C es realitza mitjançant mètodes d'immunoanàlisi competitiu o tipus sandvitx. En aquest cas s'han de tenir en compte les possibles interferències per anticossos heteròfils o factor reumatoide. Es pot fer servir plasma o sèrum

però és important evitar l'hemòlisi, ja que els eritròcits contenen enzims que degraden la insulina. Els anticossos que s'utilitzen majoritàriament contra la insulina també reaccionen contra altres substrats, amb els quals comparteix epítops com la pro-insulina. La concentració de pro-insulina normalment és un 10% menor que la d'insulina, però pot ser major en pacients amb insulinomes. Per tant, no existeix un anàlisis suficient precís i exacte i s'utilitza el terme insulina immunoreactiva, que fa referència a una determinació més amplia. A més, els pacients que es subministren insulina exògena, poden desenvolupar anticossos contra la insulina que interfereixen en el test.

La determinació del pèptid C presenta certes avantatges respecte a la insulina, com el fet de que la seva concentració és més elevada i no està influïda per l'administració d'insulina exògena.

- **Nivells d'insulina:**

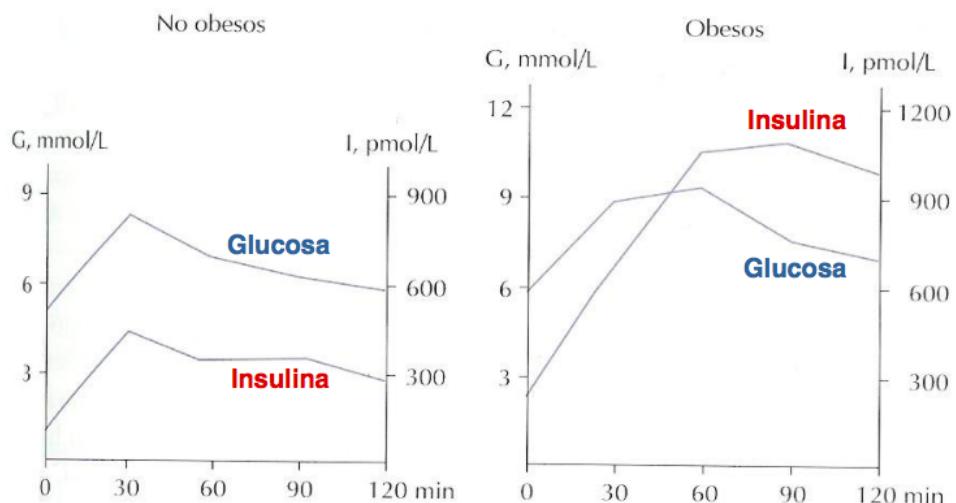
- Determinació per RIA: Nivells molt baixos 20 mU/l; <118 pmol/l
- Durant SOG: valors <430 pmol/l a t120' descarta resistència a insulina

- **Nivells de pèptid C:**

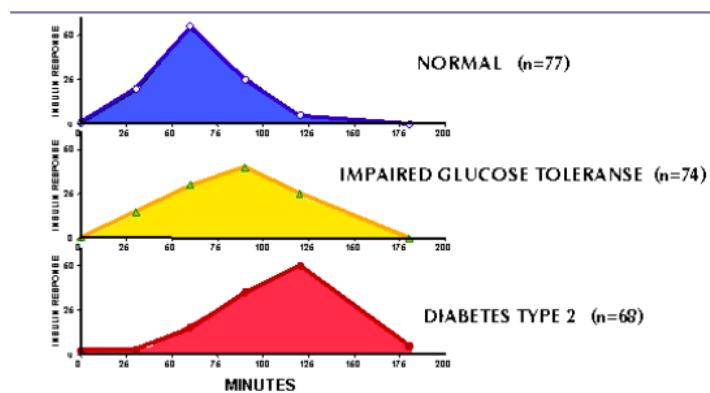
- Determinació per RIA: 1-2 ng/ml

El pèptid C resulta de la maduració de la insulina. En els grànuls de secreció contenen proinsulina. Quan arriba l'estimul, la proinsulina es processa ràpidament a insulina. La insulina consta de dues cadenes estabilitzades per ponts disulfur. El pèptid C no només té un paper estructural permetent el bon plegament de la insulina sinó que també és d'interès clínic perquè la vida mitja del pèptid C circulant es molt més alta que la vida mitja de la insulina. Quan alliberem vesícules d'insulina a la circulació estem alliberant també el pèptid C de manera equimolar. El pèptid C es informatiu de si el pàncrees ha fet una resposta d'insulina. No es sol mesurar directament la insulina perquè es degrada molt ràpidament pel fetge i no es informativa. Ens hem de fixar en la relació de les concentracions circulants de pèptid C i insulina circulant. Normalment hi ha 5-10 cops més de pèptid C perquè no té una degradació hepàtica sinó que es va filtrant poc a poc pel ronyó i eliminat a través de l'orina. El pèptid C ens informa que probablement la hipoglucèmia s'ha produït per una hiperinsulinèmia.

- Si no hi ha una alteració en aquesta relació però els dos paràmetres son més alts del normal probablement el pacient té un insulinoma. El tumor es capaç de mantenir els nivells d'insulina elevats.
- Si la quantitat de pèptid C no es significativa, però hi ha insulina circulant i hipoglucèmia segurament el pacient s'ha administrat una sobredosi exògena d'insulina. La sobredosi d'insulina és una manera fàcil de matar. Els forenses determinen la relació entre insulina i pèptid C per veure si el mort era diabètic o ha estat assassinat. Una manera de matar sense deixar rastre és injectar equimomolalment també pèptic C.



Peak Insulin Response after Oral Glucose



8.3.5 Glicohemoglobina

La HbA1c és la principal determinació de control de la persona diabètica, juntament amb la monotorització de la glucosa en sang capil·lar. La concentració de HbA1c (oxamina) depèn dels nivells mitjans de glucosa durant la vida de l'eritròcit i per tant, té utilitat per estimar la glucosa en sang en els últims 120 dies. És important tenir en compte que depèn de la concentració d'hemoglobina i de la vida de l'eritròcit. La seva concentració pot ser que no reflexi la glucèmia mitja en persones que pateixin trastorns hemolítics, transfusions, etc.

A partir de la HbA1c es pot determinar la glucèmia mitja estimada d'un pacient convertida en un nivell mig de glucosa. Glucèmia mitja estimada = $(1,583 * \text{HbA1c}) / 2,52$.

Així, una concentració de 7% de HbA1c correspon a una glucèmia de 8,6 mmol/L. El percentatge del HbA1c no hauria de superar el 6%.

Aquesta determinació ens informa d'una informació integrada però té certes limitacions. Dos persones amb el mateix percentatge de glicohemoglobina no han de perquè haver tingut els mateixos períodes d'hiperglucèmia previs (p.e alguna pot ser molt més inestable que l'altre). Per tant, aquesta dada és molt indicativa però no ens indica del perfil.

8.3.5.1 Determinació de les glicohemoglobines

Els diferents mètodes són:

- **Mètodes químics:** hidròlisi àcida, reacció amb àcid tiobarbitúric (color). Des del punt de vista químic, es difícil diferenciar entre les HbA1 o HbA1c.
- **Mètodes immunològics:** Permeten reconèixer específicament la glucosa.
- **Mètodes físics:**
 - Electroforesi: Si l'hemoglobina ha perdut càrregues positives, podem utilitzar la electroforesi per magnificar la diferència de càrrega entre les diferents Hb. Les Hb glicades migraran més ràpidament cap el pol positiu.
 - Isoelectroenfocament (càrrega)
 - Cromatografia de bescanvi iònic
 - Cromatografia d'afinitat amb àcid fenilborònic

Les cromatografies son el mètode més utilitzat. Es mesura l'absorbància a 425nm. L'hemoglobina que apareix al principi correspon a aquella porció que està glicada. Si el sistema està ben ajustat, només ens interessa el segon pic, el que correspon a la HbA1c.

8.3.6 Fructosamines

Suposem un cas en que sospitem que el pacient està començant a fer un quadre diabètic però la glicohemoglobina no acaba de ser informativa. Li hem fet la sobrecarrega oral i veiem que presenta resistència a la glucèmia però les glicohemoglobines semblen estar normals. Aleshores normalment es determinen les fructosamines ja que totes les proteïnes plasmàtiques incorporen glúcids en funció de la glucèmia.

La determinació de la fructosamina no té molta utilitat i no sol utilitzar-se al laboratori clínic. Existeix un mètode colorimètric basat en el fet de que la fructosamina en condicions alcalines redueix el blau de nitrotetrazoli. La velocitat de formació del formazan, que es mesura a 540nm, és proporcional a la concentració de fructosamina.

L'hemoglobina a vegades no és informativa perquè la seva mitja és de 3 mesos. No obstant, les fructosamines ens redueixen la determinació a un període de temps a 2-3 setmanes. Valors alts de fructosamines reflecteixen una hiperglucèmia en un període de temps molt recent.

Les fructosamines es fan servir en els següents casos:

- Diabetis gestacional: En gestants diabètiques, mantenir un bon control és essencial durant l'embaras i les necessitats de la mare sovint canvien durant la gestació. La HbA1c no és indicadora perquè mostra la glucèmia dels 3 mesos anteriors.

-
- Diabètics amb variació de glucosa: Podem establir un rang d'hiperglucèmia bastant estret i diferenciar aquells pacients que tenen una hiperglucèmia estable d'aquells que presenten pics bruscos i després s'estabilitza.
 - Confirmació de la glicohemoglobina
 - Disminució de la vida mitja dels eritròcits: La determinació de la HbA1c pot no ser fiable quan coexisteix amb altres trastorns que afecten a la semi-vida dels eritròcits, com una anèmia hemolítica o una pèrdua de sang.

8.3.7 Microalbuminúria

És important vigilar la funció renal. El problema d'aquestes mesures és que son poc informatives ja que si el ronyó està malmès vol dir que fa temps que ho està. La glicèmia és un dels mecanismes que malmet l'epiteli fenestrat del glomèrul.

Els nivells normals són 10 mg d'albúmina en orina cada 24h. En canvi, els diabètics tenen uns 20-200 mg d'albúmina en orina cada 24h.

Les tires reactives d'orina que s'utilitzen normalment no detecten nivells tan baixos de proteïna (15-20mg/L), tot i que n'existeixen altres de més específiques que arriben a aquests límits de detecció.

La determinació de l'albuminúria es realitza normalment per diverses tècniques que utilitzen anticossos anti-albúmina, amb immunonefelometria o immunoturbidimetria. Aquestes tècniques es troben disponibles en nombrosos sistemes automàtics. L'espècimen estàndard és l'orina recollida durant 24 hores, però existeix una elevada correlació amb aquella que es recull a primera hora del matí. És necessari evitar durant la recollida situacions que poden incrementar l'excreció d'albúmina, com haver realitzat exercici intens o tenir una infecció del tracte urinari.

La determinació es realitza per les següents proves:

- Radioimmunoanàlisi
- Immunoturbidimetria: Ab contra l'albúmina unida a sefarosa. Quan l'albúmina està present en la mostra s'agrupen les sefaroses. Això augmenta la turbulència de la mostre i es measurable.
- Tires reactives

8.3.8 Cossos cetònics

L'interès de controlar els quadres de cetoacidosi és principalment en diabètics de tipus 1. Altres causes possibles de cetonèmia i cetonúria són el consum crònic d'alcohol, vòmits, febre, nens petits i hipoglucèmia. Es poden donar situacions d'hipoglucèmia perquè s'han injectat un excés d'insulina o bé no han menjat prou.

El primer cos cetònic que fabriquem és l'acetoacetat, que per carboxilació espontània passa a acetona o per una reducció utilitzant com a co-factor el NAHD passa a D- β -Hidroxibutirat. La situació habitual de proporcions entre els tres és la següent:

- 58% D- β -Hidroxibutirat
- 40% Acetoacetat
- 2% Acetona

Els quadres de diabètics mes pronunciats es caracteritzen per una hipoglucèmia important i acidosi metabòlica que afecta a la capacitat respiratòria i a la funció renal. A més, la proporció dels tipus de cossos cetònics serà molt diferent, amb un increment molt pronunciat del D- β -Hidroxibutirat (6:1) respecte a l'acetoacetat.

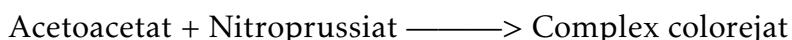
Cetoacidosi diabètica: β -OH-butirat/acetoacetat > 6

Tot i que l'acetoacetat es el cos cetònic inicial, el més predominant i el que més es transporta es el D- β -Hidroxibutirat. La desproporció depèn del NADH i del nombre de carbonis. El fetge està empatxat de poder reductor (NADH) que l'obté de la β -oxidació. L'elevada concentració de poder reductor activa a moltes deshidrogenases hepàtiques. Aquest cos cetònic és el que més li convé als teixits perifèrics perquè a banda de carbonis i acetil-CoA també aporta poder reductor.

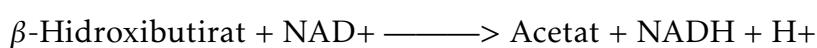
**Ketone Body Accumulation
in Diabetic Ketosis**

	Urinary excretion (mg/24 h)	Blood concentration (mg/100 mL)
Normal	≤ 125	<3
Extreme ketosis (untreated diabetes)	5,000	90

La determinació dels cossos cetònics en sang o orina es realitza per mètodes semi-quantitatius utilitzant tires reactives o tauletes (Ketostik o Acetest) que es basen en la reacció de l'acetoacetat amb nitroprussiat en medi alcalí per formar un compost púrpura. El nitroprussiat reacciona unes 20 vegades menys amb acetona i no ho fa amb el D- β -Hidroxibutirat. L'addició de glicina afavoreix la reacció de l'acetona.



Aquests mètodes semi-quantitatius son suficients per conèixer si existeix una situació de cetoacidosi en l'avaluació del pacient diabètic. Els mètodes quantitatius per la determinació de D- β -Hidroxibutirat utilitzen l'enzim β -Hidroxibutirat-deshidrogenasa i NAD+ a un pH alcalí, de forma que l'increment de l'absorbància a 340nm és proporcional a la concentració d'aquest. També existeixen mètodes automàtics per quantificar l'acetat, utilitzant la reacció inversa a un pH neutre.



La determinació més freqüent és la de l'acetoacetat en orina. Determinem principalment aquest cos cetònic perquè:

- La determinació és més barata que la del β -Hidroxibutirat. Metodològicament és més fàcil determinar un grup ceto que no un grup aldehid. Per tant, es determina l'acetoacetat i l'acetona que també té un grup ceto, però aquesta és molt minoritària.
- Acetoacetat és el precursor.

No es fan determinacions en sang, només quan el metge ho demana en una analítica sanguínia. En aquest cas, segurament també demanarà el β -Hidroxibutirat perquè és el majoritari.

- ACETEST: Tabletes de Gly, nitroprussiat de Na, Pi i lactosa. Coloració lavanda-porpra en presència d'acetona i acetoacetat (tot i que més sensible per l'acetoacetat). Hi han altres molècules que poden estar presents a l'orina i poden interferir en la reacció donant falsos positius: fenilcetones, conservants i L-DOPA. Les fenilcetones tenen un grup ceto.
- KETOSTIX: Modificació de l'anterior però en tires reactives
- TEST DE GERHARDT: Coloració burdeus de l'acetoacetat en presència de sals de Fe (III). També determina el grup ceto. Poden haver interferències amb salicilats, antipirina, fàrmacs. Com que l'acetona és molt volàtil podem fer la determinació en dos tubs diferents. Escalfem un tub (l'acetoacetat passa a acetona i s'evapora) i es repeteix el test. Així descartem interferències per l'acetona.

8.4 Hipoglucèmia

La hipoglucèmia es produeix quan la glucosa és inferior a 2,8 mmol/L. Es deu a un desequilibri entre ingestió de glucosa, la producció endògena i la seva utilització.

El descens ràpid de la glucosa per sota de 2,5 mmol/L provoca un increment d'adrenalina, que produeix la supressió de la secreció d'insulina i estimula la producció de glucagó, cortisol i hormona del creixement. Les catecolamines secretades són les responsables dels símptomes habituals que acompanyen els estats d'hipoglucèmia: sudoració, pal·lidesa, taquicàrdia, tremolor, ansietat, dolor abdominal i vòmits.

El major risc de la hipoglucèmia és la lesió cerebral, perquè la glucosa és fonamental per l'obtenció d'energia i el cervell no és capaç d'emmagatzemar-la ni produir-la. La zona més susceptible és l'escorça cerebral i l'hipocamp i la lesió depèn de la velocitat a la qual ha disminuït la glucèmia i la duració d'aquests nivells. Aquestes alteracions comencen amb concentracions de glucosa plasmàtica inferiors a 2 mmol/L, que causa inicialment utilització de glutamat com a substrat energètic i una disminució de la síntesi de neurotransmissors. Això provoca alteracions del comportament, dificultats per pensar, confusió, sensació de calor, debilitat i cansament. Posteriorment s'esgota l'ATP i impedeix

la recaptació de glutamat. L'increment del glutamat a la fenedura sinàptica i l'entrada de calci provoca la mort neuronal.

La concentració de glucosa en recen nascuts és inferior a la dels adults. En prematurs es poden observar concentracions inferiors a 1,5 mmol/L sense signes d'hipoglucèmia. Es pot donar una hipoglucèmia transitòria en prematurs si tenen una reserva de glicogen molt baixa o si la mare és diabètica (ja que per la concentració de glucosa en sang materna, el fetus produeix gran quantitat d'insulina).

8.4.1 Hipoglucèmies fisiològiques

No totes les hipoglucèmies son patològiques, algunes son fisiològiques i ens informen de la gana al cap de 3 hores de l'últim àpat. Existeixen nombroses causes d'hipoglucèmia fisiològica, però aquestes es poden classificar en dos grans grups, en funció del moment que apareguin.

8.4.1.1 Hipoglucèmia en dejú

Pot ser per diferents causes:

- Hipoglucèmia post-absortiva: Descens de la producció hepàtica de glucosa per la gluconeogènesi i la glucogenòlisi, tal i com pot ocórrer en la insuficiència hepàtica. També la ingestió excessiva d'etanol pot causar hipoglucèmia, per interferir directament en la gluconeogènesi.
- Tumors amb un elevat metabolisme que consumeixen glucosa o que afecten a la seva homeostasi. Un exemple són els insulinomes, per una producció excessiva d'insulina.
- Septicèmia, en què es produeix un esgotament dels dipòsits de glucogen, falla gluconeogènesi i augmenta la utilització perifèrica de la glucosa.
- Deficiència d'hormones contra-reguladores
- Malalties auto-immunes que produeixen anticossos anti-insulina
- Fàrmacs, els quals són un risc important en pacients diabètics que s'injecten insulina. Alguns medicaments també poden causar hipoglucèmia, com el propanadol, salciliats o sulfonamides.
- Cetònica: Típicament infantil. Els nens petits tenen molta tendència a fer quadres cetònics durant el dia encara que hagin menjat. Tenen hipoglucèmies abruptes. Proporcionalment tenen un cervell més desenvolupat que el cos. El SNC es depenen de glucosa. Hi ha una demanda del cervell i per tant, una forta producció hepàtica.

8.4.1.2 Hipoglucèmia post-prandial

Les causes són:

- Buidat gàstric amb una absorció accelerada de glucosa, que cau una excessiva alliberació d'insulina. S'observa amb freqüència a malalts als quals se'ls hi ha practicat una gastrectomia.
- Pacients amb determinats errors congènits al metabolisme, com la intolerància hereditària a la galactosa o a la fructosa.

8.4.2 Hipoglucèmies patològiques

Les diferents causes són:

- **Congènita:** Coma i alteracions neurològiques
- **Eritroblatosi fetal:** Hiperplàsia pancreàtica
- **Glicogènosi:** Les glucogenosis són el conjunt de malalties hereditàries que afecten el metabolisme del glicogen emmagatzemat en el fetge. En general, estan causades per deficiències d'enzims implicats en el metabolisme hepàtic del glicogen. Les GSD hepàtiques seran tractades en el seu conjunt, perquè tenen unes característiques clíniques similars (hepatomegàlia, hipoglucèmia i retard del creixement), encara que la seva gravetat i complicacions són diferents. Hi han 8 tipus diferents.

Tipus	Enzim deficient	Teixit afectat	Característiques clíniques	Alteracions bioquímiques
I. Von Gierke	Glc-6-Pasa	Hepàtica	Hepatomegàlia Retràs del creixement	Hipoglucèmia, acidosi làctica, uricèmia, hiperlipidèmia, cetosi lleu
II. Pompe	α -1,4-glucosidasa lisosomal	Generalitzada	Cardiomegàlia	
III: Cori-Forbes	Enzim desramificador (AGL)	Fetge, múscul	Hepatomegàlia Retràs del creixement	Hipoglucèmia, hiperlipidèmia, cetosi greu, CK, transaminases
V: McArdle	Glicogen fosforilasa muscular	Muscular	Rampes	

La **glicogènosi de tipus hepàtic (I)** és la més greu ja que el dèficit de l'enzim glucosa-6-fosfatasa impedeix la formació de glucosa a partir de glucosa-6-P. En una situació de dejuni, l'organisme reacciona activant la glucogenòlisi i gluconeogènesi per tal d'exportar glucosa a la resta de teixits. Però en aquest cas, no es pot corregir la hipoglucèmia per una resposta hepàtica. La glucosa-6-fosfatasa és l'enzim que caracteritza al fetge com un teixit glicogenòlic que pot exportar glucosa. En aquesta deficiència es veuen afectades tant la GNG com el glicogen.

La **glicogènosi de tipus miopàtic (V)** és aquella on hi ha una deficiència en la isoforma de glicogen fosforilasa muscular. El múscul careix de l'enzim responsable d'iniciar la glicogenòlisi. En aquests casos, el múscul no podrà mobilitzar les reserves de glicogen en

una situació de demanda de glucosa, com per exemple durant l'exercici físic. Com a conseqüència la persona tindrà moltes més rampes. No és un quadre patològic tant marcat, però compromet la funcionalitat del múscul quan es sotmet a un esforç.

La **glicogènosi generalitzada (II)** és la causada per la deficiència en la glucosidasa lisosomal. El glicogen no pot ser mobilitzat i els nens tenen una esperança de vida de 2-3 anys.

La **glicogènosi de tipus III** és la causada per la deficiència en l'enzim desramificador, el qual talla els enllaços α -1,6. La seva deficiència afecta tant el glicogen hepàtic com el muscular. L'impacte sol ser lleu sempre i quan funcioni correctament la fosforilasa o la glucosa fosfatasa.

8.5 Alteracions en el metabolisme de la fructosa i la galactosa

La glucosa no és l'únic monosacàrid en el qual les seves alteracions poden causar danys a l'organisme. També s'han descrit dèficits enzimàtics en el metabolisme de la fructosa i la galactosa. La determinació del mètode de la glucosa dóna negatiu, indicant la presència d'altres sucres a la dieta.

Les alteracions en el metabolisme de la fructosa es produueixen per 3 defectes enzimàtics.

- 1 **Fructoquinasa**, quinasa específica de la fructosa, fosforila els monosacàrids en posició 1 i genera fructosa-1-P. L'expressió d'aquest enzim és principalment hepàtica. Si no podem passar la fructosa a fructosa-1-P, la fructosa pot ser substrat directament de l'hexoquinasa, tot i que aquest enzim és minoritari al fetge (però no en teixit adipós i múscul). El resultat és l'acumul de la fructosa circulant que es reflecteix en orina (fructosúria essencial). No presenta masses símptomes clínics si l'individu té una alimentació adequada tindrà altres fonts de carboni que supleixen perfectament l'aport de la fructosa a nivell hepàtic.
- 2 **Aldolasa B**, s'anomena així per diferenciar-la de l'aldolasa A típica de la glucòlisi. Aquest dèficit ocasiona la Intolerància Hereditària a la Fructosa, i impedeix la transformació de la fructosa-1-fosfat en fructosa 1,6 difosfat. El quadre clínic es manifesta quan s'introduceix sucre en la dieta, apareixent nàusees, vòmits, sudoració, tremolor, hipoglucèmia, hepatomegalia, icterícia, edema. El tractament consisteix a eliminar la fructosa de la dieta, com sacarosa (glucosa i fructosa), fructosa lliure, sorbitol. El dèficit d'aquest enzim compromet molt més l'entrada de carbonis a la ruta gluconeolítica que no pas l'anterior. El tractament si es lliura precoçment té excel·lent resultat, desapareixen els vòmits i es normalitza la disfunció renal.
- 3 **Fructosa 1-6-difosfatasa**, enzim de la ruta gluconeogènica que transforma la glucosa a partir de tots els substrats neoglucogènics com el lactat, glicerol, alanina i també la fructosa de la dieta. Per tant aquest enzim no és específic de la fructosa.

El símptomes clínics son acidosis làctica, hipoglucèmia, dispnea, taquicàrdia, apnea, irritabilitat, letargia, coma, convulsions. El tractament consisteix a prevenir les hipoglucèmies i la gluconeogènesi, evitant el dejuni prolongat i proporcionant una dieta fraccionada.

La galactosa és un sucre de metabolització hepàtica i pràcticament només el fetge la pot utilitzar. Les alteracions del metabolisme de la galactosa es produueixen per la deficiència en els següents enzims:

- Galactoquinasa (GALK)
- Uridina difosfat galactosa 4 'epimerasa (UDPGAL)
- Galactosa-1-fosfat-uridil transferasa (GAL1PUT): galactosèmia clàssica més freqüent. Producte d'aquest defecte s'acumula galactosa-1-fosfat, galactosa lliure i galactitol en sang i teixits, que produueixen alteracions hepàtiques, renals i cerebrals. La seva herència és autosòmica recessiva i la incidència estimada a nivell mundial fluctua entre 1: 60.000 a 1: 33.000 nounats. Els símptomes i signes més característics són vòmit, diarrea, icterícia, hepatomegàlia, cataractes. Si la malaltia no és tractada oportunament ocasiona la mort del nen.

El tractament consisteix en eliminar la lactosa i galactosa de la dieta. S'entrega llet de soja i els requeriments de macro i micro nutrients s'indiquen segons les recomanacions per edat i sexe. La dieta dura tota la vida ja que la galactosa es transforma en galactitol, derivat alcohòlic, existint risc de produir cataracta i dany renal en qualsevol moment de la vida. El galactitol és un osmolit molt potent reclutant aigua al seu voltant. Un bon control s'obté en mantenir el nivell sanguini de galactosa-1-fosfat i urinari de galactitol.

8.5.1 Altres alteracions

Alguns exemples:

- **Xenobiòtics:** quinina (malària)
- **Antibiòtics:** sulfamides
- **Insulinoma:** devant una hipoglucèmia anormal hem de sospitar d'insulinoma si no hi ha cap indici.
- **Hipoglucèmia reactiva:** La hipoglucèmia reactiva és condició fisiopatològica, on els mecanismes de contrarregulació de la glucosa en l'organisme, es tornen incapços d'equilibrar totalment el consum de glucosa que es produueix en situació post-prandial, habitualment durant les 4 hores post-ingesta, originant un estat de hipoglucèmia. Generalment es deu a una hiperinsulinèmia exagerada, que provoca l'entrada massiva de la glucosa als teixits. S'evita dosificant la ingesta per evitar que el pàncrees fagi sobre-esforç.

8.6 Intoleràncies

La intolerància a la lactosa és la incapacitat de l'organisme per digerir la lactosa, el sucre predominant a la llet. Aquesta intolerància és deguda a la baixa quantitat de l'enzim lactasa a l'intestí prim que hidrolitza la lactosa en galactosa i glucosa. Quan la lactosa arriba a l'intestí prim, si no hi ha l'actuació de la lactasa, aquesta segueix el seu camí cap a l'intestí gruixut, ja que no pot ser absorbida. És llavors quan es donen els símptomes típics de la intolerància: nàusees, flatulència, diarrea o dolor abdominal. La intolerància a la lactosa es un efecte de la fermentació dels sucres per la flora intestinal. En aquests casos s'ha de prescindir de la lactosa.

Hi ha dos tipus principals d'intolerància a la lactosa:

- **Intolerància primària (hipolactàsia congènita):** El dèficit primari de lactasa pot ser congènit o de començament tardà (a partir dels 5 anys, per descens fisiològic de l'activitat lactàsica). Ve donat per l'entorn en societats que no prenen productes que continguin llet, iniciat normalment a la infància. Es troba en moltes cultures d'Àfrica i d'Àsia, on els productes industrialitzats són molt poc comuns.
- **Intolerància secundària (hipolactasia adquirida):** Degut a malalties de la paret intestinal, com la gastroenteritis per rotavirus o enterovirus, giardiosi, la intolerància a proteïnes de llet de vaca, celiaquia, malnutrició proteïnocalòrica, etc. En aquest cas, la persona es recuperarà un cop solucionat el dany de la paret.

Hi ha un efecte poblacional perquè no és uniforme la distribució de lactasa al món. Els asiàtics o de l'Àfrica equatorial son poblacions que de naturalesa presenten una expressió molt baixa a la lactosa. No sabem fins a quin punt es un efecte d'al·lels o un efecte de la dieta.

9. Disfuncions del metabolisme lipídic

9.1 Conceptes generals

9.1.1 Tipus de lipoproteïnes, composició i estructura

Les lipoproteïnes són heteroproteïnes que estan formades per apoproteïnes i lípids. Presenten fosfolípids i colesterol lliure en la seva superfície hidròfila, en contacte amb el medi aquós. La seva composició proteica és variable segons el tipus de lipoproteïna. En el nucli poden transportar qualsevol tipus de lípids i depenent del tipus de lipoproteïna, presentaran una proporció més elevada d'un tipus de lípid respecte un altre tipus.

Nombre	Expresión	Lipoproteínas	AA	Función
ApoA-I	Hígado, intestino delgado	HDL, Qm	243	Estructural, activación LCAT, interacción ABC1 y SRB1
ApoA-II	Hígado	HDL, Qm	146	Estructural, activación LH Ligando de receptores
ApoA-IV	Intestino delgado, hígado	HDL, Qm	377	Activación LCAT, Estimulación LPL
ApoB-100	Hígado	VLDL, IDL, LDL, Lp(a)	453 6	Estructural, unión receptores de LDL
ApoB-48	Intestino delgado	Qm	2152	Estructural
ApoC-I	Hígado, adrenales, intestino delgado	HDL, Qm, VLDL, IDL	57	Activación LCAT y/o LPL? Inhibición PTEC
ApoC-II	Hígado, intestino delgado	HDL, Qm, VLDL, IDL	79	Activación LCAT y LPL
ApoC-III	Hígado, intestino delgado	HDL, Qm, VLDL, IDL	79	Inhibición LPL
ApoD	Hígado, múltiples tejidos y órganos	HDL	174	Activa PTEC
ApoE	Hígado, múltiples tejidos y órganos	HDL, Qm, VLDL, IDL	299	Unión receptor LRP, receptor de LDL y receptor de VLDL

FIGURA 13: Apoproteïnes principals

ApoB està codificat per 1 gen que expressa 2 transcrits: apoB48 s'expressa a intestí (proteïna curta generada per splicing alternatiu) i apoB100 expressa a fetge. ApoB100 s'uneix al receptor de LDL per la part C-terminal.

Hi ha 5 tipus de lipoproteïnes principals:

- 1 **Quilomicrons:** Són les més grans i els que tenen menor densitat i mobilitat electroforètica. El seu component lipídic representa el 99% de la seva estructura i el seu component proteic, l'1% (apoB-48, apoE i apoC-II). Transporten majoritàriament

TAG, que representen el 89% de la seva composició. També transporten colesterol i èsters de colesterol (5%) i fosfolípids (5%).

- 2 **VLDL:** Són de menor dimensió i tenen major densitat i mobilitat electroforètica respecte els quilomicrons. El seu component lipídic representa el 90% de la seva estructura i el seu component proteic el 10% (apoC-II, apoE i apoB-100). Transporten majoritàriament TAG (50%). També transporten colesterol i èsters de colesterol (20%) i fosfolípids (20%).
- 3 **IDL:** Són VLDL romanents. Transporten colesterol i èsters de colesterol al fetge.
- 4 **LDL:** Són de menor dimensió i tenen major densitat i mobilitat electroforètica respecte els VLDL. El seu component lipídic representa el 80% de la seva estructura i el seu component proteic el 20% (apoB- 100). Transporten majoritàriament colesterol i èsters de colesterol (45%). També transporten TAG (10%) i fosfolípids (25%).
- 5 **HDL:** Són els més petits i els que tenen major densitat i mobilitat electroforètica: El seu component lipídic representa el 55% de la seva estructura i el seu component proteic, el 45% (apoA, apoD i LCAT). Transporten majoritàriament colesterol i èsters de colesterol (20%). També transporten TAG (5%) i fosfolípids (30%).

Lipoprotein	Density (g/mL)	Composition (wt %)				
		Protein	Phospholipids	Free cholesterol	Cholesteryl esters	Triacylglycerols
Chylomicrons	<1.006	2	9	1	3	85
VLDL	0.95–1.006	10	18	7	12	50
LDL	1.006–1.063	23	20	8	37	10
HDL	1.063–1.210	55	24	2	15	4

FIGURA 14: Principals tipus de lipoproteïnes plasmàtiques

RECEPTOR	LLIGAND	RECONEXI
LDLR	LDL, QMr, IDL	apoB100/apoE
LRP	QMr/IDL	apoE/LPL, LH
VLDLR	VLDL/IDL	apoE
HDLR	HDL	apoA-I
Scavenger	LDL-ox	

TAULA 5: Receptors de lipoproteïnes

9.1.2 Metabolisme de les lipoproteïnes

Els enzims relacionats amb el metabolisme de les lipoproteïnes són:

- **Enzims lipolítics:**
 - Lipoprotein Lipase (LPL)

-
- Hepatic triglyceride lipase (HTGL/LH)
- Enzims de transferència de lípids:
 - Lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT)
 - Acyl-CoA: cholesterol acyl transferase (ACAT)
 - Cholesteryl ester transfer protein (CEPT)
 - Phospholipid transfer protein (PLTP)
 - Microsomal TAG transfer protein (MTP)

9.1.2.1 Via exògena

Els QM són sintetitzats al REL dels enteròcits i traslladats posteriorment a la circulació sanguínia a través del sistema limfàtic, que desemboca a la vena subclàvia esquerra. La seva maduració es produeix en el torrent sanguini gràcies a l'HDL. La seva funció principal és transportar els TAG dietaris al teixit adipós, teixit muscular cardíac i esquelètic (combustible) i teixit mamari (en etapa de lactància); però bona part dels triglicèrids són transportats als adipòcits per ser emmagatzemats en vacúols lipídics.

Els QM poden lliurar la major part dels TAG als altres teixits gràcies a la apoC-II, que reconeix i activa la lipoproteïna lipasa (LPL) que es troba en els capil·lars dels teixits abans esmentats. La LPL (càrrega positiva) es troba al llum del capil·lar penjant de les cèl·lules endotelials d'un sulfat d'heparan (càrrega negativa). Hidrolitza els TAG en 3 A.G i glicerol. Els NEFA seran transportats a l'interior de les cèl·lules del teixit corresponent a través de l'albúmina.

Els QM residuals o romanents (que encara contenen colesterol, apoE, apoB-48 i pocs TAG) es mobilitzen a través del torrent sanguini fins al fetge. Receptors hepàtics (LRP) s'uneixen a apoE i faciliten la seva captació per endocitosi (endocitosi facilitada per receptor).

9.1.2.2 Via endògena

Els VLDL són sintetitzats en el REL dels hepatòcits, procés que succeeix quan la dieta conté més àcids grassos dels que són necessaris o hi ha excés de glúcids, que permeten la formació de TAG, que s'empaqueten amb apoproteïnes específiques formant les VLDL. Contenen apoB-100, les 3 apoC, apoE, colesterol i èsters de colesterol.

Els VLDL transporten majoritàriament TAG lliurant els seus àcids grassos al múscul (esquelètic i cardíac), on són consumits com a combustible i al teixit adipós, on es converteixen en TAG i s'emmagatzemen. El mecanisme de lliurament és el mateix que el dels quilomicrons (apoC-II i LPL).

La pèrdua dels TAG converteix part de les VLDL en VLDL residuals (IDL) i en LDL. Les IDL són captats per receptors hepàtics (LRP) que s'uneixen a apoE, facilitant l'endocitosi (endocitosi facilitada per receptor).

Els LDL són formats a partir dels VLDL. Són molt riques en colesterol i èsters de colesterol i només contenen apoB-100. Transporten el colesterol a teixits extrahepatòtics, però també part de les LDL torna al fetge.

Cada partícula de LDL conté apoB-100, que és reconeguda pels receptors de LDL (glucoproteïnes integrals de membrana) que es troben en les cèl·lules que necessiten captar colesterol. La unió del LDL al seu receptor inicia l'endocitosi, que porta la LDL i el seu receptor associat a l'interior de la cèl·lula en un endosoma.

L'endosoma es fusiona amb un lisosoma, que conté enzims que hidrolitzen els èsters de colesterol i l'apoB-100, alliberant àcids grassos, colesterol i aminoàcids al citosol. El receptor de LDL no es degradada i torna a la superfície de la membrana. Quan la cèl·lula té suficient colesterol, s'atura la síntesi del receptor de LDL. L'apoB-100 també està present en VLDL, però el seu domini d'unió al receptor de LDL no és accessible fins que es converteix en LDL, que l'exposa.

El colesterol que entra a les cèl·lules per aquesta via pot incorporar-se a les membranes o ser re-esterificat per l'ACAT (acil-CoA-colesterol acil transferasa) per ser emmagatzemat en petites vacúols lipídics.

Els HDL, quan són madurs, participen en el metabolisme de les altres lipoproteïnes ja que interaccionen amb elles cedint o agafant apoproteïnes, modificant-les. També cedeixen èsters de colesterol i a vegades agafen TAG. Contenen apoA-I, apoA-II, apoD i LCAT (també contenen apoE i apoC-II, que seran transferides a QM i VLDL). La síntesi pot ser tant al fetge com a l'intestí.

Els HDL madurs, a través de la PTEC (proteïna de transferència d'èsters de colesterol) cedeixen apoE i apoC-II als quilomicrons i VLDL naixents, madurant-los i capten d'ells, TAG (tot a favor de gradient). També cedeixen èsters de colesterol a les LDL, VLDL i QM.

9.1.2.3 Transport revers de colesterol

La síntesi de les HDL comença al fetge o a l'intestí, on es produeix l'acoblament de les apoproteïnes, la LCAT, fosfolípids i colesterol, formant el precursor de HDL (forma discoidal). L'HDL immadur interacciona amb la membrana de teixits extrahepatòtics, enriquint-se en colesterol. Aquesta captació pot ser passiva (interacció apoA-I amb receptor SR-BI de cèl·lules riques en colesterol, moviment passiu del colesterol cap a l'HDL) o facilitada per la interacció d'apoA-I amb els receptors ABCA1 d'una cèl·lula rica en colesterol. A continuació, la LCAT esterifica el colesterol en èsters de colesterol, provocant la maduració de l'HDL (forma esfèrica). L'HDL madur interactuarà amb les altres lipoproteïnes i finalment, descarregarà el colesterol als hepatòcits, que també tenen receptors SR-B1 (les glàndules adrenals també en tenen), que seran reconegudes per l'apoA-I.

9.2 Paràmetres analítics

9.2.1 Aterosclerosi

L'arteriosclerosi és un procés patològic habitualment anomenat enduriment de les artèries, normalment degut a l'enveliment, enduriment i degeneració de les parets de les artèries esdevingut amb els anys, tot i que també pot afectar persones relativament joves, degut a algunes malalties i a alteracions que afecten els teixits de la part interna de la paret arterial.

L'aterosclerosi és un procés patològic que es caracteritza per l'acumulació d'una substància cèria (fonsamentalment colesterol esterificat) que es denomina placa d'ateroma als vasos sanguinis. Aquesta provoca alteracions cel·lulars patològiques. El colesterol s'acumula quan la suma del colesterol sintetitzat i l'obtingut per la dieta supera els requeriments per la síntesi d'esteroïdes, sals biliars i membranes.

La placa d'ateroma està formada per colesterol, productes de rebuig, cèl·lules, calci i fibrina. La paret de l'artèria s'engrosseix i perd la seva elasticitat, podent arribar a obstruir l'artèria totalment.

L'aterosclerosi està lligada a nivells elevats de colesterol en sang, i especialment als nivells elevats de colesterol associats a LDLs. Existeix una correlació elevada aterosclerosi [LDL].

Les LDL són molt susceptibles a l'alteració, a l'oxidació, i quan resten molt de temps en sang (ja que n'hi ha en excés i no són captades), són més susceptibles d'alterar-se.

La formació de plaques segueix 3 etapes:

- 1) **Etapa primerenca d'inclusió lipídica.** Les LDL que contenen grups acil gras parcialment oxidats s'adhereixen i acumulen a la matriu extracel·lular de les cèl·lules epitelials que recobreixen les artèries. Llavors, els monòcits circulants es diferencien a macròfags i capten les LDL oxidades, així com el colesterol que contenen. El procés de captació és per endocitosi mitjançada per receptor escombriaire (scavenger) SR-A1. Es generen regions amb acumulacions de LDL i macròfags, que no poden limitar la quantitat de LDL oxidada ja que SR-A1 no està regulat negativament per LDL, i amb l'acumulació creixent de colesterol lliure i èsters de colesterol al seu interior fa que esdevinguin cèl·lules espumoses. A mesura que l'excés de colesterol s'acumula a les cèl·lules espumoses i les seves membranes, experimenten apoptosis.
- 2) **Progressió.** Arriba un moment en què l'acumulació de cèl·lules espumoses és excessiu, es malmet la matriu extracel·lular i es desencadena una reordenació cel·lular de les fibres musculars llises, que acaben formant un teixit cicatritzant tot envoltant les acumulacions de cèl·lules espumoses. Durant llargs períodes de temps, els processos inflamatoris i d'embolcallament descrits segueixen transcorrent i les artèries estan cada cop més col·lapsades. Quan el múscul llis ha envoltat l'acumulació cel·lular anòmala, el conjunt rep el nom de placa d'ateroma (que és una placa ateroscleròtica).

3) Oclusió. El creixement progressiu de la placa pot acabar provocant el desenvolupament d'un trombe plaquetari, que té el perill de taponar el vas.

De tant en tant, una placa es pot trencar i quedar alliberada del seu lloc de formació, transportant-se a través de la sang fins una regió més estreta d'una artèria cerebral o del cor, fet que dóna lloc a un ictus o un atac de cor.

L'aterosclerosi és una malaltia lenta i progressiva, però de vegades té el potencial de progressar ràpidament. El cor i l'encèfal són els principals perjudicats per la falta d'irrigació, ja que són teixits amb un metabolisme oxidatiu intens, on cal una aportació constant d'oxigen.

Quan l'obstrucció d'una o més artèries coronàries afecta més del 75% de la llum és quan la malaltia comença a donar símptomes. El flux insuficient de la sang cap al múscul cardíac a causa de l'estretament de l'artèria coronària pot causar dolor de pit, l'**angina de pit**.

Quan l'obstrucció és completa o gairebé, es causa un dany irreversible al múscul cardíac. Un **infart de miocardi** té un grau d'affectació (necrosi) determinat per la recuperació del flux de sang a la musculatura esquelètica afectada.

Si hi ha una obstrucció completa o gairebé dels vasos encefàlics, el dany és irreversible i té lloc un **ictus**. Tot depèn del temps que duri la hipòxia al teixit afectat; com més temps, pitjor pronòstic de recuperació i major extensió de necrosi.

9.2.2 Dislipèmia

Es diferencien 2 condicions:

- Dislipèmia: terme general, que caracteritza qualsevol alteració del nivell de lípids en sang (tant increment com descens dels nivells).
- Hiperlipèmies: alteracions patològiques del metabolisme lipídic que duen a un increment de la concentració de lípids a la sang.

En cas d'una dislipèmia (alteració dels nivells de lípids circulants), en primer lloc s'ha de confirmar amb 2 analítiques separades per un interval de 2 setmanes. Es descarten possibles causes secundàries, com:

- Diabetis (glucèmia)
- Hepatopaties (transaminases)
- Hipotiroïdisme (TSH)
- Síndrome nefròtic (proteïnúria)
- Paraproteïnes (electroforesi del plasma)

Si no hi ha causes secundàries, s'ha d'establir el diagnòstic fenotípic i genètic de les diferents dislipèmies primàries.

La separació de les lipoproteïnes es pot fer mitjançant:

- **Centrifugació seqüencial o en gradient de densitat.** La via més ràpida és fer una ultracentrifugació en gradient de densitat de sacarosa. Permet obtenir les fraccions i analitzar-les per separat.
- **Electroforesi:** Dóna una imatge general del perfil de lipoproteïnes. Es fa en agarosa o acetat de cel·lulosa. La mobilitat de les lipoproteïnes ve determinada per la quantitat de proteïna. Les que migren menys són les més grans i amb menys proteïna (QM).

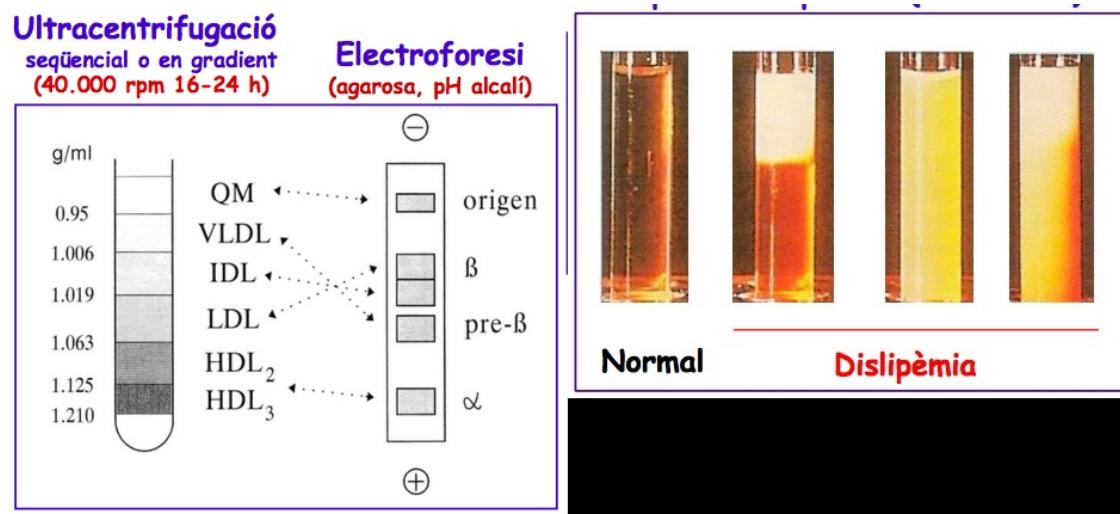


FIGURA 15: Separació de les lipoproteïnes

També es mira l'aspecte del plasma reposat 12h a 4°C:

- 1r tub dislipèmia: Les partícules que suren són poc denses, són QM. Coloració blanquinosa associada a TAG. Hipertriacilgliceridèmia d'origen exogen.
- 2n tub dislipèmia: Tenen TAG lligats a VLDL. Hipertriacilgliceridèmia d'origen endogen.
- 3r tub dislipèmia: Hipertriacilgliceridèmia combinada.

	Quilomicrons	VLDL	LDL	HDL
Mobilitat electroforètica	Origen	Pre-Beta	Beta	Alfa
Origen	Intestí	Fetge	Plasma	Intestí/Fetge
Transport	TAG exògens	Transport TAG	Colesterol (a teixits)	Colesterol (a fetge: revers)
Eliminació	Fetge	T. Perifèrics i fetge Transf. a LDL	Captació cel·lular	Fetge

FIGURA 16: Característiques de les lipoproteïnes

9.2.3 Lipoproteïnes

Al sèrum del pacient s'afegeix PEG, concavalina o dextrà per precipitar les proteïnes que continguin apoA i apoB. Es poden usar anticossos. Després de centrifugar, al sobrenedant queda el colesterol HDL i al pellet les LDL i VLDL.

Normalment, es determina el colesterol HDL i al LDL es calcula amb una fórmula basada en les determinacions anteriors. El mètode de Friedewald no es pot aplicar si hi ha QM presents en sang. Es considera que l'error en determinar el colesterol de VLDL és superior al comès per una relació matemàtica.

$$\text{Colesterol LDL (mM)} = \text{Col.Total} - \text{Col.HDL} - \frac{[\text{TAG}]}{2,2} \quad (10)$$

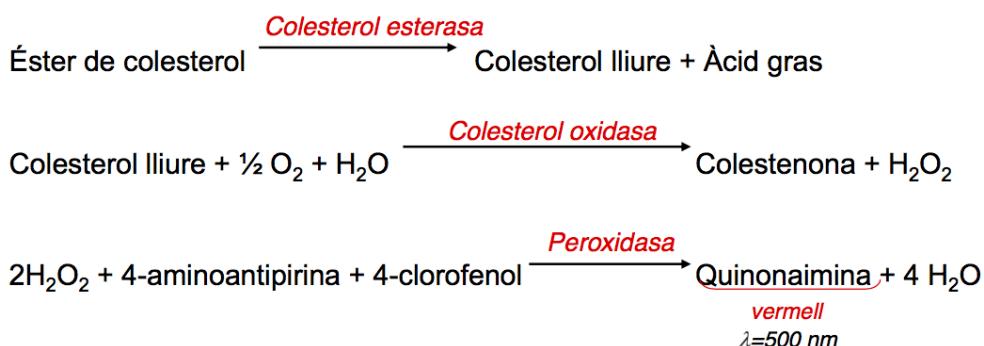
Si s'utilitza mg/dL, la relació VLDL/TAG és 0,2

Per tant, es quantifiquen els TAG en VLDL i es calcula la quantitat de colesterol en VLDL. Friedewald no es pot aplicar quan hi ha QM en plasma i quan es supera el rang normal de TAG (300 mg/dL) o en disbetalipoproteïnèmies.

9.2.4 Colesterol

Informa de la quantitat de colesterol total del plasma. Els valors normals estan al voltant de 200-220 nm. Hi ha diferents mètodes:

- **Mètode de Liebermann-Burchard (químic):** És el mètode de referència. És una reacció del colesterol amb àcid acètic i sulfúric. Es produeix un cromogen degut a la modificació de l'hidroxil i es pot llegir a 620 nm (groc).
- **Mètode enzimàtic (reacció de Trinder):** És el més usat en clínica. Dóna un cromogen vermell a 500 nm. Es reacciona el colesterol amb colesterol esterasa per generar colesterol lliure, colesterol oxidasa que genera peròxid d'hidrogen i finalment amb peroxidasa. La reacció amb peroxidasa és comuna a moltes determinacions.



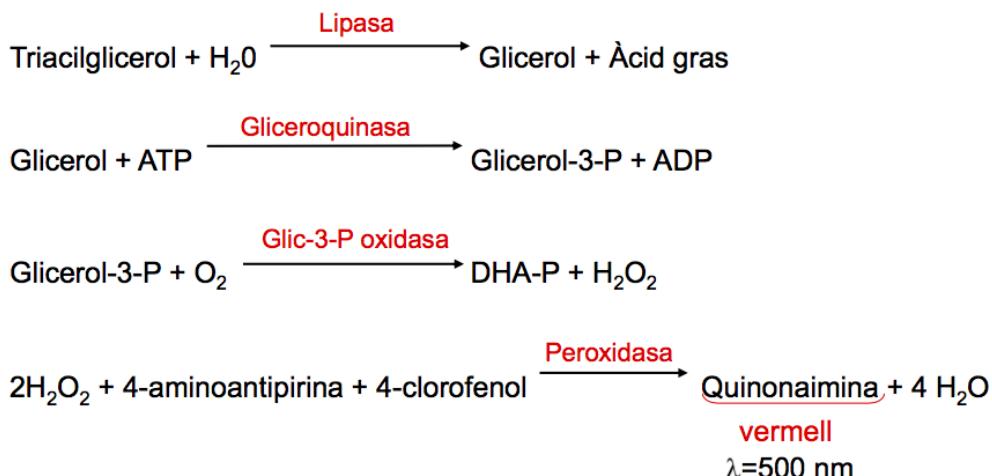
- Química seca

9.2.5 Triacilglicerols

Hi ha 2 mètodes de determinació:

- **Mètode químic:** Extracció de lípids del plasma amb cloroform, saponificació i quantificació del glicerol alliberat (s'oxida fins a formiat amb iodat sòdic i després es fa reaccionar amb àcid cromotrópic (coloració rosa) i lectura a 570 nm).

- **Mètode enzimàtic:**



	Homes		Dones	
	g/L	mM	g/L	mM
Tracilglicèrids	0,45-1,85	0,51-2,09	0,40-1,60	0,45-1,81
(desitjable < 1,7 mM; 150 mg/dL)				
	mg/dL		mg/dL	
Colesterol Total	124-210	3,2-5,4	120-224	3,1-5,7
(desitjable < 5,2 mM; 200 mg/dL)				
VLDL-col	8-17	0,2-0,5	10-16	0,2-0,5
LDL-col	92-143	2,4-3,7	100-149	2,5-3,8
(desitjable < 2,6 mM; 100 mg/dL)				
HDL-col	>35	>0,9	>35	>0,9
(desitjable > 1,0 mM; 40 mg/dL)				

FIGURA 17: Valors de referència

9.3 Dislipèmies

Segons el patró electroforètic i l'aspecte del plasma es poden classificar les diferents hiperlipèmies. La OMS ha establert 5 grans classes d'hiperlipèmies:

- 1 **Típus I. Quilomicronèmia familiar.** Hi ha una banda en origen. Alteracions en TAG d'origen exogen.

2 Tipus II. Hipercolesterolemia:

- a) Tipus IIa: Presenta plasma normal, l'electroforesi mostra una banda beta molt marcada, LDL i colesterol. Risc cardiovascular associat.
- b) Tipus IIb: Plasma blanquinós. TAG augmentats d'origen endogen. Bandes beta i pre-beta (LDL i VLDL). Hipertrigliceridèmia i hipercolesterolemia.

3 Tipus III: Plasma tèrbol i amb un sobredrant blanquinós. L'electroforesi no diferencia la beta i la pre-beta. S'anomena disbetaipoproteïnèmia. Expressió en homozigosi d'un alel de l'apoE (apoE2) tenen predisposició a disbetaipoproteïnèmia, només un 1% dels homozigots generen disbetaipoproteïnèmia. S'acumulen IDL i QMr, això explica la continuïtat de bandes pre beta i beta.

4 Tipus IV: Plasma tèrbol i increment de VLDL.

5 Tipus V: Plasma tèrbol i sobredrant blanquinós. Apareixen molts QM i VLDL.

Les tipus II i IV són bastant comuns en la població.

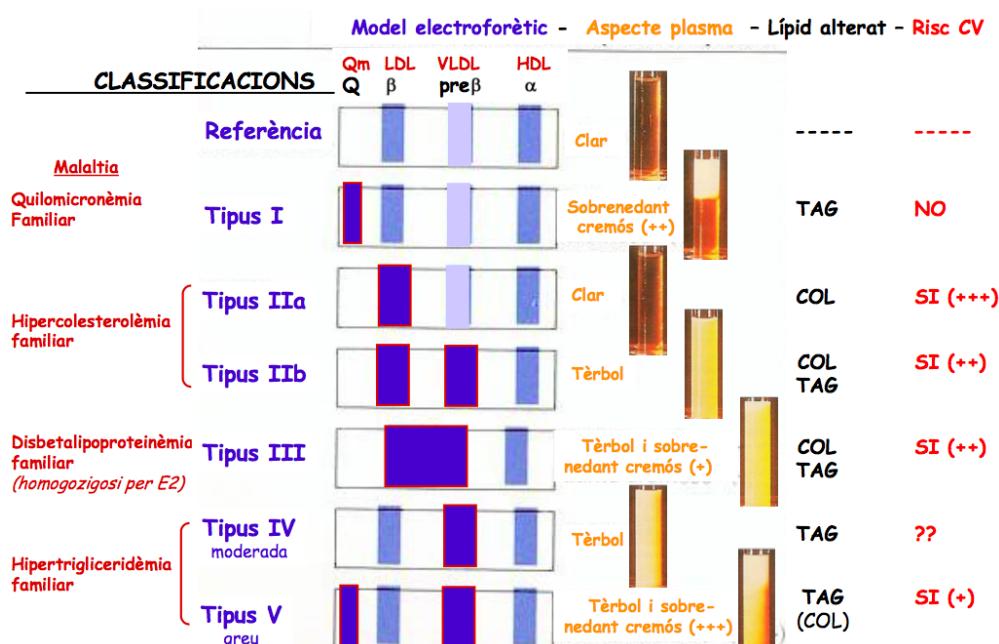


FIGURA 18: Característiques de les dislipèmies

9.3.1 Hiperlipoproteïnèmies primàries

		<u>Causa Dislipèmia</u>	<u>Conseqüència</u>	<u>Risc CV</u>
Quilomicronèmia familiar (Tipus I)	Dèficit LPL Dèficit Apo C _{II}	Mutacions gen LPL Mutacions gen Apo C _{II}	↓ Catabolisme Qm ↓ Catabolisme Qm	NO - -
Hipercolesterolemia familiar (Tipus IIa)	Monogènica Apo B100 defect. Poligènica	Mutació receptor LDL Mutació gen Apo B Multifactorial	↓ Catabolisme LDL/↑LDL ↓ Catabolisme LDL/↑LDL/RC ↓ Catabolisme LDL	SI +++ +++ +
Hipercolesterolemia familiar (Tipus IIb)	Hiperlipoprot. familiar comb.	Aug. síntesi ApoB100	↑ Producció VLDL	SI ++
Disbetaipoproteinèmia familiar (Tipus III)		Homozigosi ApoE2	↓ Catabolisme IDL	SI ++
Hipertrigliceridèmia familiar (Tipus IV i V)	Moderada Greua	Desconegut Defectes LPL??	↓ Catabolisme VLDL ↓ Catabolisme Qm i VLDL ↑ Síntesi Qm i VLDL	SI ? + +

FIGURA 19: Característiques de les hiperlipoproteïnèmies primàries

- **Quilomicronèmia familiar:** Els nens amb dèficit en LPL no podran processar QM. Es manifesta a la lactància ja que la llet materna té un contingut important en TAG. S'han de donar àcids grassos de cadena mitja i curta (no van per QM) i àcids grassos essencials. El dèficit en apoC2 es tracta amb infusions de plasma ric en apoC2. apoC2 està implicada en el reconeixement de la LPL. Pot ocasionar pancreatitis. No hi ha risc cardiovascular.
- **Hipercolesterolemia familiar:** Mutacions al receptor de LDL o apoB. El receptor de LDL és un gen al qual s'han descrit moltes mutacions. p.Arg3500-Gln3500 és endèmica a Suïssa. També hi pot haver un augment de la síntesi d'apoB100. Es manifesten cutàniament amb xantomes...
 - Tipus II a: Aquest trastorn es caracteritza per elevades concentracions plasmàtiques de colesterol des de la infantesa que no depenen de la presència de factors mediambientals. Presenta un patró d'herència autosòmic dominant. Es pot produir una mutació directament en el gen que codifica pel receptor de les LDL. També pot haver una mutació a nivell del gen que codifica per l'apo B-100 → apo B-100 defectuosa, la qual cosa fa disminuir l'avidesa de les LDL pel seu receptor (recordar que el receptor de LDL reconeix l'apo B-100 localitzada a la superfície de les lipoproteïnes). En tots dos casos hi ha un defecte en la captació i en el catabolisme de les LDL. Com a conseqüència, la seva concentració plasmàtica augmenta. Per una altra banda, trobem la hipercolesterolemia poligènica o comú, en què influeixen diversos gens. En aquest

cas, el colesterol plasmàtic no és tant alt i la influència dels factors mediambientals és superior. Presenta un major risc cardiovascular associat. Dóna lloc a quadres molt greus en persones joves.

- Tipus II b: Malaltia no associada a una alteració genètica del receptor de LDL ni de la apo B-100. És tracta d'un trastorn basat en una qüestió fisiològica alterada: el fetge produeix un excés d'apo B-100, produint un increment de les VLDL hepàtiques, les quals seran processades generant, finalment, un excés de LDL en circulació. Presenta un major risc cardiovascular associat.
- **Disbetalipoproteïnèmia familiar:** 1/10.000 manifesta aquesta dislipèmia. Hi ha factors ambientals que influeixen en la seva manifestació. Està afectada la unió amb LRP, és a dir la retirada de QMr, IDL, beta-VLDL. Les beta-VLDL tenen menys TAG però més contingut en colesterol. Hi ha hipertrigliceridèmia. Es pot mirar la relació $\frac{\text{TAG}}{\text{colesterol}}$, si és 5 els resultats són normals però si és inferior a 3,33 es sospita de disbetalipoproteïnèmia familiar. Presenten xantomes, sobrepès, intolerància a la glucosa.
- **Hipertriglyceridèmia familiar:** No s'associa a un genotip concret. La de tipus IV és molt comú. Es manifesta com a obesitat i intolerància a la glucosa.

El dèficit de LCAT (LCAT esterifica colesterol lliure dels teixits i el carrega a HDL). Es manifesta com un increment de colesterol lliure i aterosclerosi prematura.

Aquests fenotips evolucionen amb el temps.

9.3.2 Hiperlipoproteïnèmies secundàries

Són hiperlipoproteïnèmies provocades per altres malalties.

Malalties	Anomalia lipídica dominant
Diabetes mellitus	Augment TAG (Tipus I, IV i V)
Pancreatitis	Augment TAG (Tipus I i V)
Excès d'alcohol	Augment TAG (Tipus V)
Fallida renal crònica	Augment TAG (Tipus IV i V)
Fàrmacs (diurètics, β -bloquejants,...)	Augment TAG (Tipus IV)
Glicogenosi hepàtica	Augment TAG (Tipus I, III i IV)

FIGURA 20: Característiques de les hiperlipoproteïnèmies secundàries

- La **colèstasi** és una obstrucció de les vies biliars. Hi ha un reflux de bilis cap al fetge i després cap a circulació sistèmica. La bilis a la sang s'associa a lipoproteïnes. Apareixen lipoproteïnes X riques en colesterol, pobres en apo, riques en albúmina, migren cap al càtode. La lipoproteïna X és la bilis empaquetada com a lipoproteïna. També apareix colesterol lliure. La lipoproteïna X està formada per un 90% per lípids i colesterol lliure i la resta és albúmina i apoC i migren cap al càtode (negatiu).

-
- L'**hipotiroïdisme** es manifesta amb un increment de colesterol circulant ja que el LDLR està regulat per hormones tiroïdals.
 - El **síndrome nefròtic** genera un increment de colesterol.
 - La **lipoproteïna a** és una lipoproteïna normal que es troba circulant. La composició és molt similar a la LDL. apoB100 presenta un pont disulfur amb una serina proteasa de dominis KRINGLE 4 i 5. Són molt similars als del plasminogen. La lipoproteïna a no té activitat serina proteasa activa però pot competir amb el plasminogen i inhibir la seva funció (deficiència de fibrinòlisi). L'excés de lipoproteïna a provoca problemes a la fibrinòlisi i hipercolesterolemia ja que no és reconeguda pel LDLR. La teràpia és la convencional per hipercolesterolemia.

9.3.3 Hipolipoproteïnèmies

Dins de les **hipolipoproteïnèmies primàries**:

- *HDL afectades:*
 - Analfalipoproteïnèmia (manca de HDL): No es retira colesterol dels teixits ni pas a LDL. Síntesi defectuosa d'apoAI.
 - Malaltia de Tangier: Hipercolesterolemia amb dipòsits de colesterol als teixits. Defecte a ABCA1, transportador de colesterol cap a fora de les cèl·lules. Les HDL interaccionen amb ABCA1 per recollir el colesterol sobrant. Es va descobrir a l'illa de Tangier degut a l'efecte fundador.
- *LDL afectades:*
 - Abetalipoproteïnèmia: Mutació en el gen MTP autosòmica recessiva. MTP és el *Microsomal TAG transfer protein*. No es formen QM ni VLDL. Hi ha un dèficit de vitamines liposolubles. Hi ha hipercolesterolemia i absència total d'apoB100 en plasma.
 - Hipobetalipoproteïnèmia: La mutació al gen apoB és autosòmica dominant que genera una forma truncada d'apoB100. La síntesi de LDL està molt afectada, la de VLDL i QM no tant.
- Malaltia d'Anderson: Malaltia de retenció de QM. Es detecta en nadons ja que la llet materna és rica en lípids. Hi ha un defecte en la sortida de QM a limfa.

Pel que fa a les **hipolipoproteïnèmies secundàries**:

- Hipoalfalipoproteinèmia secundària (lesió hepàtica, fallida renal,...)
- Hipobetalipoproteinèmia secundària (hipertiroïdisme, insuficiència hepàtica,...)

9.3.4 Tractament

Diverses estratègies:

- Estatines: Inhibidor d'HMG-CoA-reductasa
- Resines segrestadores d'àcids biliars
- Fibrats: Activen la LPL i afavoreixen la oxidació d'àcids grassos al fetge.
- Nicotina: Inhibeix la lipòlisi al teixit adipós i la sortida de TAG al fetge.
- Omega 3: Actuen sobre l'ACAT (esterifica colesterol a les cèl·lules) i activa SREBP permetent la síntesi de nous LDLR.

10. El fetge

10.1 El fetge

10.1.1 Circulació hepàtica

La sang entra el fetge per la via porta (intestí) i a través de l'artèria hepàtica (sistèmica). Surt del fetge a través de la vena hepàtica, que conflueix a la vena cava.

Els nutrients de la dieta arriben via vena porta, arriben als hepatòcits. Al seu torn, els hepatòcits secreten productes als canalicles, que van confluint fins que formen el conducte biliar que va a parar a la vesícula biliar.

10.1.2 Funcions hepàtiques

La zona periportal i la zona perivenosa tenen diferències metabòliques diferents. El fetge secreta albúmina, factors de coagulació...

El fetge té activitat detoxificant d'alcohol, xenobiòtics, toxines...

Hi ha un consens de 5-6 proves que determinen la funció hepàtica. Aquestes proves són:

- Bilirubina plasmàtica: Informadora de la funció detoxificant i excretora.
- Enzims com ALT i AST, fosfatasa alcalina, la γ -glutamil transpeptidasa, LDH. ALT i AST informen de l'estat del parènquima. La fosfatasa alcalina i la γ -glutamil transpeptidasa informen de la ruta biliar. La LDH informa del parènquima.
- Proteïna total plasmàtica
- Albúmina (funció biosintètica a llarg termini). Vida mitjana llarga.
- Temps de protrombina (funció biosintètica a curt termini). Vida mitjana molt curta.

10.2 Estudi de la funció excretora

La bilirubina (BR) és el producte de la degradació de grups hemo, la majoria dels quals es troba en l'hemoglobina. Ara bé, no tota ve dels eritròcits. Recordem que el fetge també té citocroms i moltes altres hemoproteïnes que també tenen el seu reciclatge.

La degradació es duu a terme en el sistema reticuloendotelial, en les cèl·lules de Kupffer del fetge, principalment (macròfags hepàtics). També es pot donar en medul·la òssia o en la melsa, per cèl·lules especialitzades, i molts cops en certs tipus de macròfag també.

10.2.1 Producció de bilirrubina - Icterícia

- Linealitzar el grup hemo. Actua la hemo-oxigenasa, alliberant CO i Fe³⁺, i genera la biliverdina.

-
- La biliverdina reductasa: ràpidament redueix la biliverdina per degradar-la a bilirubina. L'acumulació de bilirubina és tòxica per a alguns teixits i, per tant, l'he de fer una mica més hidrosoluble per després poder-la abocar a la bilis. El procés de fer una molècula més hidrosoluble per tal d'eliminar-la, és un procés típic en les vies excretora i detoxificant.

La BR entra al fetge per un transportador que es creu que és d'albúmina. Es trasllada directament al RE, o bé passa primer pel citosol, on una proteïna la lligarà (ex: lligandina, que la lliga per a que no sigui tant hidrofòbica) i d'allà al RE.

Al RE, gràcies a l'expressió de la UDP-glucoroniltransferasa (enzim únic del fetge), incorpora 2 glucorònids a la bilirubina per generar bilirubina conjugada (hidrosoluble). I llavors s'aboca als conductes biliars.

Si altres teixits han generat bilirubina, després haurà d'anar al fetge per fer-se hidrosoluble. Per tant, 2 naturaleses de la bilirrubina:

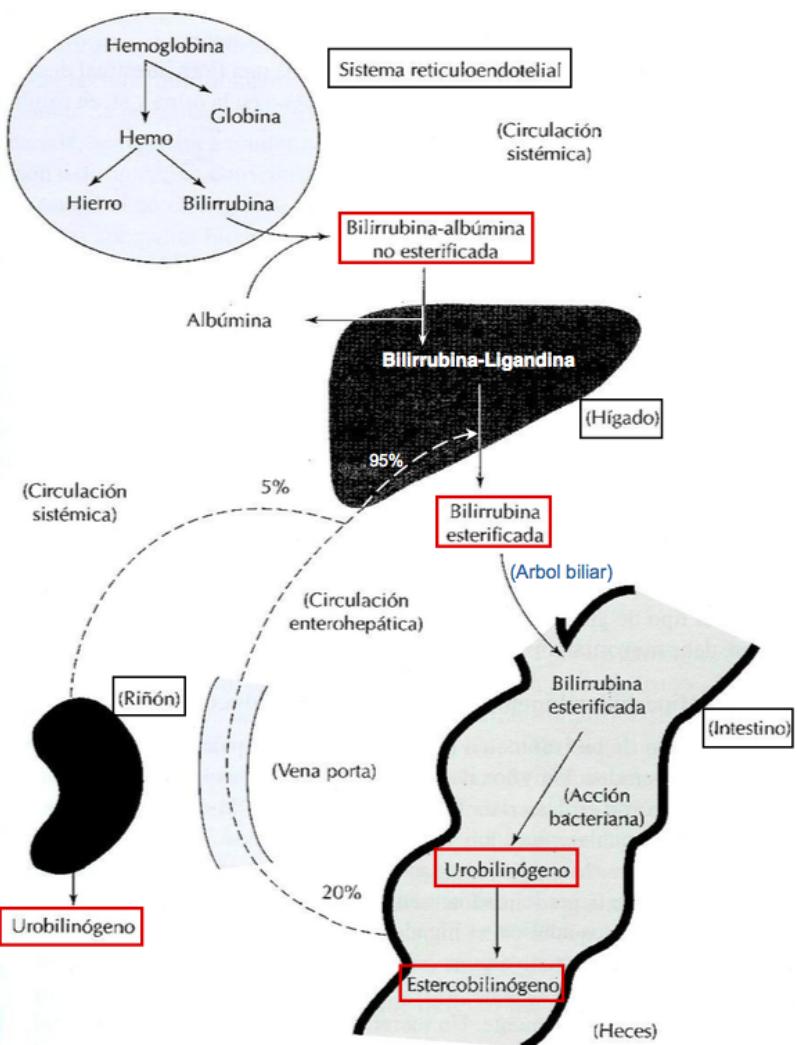
- Lipofílica: fins que no arribi al fetge, haurà de venir unida a albúmina. També se la pot anomenar bilirrubina no esterificada, o no conjugada, o indirecte.
- Hidrosoluble: anomenada també esterificada, conjugada o directe.

10.2.2 Metabolisme de la bilirrubina

Quan surt esterificada del fetge, es dirigeix al duodè, on hi ha una població de bacteris intestinals que generarà pigments derivats de la bilirubina esterifica. Aquests pigments són els urobilinogens i els estercobilinogens (aquests últims donen el color marró a la femta).

Un 20% de l'urobilinogen generat es pot reabsorbir altre vegada i tornarà a arribar al fetge, mentre que una petita part (5% d'aquest 20%) anirà a circulació sistèmica, i d'allà al ronyó.

Per tant, com que la majoria van a femtes, visualment mirant-les, sabré si el sistema m'està funcionant o no. L'urobilinogen present en orina pot ser també informatiu.



10.2.3 Determinació de la bilirrubina

Per la:

- BR Directa: Agaf una mostra plasmàtica, la poso en presència d'un àcid sulfanhídric, i aquest atacarà la molècula de BR, sempre i quan aquesta sigui la conjugada. Dels productes que genera, una de les parts incorpora l'àcid (isòmer 1), i l'altre part, després de tractar-se amb àcid altre cop, també l'incorporarà i donarà el color (isòmer II).
- BR indirecta, en faig la estimació a partir de la resta. De la total menys la directa. És per això que a la no conjugada l'anomenem indirecte. En paral·lel, m'interessa determinar l'urobilinògen per acabar de diagnosticar l'origen de la icterícia. Això es fa amb una modificació del pigment i es determina fotomètricament.

Els valors de referència són:

Bilirrubina Total sèrum= 0,3 - 1,1 mg/100ml

Bilirrubina Directa sèrum= 0,1 - 0,4 mg/100ml

Bilirrubina Directa orina= 0,03 mg/100ml

10.2.4 Icterícia

Per diferents causes:

- Neonatal: els nens acabats de néixer fins als 2-3 dies poden presentar icterícia, i després desapareix. Això és degut a:
 - Encara no s'han acabat d'activar els enzims hepàtics de la BR
 - S'està generant un canvi en la seva hemoglobina, de la fetal a la adulta, i per tant s'està degradant la fetal = recanvi molt alt d'eritròcits als primers dies de vida.

Si s'acumulés la BR al cervell, es generaria kernicterus que és dany cerebral per aquesta acumulació.

Un solució rudimentària és posar el nen al sol, ja que els raus UV afavoreixen la degradació dels grups hemo.

- Adult: si tinc una hemòlisi massiva dels meus eritròcits, per molt adult que sigui el meu fetge, segurament el saturaré i s'acumularà. No dóna abast a processar tota la BR que s'està generant. La causes poden ser diverses i es troben recollides en la següent taula:

Type	Cause	Clinical example	Frequency
Prehepatic	hemolysis	autoimmune abnormal hemoglobin	uncommon depends on region
intrahepatic	infection	hepatitis A, B, C	common/very common
	chemical/drug	acetaminophen alcohol	common common
	genetic errors: bilirubin metabolism	Gilbert's syndrome Crigler-Najjar syndrome Dubin-Johnson syndrome Rotor's syndrome	1 in 20 very rare very rare very rare
	genetic errors: specific proteins	Wilson's disease α_1 antitrypsin	1 in 200 000 1 in 1000 with genotype
Posthepatic	autoimmune	chronic active hepatitis	uncommon/ rare
	neonatal	physiologic	very common
	intrahepatic bile ducts	drugs primary biliary cirrhosis cholangitis	common uncommon common
	extrahepatic bile ducts	gall stones pancreatic tumor cholangiocarcinoma	very common uncommon rare

A més, segons la malaltia, els tipus de BR alterats seran uns o altres, i també el lloc de detecció (plasma o orina).

Si tinc inflamació hepàtica: l'entrada de BR al fetge no està afectada, i la conjugació tampoc, però tinc problemes per enviar-la a la via biliar.

Llavors el que passa és que l'hepatòcit se la queda dins, es va acumulant i acaba sortint a circulació sistèmica. Això genera un quadre d'icterícia.

Aquesta BR circulant, és hidrosoluble, apareix en orina i es torna fosca. Per tant, detectaré BR en orina, i visualment serà fosca. A més, les femtes seran clares perquè no esta arribant pigment a l'intestí.

Un quadre similar el tindré per obstrucció extrahepàtica.

Si tinc alteració hemolítica: el pacient presentarà bilirrubinemà elevada, però si observo la conjugada estarà en valors normals. Femtes: coloració normal, orina: normal. Per tant, se m'està acumulant la indirecta, la liposoluble.

- Síndrome de Gilbert i de Crigler-Najjar: la directa estarà dins l'interval de referència o disminuïda, però mai incrementada.
- Dubin-Johnson i Rotor: tenen incrementada la directa.
- Gilber: relacionat amb problemes en l'entrada de la BR liposoluble dins de l'hepatòcit. A vegades el síndrome es complica si la persona expressa glucorodil-transferasa en baixa concentració.
- Crigler-Najjar: deficiència enzimàtica, s'acumula la indirecta perquè no la puc conjugar.
- Dubin-Johnson i Rotor: el problema està després de la conjugació. Es troben dins de les icterícies hepàtiques conjugades.

En Dubin, si es fa una biòpsia hepàtica, veurem un fetge de pigmentació molt fosca. A la membrana canalicular, on hi hauria d'haver el transportador d'anions orgànics, hi ha un defecte. I per tant és un problema de sortida, de l'hepat cap al canalicle.

En Rotor, la biòpsia no evidencia un fetge fosc. L'activitat del transportador és normal. És un problema de traslladar la BR conjugada del RE fins la membrana. Per tant, problema de transport de la BRc.

Tanmateix, els 2 síndromes, si no fem una biòpsia o una prova funcional, no els podré distingir. La prova estàndar per diferenciar-les és la BST, que mesura l'eliminació d'un colorant que requereix el pas pel fetge.

En funció de si el problema és pre- hepàtic, intrahepàtic o post-hepàtic, els problemes valors que tindré alterats seran uns o altres.

10.3 Estudi de la funció excretora. Àcids biliars

Els àcids biliars els podem considerar un subproductor de colesterol. La composició de la bilis és:

- Pigments biliars (BR, amb part de biliverdina)
- Àcids biliars (fabricats a partir del colesterol)
- Colesterol lliure

-
- Fosfolípids
 - Ions inorgànics
 - Proteïnes però molt poques

10.3.1 Producció d'àcids biliars

Els classifiquen en 1aris, 2aris i 3aris. El fetge en fa 2 tipus: àcid còlic i el chenodeoxicòlic (QDC).

El fetge agafa el colesterol i normalment l'hidroxila en 2 punts, generant àcid còlic.

Ara a més li posem un grup funcional (un aminoàcid) per a donar-li millor solubilitat. Aquest pot ser taurina o glycina. D'aquesta manera del colic sortirà el taurocòlic o el glycocolic. El mateix passa amb l'àcid chenodeoxicòlic, que podrà esdevenir glycochenocòlic o taurochenocòlic.

Aquests àcids biliars són essencials, i proporcionen bona acció de les lipases pancreàtiques. A l'intestí, els bacteris intestinals els processen, desconjugant-los, (traient-los els aas) de manera que el tauró o glyco torna a ser chòlic o chenodeoxycholic.

I a més, també els hi poden fer modificacions, treient-los 1 hidroxil dels que havia posat el fetge. Així es generen els àcids biliars 2aris, que són el deoxycolic i el lithocolic.

10.3.2 Circuit dels àcids biliars

El nostre metabolisme està dissenyat per conservar al màxim el colesterol i les seves estructures derivades. El 90% dels AB del duodè tornaran a ser reabsorbits. La resta acabarà a les femtes.

La pèrdua diària d'AB en femtes es de 0.2-0.6 g/dia, que serà la mateixa taxa de producció d'AB per part del fetge, per reposar els que em perdit. Quan no han de ser abocats, es guarden a la vesícula, al'espera dels estímuls necessaris del duodè.

En una situació normal: no he de tenir AB en la circulació enterohepàtica. I per tant també hi hauran molt pocs en orina.

Si per una alteració, es veu obstruïda la circulació: lo poc que arribi a l'intestí s'excretarà fecalment, i el retorn serà molt menor. Llavors el fetge es veurà forçat a fabricar molts més AB. En conseqüència es genera un sobrefluix dels AB cap a la circulació sistèmica.

En aquest cas tindria mala absorció de lípids. Les femtes serien claretes perquè tampoc arribaria la BR = icterícia. La vitK també es veuria afectada, ja que és liposoluble, i un dèficit d'absorció de lípids afecta la vitK. Aquesta manca de vitK = problemes de coagulació.

10.3.2.1 Comprovació

Un marcador primerenc de malfunció hepàtica és mirar els factors de coagulació. Si la capacitat que tenen els factors d'activar-se no és la que hauria de ser. Per confirmar que és per problema d'obstrucció, administro VitK, i torno a mirar el temps de protrombina. Si no es normalitza=> obstrucció.

10.3.2.2 Causes

Que el colesterol lliure sigui més o menys soluble en la bilis, dependrà de la concentració d'ABs que tinguem. Si hi ha molts ABs, serà molt més soluble. Si hi ha déficit, deixa de ser soluble i cada cop té mes tendència a precipitar. Per tant puc generar càlculs biliars per déficits d'AB o per excés de colesterol.

10.3.2.3 Tractament

Amb ultrasons per desfer la pedra, o inclús extirpar la vesícula biliar si es molt greu. Segurament haurem d'administrar estatines, per evitar la síntesi endògena de colesterol, ja que la majoria de vegades els càlculs biliars apareixen perquè es formen cristalls de colesterol.

10.3.3 Determinació dels àcids biliars

La determinació es pot dur a terme per tècniques cromatogràfiques (GLC, HPLC), assajos enzimàtics o immunoassajos (RIA, ELISA). Són d'alta utilitat per monitoritzar individus amb sospita de malaltia hepàtica.

10.4 Estudi de la capacitat detoxificadora. Xenobiòtics.

En paral·lel tenim la funció detoxificadora. L'estrategia és la mateixa que per la BR o pels AB ja que es tracta d'inserir grups funcionals que els facin més hidrosolubles.

En aquest cas primer introduïm grups polars (oxidacions, citocrom p450...) i després conjugo el xenobiòtic amb aas com glicina o glucurònic. La finalitat és fer-lo més polar per a que surti per les vies aquoses.

10.4.1 Mesura de l'eliminació dels xenobiòtics

Per mesurar-ho, no puc fer una determinació analítica puntual, si no que he de fer un test de resposta (un test funcional). El més senzill és administrar un colorant que no pot ser eliminat pel ronyó (per a que no s'elimini per via renal, i hagi de passar pel fetge).

S'usen 2 colorants: rosa bengala o bromosulfaleina. El perfil plasmàtic d'un colorant quan l'administro a sang és el d'anar desapareixent de la sang, bé perquè surt per les vies biliars, o bé perquè ara ja es pot filtrar per la sang. Patològic serà si apareix un pic secundari.

Si tinc un pic i després baixa, serà una persona normal o bé amb Rotor (no els puc distingir per aquesta prova). I si apareix un segon pic és Dubin-Johnson. Recordem que en un cas tinc alterat el transportador del reticle a membrana i en l'altre tinc obstruïda la secreció.

Dubin presenta un 2n pic, perquè té problemes amb el transportador, i el xenobiòtic no pot sortir per vies biliars. Per tant torna a sang i s'acaba filtrant per orina.

2a prova funcional: trimetil-xantina: s'elimina per la via detox hepàtica, per la via del cyt p450. Així puc valorar l'aparició de productes modificats en sang. O bé en orina, ja que si surten en sang, després les tindrà en orina.

3a prova funcional: marcant amb carboni 14. Requereix el pas pel fetge i puc mirar la velocitat de desaparició en sang, l'aparició de productes metabòlics en sang i/o orina o fins i tot fer un analisi respiratori.

Hi ha tòxics que inicialment quan els ingerim no ho són, i és quan acaben passant pel fetge, que generaran els productes tòxics.

10.5 Estudi de les capacitats biosintètiques i metabòliques

10.5.1 Proteïnes

- **Albúmina:** si em vull fixar en capacitat biosintètica i metabòlica, puc mirar la producció d'albúmina hepàtica. Problema: té una vida mitja llarga, 2-3 setmanes, i per tant, quan a nivell circulant detecti hipoalbúminèmia, vol dir que ja fa 2-3 setmanes que el fetge no funciona correctament.

Per tant, la malaltia hepàtica, a la llarga, es reflectirà com a hipoalbuminèmia.

- **Factors de coagulació,** és el que comentàvem abans (temps de protrombina i de tromboplastina). S'administra també vitK per veure si millora o no. Si millora és tracta de colestasi.
- **Altres proteïnes** que soLEN disminuir en disfunció, (amb algunes excepcions que augmenten, sobretot marcant cirrosi i hepatitis):

Pre-albúmina	Davallada	Disfunció hepàtica
α_1 -antitripsina	Davallada	Disfunció hepàtica
β_2 -microglobulina	Augment	Cirrosi i hepatitis
Colinesterasa	Davallada	Disfunció hepàtica
α -fetoproteïna	Augment	Carcinoma hepàtic
α_1 -antitripsina	Davallada	Defecte genètic
Ceruloplasmina	Davallada	Malaltia de Wilson
	Augment	Cirrosi, hepatitis vírica.
Transferrina	Davallada	Disfunció hepàtica, alcoholisme, excés de Fe

10.5.2 Lípids i lipoproteïnes

- **Enzims de metabolisme lipídic:** el fetge sintetitza LCAT i lipasa hepàtica. Com a proteïnes d'origen hepàtic, tindran disminuïda la síntesi si el fetge no funciona bé. I en conseqüència tindrem menys èsters de colesterol circulants, més TAGs en plasma, i un lipoproteinograma anormal.
- **Lipoproteïnes** associades a:
 - Hepatitis: genera problemes en la producció de VLDLs i HDLs (absència d'aquestes). A més el fetge, de manera normal, capta LDL i IDL, per tant si no les capta es trobaran augmentades en circulació.

-
- Hepatitis per alcohol: tinc sobretot augment de LDLs pobres en èsters de colesterol.
 - Icterícia obstructiva: apareixerà la lipoproteïna X alterada en circulació.

10.5.3 Aminoàcids i nitrogen amíníc

- **Amoni:** el fetge és el lloc de destí del processat de nitrogen, atrapant l'amoni i fent el cicle de la urea. Ha d'haver entre $11\text{-}35\mu\text{M}$ plasma. Si baixa l'activitat del cicle de la urea i baixa la formació de Gln i altres aas, la conseqüència més greu és que incrementin els nivells circulants d'amoni=Hiperamonèmia, la qual cosa és tòxica per al cervell.
- **Aminoacidúria:** apareix en:
 - Necrosi hepàtica: aas que no haurien d'estar en orina, apareixen en forma de cristalls. En aquest cas Leu i Tyr.
 - Hepatitis o cirrosi: també apareixen aminoàcids en orina.

10.5.4 Glúcids

El control de la homeostasi glucídica feta pel fetge és molt important, però hi ha altres monosacàrids que tenen també una important metabolització hepàtica:

- **Galactosèmia:** en cas de la galactosa, la seva metabolització és pràcticament exclusiva al fetge. Si hi ha malaltia hepàtica, la galactosa és un dels que puja en circulació, i podrà ser usada de manera 2ària per altres teixits.
La galactosèmia sol tenir origen genètic i pot generar problemes des dels primers mesos de vida com retard mental. En els adults afavoreix l'aparició de cataractes.
- **Hipoglucèmia:** fetge gras: té esteatosi (dipòsit de greixos al fetge quan no hi haurien de ser). Pot ser degut a alcohol, o bé pel síndrome de Reyes produït per administració d'aspirina en nens petits (per l'àcid acetil-salicílic).
La manera de detectar-ho és fent tests funcionals per veure com respon l'organisme a la disminució de glúcids i de galactosa.

10.5.5 Marcadors sèrics

10.5.5.1 Transaminases

Són enzims no exclusius del fetge però que em donen una idea de com està. En plasma $<40 \text{ UI/L}$. Signe d'afectació del parènquima hepàtic. Lleu quan apareixen isoformes citoplasmàtiques, i greu si apareixen isoformes mitocondrials.

AST(GOT)	↑↑ Necrosi, Hepatitis, Cirrosi, Icterícia obstructiva, Carcinoma. ↑ Hepatitis alcohòlica
ALT(GPT)	↑ Necrosi Hepàtica, Icterícia obstructiva, Carcinoma, ...
GPT>GOT	Hepatitis viral, Icterícia post-hepàtica, Colestasi
GOT>GPT	Cirrosi, Hepatitis alcohòlica, Carcinoma metastàsic

A nivell clínic, tenen una doble nomenclatura: tant puc parlar d'alanina transaminasa com de GTP. La GOT és fàcil de deduir que es, perquè té les sigles de glutamat, oxalacetat transaminasa. La GPT, en canvi, és alanina pyr transaminasa.

La determinació de l'activitat es fa a través d'espectrofotometria amb estratègies associades a consum de NADH.

Quan hi ha afectació hepàtica, les transaminases augmenten 10x. Però hi ha limitacions perquè aquestes poden augmentar també per altres raons.

L'altre limitació és distingir entre els diferents tipus de malalties quan l'increment de les transaminases cau en els llindars solapats, per exemple 1000x.

En alguns casos podem distingir una mica més el tipus de malaltia, com amb l'aspartat transaminasa que té una isoforma mitocondrial que apareix quan el dany al fetge és molt important.

Criteri consens:

- Hi ha inflamació hepàtica quan l'increment de transaminases és fins a 100x. I es reflectirà de manera proporcional al dany. I en aquest cas, l'ALT tindrà nivells més alts que AST.
- Hi ha cirrosi quan tenim que l'increment de l'AST és superior a l'increment de les ALT. (L'increment de concentració total no ens pot servir de guia perquè varia molt entre individus, per això ho miro així).

10.5.5.2 Fosfatasa alcalina (ALP o FAL)

És un marcador no exclusiu de malalties obstructives hepàtiques. En tinc diverses isoformes, de les quals la òssia (principal) i la hepàtica són les 2 formes predominants en circulació.

Una manera de discriminar si està augmentada en resposta a problemes hepàtics és inhibir les altres isoformes de la ALP, per saber quina està augmentada. O bé distingir-les per electroforesi. La més glicosilada és la òssia i per tant tindrà migració diferent.

La isoforma hepàtica es troba en la membrana canalicular, de manera que és un bon indicador de problemes quan la cèl·lula ja està als canalicles.

En nens Com és que la isoforma principal és la òssia, i els nens, en creixement, tenen molta més activitat de remodelació òssia que els adults, aquests tindran nivells molt més alts de ALP en sang. Per tant, si a un nen li trobo nivells elevats de ALP, aquest increment encara serà menys indicatiu que en un adult.

Llavors en nens també es sol determinar la 5'-nucleotidasa. Si incrementa en paral·lel amb la ALP, probablement el problema és hepàtic. Però si només augmenta la ALP, doncs probablement sigui només reflex de la seva fisiologia pel creixement, i descarto problemes biliars. En serveix també per detectar carcinoma metastàtic hepàtic.

Valor de referència: plasma = 0-12 UI/L

10.5.5.3 γ -glutamyl transpeptidasa

Sol modular paral·lelament a la fosfatasa alcalina, i es sol fer servir com a indicador d'alarma, de toxicitat al fetge. Es dispara quan consumim alcohol o tòxics que puguin afectar al fetge. També si estic en tractament farmacològic crònic la miraré per monitoritzar-ne la resposta.

Té diferents isoformes: hepàtica, renal i pancreàtica. En plasma 10-40 UI/L.

10.6 Alteracions hepàtiques

10.6.1 Hepatitis

És una inflamació del fetge per múltiples causes. Lo habitual és que sigui aguda, una afectació puntual que s'acaba curant ja que el fetge té una gran capacitat de regeneració. Tot i això, la curació a vegades no és possible si la hepatitis ha estat molt massiva (ex: hepatitis fulminant, on la única solució és trobar un donant abans de 24h).

També pot passar que després d'una hepatitis aguda, ens quedi una hepatitis crònica, de manera que es van creant fases d'inflamació seguides de fases de repòs. Cada cop que hi hagi una fase d'inflamació, es generaran fibrosis hepàtiques i aniran quedant nòduls fibròtics. I per tant, a la llarga vaig perdre funcionalitat hepàtica. Acaba generant un procés d'hepatoma.

10.6.2 Cirrosi

Destrucció de l'arquitectura interna de l'òrgan (parènquima nodular i fibrosi).

10.6.3 Colèstasi

Vol dir bloqueig de les vies biliars per causes diverses: neoplàsia, cirrosi, infecció, càlculs... Qualsevol interrupció del flux biliar es reflectirà en icterícia, inflamació hepàtica, etc.

L'habitual en tumors és que hi hagi una colestasi + un tumor en el cap del pàncrees que acaba obstruint la part final de la via biliar, que acaba obstruint les secrecions cap al duodè.

10.6.4 Hepatoma

Neoplàsia dels hepatòcits, cèl·lules de Kupffer,... Metàstasi d'altres tumors.

10.6.5 Hepatitis víriques

Molts virus poden infectar el fetge. Els més famosos són els que causen hepatitis A, B i C. El fetge és un 'aperitiu' molt bo pels virus ja que és un òrgan molt irrigat= accés fàcil i metabòlicament molt actiu. Per tant, trobem que pràcticament totes les famílies de virus infecten el fetge, molts d'ells RNA virus.

En el A, els anticossos incrementen a la vegada que els símptomes i veurem increment de bilirrubina i ALT. Ara bé, no hi ha elements que durant el període d'incubació ens informin.

En el B, hi ha antígens virals presents en la nostra circulació temps abans que apareguin els símptomes, per tant aquí sí que podem intentar minimitzar els efectes d'entrada. Per tant, hi ha Ag sèrics virals coneguts només en B per a detectar la infecció abans que doni símptomes.

Durant el període d'infecció en B es creen IgM, IgGs, augmenta la bilirrubina, i tindrem anticossos específics contra antígens de superfície.

En la B veiem com l'anticòs de l'Ag E baixarà a la llarga, però el de superfície es mantindrà i serà el nostre protector en una 2a infecció.

Grau de cronificació L'hepatitis aguda normalment es curarà, el que m'ha de preocuper és si cronificarà. Preocupa l'hepatitis B sobretot en nounats. Si la mare esta infectada, en el part pot transmetre el virus al bebé, i aquest probablement tingui hepatitis crònica.

També en el C.

Finalment, el virus D, és un virus satèl·lit, per si sol no pot replicar. Necessita tenir una infecció alhora amb un altre virus, i la capacitat de que cronifiqui és del 5-10%. El problema es si el pacient ja té una hepatitis vírica i té una sobreinfecció amb el virus de la hepatitis D, llavors el grau de cronificació és del 90%.

11. Aparell digestiu

11.1 Malabsorció

Les CONSEQÜÈNCIES d'una malabsorció poden afectar a tot l'organisme:

1. Lesions a la pell i a les mucoses que comporten una deficiència de vitamines i d'oligoelements.
2. Debilitat muscular que implica tenir una massa muscular reduïda i una deficiència de calci i magnesi.
3. Tetània que implica una deficiència de calci i magnesi.
4. Pèrdua de pes.
5. Dolor ossi (osteomalàcia/raquitisme). La manca de vitamina D afecta negativament al creixement i al manteniment de l'estat ossi de la persona generant raquitisme o osteomalàcia.
6. Anèmia per deficiència de ferro, folat o vitamina B12 (vitamina que depèn del factor intrínsec, secretat a nivell estomacal).
7. Neuropaties perifèriques que condueixen a un dèficit vitamínic.
8. Edemes deguts a hipoalbuminèmia: els líquids passen del compartiment vascular al compartiment extravascular. Els edemes provoquen una baixa disponibilitat d'energia, una reducció dels processos biosintètics i un desequilibri de la pressió oncòtica.
9. Problemes en el creixement i diarrees. El problema de la malabsorció ha d'estar molt controlat en bebès, ja que aquests depenen únicament de la llet materna i si aquesta no és prou nutritiva pot donar lloc a problemes molt greus.

Les CAUSES poden provenir també de qualsevol part del tracte gastrointestinal:

- **Boca:** mala preparació dels aliments (massa cuits o massa crus) i mala dentadura.
- **Estómac:** cal controlar que la secreció d'àcid clorhídric sigui suficient, ja que sinó es pot produir una malabsorció de ferro. També cal controlar la concentració de factor intrínsec (que no sigui molt baixa) ja que una baixa concentració de factor intrínsec implica una malabsorció de vitamina B12.
- **Fetge:** la deficiència de sals biliars dificulta l'absorció de greixos.
- **Pàncrees:** la deficiència delsenzims pancreàtics dificulta la digestió de tots els ali-ments.

- **Intestins:** És important garantir una àmplia superfície absorbentiva un cop els nutrients han estat digerits ja que una superfície d'absorció insuficient comporta una anatomia desordenada i malalties de la mucosa. Cèl·lules amb pocs microvil·li generen femtes amb més nutrients del que es considera normal. A nivell intestinal cal tenir en compte també les infestacions per paràsits.
- Anormalitats **limfàtiques** que dificulen la malabsorció de greixos.

11.2 Secrecions bucats

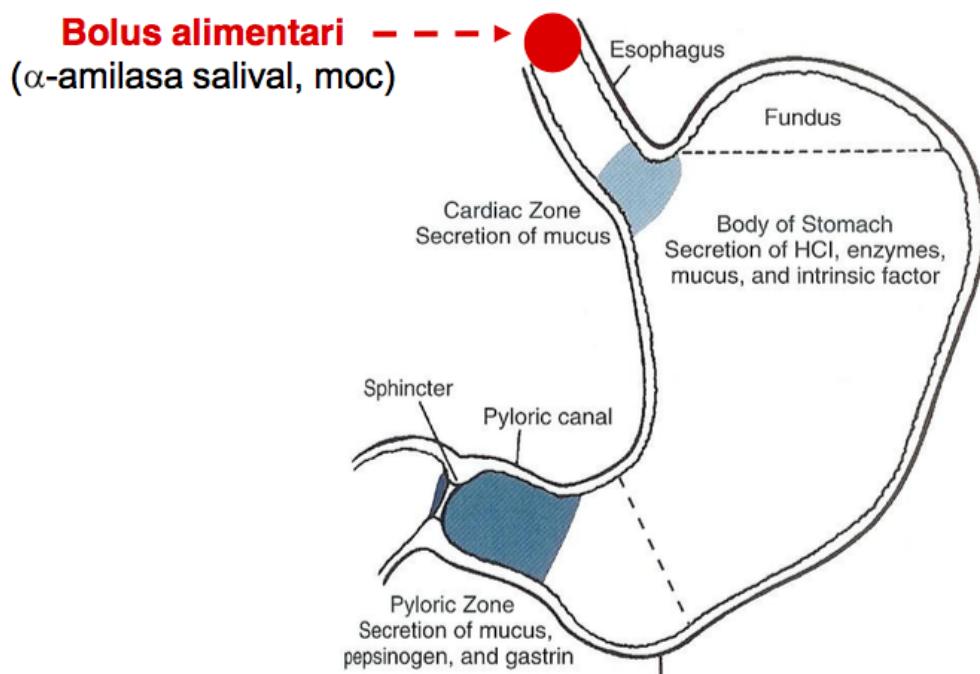
L'inici de la digestió té lloc a la boca gràcies a l'acció de l'amilasa salival i de la lipasa lingual.

L'amilasa salival és una isoforma d'amilasa característica de la paròtide. Recordem que també existeix l'amilasa pancreàtica.

La lipasa lingual és una isoforma de lipasa característica de les papil·les circumval·lades de la llengua que té una elevada especificitat pels àcids grassos de cadena mitja o curta (abundants a la llet). La importància d'aquesta isoforma és molt rellevant en bebèss!

11.3 Secrecions gàstriques

Distingim dues zones: la zona pilòrica amb l'esfínter pilòric (localitzada a l'antrum) i la zona cardíaca amb l'esfínter cardíac (localitzada al cos de l'estómac).



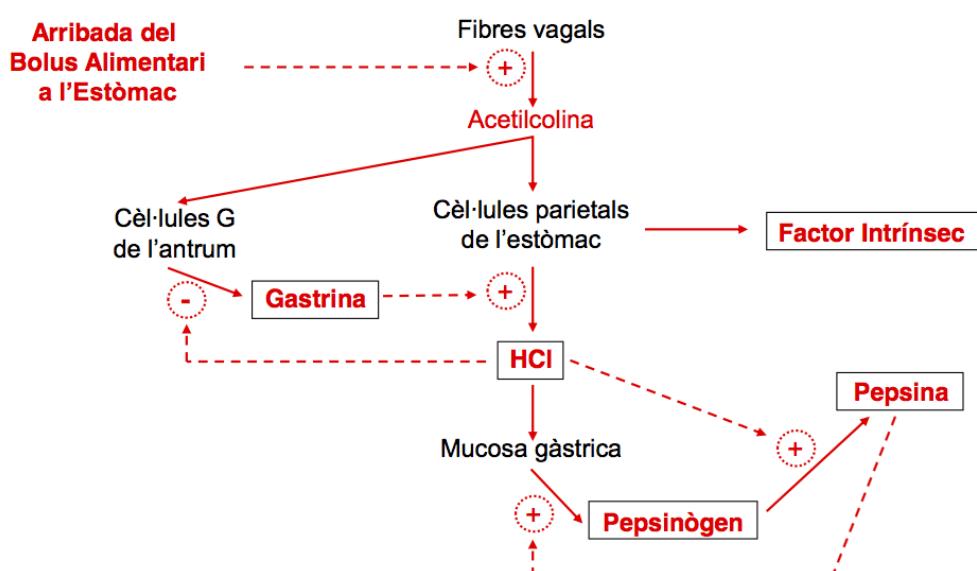
La secreció de moc, pepsinogen i gastrina té lloc a la zona pilòrica. A la zona cardíaca només hi ha secreció de moc.

La mucosa gàstrica conté cèl·lules epiteliais secretores que, en funció de la seva localització, secreten una cosa o una altra.

Anatòmicament distingim tres regions: fundus, cos de l'estòmac i antrum. Al cos de l'estòmac té lloc la secreció d'àcid clorhídic, d'enzims, de moc i del factor intrínsec (important per l'absorció de la vitamina B12).

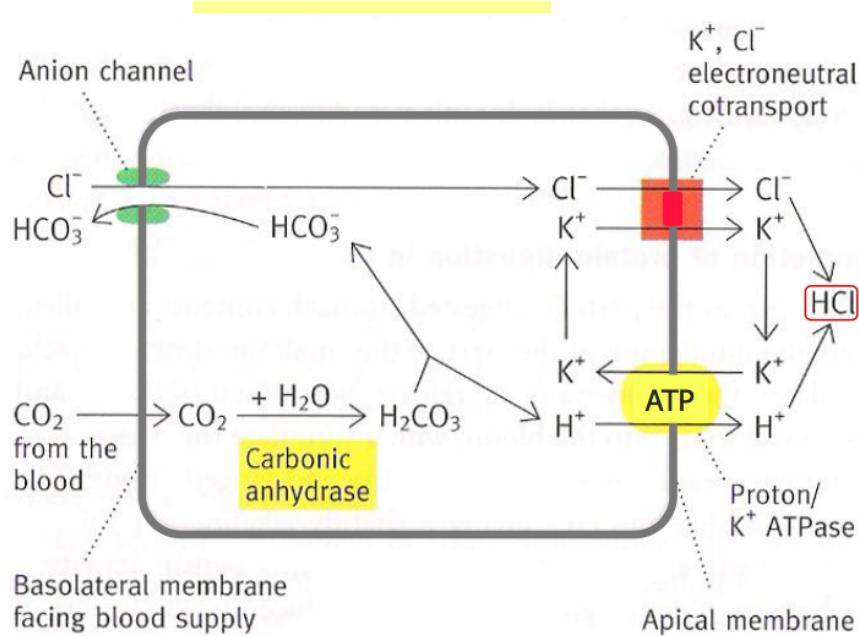
Com s'organitzen les secrecions gàstriques? Hi ha algun tipus de jerarquia?

La secreció gàstrica es troba sota el control neuroendocrí. Les cèl·lules del nervi vague (fibres vagals) detecten l'entrada d'aliment i secreten acetilcolina, que actua sobre les cèl·lules G de l'antrum, les quals secreten gastrina. A més, l'acetilcolina actua sobre les cèl·lules parietals del cos de l'estòmac, les quals secreten àcid clorhídic i factor intrínsec. La secreció d'àcid clorhídic provoca l'acidificació de l'estòmac i l'activació de zimògens proteolítics. Quan el pH és molt àcid, hi ha retroinhibició, per alcalinitzar una mica el medi estomacal.



Hi ha dues etapes en la producció d'àcid clorhídic: una iniciada per l'acetilcolina i una altra mantinguda per la gastrina, ja que la gastrina estimula la secreció d'àcid clorhídic i de pepsinogen (precursor de la pepsina).

L'àcid clorhídic està format per un protó i per un àtom de clor (HCl). Les cèl·lules de l'epiteli gàstric presenten anhidrasa carbònica, que capture CO_2 de la circulació i el transforma en àcid carbònic (H_2CO_3) que ràpidament s'ionitza generant bicarbonat (HCO_3^-) i un protó. El bicarbonat format s'extreuer un sistema antiport que permet, al seu torn, l'entrada d'un àtom de clor. El sistema tancat de potassi permet generar l'àcid clorhídic directament en la llum de l'estòmac.



11.3.1 Alteracions gàstриques

- **ÚLCERES PÈPTIQUES.** Les úlceres pèptiques poden ser gàstриques o duodenals. Les úlceres gàstриques, que tenen lloc a l'estómac, estan produïdes per una hiperplàsia de les cèl·lules G, les quals comencen a produir grans quantitats de gastrina. Les úlceres duodenals, que tenen lloc a la regió inicial de l'intestí prim, són degudes a la presència d'un quimo ric en proteases àcides. Tot i així, la causa principal d'úlceres pèptiques és la infecció per *Helicobacter pylori*, un microorganisme que provoca el debilitament de la mucosa.
- **GASTRITIS.** Consisteix en la inflamació de la mucosa gàstrica. Poden ser degudes a determinats medicaments (ibuprofeno), a un consum excessiu d'alcohol o a una infecció de l'estómac per *Helicobacter pylori*. Aquestes serien les causes més comunes; però també podem trobar altres causes menys comunes com trastorns autoimmunitaris, estrès extrem o infeccions virals.
- **ADENOCARCINOMA D'ESTÓMAC.** Molt agressiu. La detecció precoç permet l'extracció de la part afectada o de tot l'estómac. Existeixen múltiples causes: antecedents familiars, *Helicobacter pylori*, grup sanguini de tipus A, tabaquisme, antecedents d'anèmia perniciosa, antecedents de gastritis atròfica crònica, una condició de disminució de l'àcid gàstric i antecedents d'un pòlip gàstric adenomatós.
- **SÍNDROME DE ZOLLINGER-ELLISON.** Consisteix en una producció excessiva no fisiològica de gastrina. La persona afectada presenta múltiples úlceres gastro-duodenals degudes a la presència d'un gastrinoma en les cèl·lules delta dels illots pancreàtics i del duodè. Hi ha una sobreproducció de gastrina, però aquesta sobreproducció no és deguda a les cèl·lules G, sinó a un tumor productor de gastrina

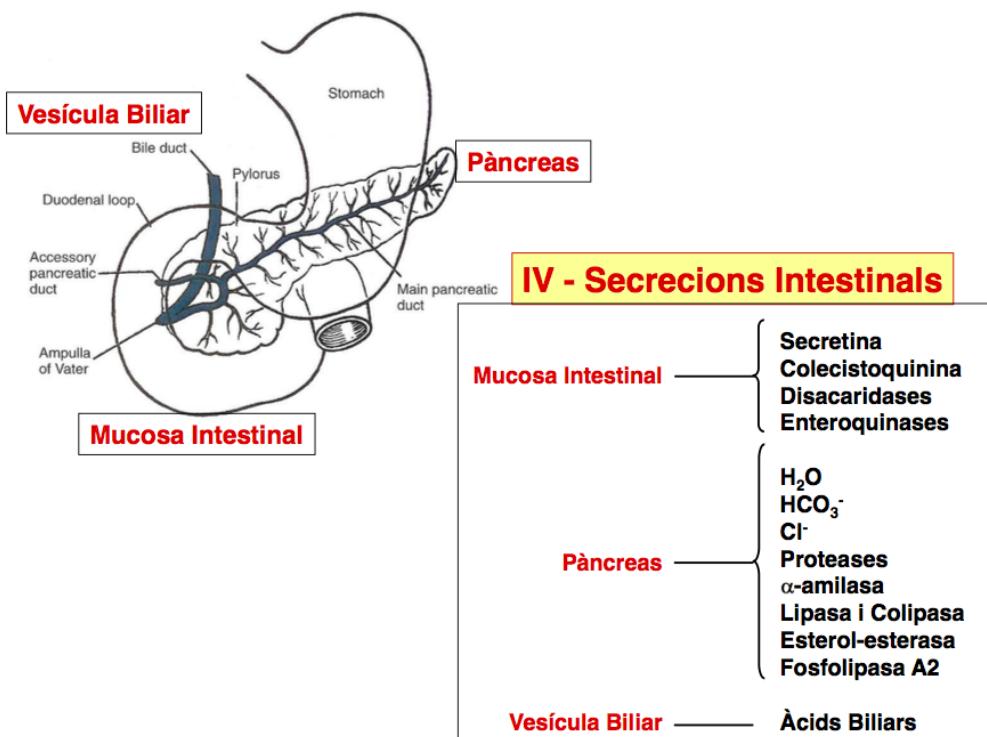
(gastrinoma) amb ubicació ectòpica. La producció excessiva de gastrina ocasiona una sobreproducció d'àcid clorhídic -> dany estomacal -> úlceres.

- **ACLORHÍDRIA.** Producció nul·la o baixa d'àcid clorhídic. Dèficit en la síntesis d'àcid clorhídic. Manca de producció d'altres hormones, pocs enzims digestius i malabsorció generalitzada.
- **ANÈMIA PERNICIOSA.** Manca de secreció del factor intrínsec, produint-se una malabsorció de vitamina B12.

11.3.2 Estudi de la funció gàstrica

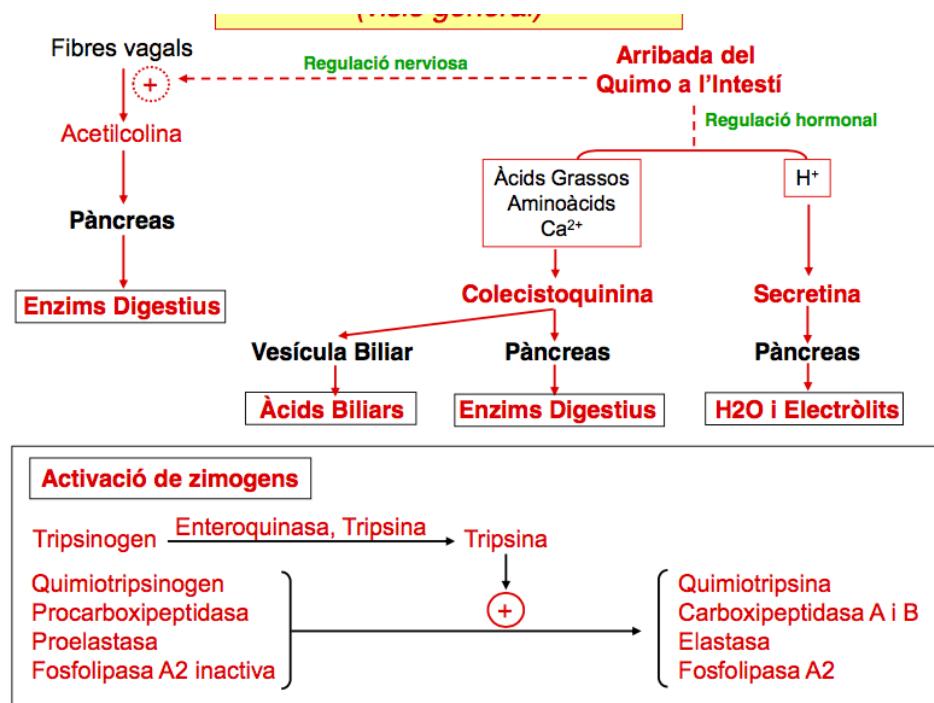
- **SECRECIÓ D'ÀCID.** En primer lloc cal estimular la secreció d'àcid amb la ingestà. Posteriorment, cal intubar al pacient. Per últim: extracció de suc gàstric i titulació de l'acidesa.
- **GASTRINA.** Els nivells de gastrina circulant es mesuren al sèrum o al plasma per immunoassaig (ELISA) ja que acostumen a ser baixos i calen mètodes específics. Podem trobar proves d'estimulació per ingestà proteica i proves d'inhibició per secretina. Interessa veure si els sistemes de feedback negatiu funcionen: la gastrina està regulada negativament per la secretina, hormona de producció duodenal. Quan el quimo arriba al duodè, es produeix secretina que es dirigeix a la sang per tal d'inhibir la secreció de gastrina per part de les cèl·lules G. Significat clínic: si hi ha una hiperproducció de gastrina voldrà dir que hi ha una hiperplàsia de cèl·lules G i que, per tant, la producció de secretina es troba inhibida; per contra, si la secreció de secretina no està inhibida, la producció de gastrina estarà inhibida i tindrem el síndrome de Zollinger-Ellison (producció de gastrina però per part d'un tumor, no per part de les cèl·lules G!!!).
- **FACTOR INTRÍNSEC.** Prova de Schilling que consisteix en l'administració de vitamina B12 radioactiva i en el mostreig posterior de l'orina. Si hi ha radioactivitat en l'orina vol dir que la vitamina B12 s'ha absorbit. Si no hi ha radioactivitat, probablement la vitamina B12 es trobi en femtes i em de sospitar de manca de factor intrínsec (la manca de factor intrínsec cursa amb anèmia).

11.4 Secrecions intestinals



L'enterokinasa, secretada per la mucosa intestinal, és una de les primeres proteases que s'activa per la presència del quim.

Les secrecions pancreàtiques poden ser de dos tipus: secreció d'electròlits i secreció de zimògens. Els electròlits són molt importants ja que permeten neutralitzar els protons del quimo (secreció de bicarbonat, que és un electròlit, per compensar els protons presents al quimo). Aquesta compensació permet crear un pH més adequat pels zimògens pancreàtics, que s'activen en cascada i permeten la formació d'enzims digestius.



La secretina, produïda per la mucosa intestinal, detecta la presència de pH àcid (qui-mo amb una gran càrrega de protons) i actua sobre el pàncrees, activant la secreció d'electròlits i aigua.

La colecistoquinina, produïda per la mucosa intestinal, actua sobre la vesícula biliar provocant la seva contracció i fent que s'alliberin els àcids biliars. A més, actua sobre el pàncrees promovent la secreció d'enzims digestius.

Sobre el pàncrees també existeix un control neuronal regulat per l'acetylcolina, que permet l'alliberament d'enzims digestius.

Per tant, trobem una regulació hormonal i una regulació nerviosa. Com ja hem comentat, l'activació dels zimògens es produeix en cascada. El tripsinogen, zimogen secretat al pàncrees, es converteix en tripsina gràcies a l'enteroquinasa. Al seu torn, l'activació de la tripsina permet l'activació d'altres zimògens.

11.4.1 Estudi de la funció pancreàtica

Les alteracions són:

- **PANCREATITIS AGUDA.** Pot reflectir-se en un increment de glucosa circulant ja que s'està comprometent la secreció d'insulina. En episodis de pancreatitis són normals les injeccions rutinàries d'insulina per tal d'evitar situacions hiperglucèmiques. A més, hi ha problemes d'absorció per manca d'enzims digestius. Hi ha determinades situacions que poden conduir a una pancreatitis aguda: litiasi biliar, alcoholisme i hiperlipèmia, entre d'altres.
- **LITIASI BILIAR.** Consisteix en l'obstrucció del conducte pancreàtic. Si els zimògens acumulats es troben en concentracions elevades, poden arribar a activar-se accidentalment donant lloc a una necrosi cel·lular a la zona.

-
- **PANCREATITIS CRÒNICA.** Si la pancreatitis aguda no millora, sinó que empitjora amb el temps, s'acaba produint un dany permanent.
 - **ADENOCARCINOMA DE PÀNCREES.** La major part dels adenocarcinomes tenen lloc al cap del pàncrees. Això suposa un problema en la majoria dels casos: obturació dels conductes pancreàtic i biliar. L'adenocarcinoma és difícil de detectar en estadis primerencs i, quan la simptomatologia és visible (icterícia, dolor, malabsorció) ja és massa tard (el tumor està metastatitzat). La major part dels pacients moren com a conseqüència de la metàstasis, no pel tumor primari (que en molts casos es pot extirpar).
 - **FIBROSI QUÍSTICA.** Problema en el canal de clor que genera una sobreproducció de moc. Quan la fibrosi quística afecta al pàncrees es parla de MUCOVISCIDOSI: excés de moc al pàncrees que provoca el bloqueig dels conductes pancreàtics, la qual cosa fa incrementar la tripsina i la α ?amilasa en plasma.

Tres marcadors pancreàtics principals:

- Amilasa
- Lipasa
- Tripsina i quimiotripsina

11.4.1.1 Amilasa

L'isoforma d'amilasa majoritària circulant en plasma és la salival (60%). L'altra 40% fa referència a l'amilasa pancreàtica.

L' α ?amilasa hidrolitza enllaços α ?1,4 interns. Necessita que hi hagi com a mínim quatre residus de glucosa de distància a l'extrem per poder tallar.

Aquesta isoforma salival incrementa en plasma per les següents situacions:

- Pancreatitis aguda.
- Parotiditis.
- Fallida renal. El ronyó no filtra correctament -> conseqüència: hi ha acumulació de productes, com l' α ? amilasa, que en situació normal hauria de ser excretada per orina.
- Malalties renals o intestinals.
- Macroamilasèmia. Quadre no patològic en què hi ha un increment d' α ?amilasa. En circulació, es produeix l'agregació d'enzims formant macroagregats (això es veu facilitat per la presència d'anticossos). Els macroagregats d' α ?amilasa no seran filtrables per l'orina. Es creu que és un procés dinàmic en què hi ha creació i destrucció continua d'aquestes macroamilases.

La determinació de l? α ?amilasa es pot duu a terme mitjançant mètodes colorimètrics. Consisteixen en agafar una mostra de sang del pacient, afegir un substrat d?aquest enzim i mirar la seva capacitat de degradació: si el substrat es degrada, hi ha ? ? amilasa en la mostra del pacient. Cal considerar que en la mostra de sang del pacient poden haver-hi altres enzims capaços de degradar aquest substrat, de manera que es bloquegen els extrems per tal d?assegurar-nos que només actua l? α -amilasa, ja que recordem que aquest enzim només hidrolitza enllaços interns! A més, en un dels extrems hi ha un residu (4?aminofenol) que quan s?allibera dóna coloració groguenca: com més residu s?alliberi, més intensitat de color groc. La intensitat de color groc serà proporcional a la quantitat d? α ?amilasa present a la mostra.

És a dir, primer actua l? α -amilasa tallant residus de glucosa interns i, posteriorment, actuen l?amiloglucosidasa i l? α ? glucosidasa que permeten l?alliberament del 4-aminofenol (i que només són efectives si hi ha amilasa a la mostra) -> coloració groguenca.

Existeixen més de 100 mètodes que poden arribar a ser útils per a la determinació de l? α ? amilasa: mètode de referència (polímer sintètic) i mètode CNP (cloronitrofenol).

Normalment la reacció es fa en dos tubs: en el primer tub es fa la reacció completa on actuen totes les isoformes de l?amilasa (salival i pancreàtica) i en el segon tub s?afegeixen anticossos contra una de les isoformes, per exemple, contra la salival. Així es pot saber quina és la contribució de cada isoforma.

L?amilasa és un enzim que dispara molt ràpid i que normalitza els seus nivells també molt ràpid, la qual cosa no vol dir que la malaltia hagi desaparegut. La lipasa, en canvi, dispara més tard, però es manté durant tota la malaltia.

11.4.1.2 Lipasa

La lipasa es tracta del marcador més específic i fiable de la funció pancreàtica ja que es manté durant tot el procés inflamatori, la qual cosa permet fer un bon seguiment de la malaltia. Aquest enzim incrementa tant en la pancreatitis aguda com en la pancreatitis crònica; a més d?augmentar en casos d?obstrucció biliar.

La lipasa hidrolitza triacilglicèrids tallant els enllaços existents entre els àcids grassos i el glicerol en posició 1 i 3, però no en posició 2. Si volem mesurar l?activitat enzimàtica cal tenir en compte les diverses isoformes que hi ha: una manera de ?desfer-nos? de la lipasa lingual és afegir un substrat que només pugui ser processat per la lipasa pancreàtica (la lipasa lingual únicament pot hidrolitzar àcids grassos de cadena mitja i curta, per tant, si s?afegeixen àcids grassos de cadena llarga, aquests només podran ser hidrolitzats per la lipasa pancreàtica).

La determinació de la lipasa es pot duu a terme mitjançant dos mètodes: mètode turbidimètric (poc utilitzat, suspensió en trioleïna) i mètode colorimètric (addició d'un substrat X).

Un exemple de mètode colorimètric, en el qual s?afegeix 1,2 ? diglicèrid com a substrat. Aquesta molècula és processada per la lipasa pancreàtica. Això genera una cascada de reaccions que permeten l?obtenció d'un cromogen (quinonadiimina) que llegeix a una

determinada longitud d'ona. Els enzims que intervenen en aquesta cascada els afegeix el propi investigador.

L'altre mètode, menys utilitzat, és el mètode turbidimètric que consisteix en fer una suspensió de trioleïna: la trioleïna disminueix el seu grau de terbolesa a mesura que actua la lipasa pancreàtica (per tant, en aquesta tècnica es mesura el grau de terbolesa).

11.4.1.3 Tripsina

La tripsina es tracta d'un enzim que s'utilitza com a marcador de pancreatitis crònica i en casos de fibrosi quística. Trobem nivells baixos de tripsina en femtes i nivells alts en sang. La fibrosi quística produeix secreció mucosa (mucoviscidosis) que obtura els conductes pancreàtics. Com a conseqüència, la tripsina viatja en sang i per això els nivells en aquest sistema són més elevats.

La determinació de la tripsina es pot duu a terme mitjançant tres tipus metodològics: immunoassaig per sang (RIA, ELISA), X-ray film test (digestió de gelatina) i colorimetria (cleavage de substrats sintètics específics).

L'X-ray film test és una tècnica que es basa en la capacitat que té aquesta proteasa de digerir una capa de gelatina: creació d'un halo al voltant de la mostra del pacient; com més gran sigui el diàmetre de l'halo, major capacitat tripsíntica tindrà la mostra.

També es pot utilitzar un mètode colorimètric que consisteix en afegir un substrat, la digestió del qual dona lloc a un cromogen que permet lectura d'absorbància.

Tant la tripsina com la quimotripsina presenten una secreció baixa, per tant, els seus nivells sempre són minoritaris. Per aquest motiu s'utilitzen, en ambdós casos, tècniques d'immunoassaig.

11.4.1.4 Quimiotripsina

La quimotripsina es tracta d'un enzim que s'utilitza per la detecció primerenca de la fibrosi quística en nounats, ja que la seva presència es veu incrementada en la sang del cordó umbilical. Els nivells de quimotripsina en femtes són baixos (igual que els de tripsina). A més, pot ser utilitzada com a marcador de pancreatitis aguda.

La determinació de la quimotripsina es pot duu a terme mitjançant dos tipus metodològics: immunoassaig per sang (RIA, ELISA) i colorimetria (cleavage de substrats sintètics específics i nivells d'excreció de productes per orina).

Es poden fer assajos in vivo. Administració oral d'un substrat conegut: si la quimotripsina processa aquest substrat es poden detectar els seus productes en orina. Això seria un exemple de mètode colorimètric.

11.4.1.5 Proves funcionals

També es poden fer proves funcionals per tal d'estudiar la funció pancreàtica. Les proves funcionals poden ser invasives o no invasives.

- **Proves funcional invasives:** Impliquen intubació nasoduodenal, ja que es volen recollir les secrecions del duodè. Com ja sabem les secrecions pancreàtiques són

estimulades a nivell hormonal i a nivell neuronal. Si s'estimulen aquestes secrecions, es pot valorar quina és la seva qualitat i quina és la seva quantitat. Però, com es poden estimular les secrecions pancreàtiques? Mitjançant el test de Lundh i mitjançant l'administració intravenosa de secretina-colecistoquinina. El test de Lundh consisteix en realitzar una ingesta proteica (batut de proteïnes) o en la infusió duodenal d'aminoàcids aprofitant la intubació. Quins paràmetres s'analitzen? El volum total de les suc pancreàtic (és considera normal quan és superior a 150 ml/h), les activitats enzimàtiques típiques del pàncrees (com la de la lipasa) i el grau de tamponament mitjançant la valoració de la quantitat de bicarbonat (HCO_3^-) que hi hagi.

- **Proves funcional no invasives:** No requereixen intubació. Es poden realitzar mesures en femtes i mesures en orina, plasma o respiració. Respecte les mesures en femtes. Es pot fer una administració controlada d'aliments (nutrients controlats) i mirar en femta l'excés de glúcids, lípids i proteïnes. Això dóna una idea del grau d'eficiència digestiva. També es poden utilitzar els enzims pancreàtics en femta: si la presència d'aquests enzims és baixa o nul·la voldrà dir que el pàncrees no els està secretant correctament. Respecte les mesures en orina, plasma o respiració.

En el cas de la quimotripsina: aquest enzim processa un substrat (N-benzolil-L-tirosil-p-aminobenzoic) que dóna lloc a PABA, producte detectable en orina.

En el cas de la colesterol esterasa (enzim pancreàtic): processament d'un substrat sintètic conegut que permet detectar fluoresceïna en orina.

11.4.2 Estudi de la funció intestinal

Les alteracions són:

- **DIARREA.** Una malabsorció generalitzada pot ser deguda a una diarrea.
- **MALALTIA CELÍACA.** La gent al·lèrgica al gluten, si en consumeix té problemes greus per una destrucció de la mucosa intestinal. Hi ha una disminució de l'absorció i afecta a tot l'intestí prim.
- **MALALTIA DE CROHN.** És tracta d'una malaltia inflamatòria que pot afectar a qualsevol part del tracte gastrointestinal (generalment a l'ílium i al colon dret). No es coneixen bé les causes.
- **COLITIS ULCEROSA.** És tracta, també, d'una malaltia inflamatòria amb una incidència molt focalitzada al còlon. Consisteix en una lesió en el colon que pot arribar a provocar una úlcera. No es coneixen bé les causes.
- **FIBROSI QUISTICA.** Pot afectar a tot el tracte gastrointestinal. Els canals de clor presents a les cèl·lules s'encarreguen d'extreure clor. En aquesta malaltia, els canals de clor no funcionen i es produeix una acumulació de mucositat per la baixa sortida de clor.

-
- **ADENOCARCINOMA DE COLON I ADENOCARCINOMA RECTAL.** És tracta de processos tumorals.

11.4.2.1 Magnituds bioquímiques i proves funcionals

11.4.2.1.1 Absorció de glúcids

La presència de femtes toves i flatulències és indicatiu d'una malabsorció glucídica.

L'absorció de monosacàrids és molt complexa. Generalment, es fa el test de la xilosa, pentosa no metabolitzable (absorbible per l'intestí) que actua com a marcador de l'absorció de monosacàrids. L'administració d'una quantitat controlada de xilosa (5 grams) permet determinar possibles problemes d'absorció a nivell de monosacàrids, tant en sang (1h; > 1?3 mM) com en orina (5h; > 2g/5h). L'administració controlada de xilosa permet anar mesurant quan apareix la pentosa en orina o en sang i, si no apareix xilosa o si n'apareix, però en poca quantitat, hi ha un problema de malabsorció.

Tot i això, els problemes d'absorció de glúcids fan normalment referència a les disacàridases (tolerància a disacàrids). En aquest cas es duu a terme l'administració de lactosa (disacàrid processat per la lactasa que dóna lloc a glucosa i galactosa). Al cap d'una hora es mira el pic de glucosa i galactosa en sang (els productes del processament acabat de comentar).

Per últim, també es pot valorar l'hidrogen respirat/exhalat. Hi ha una relació inversa entre l'absorció de glúcids i la producció d'hidrogen: com més glúcids disponibles pels bacteris intestinals, més hidrogen s'exhala.

11.4.2.1.2 Absorció de proteïnes/aminoàcids

Difícil d'avaluar a partir dels nivells en sang ja que hi ha múltiples sistemes de transport, l'epiteli intestinal té una activitat metabòlica elevada, es pot produir una transformació tissular, etc.

Per aquest motiu s'acostumen a fer ànalisis d'orina. Similitud entre els epitelis intestinal i renal: si hiha un problema amb un transportador d'aminoàcids a nivell intestinal (defecte de transportador), com que l'epiteli renal s'hi assembla molt, també trobem el defecte en aquest nivell. Per tant, un problema en un transportador intestinal indica també un problema a nivell d'epiteli renal. Com a conseqüència, trobarem aminoàcids en orina quan en realitat aquests no haurien d'estar en aquest sistema.

11.4.2.1.3 Absorció de lípids

Les femtes són toves però greixoses; suren per un augment del contingut lipídic. Això es coneix amb el nom d'esteatorrea.

Es pot fer un test d'absorció de lípids:

1. Administració de negre Sudan (colorant).
2. Administració posterior d'una quantitat controlada de lípids (100 grams).

3. Administració de negre Sudan (colorant).

El negre Sudan actua com indicador de quan comença i quan acaba la ingestió de lípids.

Les femtes es comencen a recollir quan surten marcades (presència de negre Sudan). La recol·lecta s'atura quan deixen de sortir marcades. És en aquest període quan les femtes tenen lípids. Normalment els lípids apareixen en femtes al cap de 48 hores. Si el contingut lipídic en femtes és superior a 6 grams -> problema en la seva absorció.

Hi ha altres maneres d'analitzar la presència de lípids en femtes:

- Kits per TAG, glicerol i àcids grassos (són molt cars).
- Extracció de les femtes amb dissolvents orgànics (alcohol) i gravimetria després de l'evaporació del solvent. És a dir, la diferència de pes serà el contingut de lípids presents a la mostra (gravimetria).
- Marcatge radioactiu del diòxid de carboni aspirat.
- Colorant lipòfil (mètode qualitatiu).

Sempre que hi hagi un problema de malabsorció, hi ha canvis en les femtes. S'observa la producció d'indol i catecol per una malabsorció proteica (femtes molt pudentes perquè els bacteris fermenten les proteïnes produint aquests elements putrefactes). Si la malabsorció és lipídica observem femtes greixoses.

12. Alteracions del metabolisme de nucleòtids

12.1 Recanvi de nucleòtids

Les bases nitrogenades que formen els àcids nucleics corresponents a dos tipus d'estructures heterocícliques:

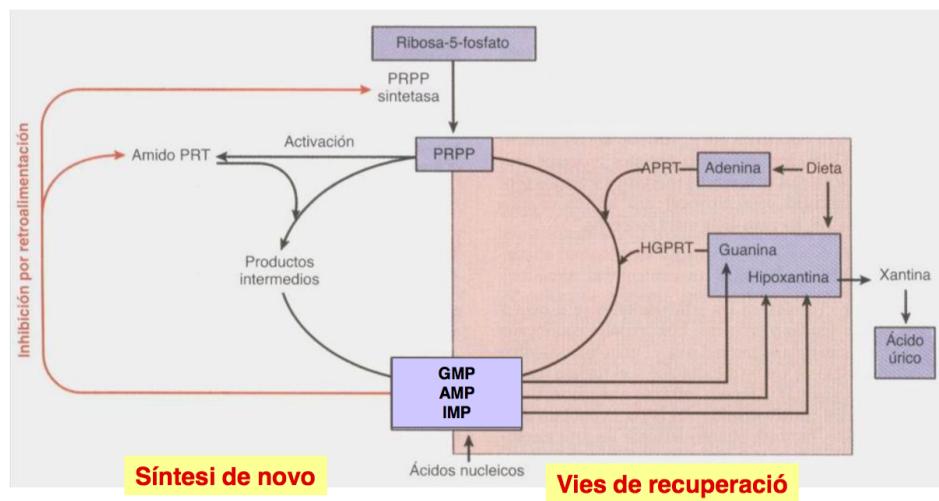
- Purines: adenina, guanina, hipoxantina
- Pirimidines: citosina, timina i uracil

La unió d'aquestes bases a una molècula de ribosa produueix els seus corresponents nucleòtids: adenosina, guanosina i inosina per una banda, i citidina, timidina i uridina per l'altra. En cas de que el sucre unit sigui una desoxiribosa es formaran els corresponents desoxinucleòtids. Al fosforilar-se aquests nucleòsids es formen els nucleòtids. Els nucleòtids formen part essencial de la vida, ja que son els components principals de l'ADN i ARN, participen en nombroses reaccions del metabolisme intermig, en la senyalització cel·lular i com a sistema d'intercanvi d'energia. Els nucleòtids de ribosa son els monòmers que constitueixen l'ARN, mentre que els desoxinucleòtids son els monòmers de l'ADN.

Els derivats nucleotídics difosfat i trifosfat son de gran importància com a magatzem energètic (ATP) i de transmissió de senyals (GTP).

12.1.1 Vies de recuperació i síntesi *de novo*

El metabolisme de les purines és especialment complexe, ja que a més de les vies de síntesi i degradació, també existeixen cicles d'interconversió i de recuperació. Tots els nucleòtids purínics comparteixen els mateixos passos de síntesi fins la formació de inosina monofosfat (IMP) per un procés complex que requereix energia. De forma molt resumida, la ribosa-5P s'activa per l'ATP i es converteix en 5-fosforribosil-pirofosfat (PRPP). Aquest últim sucre conté 3 fosfats i és el punt comú de la via de síntesi i de recuperació. Mentre hi hagi PRPP i es puguin anar recuperant bases nitrogenades, la via de recuperació sempre estarà activa. L'enzim PRPP-amidotransferasa catalitza la segona reacció d'aquesta via metabòlica, que és la primera irreversible. En ella, transfereix un grup amino de la glutamina al PRPP per formar 5-fosforribosilamina. L'activitat d'aquest enzim està regulada per retroalimentació negativa pels nucleòtids purícs (AMP, IMP, GMP). L'enzim PRPP-amidotransferasa pot trobar-se en dues formes: agregada i inactiva o desagregada i activa. El PRPP afavoreix la forma activa, mentre que els nucleòtids d'adenina i guanina afavoreixen la forma inactiva. Posteriorment, a la fosforribosilamina formada se li aniran afegint successius grups fins a generar l'IMP, el primer nucleòtid púric. El IMP no s'acumula dins la cèl·lula, sinó que a partir d'ell es formen el AMP i GMP i a partir d'aquests, els seus respectius nucleòtids di- i trifosfats.



12.1.2 Formació d'àcid úric

El catabolisme de les nucleòtids púrics l'inicien elsenzims 5'-nucleotidases, que eliminan el grup fosfat i alliberen els corresponents nucleòsids. Posteriorment, l'adenosina produceix inosina per acció de la adenosina-desaminasa (ADA). Tant aquesta inosina com la guanosina són substrats de l'enzim purina-nucleòtid-fosforilasa, que elimina la ribosa i produceix les bases lliures hipoxantina i guanina. Aquestes, al seu torn, es converteixen en xantina per acció de les xantina-oxidasa i guanasa respectivament. Finalment, la xantina es converteix en àcid úric per acció de la xantina-oxidasa. L'àcid úric és el producte final d'eliminació del catabolisme de les purines en humans. Altres mamífers tenen l'enzim uricasa, que degrada l'àcid úric a alantoína, un compost més soluble.

A part de la síntesi, les bases púriques procedents tant de la dieta com del catabolisme es poden recuperar per la síntesi de nucleòtids a través d'una via de recuperació. Aquesta via és molt més senzilla i menys costosa energèticament que la via de síntesi de novo. Consisteix en la incorporació de ribosa-P a les diferents bàsiques púriques per produir les corresponents nucleòtids monofosfat. En aquestes relacions, el PRPP és el donador de la ribosa-P i s'allibera com pirofosfat. En el cas de l'adenina, el seu pas a AMP està catalitzat per l'adenina-fosforribosil-transferasa (APRT).



En el cas de la hipoxantina i la guanina, l'enzim encarregat és la hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferasa (HGPRT):



Quantitativament, és més important la via de recuperació de la HGPRT que la de la APRT. L'adenosina també és pot recuperar per l'adenosina-quinasa.



La producció d'àcid úric és el mecanisme pel qual l'organisme elimina el nitrogen procedent de les bases nitrogenades. La producció diària d'àcid úric és de 4,5 mmol; el 60%

és d'origen endogen i el 40% és exogen. Degut a la ràpida renovació, les modificacions en la seva producció o eliminació es reflecteixen de forma ràpida en la seva concentració sèrica.

L'urat és menys soluble que la xantina i la hipoxantina. Tot i això, la concentració d'urat circulant està pròxima al seu límit de solubilitat. Val a dir que la solubilitat de l'urat augmenta amb la temperatura. L'elevada concentració d'àcid úric ha tingut avantatges a nivell evolutiu pel seu alt poder antioxidant (evita peroxidació de lípids i proteïnes i l'oxidació de LDL), comparable a l'àcid ascòrbic.

L'àcid úric es troba en forma ionitzada a pH fisiològic (ió urat). L'iò urat pot acoblar-se amb sodi o calci i formar urat sòdic o urat càlcic. Aquestes sals tenen molt poca solubilitat i precipiten fàcilment, sobretot en llocs on la temperatura corporal és menor com a les extremitats i al líquid sinovial de les articulacions. Això provoca inflamació (artritis) que acabarà formant tofes. Alguns fàrmacs, com l'allopurinol inhibeixen la formació d'àcid úric inhibit de manera competitiva la xantina oxidasa. Si inhibim la xantina oxidasa, incrementaran els nivells de GMP i AMP. Per tant, la inhibició és a nivell de les dos vies, tant la de síntesi com la de recuperació.

12.1.3 Eliminació d'àcid úric

El recanvi de nucleòtids és constants i la precipitació en forma de cristalls dificulta la seva eliminació.

- **Via primària:** 75% s'elimina per l'orina. L'eliminació renal d'àcid úric és un procés complex on el balanç final és l'eliminació del 10% de l'urat filtrat al glomèrul
- **Via secundària:** 25% passa al tracte gastrointestinal, on els bacteris de la flora intestinal el converteixen en CO_2 i NH_3 gràcies a l'acció de l'uricasa.

12.2 Hiperuricèmia

La hiperuricèmia es defineix com l'existència de concentracions elevades d'urat en sang. Aquesta situació és bastant freqüent, tot i que la majoria dels individus son asimptomàtics. No obstant, alguns poden desenvolupar gota o alteracions renals (còlics nefrítics). En nens, la hiperuricèmia provoca retardament mental.

El desequilibri d'àcid úric és fàcil perquè:

- Excés de producció d'àcid úric
- Baixa excreció renal

La majoria dels casos son d'hiperglucèmia primaria, tot i que generalment hi ha una combinació de factors genètics i ambientals. Diverses alteracions enzimàtiques provoquen una major disponibilitat de PRPP i un increment del recanvi de purines, tal i com passa amb el déficit de l'enzim HGPRT (síndrome de Lesch-Nyhan) o de la glucosa-6-fosfatasa (malaltia de von Gierke). En el cas d'una glicogènesi de tipus 1, com que no es

pot desfosforilar la glucosa, es pot utilitzar en altres vies com és el cas de la via de les pentoses fosfat.

La síndrome de Lesch-Nyhan (SLN), també coneguda com la ?gota juvenil? és una malaltia hereditària poc freqüent causada per una deficiència total de l'enzim hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa (HPRT), produïda per mutacions al gen HPRT situat al cromosoma X. Com que s'hereta per herència recessiva, és més freqüent en homes. La manca de HPRT provoca l'acumulació d'àcid úric als fluids corporals i dóna lloc a hiperuricèmia i a hiperuricosúria. Això condueix a problemes com la gota severa i alteracions renals, mal control dels músculs i endarreriment mental moderat. Aquestes complicacions normalment apareixen en el primer any de vida. Un tret característic és un comportament d'automutilació, caracteritzat per mossegades als dits i llavis i que comença al segon any de vida. Els símptomes neuronals inclouen ganyotes facials, retorciments involuntaris i moviments repetitius de braços i cames, semblants als d'aquells que pateixen la malaltia de Huntington. Com que la manca d'HPRT causa un mal ús de vitamina B12, alguns poden desenvolupar anèmia megaloblàstica. Malgrat no haver-hi cura, alguns pacients arriben a l'adultesa i amb tractaments experimentals s'ha arribat a alleujar alguns símptomes.

La detecció inclou els nivells sèrics d'àcid úric elevats i la baixa activitat enzimàtica en fibroblasts o eritròcits que finalment es comproven amb un ànalisi genètic.

A part de les causes primàries, l'augment de la producció d'urat pot ser conseqüència secundaria d'altres trastorns (hiperuricèmia secundària):

1. Elevat recanvi d'ADN: casos d'alta proliferació cel·lular com en alguns tumors i síndromes mieloproliferatius. També quan hi ha una gran destrucció cel·lular, com en els tractaments de quimioteràpia, es produeix un excessiu catabolisme de les purines i augmenta la producció d'urat.
2. La ingestió d'alcohol augmenta la degradació d'ATP a urat i s'acumulen els àcids orgànics que interfereixen en l'excreció d'urat, ja que competeixen amb aquest pel transportador renal.
3. Un excés de purines a la dieta o de vitamina B12 provoca també un augment de la producció d'urat.

En els casos descrits anteriorment, la hiperuricèmia està acompanyada d'una elevada eliminació d'urat per l'orina. No obstant, el principal mecanisme causant de la hiperuricèmia és la reducció de l'eliminació d'urat per un descens en la seva excreció tubular. Es considera hipouricosúria una eliminació diària d'urat inferior a 1,5 mmol. En la majoria dels casos, aquest descens de l'eliminació és secundari a altres trastorns com:

- Insuficiència renal
- Ingestió d'aliments que produeixen la retenció d'urat: salcinats, diurètic, furosemida, laxants

- Deshidratació o diabetis insípida: ja que la hormona antidiürètica (ADH) augmenta l'eliminació d'urat en orina
- Cetoacidosi diabètics, acidosi làctica o altres acidèmies orgàniques que dificulten l'eliminació d'urat ja que interfereixen en la seva excreció tubular. L'àcid úric que hauria de ser expulsat per l'orina en un 6-12% no s'expulsarà perquè es prioritzarà la sortida d'altres protòns. Tenim una capacitat limitada per acidificar l'orina. Es generarà una hiperuricèmia intermitent fins que es recupera l'acidosis metabòlica.

Alteracions enzimàtiques que produeixen major síntesi de novo de purines	Dèficit HGPRT Dèficit glucosa-6-fosfatasa Dèficit aldolasa Alta activitat de PRPP-sintetasa Alta activitat de glutatí-reductasa
Elevat catabolisme de purines	Gran proliferació cel·lular (p.e tumors) Gran destrucció cel·lular (p.e quimioteràpia o radioteràpia)
Major eliminació d'àcid úric	Insuficiència renal Àcids orgànics (lactats i altres) Fàrmacs (diürètics, salcinats)

La gota és una malaltia metabòlica freqüent en adults, mentre que en nens es un trastorn infreqüent i pot associar-se a una alteració enzimàtica. La gota té un component genètic i es molt més freqüent en homes que en dones. Tanmateix, està afavorida per determinats hàbits de vida, com el sedentarisme i dietes riques en greixos i alcohol.

La gota es caracteritza per la precipitació de cristalls d'urat monosòdic als teixits. Aquest procés es el resultat de la sobresaturació d'urat en els fluids corporals i per tant, està associat a una hiperuricèmia. Més del 98% dels malalts de gota tenen hiperuricèmia. Normalment, els dipòsits de cristalls d'urat monosòdic, anomenats tofes, es produeixen al líquid sinovial de les articulacions.

12.2.1 Detecció d'àcid úric

L'urat es determina en sèrum, plasma o orina. A l'orina pot precipitar, especialment si es refreda, per la qual cosa és necessari solubilitzar-lo abans de la determinació mitjançant l'adició de medi alcalí NaOH. La quantificació d'urat es pot fer per mètodes químics o enzimàtics. Els mètodes enzimàtics son els més utilitzats i es basen en l'utilització de l'enzim uricasa, que catalitza l'oxidació d'urat a alantoína amb alliberació d'aigua oxigenada. La reacció es pot seguir acoblant una segona reacció amb la peroxidada i un acceptor de protòns que reacció amb l'H₂O₂ per formar un complex cromogen de fàcil detecció espectrofotomètrica. Aquest mètode és el més utilitzat i es troba disponible en auto-analitzadors.



El significat diagnòstic és el següent:

- Insuficiència renal (alt en sèrum, baix en orina)

-
- Excés de producció (dieta rica en carn, càncer, malalties genètiques)
 - Indicador no específic de la filtració glomerular (Es va descartat com a indicador glomerular perquè té un processat renal molt complexe)

13. Funció tiroïdal

13.1 Regulació de la unció tiroïdal

La tiroides, conté les paratiroides que són endocrinològicament molt diferents. Estan encarregades del control del Ca^{2+} i no estan sotmeses a la jerarquia hipotàlem-hipòfisi (Hipòfisi també es pot dir pituïtària anterior).

La resta sí estan sota aquest eix.

La tiroides ve regulada per les secrecions hipotalàmiques. En concret l'hipotàlem secreta TRH (*Thyroid Releasing Hormone*)

En resposta, la hipòfisi deixa anar la TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*). La TSH va a tiroides i dóna lloc a la producció de T4 i T3 que són les hormones tiroidals.

Quan s'alliberen T3 i T4 hi ha un feedback negatiu per controlar la secreció a nivell de pituïtària i de hipotàlem. A més, hi ha altres hormones com la somatostatina que també fan d'efectors negatius.

La T4 també es coneix com a tiroxina, i la T3 com a triiode tironina. TRH i TSH a nivell clínic s'anomenen tiroliberina i tirotropina respectivament.

Les hormones tiroidals essencialment mantenen la taxa metabòlica bassal. La mante- nen perquè activen processos oxidatius: augmenten el catabolisme energètic, augmenten el catabolisme lipídic.

13.1.1 Síntesi d'hormones tiroïdals

Es produeixen a la tiroides, que es una glàndula amb organització fol·licular. Quan par- lem de fol·licle sempre fem referència a diferents espais. Dins el fol·licle tenim la llum, i la part més exterior que és la que esta en contacte amb la sang.

La cell tiroidal té una capacitat elevada de produir tiroglobulina (TG), la qual és molt rica en tirosines. Això és molt important perquè les hormones tiroidals són tirosines modificades.

Sobre la TG succeeix el procés de iodació de les seves tirosines + fusió d'aquestes tirosines iodades. Per a això, clar, necessitem iode (la manca de iode donaria lloc a hipotiroidisme).

El iode ve de dieta i de reciclatge. Entra per una bomba de iodur dins la cell fol·licular i s'incorpora a la TG a través d'un enzim anomenat TPO (tiroperoxidasa). Aquesta activitat organifica el iode i incorpora el iodur a l'estruatura de les tirosines.

Cada anell de tirosina pot incorporar fins a 2 iodes. Si s'incorpora 1, rep el nom de monoiodotironina. Si ha incorporat els 2 iodes, tinc una diiodotironina. Aquests anells es poden fusionar entre ells. Si s'ajunten dos di-iodo, tindre una tetraiodotironina que serà tiroxina quan la talli i l'alliberi. I si s'ajunta una monoiodo i una di iodo, genererà el precursor de la T3.

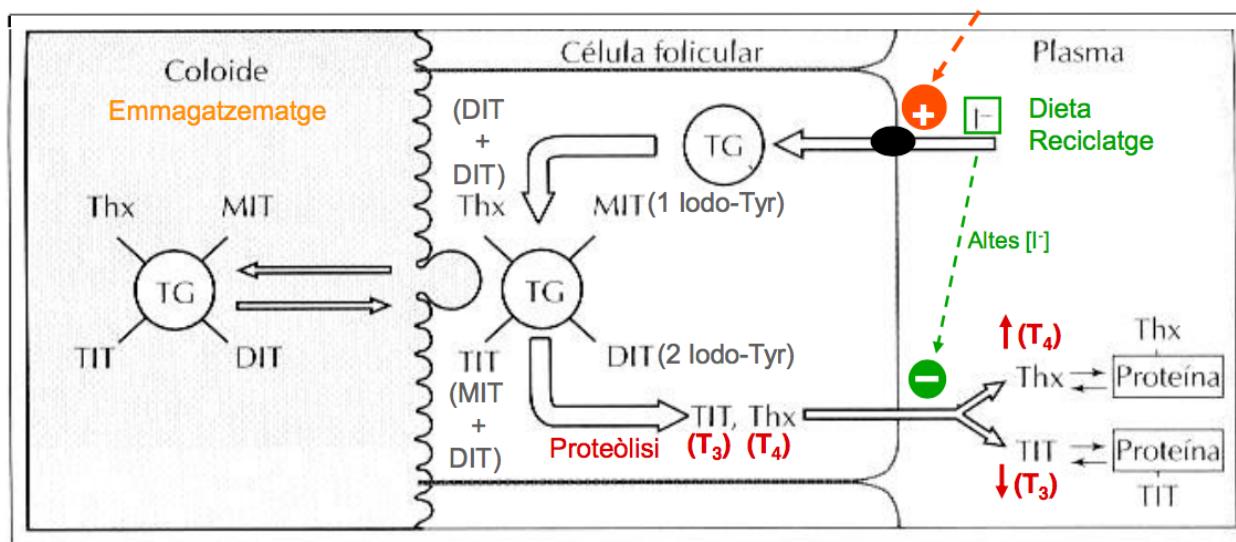


Figura 59.1 Síntesis de hormonas tiroideas: TG = tiroglobulina; Thx = tiroxina; TIT = triiodotironina; DIT = diiodotironina; MIT = monoiodotironina; I⁻ = ioduro. ● = bomba de iodur

Les diiodos i les monoiodo tironines les emmagatzemo al col·loide. Per tant, hi ha un 'desfase' entre el moment en que la glàndula s'apaga i el moment que manifesto símptomes, perquè tinc aquest magatzem que les alliberarà durant un temps més.

Quan tinc necessitat d'hormona, s'activa tant la via de síntesi com la d'alliberació de les emmagatzemades. Per alliberar-les, les he de proteolitzar (tallar). De manera normal, allibero molta T4 i poca T3, però la biològicament activa és la T3.

13.1.2 Transport per sèrum

El 99.97% de T4 i el 99.70% de T3 està unida a proteïnes, viatjant per la sang. Aquesta unió es produeix principalment (70%) amb la Thyroid BP o Thyroid BG. Podem decidir tenir més hormona lligada o menys segons els nivells d'aquesta proteïna (es sintetitza al fetge).

A més, un 5% viatja unida a prealbúmina i un 25% a albúmina que també venen del fetge. Per tant, qualsevol mecanisme que alteri la producció hepàtica d'aquestes proteïnes, crearà un desequilibri en la quantitat d'hormones tiroïdals que viatgen lligades. Per exemple, la TBG es produeix més en presència d'estòrgens, i per tant, durant la gestació, tindrem menys hormones tiroïdals, afavorint un estat pseudohipotiroidismo.

$$[T_4] \text{ sèrum} = 5,5 - 12,5 \mu\text{g}/100\text{mL} (72 - 163 \text{ nM})$$

$$[T_3] \text{ sèrum} = 100 - 200 \text{ ng}/100\text{mL} (1,5 - 3,4 \text{ nM})$$

$$[T_4] \text{ sèrum lliure} = 1,5 \text{ pM}$$

$$[T_3] \text{ sèrum lliure} = 5,0 \text{ pM} \text{ (biològicament activa)}$$

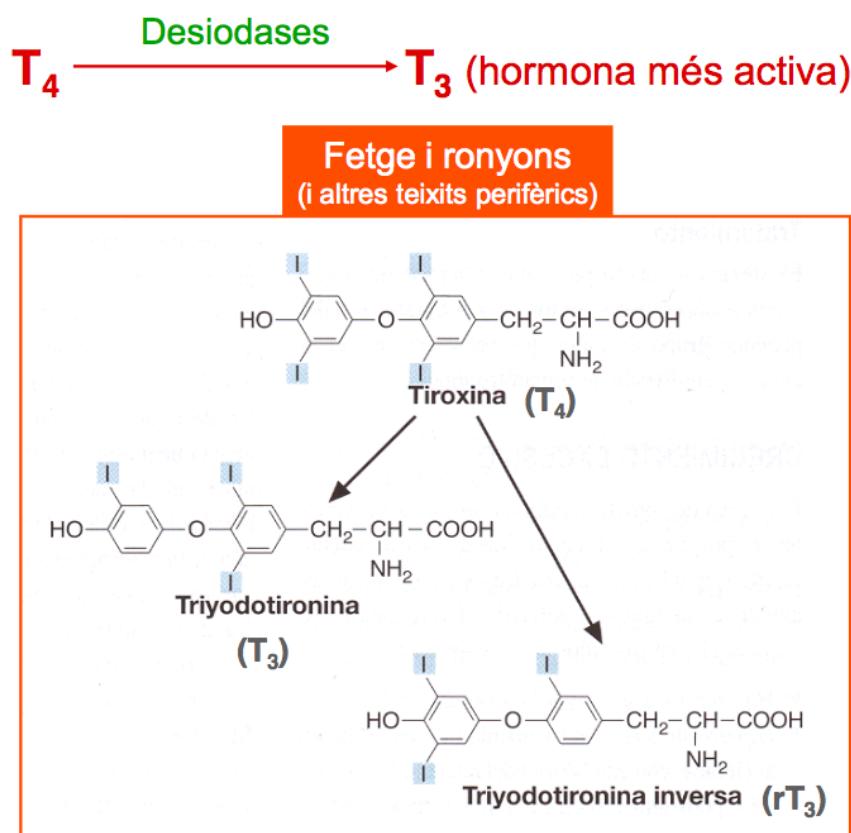
En sèrum predomina la T4 total sobre la T3 total. En canvi, la T3 lliure supera la T4 lliure.

Les hormones s'uneixen a receptors de teixits. Uneixen el T3 lliure (cal que hi hagi hagut alliberament previ de les proteïnes de transport) i van al nucli on regulen l'expressió gènica.

13.1.3 Desiodació

Per crear la T3 a partir de la T4 ens cal desiodar-la, suprimint-li un dels 4 iodes.

Si la desiodació té lloc en el punt on es veu a la imatge, obtenim T3. Però si les desiodases s'equivoquen i treuen el iode de l'altra part, obtindrem la inversa, la qual no té cap funció coneguda.



13.2 Hipertiroïdisme

Primer saber que eutiroideu vol dir bon equilibri de la funció tiroidal. D'aquí podem passar al hipertiroideu, on la simptomatologia són taquicàrdies, estar accelerat, increment de la taxa basal, pèrdua de pes, intolerància a la calor, sudoració, debilitat, hipertensió i en molts casos exoftàlmia (que surtin una mica a fora els ulls).

El quadre clínic esperat seria nivells totals de T4 elevats, i nivells biodisponibles de T3 i T4 lliures incrementats. La TSH estria disminuïda per l'efecte retroactiu negatiu de T4 i T3 sobre hipotàlem i hipòfisi.

Ara bé, això és només l'estàndard. Podria tenir també elevada la TSH, ja que el quadre clínic no sempre és perfecte i hi ha molts factors implicats.

13.2.1 Causes d'hipertiroïdisme

Són les següents:

- **Primari:** degut a una hipertròfia glandular. Tinc un elevat TSH inicial, que genera el Goll (hipertròfia). Això generarà molt més T4 del normal. Ara tinc les dos coses elevades. Quan l'hipertiroïdisme s'hagi establert, la TSH baixarà.
- **Secundària:** quan el problema és extern a la glàndula. Per crear la T3 a partir de la T4 ens cal desiodar-la, suprimint-li un dels 4 iodes. Si la desiodació té lloc en el punt on es veu a la imatge, obtenim T3. Però si les desiodases s'equivoquen i treuen el iode de l'altre part, obtindrem la inversa, la qual no té cap funció coneguda.
- **Tumor hipofisiari secretor de TSH:** possiblement la TSH estigui alta i no respongui a la inhibició de la T4.
- Un **carcinoma de tiroides** també generaria molta t4, i quedaria la TSH inhibida.
- **Malaltia de Graves:** autoimmune, apareix a partir del 40 anys i afecta més dones que homes. Es creen anticossos contra la tiroides, que tenen com a antigen el receptor de la TSH, de manera que quan s'uneixen al receptor l'estimulen. Per tant, fan la funció de la TSH, estimulant contínuament la tiroides.

13.2.2 Diagnòstic

Aprofiten la característica de la tiroides de captar iode. Es posa iode radioactiu, I125 o I131 (sobretot aquest, perquè la seva vida mitja és més petita). I capten imatges per veure com la glàndula està captant aquest iode.

13.2.3 Diagnòstic

Si el problema està a la tiroides podem fer servir el iode radioactiu amb més dosi i fer-li un tractament radioactiu al pacient. Si no es pot solucionar, es faria una ablació de la glàndula, convertint la persona en hipotiroidea, i per tant això s'ha de complementar amb fàrmacs com la Levotiroxina que és la formulació farmacèutica de la T4.

Per saber si l'administració és l'adequada, a l'inici es valora si els nivells de TSH estan correctes.

13.3 Hipotiroïdisme

Es troba disminuïda la T4 total, i els nivells de T3 i T4 lliures són també menors. Nivells elevats de TSH, però igual que abans, també pot variar en cada cas i que la TSH sigui baixa.

Simptomatologia: el goll és molt més típic aquí. Baixa taxa metabòlica (sensibilitat al fred, debilitat), sobrepès, sequedad de la pell.

13.3.1 Causes d'hipotiroïdisme

Són:

- **Primari:** dèficit de iode. Avui en dia no es tant comú, però per la zona d'Extremadura al s. XX passava. Un altre causa primària és el cretinisme, que és l'atrofia congènita de la glàndula tiroïdes. Aquests nens neixen ja amb problemes de desenvolupament i retard.
- **Secundari:** per atròfia de la glàndula.
- **Causes iatrogèniques:** hi ha poblacions índies que mengen mandioca, que si no es cuina bé, conté tiocianat que és tòxic per la glàndula. Es genera cianur, la glàndula intenta fabricar hormones a partir d'aquest cianur i es rebenta tot el sistema.
- **Malaltia de Hashimoto:** autoimmune. Anticossos dirigits contra proteïnes implicades en la creació de la hormona (contra la TG, TPO o altres). Sol ser bastant freqüent en gent amb edat avançada.
- Qualsevol lesió a la pituitària o a l'hipotàlem pot generar quadre hipotiroideo per baixa generació hormonal.

13.3.2 Tractament

Administració de T4 i control dels nivells de TSH.

13.4 Marcadors clínics

Són:

- **Tiroxina (T4):** Puc mesurar la T4 total i alhora també la lliure. Si vull mesurar la total, he de tractar bé la mostra perquè la major part estarà unida a proteïnes. Per tant, l'escalfo o poso quelants de calci. Un cop fets els mètodes de separació, puc mesurar la T4 mitjançant ELISA o RIA. I per mesurar la lliure, es requereix molts cops de tractaments previs del plasma (captació per reïnes, diàlisi).
- **Anticossos contra hormones tiroïdals:** posaré els antígens i miraré si hi ha anticossos a la mostra que s'hi uneixin. Puc fer ELISA, o Aglutinació amb eritròcits o amb boles de làtex recobertes d'antígen.
- **Anticossos contra proteïnes tiroïdals:** per ELISA.

- **Tiroglobulina:** Moltes vegades, la manera de saber si hem netejat tot l'organisme de cells tiroidals és fer una detecció de TG circulant. Si he extirpat tota la glàndula i no hi ha cap fol·licle funcionant en principi no hauria de tenir TG circulant. Si en hi ha, vol dir que hi ha algun focus encara que no he extirpat bé.
- **TSH:** Si els nivells de TSH són massa alts o massa baixos, els mesuraré per mètodes immunològics (RIA o ELISA). O bé fent un test dinàmic, sobretot si sospito de TSH elevat, puc administrar TRH i veure si el perfil de TSH en sang es correspon amb l'estímul que li he donat o no.
- **Anticossos contra el receptor de la TSH:** si sospitem d'un Graves (amb anticossos contra el R de la TSH), puc avaluar in vitro la capacitat del plasma del meu pacient d'estimular les cells de la tiroides que tinc en cultiu. Si hi ha presència de d'anticossos, tindrà elevada la producció d'AMPc en aquestes cells, i això ho puc mesurar. També es pot fer un estudi de competició d'unió de receptor, posant TSH marcat. Si res interfereix, tindrà un 100% d'unió.

13.5 Mètodes immunològics

13.5.1 Immunodifusió en gel

Es pretén fer servir els anticossos com a eines de detecció de molècules. Tinc 3 tipus:

- **Passiva (radial i doble):** tinc un gel, que abans que solidifiqui li poso un anticòs. Compara la meva mostra amb una recta patró amb diferent concentracions d'antigen, on cadascuna em dona uns halos diferents. L'halo és la formació del complex antigen-anticòs. És lenta, i requereix unes 48h per a que la difusió es doni.
- **Activa (contraimmunolectroforesi i immunoelectroforesi en cohet):** puc accelerar el procés posant un camp elèctric al sistema. En cohet es tracta de posar un camp elèctric, en el qual les molècules migraran del càtode al ànode, i deixaran al seu pas un feix de dipòsits de complexos antigen-anticòs. Com més antigen hi ha a la mostra, més llarga serà la cua de dipòsits.
- **Passiva-Activa (Immunoelectroforesi i immunofixació):** primer és activa, posant un camp elèctric, i després al mig tinc un canal on poso l'anticòs (no estava posat en el gel). Com més a prop de la mostra es generi aquesta banda de precipitat, menys antigen hi ha. Es a dir, ambdues parts difonen a la mateixa velocitat, si van a la vegada la ratlla estarà al mig, si es mou, sabrem que hi ha més o menys antigen a la mostra.

13.5.2 Aglutinació

Un exemple clar és la tècnica per detectar el grup sanguini. Necessitarem anticossos aglutinants, i veure si forma complexos antigen-anticòs. Tipus:

-
- Directe: si la mostra del meu pacient conté anticossos amb capacitat d'aglutinació. Poso la mostra en presència d'antigen i miro si hi ha aglutinació directa.
 - Indirecta: requereix d'una superfície que contingui l'anticòs o l'antigen, per forçar la creació de complexos.
 - Inhibició de l'aglutinació: per competició.
 - Prova de Coombs: és la que detecta el grup sanguini.
 - Prova d'embaràs: és una prova d'aglutinació també. Posem orina, la orina difon, i si és positiva es creen 2 bandes blaves. Això és degut a que tinc anticossos solubles amb la partícula blava unida, i uns altres anticossos fixats a la membrana, ambdós reconeixent HCG .

Finalment els últims reconeixen la part blava que ha quedat aglutinada al mig, de manera que s'uniran els anticossos sobrants.

Aquestes tècniques van suposar un canvi important en el límit de detecció de les tècniques que es feien servir llavors. La inhibició de l'aglutinació pot arribar a un límit de detecció de 0.001mg/L.

13.5.3 Immunoprecipitació

Consisteix en precipitar una proteïna d'una solució fent servir un anticòs que s'uneix específicament a aquesta proteïna. Es pot fer servir per aïllar una proteïna concreta d'una mostra.

13.5.4 ELISA

És un mètode analític que depenen de la reacció antigen-anticòs. Tenim un dels dos en fase sòlida, i l'altre en dissolució. El producte de la reacció pot ser detectat i quantificat mitjançant un marcador enzimàtic amb un substrat apropiat.

- **Homogenis:** per detectar molècules petites (hormones, medicaments, drogues). No requereixen de separació entre la fracció lliure de l'anticòs i la que s'ha unit.
- **Heterogenis:** es realitzen sobre suport sòlid, i es fan per diagnosticar malalties infeccioses. Requereixen de la prèvia separació entre la fracció lliure de l'anticòs i la lligada abans de fer la quantificació.
- **Competitius:** la quantitat de reactiu és limitant, per a dosificar partícules petites amb una determinada pureza. Detecten anticossos específics.
- **No competitius:** el reactiu es posa en excés, i són els més usats per detectar malalties infeccioses. Poden detectar tant antígens com anticossos.

Aplicabilitat d'aquestes tècniques en bioquímica clínica

- **Tècniques d'aglutinació:**
 - Tipus sanguini
 - Hormones proteiques en orina (HCG, LH)
- **Tècniques d'immunoprecipitació:**
 - Proteïnes bacterianes o víriques per diagnòstic d'infeccions
 - Anticossos contra hormones o receptors
- **ELISA, RIA, IRMA:**
 - Proteïnes sèriques
 - Molècules derivades del colesterol sèriques: Hormones esteroïdals, àcids biliars, vitamina D
 - Hormones tiroïdals
- **SLFIA:** Drogues en sèrum

14. Estudi de la funció renal

14.1 Anatomia i fisiologia renal

Els ronyons participen en:

- Excreció de nitrogen (urea i àcid úric)
- Manteniment de l'equilibri electrolític i de pH
- Manteniment de l'equilibri d'aigua
- Producció i secreció d'hormones, degradació d'insulina, glucagó i aldosterona

Els ronyons estan localitzats a la part posterior de l'abdomen, a ambdós costats de la columna vertebral. La part més externa del ronyó és l'escorça renal, i la més interna, la medul·la.

La unitat funcional és la nefrona, de la qual existeixen aproximadament 1.200.000 d'unitats a cada ronyó. Cada nefrona produceix orina per sí mateixa; de tal manera que l'orina final és la suma de cada petita porció individual. La nefrona està constituïda per varíes parts. El glomèrul es situa a l'escorça renal i consisteix en un plegat de capil·lars que provenen de l'arteriola aferent i drenen a l'arteriola eferent. Els capil·lars periglomerulars seran els que captin totes aquelles substàncies que no s'eliminaran per orina i les retornarà a la circulació. El glomèrul està envoltat per la càpsula de Bowman, que continua amb el túbul contornejat proximal, que s'endinsa a la medul·la amb la porció descendente de la nansa de Henle. El segment ascendent de la nansa de Henle torna a entrar a l'escorça per formar el túbul contornejat distal, que finalitza amb el túbul col·lector.

L'escorça renal es isotònica, es a dir, que té la mateixa pressió osmòtica que l'interior de la cèl·lula. Al laboratori la podem simular amb una dissolució de clorur sòdic o sacarosa. En canvi, la medul·la es hipertònica, és a dir, que té més pressió osmòtica que dins de la cèl·lula.

Què determina la pressió osmòtica? La quantitat de partícules que estan dissoltes al medi. En aquest sentit, els ions son els principals determinants de la pressió osmòtica ja que son els majoritaris degut a la seva petita mida. També pot afectar la concentració de proteïnes o carbohidrats. En quan als ions, el principal catió extracel·lular és el sodi; per tant, el principal responsable de la pressió osmòtica. És molt important tenir ben controlats els nivells de sodi. Els anions compensen la carrega positiva i destaquem principalment el clorur i el bicarbonat. La medul·la es hipertònica, és a dir, té molts cations (sobretot sodi).

El ronyó rep un important aport sanguini per l'arteria renal i el flux renal representa el 25% del treball cardíac. Als capil·lars glomerulars, la pressió hidrostàtica és, aproximadament, tres cops major que la pressió als altres capil·lars, i les substàncies es filtreuen a través de la membrana glomerular a la càpsula de Bowman.

En el procés de filtració, no ens interessa perdre les cèl·lules plasmàtiques ni les proteïnes perquè son molt cares de produir. El glomèrul està compost de 3 capes que contribueixen a una filtració selectiva:

- **Endoteli vascular fenestrat:** Els porus son relativament grans per no forçar el treball cardíac. Quan més petit és el forat, més pressió s'ha de fer per filtrar.
- Membrana basal. Actua com a ultrafiltre. Només poden travessar les molècules menors a 60KDa. Es podran colar algunes proteïnes petites.
- **Epiteli dels podòcits:** Última capa que evita la pèrdua de proteïnes petites. Fisiològicament sempre hi ha una petita pèrdua inevitable; però aquesta pèrdua es veu incrementada en casos patològics (proteinúria). L'epiteli està replet de sialoproteïnes de membrana carregades d'àcid siàlic, sucre que aporta carrega negativa. La càrrega negativa de l'epiteli dels podocits contribueix a la repulsió de les proteïnes petites que s'hagin pogut filtrar. La majoria de proteïnes tenen càrrega negativa en sang. L'albúmina es la proteïna majoritària i té un pI de 5. Només hi ha un grup de proteïnes que son neutres/positives al pH sanguini: les gamma.

Aproximadament el 80% de les sals (Na, K, HCO₃-) i l'aigua de l'ultrafiltrat es reabsorbeixen al túbul contornejat proximal. Al túbul proximal hi han molts transportadors de ions, de sucres i aminoàcids.

La reabsorció d'alguns compostos, com la glucosa i els aminoàcids, és activa en contra de gradient i amb despresa energètica. En el cas de l'aigua, la urea i el clorur, la reabsorció és passiva per difusió simple i sense consum d'energia. Al túbul també es produeix la secreció de substàncies des de la sang, com el potassi, protons, amoni o urat. L'aigua surt per mantenir la pressió osmòtica. Sabem que si surten molts ions, augmentaria la pressió osmòtica a fora. Per això l'aigua acompanya el moviment de ions o glucosa.

La nansa de Henle entra a la medul·la renal en un medi altament hipertònic, i en ella es produeix un important procés de reabsorció. La porció descendente de la nansa de Henle és permeable a l'aigua, per la qual cosa té lloc la reabsorció d'aigua per gradient osmòtic, a la qual acompanya la urea. L'aigua tendeix a sortir del tub per intentar compensar la hiperosmolaritat de la medul·la. En conseqüència, l'orina en la porció final de la nansa descendente està altament concentrada.

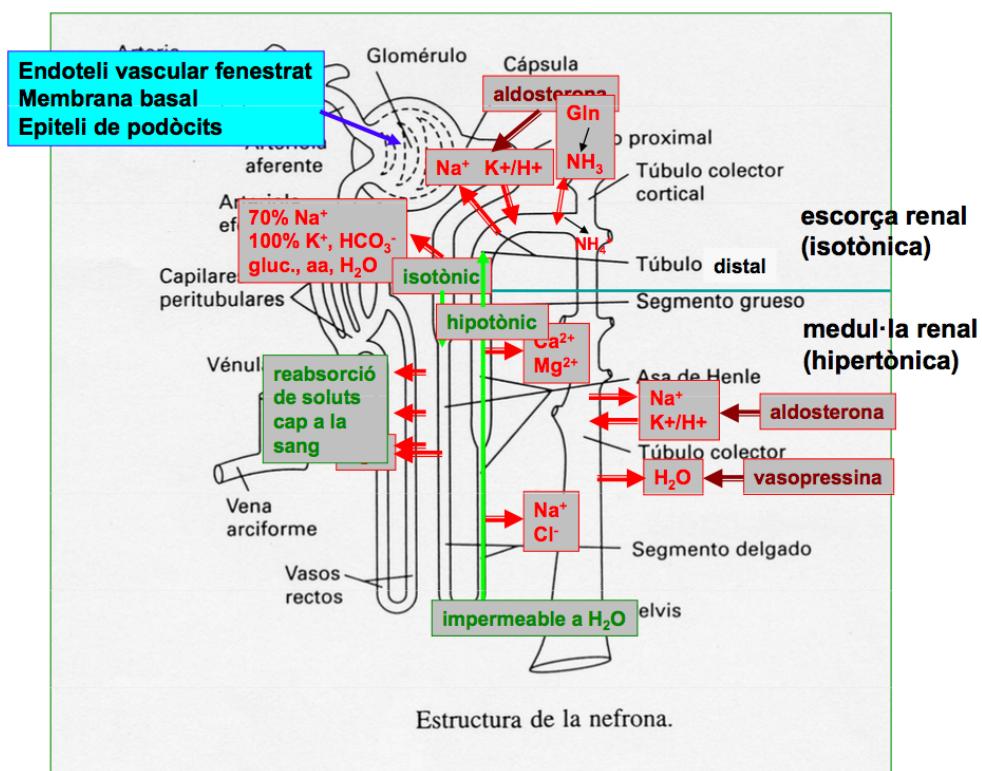
En canvi, la nansa ascendent és impermeable a l'aigua, però permet la reabsorció activa de sodi i clorur per transportadors de ions monovalents, de manera que es disminueix la concentració de sals del fluid tubular, que va diluir-se progressivament. D'aquesta forma, el fluid es va tornant hipotònic, i l'espai intersticial, hipertònic.

En el segment gruixut de la nansa de Henle ascendent, ja en la porció de l'escorça es produeix la reabsorció de calci i magnesi de forma passiva.

Al tub distal hi ha un transportador de Na/K/H. Com que el transportador és elec-troneutre, quan capta sodi, haurà d'extreure potassi o un protó. Com hem dit abans, la concentració de sodi és molt important pel manteniment de l'osmolaritat. Tant el túbul distal com el col·lector son sensibles a l'acció de l'aldosterona, que s'allibera quan manca

sodi i estimula la reabsorció de d'aquest i la secreció de potassi. Si bé en aquest segment només es dona un 2-5% de la reabsorció total del sodi, es considera el principal responsable de l'homostasi del ió. Les cèl·lules del tub distal estan especialitzades en degradar glutamina, i com a conseqüència d'aquesta degradació s'allibera amoníac. L'amoníac és un gas, per tant, una molècula neutra petita que travessa les membranes. Com que l'orina porta protons, l'amoníac es transforma a amoni, el qual no pot travessar la membrana. Així doncs, en aquesta zona es produeix la secreció de protons, amoníac i àcid úric, mentre que es reabsorbeixen el sodi, bicarbonat i el clorur. En contrast amb la nansa de Henle, al túbul distal el calci i el magnesi es reabsorbeixen de forma activa. La reabsorció de calci depèn de l'hormona paratiroides. Els diürètics tiacídics actuen inhibint la reabsorció de calci a aquest nivell.

Al túbul col·lector hi ha la mateixa bomba Na/K/protons per captar tot el sodi que no s'ha recuperat abans. En general, pràcticament tot el sodi ja es reabsorbeix al túbul distal. El túbul distal és sensible a l'acció de la vasopressina o hormona antidiüretica (ADH), la qual actua sobre les aquaporines. En situacions de deshidratació, l'alliberament de l'ADH obre les aquaporines, permetent una gran reabsorció i que l'orina pugui concentrar-se. En aquest cas, el flux d'aigua està perfectament controlat, al contrari que en les parts més anteriors del tub, on l'aigua sortia acompanyant als ions per mantenir la pressió osmòtica.



La funció principals dels ronyons és la formació d'orina. La membrana glomerular 100-500 cops més permeable que altres capil·lars. Com hem dit abans, aquesta permeabilitat és limitada per evitar pèrdues de proteïnes o cèl·lules plasmàtiques (permeabilitat < 60-70 kDa).

La orina és el producte orgànic format per la filtració del plasma als ronyons i la

seva transformació per aconseguir l'eliminació de les substàncies indesitjables pel sistema urinari.

Com es produeix l'orina?

1. Filtració sense reabsorció de certes substàncies (p.e creatinina, inulina, manitol, sacarosa).
2. Secreció activa des de les cèl·lules epiteliais que envolten els túbuls (p.e K, H, amoniàc).

Es reabsorbeix casi la totalitat de l'aigua, de manera passiva acompanyant a glucosa o aminoàcids o bé a través de les aquaporines. L'aigua, la glucosa i els aminoàcids es recuperen al 99%. També es recupera bona part del Na, Ca, HCO₃⁻, fosfats, urats per transport actiu. D'altra banda, es recupera un 50% de la urea filtrada pel glomèrul per un mecanisme de transport passiu, ja que és una molècula petita i no està carregada.

Per tant l'orina filtrada inicialment pel glomèrul (orina primària) no serà la que finalment s'excreti (orina final).

Els dos ronyons filtrell casa dia 180L de sang. El volum urinari que es produeix diàriament és de 1-1,5. Aquest volum pot canviar segons la ingestió de líquids, la temperatura i el clima.

La determinació del volum d'orina pot ser útil en alguns pacients:

- **Poliúria:** Emissió d'una elevada quantitat d'orina, superiora 2,2L/dia. Pot ser una resposta fisiològica a una gran ingestió de líquids o diurètics, refredament del cos, nerviosisme, ansietat o recepció intravenosa de líquids. No obstant, pot ser un signe patològic d'algunes malalties com la diabetis mellitus, diabetis insípida o malaltia renal crònica.
- **Oligúria:** Disminució del volum urinari a menys de 200ml/dia. Pot ser fisiològica per una disminució de la ingesta o una pèrdua de líquids per la suor, vòmits o diarrea. També pot ser una conseqüència del shock o nefritis aguda. L'anúria es produeix quan no es forma orina.

14.2 Paràmetres bioquímics

Les analítiques per analitzar la funció renal no son únicament de l'orina, sinó que també poden ser del sèrum. L'elecció d'un medi o un altre dependrà de si volem mirar els nivells de producte eliminat o de producte que no s'ha eliminat.

L'estudi i avaluació de la funció renal es pot fer a partir de diversos paràmetres indicatius:

- Excreció de nitrogen (urea i àcid úric)
 - Creatinina sèrica

-
- Depuració de creatinina
 - Urea sèrica
 - Urat sèric
- Manteniment de l'equilibri electrolític i de pH i manteniment de l'equilibri d'aigua
 - Osmolitat d'orina i sèrum
 - Sodi, potassi, clorur en orina i sèrum
 - pH sang
 - Bicarbonat
 - Calci en orina i sèrum
 - Fosfat i magnesi en sèrum
- Producció i secreció d'hormones, degradació d'insulina, glucagó i aldosterona
 - Renina sèrica
 - Eritropoietina sèrica
 - 1,25-dihidroxicolecalciferol

14.3 Patologies renals

14.3.1 Glomerulonefritis

També coneguda com a nefritis glomerular és una malaltia renal, que pot afectar als dos ronyons, caracteritzada per la inflamació dels glòmerts o dels capíllars periglomerulars, normalment a causa d'una infecció. L'afectació es deu a una disminució de la superfície de filtració i/o un augment de la permeabilitat de la membrana basal a les proteïnes. Els signes clínics soLEN ser hematúria, proteïnúria, síndrome nefròtic (pèrdua de proteïnes > 4 g/dia).

14.3.2 Tubulopaties

Alteracions clíniques en què hi ha una disfunció tubular específica, amb escassa o nula capacitat de filtració. S'han de descartar sempre possibles malalties sistèmiques relacionades, així com la presència d'un tòxic. A més, sempre s'han de descartar alteracions de la via urinària i nefropaties amb component intersticial.

La presentació clínica sol ser inespecífica, amb símptomes com astènia, anorèxia, alteracions digestives, febre o irritabilitat. Davant d'un pacient amb retard en el creixement, sempre s'ha d'estudiar la funció tubular.

L'estudi inicial s'ha de centrar en l'equilibri hidro-salí i àcid-base, i el metabolisme fosfocalcic. Per precisar el diagnòstic, poden ser necessàries proves funcionals i determinacions hormonals. La reposició hídrica i d'electròlits s'ha de fer de manera prioritària per via oral, ja que aquests pacients presenten dificultats per al tractament de les aportacions intravenoses.

La Síndrome de Fanconi és una tubulopatia primària que consisteix en una disfunció generalitzada del túbol proximal, que determina augment de l'excreció urinària de fosfat, bicarbonat, sodi, potassi, aminoàcids, proteïnes de baix pes molecular i glucosa. No es coneix encara el mecanisme causant de la manca de transportadors actius, encara que podria ser degut un déficit energètic o a l'alteració inespecífica de la permeabilitat cel·lular. Normalment es presenta en el context d'altres malalties.

14.3.3 Acidúria tubular renal

Grup de malalties que provoquen acidosi metabòlica crònica com a resultat d'una fallada del túbol renal que afecta la reabsorció de bicarbonat o de la secreció d'ions hidrogen. Afecta sobretot al túbol distal, on el transportador de Na/K/H no pot eliminar els protons. El trastorn pot ser d'origen congènit o adquirit en l'edat adulta. Pot constituir una manifestació única o associar-se a altres símptomes com passa en la Síndrome de Fanconi.

14.3.4 Diabetis insípida nefrogènica

La diabetis insípida és una forma poc comuna de diabetis causada per un defecte funcional del ronyó. Els ronyons no poden retenir aigua, i per tant, no poden concentrar l'orina. Resposta inadequada del ronyó davant l'acció de l'ADH. Els pacients que experimenten aquesta malaltia perdren enormes quantitats d'aigua, la qual cosa es manifesta per una notòria poliúria. Com la funció de la hipòfisi és normal, els nivells d'ADH es troben normals o lleugerament augmentats.

Si per alguna raó el pacient es troba incapacitat per beure, però encara segueix sent incapç de concentrar l'orina, es produirà una severa hipernatrèmia acompañada dels seus símptomes neurològics.

Pel diagnòstic es pot administrar desmopressina; si el pacient és capaç de concentrar l'orina, llavors la diabetis té un origen central; si no hi ha resposta, la causa més probable és la nefrogènica.

14.3.5 Insuficiència renal aguda o crònica

Disminució del flux plasmàtic renal. Es manifesta per una presència elevada de creatinina al sèrum. La insuficiència renal aguda és una disminució de la funció renal que ocorre de manera sobtada, com a conseqüència de l'acció d'alguns fàrmacs o verins. La insuficiència renal aguda mal curada pot portar a la pèrdua permanent de la funció renal.

La insuficiència renal crònica és el deteriorament progressiu i irreversible de la funció renal, com a resultat de la progressió de diverses malalties primàries o secundàries. En

la majoria dels casos, la funció renal es deteriora lentament al llarg dels anys i presenta inicialment pocs símptomes evidents, tot i estar relacionada amb anèmia i alts nivells de toxines en sang. Quan comença la simptomatologia, generalment la malaltia està molt avançada i serà necessària l'hemodiàlisi.

Qualsevol persona pot patir de malaltia renal, però els de més alt risc són els diabètics, els hipertensos i les persones amb antecedents familiars.

L'origen de la insuficiència pot ser:

- **Prerrenal:** Disminueix la pressió de filtració (p.e problema cardíac).
- **Renal:** Glomerulonefritis, necrosi tubular. El ronyó no té capacitat de regenerar nefrones. Per tant, amb l'edat hi ha un decrement generalitzat del funcionament de les neurones. De fet, els adults tendeixen a perdre un 10% de la totalitat de nefrones cada dècada a partir dels 40 anys.
- **Postrenal:** Disminueix la sortida d'orina, possiblement per alteracions a les vies urinàries inferiors (p.e càlculs renals, prostatitis).

14.4 Anàlisi d'orina

És el procediment inicial i més simple per obtenir informació d'alteracions del ronyó i vies urinàries. Pot indicar l'origen de la lesió renal (glomerular, tubular, vies urinàries, etc) o extrarenal (prerenal o postrenal). Permet el seguiment de la malaltia i l'avaluació terapèutica.

14.4.1 Recollida de l'especimen

- Micció de primera hora del matí (és la més concentrada) en recipient net i sec.
- Anàlisi de la mostra el més aviat possible (2 hores després com a màxim). Si no és possible, conservar en fred (4C, -20C) o addicionar florur, bòric, timol, pH. El florur s'afegeix per evitar la glucòlisi espontània.
- Per valorar els soluts o cèl·lules totals eliminades, analitzem l'orina que es produeix durant 12- 24h. És necessari controlar la quantitat de líquids ingerida per veure si correspon amb l'orina produïda.
- Per l'anàlisi microbiològic no és recullen les primeres gotes d'orina perquè contenen moltes cèl·lules de la paret de les vies urinàries que poden interferir a l'analítica. És necessària una neteja externa prèvia i la recollida en un recipient estèril per evitar possibles contaminacions. Si no es possible determinar l'agent etiològic de la infecció sovint es recorre a sondatge uretral, tot i que és una tècnica bastant invasiva.
- Si l'anàlisi es fa abans de 2 h, es poden produir variacions en la mateixa orina producte de la descomposició dels components (color, olor, pH).

glucosa baixa (glucòlisi bacteriana) -> Addició de F-

acetona baixa

- Baixa [bilirubina] i [urobilinogen] (fotodescomposició) -> Guardar a les fosques
- Destrucció i alteració de cèl·lules (contaminació i creixement bacterià)

Què passa quan apareixen cèl·lules a l'orina? Normalment solen ser cèl·lules dels urèters o de la bufeta, també poden ser dels túbuls de la nefrona però no és habitual. En ocasions també es poden trobar alguns glòbuls blancs o vermells, els quals no provenen directament de la filtració de la sang, sinó dels capil·lars que envolten les vies urinàries inferiors com els urèters o la bufeta.

14.4.2 Valoració de l'espècimen

Les mostres d'orina han de complir uns criteris de qualitat, diferents segons cada laboratori. Si no es compleixen s'haurà de repetir.

14.4.3 Proves físiques

14.4.3.1 Color

El color de l'orina és groguenc degut a la presència d'urocroms, urobilina i uroeritrina. La variació del color ens pot indicar possibles problemes hepàtics o pancreàtics. Diferents pigments contribueixen al color de l'orina:

- Pigments biliars
- Porfirines
- Hemoglobina
- Melanina
- Àcid homogentísic

L'alcaptonuria (malaltia de l'orina negra o fosca) és una malaltia hereditària rara caracteritzada per un trastorn del metabolisme de la tirosina i la fenilalanina. El resultat és l'acumulació de l'àcid homogentísic, un dels productes tòxics de la ruta metabòlica, el qual circula per la sang i s'excreta en l'orina en grans quantitats, donant-li la característica coloració negrosa a l'orina. L'excés d'aquest àcid causa dany als cartílags (ocronosis, osteoartritis).

Alguns fàrmacs o aliments també poden ocasionar variacions en el color. La pastanaga o la remolatxa produueixen colors intensos de l'orina.

14.4.3.2 Olor

L'olor de l'orina es deu a la presència d'agents volàtils. Els canvis més significatius en l'olor de l'orina es deuen a un gran temps d'emmagatzematge o a possibles patologies.

A l'orina que ha estat durant molt temps guardada, la urea es va degradant a amoníac, i es aquest el causant la pudor característica de l'orina al cap del temps.

Quan l'orina fa olor a xarop d'auró, és a dir, a sucre cremat, és indicadora de la presència de certs aminoàcids. D'altra banda, una olor dolenta (pestilència) també ens indica de possible infecció.

14.4.3.3 Terbolesa

En principi és neta i transparent però pot ser mitjanament terbolada i no sempre ser una característica patològica. La terbolesa no patològica pot ser provocada per la precipitació de sals, que té lloc segons el pH. Com vam dir, el pH no és un bon indicador clínic de patologia renal.

- Precipitació de sals (PO_4^{3-} , CO_3^{2-}) si l'orina és alcalina.
- Precipitació rosada d'urats si l'orina és àcida (Els urats son poc solubles a pH àcid).
- Elements formes: leucòcits, eritròcits, moc, espermatozous.

14.4.3.4 Volum

El volum diari d'orina és de 1,2 - 1,5L. El marge és bastant ampli (0,6 - 2 L) i depèn de la ingesta de líquid, de la temperatura, el clima i la sudoració.

- **Poliúria:** Augment del volum d'orina (>2L /dia)

– Diabetis mellitus (Poliuria hiperdensa): Si l'orina només està formada d'aigua, la densitat seria 1 però evidentment hi han més substàncies dissoltes que influeixen a la densitat de l'orina. El principal responsable de concentrar la orina és la ADH. Com que augmenta la osmolalitat de la sang per l'alta presència de glucosa, l'aigua tendeix a sortir del líquid intersticial per intentar diluir la glucosa. En conseqüència, augmenta el volum de líquids a la sang i, per tant, hi ha més orina.

$$\text{Concentració} = \uparrow \text{ glucosa} / \text{líquid}$$

– Diabetis insípida (Poliúria hipodensa): El túbul col·lector no respon a l'ADH o l'hormona es produeix en quantitats insuficients o nul·les. No és que hi hagi molta glucosa, és que hi ha poca aigua a la sang, perquè no es produeix la correcta reabsorció renal.

$$\text{Concentració} = \text{glucosa} / \downarrow \text{líquid}$$

-
- Insuficiència renal progressiva/crònica: Disminueix la massa renal funcional per atròfia i/o disminueix la capacitat de concentració de l'orina.
 - **Oligúria:** Disminució del volum d'orina ($< 0,4 \text{ L/dia}$)
 - Deshidratació
 - Isquèmia
 - Insuficiència renal crònica
 - Obstrucció de les vies excretores
 - Prostatisme

14.4.3.5 Densitat i osmolalitat

El ronyó té la capacitat de variar osmolalitat, concentrant i diluint l'orina, segons les necessitats. La incapacitat de realitzar aquesta funció pot ser un indicatiu de patologia renal.

La densitat (pes/volum) de l'orina és de 1005 - 1030 g/L, semblant a la de l'aigua. Sempre és més densa a primera hora del matí, moment en el qual s'acostumen a fer les analítiques.

La densitat de l'orina pot ser baixa en casos de:

- Diabetis insípida
- Glomerulonefritis
- Pielonefritis

La densitat de l'orina pot ser alta en casos de:

- Diabetis mellitus
- Insuficiència suprarrenal o cardíaca

L'osmolalitat és el nombre de partícules que hi ha dissoltes en un determinat volum de líquid. L'osmolalitat normal de l'orina és de 500-850 mOs/kg d'aigua. Els nostres ronyons tenen la capacitat de diluir fins a 50 mOs/kg (diurèsi per ingestà) o concentrar fins a 1400 mOs/kg (privació d'aigua).

Aclariment osmolal: Volum orina/minut (1- osmol orina/osmol plasma)

El valor màxim és 1, que correspon a quan l'orina està al màxim de diluïda. Valors més petits indiquen que cada cop està més concentrada. L'aclariment osmolal pot arribar a ser negatiu (osmol orina $>$ osmol plasma). En aquests casos, s'ha posat en marxa el mecanisme concentrador del ronyó, promogut per l'hormona antidiürètica.

14.4.4 Proves químiques

14.4.4.1 Proteïnes

Normalment es perden < 150 mg/dia, tot i que en general els valors no superen els 80mg. Sobretot es perden les proteïnes de baix pes molecular ja que son les que es poden filtrar mes fàcilment per la membrana glomerular. El 60% de proteïna a l'orina és albúmina ja que és la majoritària en sang i té un pes molecular crític, just al límit del porus. El 40% restant correspon a les globulines, sobretot les α -globulines.

Les causes de proteinúria poden ser renals o extrarenals. Per exemple, la malaltia de Bence-Jones, provoca proteinúria d'origen extrarenal. Els pacients amb mieloma múltiple excreten per l'orina una globulina de baix pes molecular. Per confirmar el diagnòstic es fan servir tècniques immunològiques que detecten específicament aquesta globulina.

L'esforç físic o esport intens provoca proteinúria fisiològica intermitent (0,5 g/dia) ja que incremental el treball cardíac i és més fàcil que augmenti la filtració glomerular.

En quant a les patologies renals que ocasionen proteinúria son:

- **Mínima: < 1g/dia**

- Glomerulonefritis crònica
- Tubulopaties
- Infeccions genitourinàries

- **Moderada: 1-4 g/dia**

- Nefropatia diabètica i tòxica
- Mielomamúltiple
- Nefritis per irradiació

- **Greu: > 4 g/dia**

- Síndrome nefròtic
- Nefroesclerosi
- Malaltia amiloide

Depèn de quines proteïnes es trobin més augmentades en orina, podem determinar l'origen de l'affectació renal:

- Glomerular: ↑ Albúmina, ↑ Transferrina. Les macroglobulines i les microglobulines no proporcionen informació.
- Tubular: Relació Albúmina/ β 2 microglobulines < normal.

-
- Postrenal: Inflació i neoplàsia de les vies urinàries inferiors
 - Prerenal: Pot ser fisiològica (p.e exercici, embaràs, postural) o patològica (p.e febre, insuficiència cardíaca congestiva, al·lèrgia, hipertensió, neoplàsia).

La determinació de proteïnes en orines es pot realitzar per les següents tècniques:

- 1) **Química seca:** Tires reactives impregnades en tetrabromofenol ($\text{pH}=3$) i protons, que en presència de proteïnes donen una coloració verda. És una determinació qualitativa ja que no ens dona uns valors precisos (20-200 mg alb/L)).
- 2) **Mètode de Lowry o Biuret:** Mètode quantitatius però general. El mètode de Biuret serveix per detectar la presència de qualsevol proteïna mentre que el de Lowry només d'aminoàcids aromàtics. Es pot fer precipitar les proteïnes per calor, àcid acètic, nítric, TCA, etc, redissoldre el precipitat, comparar els reactius amb els patrons (BSA) o fer una determinació espectrofotomètrica.
- 3) **Electroforesi i tinció:** Les proteïnes es separen en funció del seu pI. Mètode semi-quantitatius. Es pot fer servir una tinció general per proteïnes (p.e blau Comassie o negre Amindo) o una altra més específica.
- 4) **Tècniques immunològiques:** Detecció d'una proteïna concreta.

14.4.4.2 Glucosa

Gairebé tota la glucosa és reabsorbida al túbul proximal per transportadors actius saturables. Quan la glucèmia és superior a 10 mM (1,8 g/L) els transportadors renals es saturen i es perdrà glucosa per l'orina. La glucosúria es pot donar en els següents casos:

- Diabetis mellitus
- Acromegàlia (hipòfisi)
- Síndrome de Cushing (glàndules suprarenals)
- Tumors pancreàtics
- Hipertiroïdisme

Val a dir, que durant l'embaras també augmenta la glucosúria de manera fisiològica degut a un augment de la pressió de filtració. En casos d'embaràs i tubulopaties, augmenta la glucosúria però no la glucèmia.

Per dur a terme la determinació de la glucosa en orina normalment es fa un centrifugat previ per separar les cèl·lules, les quals poden ser glucòlisi i esgotar els nivells de glucosa. També es sol afegir fluorur per tal d'inhibir la glucòlisi. La determinació es pot fer per:

- **Química seca:** Tira reactiva impregnada amb glucosa oxidasa. Si hi ha glucosa a la mostra i s'acobla amb iodur o peroxidasa, es generaran colors típics del iode.

-
- **Determinació enzimàtica:** Mitjançant la glucosa oxidasa, la glucosa es converteix en H_2O_2 .
 - **Detecció d'altres sures:** Separació en cromatografia en capa prima basada en la reducció del Cu^{2+} a Cu^+ . Es pot detectar la lactosa (intolerància a la lactosa infantil), la fructosa, la galactosa, etc.

14.4.4.3 Cetones

Les cetones provenen del metabolisme incomplet dels àcids grassos. S'acumulen els intermediaris d'aquesta degradació a la sang (20% acetoacètic, 2% acetona, 78% β -hidroxibutíric). La cetonúria es pot donar en els següents casos:

- Diabetis mellitus juvenil
- Febre, vòmits, diarrees infantils
- Acidosi làctica

La determinació és fa per química seca, en una tira reactiva impregnada amb nitroprussiat (OH^-), que si reacciona amb l'acetoacètic dona una coloració púrpura. És un mètode semi-quantitatius que permet detectar concentracions de 50-100 mg/L d'acetoacètic.

14.4.4.4 Hemoglobina

L'hemòlisi dels eritròcits a la sang, alliberarà hemoglobina lliure, la qual passarà a l'orina. L'hemoglobinúria pot ser conseqüència d'una alteració prerenal o renal.

- Prerenal: Anèmia hemolítica
- Renal: traumatisme, esforç físic, malaltia renal

La determinació de l'hemoglobina a l'orina es fa per química seca aprofitant la seva activitat pseudoperoxidasa (ortotoluidina + peròxid orgànic). Les tires reactives detecten concentracions del rang 0,5-3 mg Hb/L.

La mioglobina també té la mateixa activitat pseudoperoxidasa, per tant, per distingir-les s'afegeix a la mostra sulfat d'amoni, el qual farà precipitar a l'hemoglobina i no pas a la mioglobina.

14.4.4.5 Bilirubina

Tant la bilirubina com l'urobilinogen provenen de la degradació del grup hemo de l'hemoglobina. Son fotosensibles i generalment són cromògens a una determinada longitud d'ona. La bilirubina és hidrofòbica i viatja a la sang unida a proteïnes transportadores (p.e albúmina). Quan està unida a proteïnes no podrà ser filtrada pel glomèrul. No obstant, la bilirubina conjugada al fetge sí que podrà ser filtrada, ja que l'addició de l'àcid glucorònic li aporta solubilitat.

Les possibles causes de bilirubinúria son les següents:

- Problemes hepàtics: Infecció o intoxicació hepàtica
- Obstrucció biliar: Part de la bilirubina no conjugada no podrà arribar a la bilis, passarà a sang i després a orina.

La determinació es fa amb 2,4 dicloroanilina o p-nitrobenzè-diazoni-p-toluè .

14.4.4.6 Urobilinogen

L'urobilinogen prove de la degradació de la bilirubina conjugada per part dels bacteris anaeròbics de la flora intestinal. Es pot eliminar directament per les femtes o reabsorbir-se pels capil·lars intestinals i passar a sang i finalment a orina. Per tant, l'urobilinogen pot excretar-se tant per orina com per les femtes. Normalment, excretem 0,5-3 mg per orina, però aquesta quantitat pot augmentar o disminuir en certes patologies.

- Increment: Malalties hepàtiques.
- Disminució: Obstrucció biliar o teràpia amb antibiòtics.

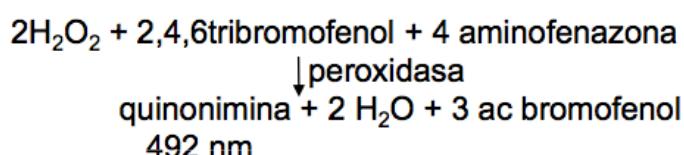
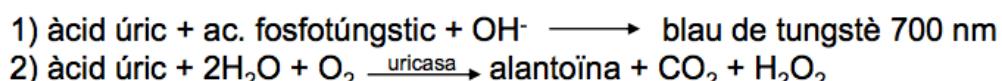
La determinació es fa amb química seca o humida mitjançant la reacció d'Ehrlich (aldehid) que dona coloració vermella en presència d'urobilinogen.

14.4.4.7 Àcid úric

És el producte final de del catabolisme de les purines. Es forma al fetge o a l'intestí i s'excreta per l'orina (gran reabsorció al túbul proximal). Per tant, la presència d'àcid úric en orina és normal (2,5-7 g/L). L'anàlisi es fa en sang, perquè concentracions elevades d'aquest (hiperuricèmia) indiquen problemes de:

- Insuficiència renal
- Tractament amb diurètics
- Quimioteràpia
- Consum excessiu de nucleoproteïnes

La determinació es fa per les següents reaccions:

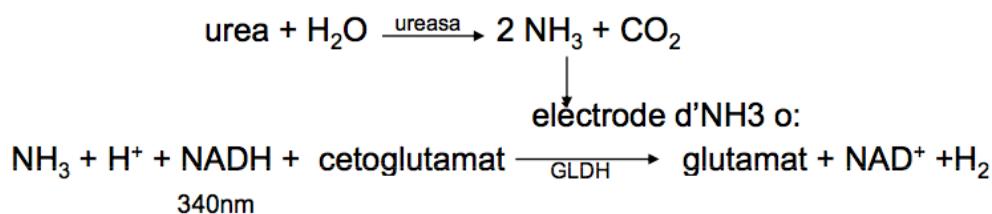


14.4.4.8 Urea

La urea és el producte final del catabolisme dels aa. Es forma al fetge i el 90% s'excreta pel ronyó (important reabsorció al túbul proximal). El 10% restant s'elimina per la suor i les femtes. Per tant, la presència d'urea a l'orina és normal. No obstant, la urèmia sí que pot ser indicadora de patologies:

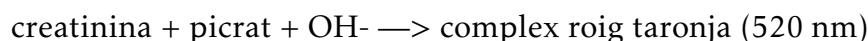
- Causes renals: Deshidratació (disminució del flux renal) i obstrucció de les vies urinàries (càculs o tumors)
- Altres causes: Ingesta proteica elevada, augment del catabolisme per estrès o febre

La determinació es basa en la detecció de l'amoníac amb un elèctrode o del NAD⁺ per espectrofotometria. Normalment es detecten protons, però alguns laboratoris especialitzats poden detectar directament l'amoníac.



14.4.4.9 Creatinina

La creatinina és el producte de condensació de la creatina muscular. La creatinina és la prova de referència de la funció glomerular ja que és endògena, es produeix durant el dia de manera constant, té poques variacions amb la dieta i no es reabsorbeix ni es secreta a nivell del túbul nefronal. La creatinina filtrada pel glomèrul serà la creatinina expulsada per l'orina. Hi ha diferències segons el sexe, l'edat i de la superfície de la persona.



ACLARIMENT DE CREATINTINA: Prova de laboratori que es fa per monitoritzar el funcionament dels ronyons, la progressió d'una malaltia renal o la resposta terapèutica a un fàrmac. Serveix per valorar el grau d'insuficiència renal. L'aclariment serà alt quan es perd molta creatinina per l'orina i serà baix quan s'acumula al plasma com a conseqüència d'una mala filtració glomerular).

$$\text{aclariment (mL/min/sup.corporal)} = \frac{\text{O} * \text{V} * 1,73}{\text{P} * \text{A}}$$

V: flux de producció d'orina en 24 h (mL/min)

O: [creatinina]_{orina} mg/L

P: [creatinina]_{plasma} mg/L

1,73: superfície corporal estàndar (m²)

A: superfície corporal del pacient (pes, alçada, sexe)

valors en home: 85-125 mL/min/1,73

dona: 75-115 mL/min/1,73

L'aclariment de la inulina o de l'àcid paraaminohipúric també es poden fer servir per monitoritzar la funció glomerular i del transport tubular respectivament, però amb l'inconvenient que no son molècules endògenes.

14.4.5 Examen del sediment urinari

1. 10-15 mL d'orina a primera hora del matí
2. Centrifugació 1500-2000 rpm, 5 min
3. Observació del sediment al microscopi x40 (>10 camps)

Es poden trobar cèl·lules en orina, les quals no venen directament de la filtració glomerular de la sang sinó dels capil·lars que envolten els túbuls nefronals, els urèters o la bufeta.

14.4.5.1 Eritròcits

Podem trobar 1-2 eritròcits/camp. Això vol dir que 1 milió d'eritròcits es poden perdre diàriament sense que sigui anormal. Aquest nombre incrementa per:

- Glomerulonefritis
- Obstrucció de les vies urinàries: càlculs i tumors
- Malalties de les vies urinàries
- Causes extrarenals: hipertensió, tumors intestinals, alteracions de la coagulació.

14.4.5.2 Leucòcits

Normalment es troben 1-2 leucòcits, igual que eritròcits. Aquests valors augmenten per infeccions bacterianes (cistitis, prostatitis, ureatitis, glomerulonefritis). Generalment corresponen a polimorfonucleats (piuria).

14.4.5.3 Cèl·lules epiteliais

Aquestes cèl·lules provenen de la descamació de l'epiteli del tracte urinari, generalment de la bufeta urinària, on les cèl·lules són més grans (ϕ : 40-200 μm).

14.4.5.4 Cilindres

Els cilindres urinaris són estructures cilíndriques produïdes al túbol contornejat distal i túbuls col·lectors en certes patologies. Es poden detectar per microscopia. Es formen per precipitació de proteïnes, tant secretades per les cèl·lules tubulars renals (p.e mucoproteïna de Tamm-Horsfall) com les que provenen de la sang en condicions de proteïnúria (p.e albúmina). La formació de cilindres s'accentua en ambient que afavoreixen la desnaturalització proteica i precipitació com el pH àcid.

Cilindre granular= gel proteic + cèl·lules (eritròcits, leucòcits)

La formació de cilindres és normal fins a 5000/12h. Aquest nombre augmenta en casos de malaltia renal, esforç físic o febre.

14.4.5.5 Cristalls

Els cristalls es formen per la precipitació de sals a l'orina. Segons el pH, hi han molècules que son poc solubles. Els cristalls poden ser microscòpics o macroscòpics (càlculs).

- Precipitació en medi àcid: àcid úric, oxalat Ca²⁺, urat Na, urat Mg.
- Precipitació en medi alcalí: fosfat NH⁴⁺, fosfat Mg, fosfat Ca, Ca²⁺CO₃, biurat NH⁴⁺.

També és freqüent que es formin cristalls d'aminoàcids (cisteïna, tirosina, leucina). La presència de cristalls de cisteïna en orina s'anomena cistinúria.

15. Control del pH en el medi intern

15.1 Control del pH

És important mantenir el pH del líquid extracel·lular pels següents motius:

- Moltes reaccions cel·lulars són pH-dependents, és a dir, depenen del pH per a poder produir-se. Molts dels enzims implicats en aquestes reaccions són pH-dependents.
- Segons el pH que hi hagi al medi, l'estructura de les proteïnes es pot veure alterada. Això pot tenir repercussions i afectar a la velocitat catalítica dels enzims o a la velocitat de transport de metabòlits i ions en cas de que l'affectació tingui lloc sobre un transportador de membrana.
- Els receptors hormonals poden tenir afectacions a nivell del seu centre d'unió a hormones, la qual cosa pot tenir repercussions sobre la senyalització (nivell intra-cel·lular).
- Si s'altera la conformació estable de les proteïnes de transport plasmàtic, hi haurà un increment de la concentració de, per exemple, fàrmac lliure.

El pH sanguini, en condicions normals, és de 7.4 (amb la variació d'unes 4 dècimes per sobre o per sota).

15.2 Fonts d'àcids

El control del pH és essencial ja que hi ha factors que el poden alterar: presència de reaccions que generen àcids i de reaccions que generen bases, conduint a l'acidificació i a l'alcalinització del medi, respectivament. Cal destacar que hi ha moltes més reaccions que produeixen àcids. Això vol dir que les reaccions bàsiques, al ser minoritàries, no poden compensar les reaccions àcides. Per solucionar aquest problema, existeixen uns mecanismes tampó que permeten compensar i mantenir el pH estable.

Les possibles fonts d'àcid són les següents:

- 1 **Metabolisme general de compostos que contenen carboni.** El catabolisme d'aquests compostos dóna lloc a CO_2 i H_2O , al final, s'obté àcid carbònic. Per evitar l'acumulació de CO_2 i l'obtenció conseqüent d'àcid carbònic, aquest CO_2 és expulsat per la via respiratòria (àcid volàtil). Una manera ràpida de controlar la quantitat de CO_2 és controlant la respiració.
- 2 **Metabolisme parcial o incomplert de compostos orgànics per estats fisiològics transitoris o estats patològics.** Com a exemples tenim la producció d'àcid làctic durant la pràctica d'exercici físic anaeròbic o la producció d'altres àcids orgànics excretats per orina i femta, com l'àcid úric. La degradació de l'àcid làctic permet restablir el pH.

3 Catabolisme oxidatiu d'aminoàcids amb sofre. Alguns aminoàcids, com la cisteïna i la metionina, contenen sofre. La seva oxidació produueix H^+ i SO_4^{2+} (sulfat), que acaba donant lloc a àcid sulfúric, principal font de protons.

4 Degradació de compostos que contenen fosfats i generació conseqüent d'àcid fosfòric. Aquests compostos poden procedir de la hidròlisi d'èsters fosfòrics o de la degradació de fosfoproteïnes, nucleoproteïnes i fosfatids presents als aliments.

15.3 Fonts de bases i consum de protons

Les reaccions que produueixen bases, com ja hem dit abans, són minoritàries respecte les que produueixen àcids. A banda d'aquestes reaccions productores de bases, també hi ha unes que consumeixen protons.

1 Metabolisme de sals d'àcids orgànics (citrat Na^+ i lactat Na^+) procedents de la dieta que genera grups OH^- . Les dietes vegetarianes, riques en fruites i verdures, tenen com a risc habitual la producció d'alcalinitat sanguínia, ja que aquests aliments contenen una gran quantitat de citrat Na^+ (el seu metabolisme genera grups OH^-).

2 Consum o pèrdua de protons (H^+) per dos motius:

- Alteracions o defectes en el cicle de la urea durant el consum d'aminoàcids. Per exemple, la degradació d'alanina dóna lloc a CO_2 i urea. Si hi ha patologies que provoquen alteracions en el cicle de la urea, es pot produir una acumulació d'amoníac, que reacciona amb protons donant lloc a amoni, que es perd per orina (ja que està carregat i no és recaptat). Emmascaradament, aquest amoni s'ha emportat un protó associat a l'amoníac, per tant, és una manera de perdre els elements àcids.
- L'àcid clorhídric es fabrica a l'estomac. Vomitar és una forma d'expulsar àcid clorhídric i, per tant, protons.

15.4 Tampons fisiològics

Les reaccions àcides i bàsiques no es compensen ja que hi ha més producció de substàncies àcides (únicament la meitat dels àcids metabòlics són neutralitzats per les bases de la dieta). Aquest excés d'àcid pot ser compensat gràcies als tampons fabricats pel propi organisme. Existeixen tampons sanguinis i tampons intracel·lulars. Aquests tampons atrapen els protons o els grups hidroxil, fent que no hi hagi descompensacions en el pH. Cal que hi hagi un equilibri que es desplaci cap a un costat o cap a un altre en funció de la concentració de protons o hidroxils que hi hagi en aquell moment (si hi ha molts protons, l'equilibri es desplaça per buscar l'alcalinitat, i viceversa).

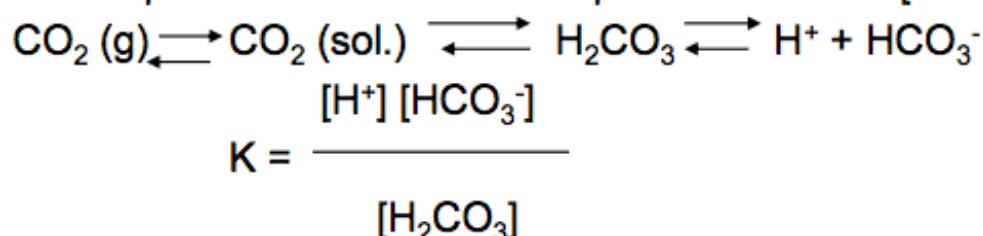
El tampó ideal és aquell que té un pK similar al pH que es vol controlar, amb una unitat per sobre o per sota, com a molt.

- L'àcid fosfòric és el tampó intracel·lular principal (NO és sanguini!) amb un pK proper a 7. Presenta tres hidrògens i, per tant, tres equilibris possibles.
- El bicarbonat i el CO₂ són els dos tampons sanguinis principals. Presenten un pK allunyat de 7.4, però hi ha una sèrie de paràmetres que fan que sigui el tampó sanguini ideal. L'espècie àcida es el CO₂, controlable per la respiració i l'espècie bàsica és el bicarbonat, controlable per orina.

15.4.1 Amortidor àcid carbònic/bicarbonat

Aquest tampó és el principal tampó sanguini, tot i que el seu pK és de 6.1. En aquest cas, l'àcid conjugat és l'àcid carbònic i la base conjugada és el bicarbonat. El ritme respiratori permet controlar la concentració d'àcid carbònic i la recuperació tubular del nefró permet controlar el bicarbonat.

Fem una ullada la següent reacció:



Una part del CO₂ gasós es dissol en els líquid corporals (CO₂ sol). Una part d'aquest CO₂ dissolt en els líquids corporals interacciona amb l'aigua donant lloc a àcid carbònic, que finalment genera protons i bicarbonat.

L'àcid carbònic es pot expressar com la fracció de CO₂ que es troba dissolta i que interacciona amb l'aigua, obtenint la següent equació (equació de Henderson- Hasselbach).

$$K_2 = \frac{[\text{H}^+] [\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2 \text{diss.}]} \quad \text{pH} = \text{pK}_2 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2 \text{diss.}]}$$

A 38°C la pK d'aquest amortidor és de 6.1 i tenint en compte que el pH és de 7.4 només hem de substituir a l'equació de Henderson-Hasselbach.

El quocient de [HCO₃⁻] / [CO₂ dissolt] dóna un valor de 20.

$$\text{A } 38^\circ\text{C} \quad \text{pK}_2 = 6,10$$

$$\text{sang arterial} \rightarrow 7,4 - 6,1 = \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2 \text{diss.}]}$$

$$[\text{HCO}_3^-] = 20 * [\text{CO}_2 \text{diss.}]$$

Per una altra banda, la llei de Henry ens diu que:

$$[\text{CO}_2 \text{ diss.}] = \alpha * p\text{CO}_2$$

Se sap que a 38°C , α és 3×10^{-5} i que la $p\text{CO}_2$ als pulmons és de 40 mmHg, per tant, si substituïm aquests valors en la llei de Henry obtenim que:

$$[\text{CO}_2 \text{ dissolt}] = 1.2 \text{ mM} // [\text{HCO}_3^-] = 24 \text{ mM.}$$

Doncs bé, si el quocient de $[\text{HCO}_3^-]/[\text{CO}_2 \text{ dissolt}]$ no dóna un valor de 20, vol dir que hi ha alguna alteració en el pH.

- Si el quocient és superior a 20, el pH serà superior a 7.4 i tindrem alcalosi (excés de bases). L'alcalosi pot ser deguda a un excés de $[\text{HCO}_3^-]$ o a un dèficit de $[\text{CO}_2 \text{ dissolt}]$.
- Si el quocient és inferior a 20, el pH serà inferior a 7.4 i tindrem acidosis (excés d'àcids). L'acidosis pot ser deguda a un excés de $[\text{CO}_2 \text{ dissolt}]$ o a un dèficit de $[\text{HCO}_3^-]$.

Hi ha elèctrodes selectius que permeten determinar les concentracions de H^+ , CO_2 i HCO_3^- . Coneixent dos dels següents valors (pH, HCO_3^- , CO_2 dissolt, $p\text{CO}_2$), es poden calcular els altres. Aquí trobem dues representacions gràfiques en què partint de dos d'aquests paràmetres, s'ha pogut obtenir un tercer.

La mostra de sang s'obté de forma anaeròbica amb xeringa de vidre. Als pulmons hi ha una pressió de 40 mmHg i a l'aire, la pressió no arriba a 1. Per tant, si hi ha un contacte directe entre aquests dos sistemes amb pressures tan diferents, el CO_2 s'escapa i la mostra sanguínia es torna bàsica, ja que el component àcid (CO_2) ha marxat. Això podria donar lloc a l'obtenció de falsos positius d'alcalosi (el resultat indica que hi ha alcalosi, però realment no n'hi ha).

Com ja sabem, la sang arterial és rica en oxigen i la sang venosa és rica en CO_2 . Tenint en compte això, la sang venosa hauria de ser molt més àcida que l'arterial (si ens fixem en la taula, això no és així ja que els valors són molt similars!). La presència de tampons fisiològics fa que la sang venosa no sigui tan àcida i que la $p\text{CO}_2$ sigui similar a la que trobem en la sang arterial. Com a resultat, la sang venosa és únicament dues centèsimes més àcida que l'arterial.

La sang arterial es troba molt oxigenada respecte la sang venosa. Això no suposa cap problema ja que l'oxigen no contribueix ni en l'aportació de protons ni en la de grups hidroxils.

Paràmetre	Sang arterial	Sang venosa
pH	7,35-7,45	7,33-7,43
pCO ₂ mm	35-45	38-50
pO ₂ mm	80-100	30-50
HCO ₃ ⁻ mM	22-26	23-27

Per controlar la concentració de diòxid de carboni utilitzem la respiració:

- Si ens falta CO₂ → hipoventilem per tal d'obtenir-ne més.
- Si ens sobra CO₂ → hiperventilem per tal d'excretar l'excés.

Per controlar la concentració de bicarbonat utilitzem el sistema urinari.

- Si ens falta HCO₃⁻ → reabsorció als túbuls proximals.
- Si ens sobra HCO₃⁻ → orinem.

A part de mantenir el pH sanguini, és essencial controlar també el pH intracel·lular. Aquest amortidor àcid carbònic/bicarbonat únicament té utilitat a nivell sanguini, però no en té a nivell intracel·lular.

15.4.2 Amortidor fosfat

La concentració de monohidrogenfosfat en plasma és de 2mM, aproximadament.



Té tres equilibris possibles: amb un hidrogen (monohidrogenfosfat), amb dos hidrògens (dihidrogenfosfat) i amb cap hidrogen.

El pK és de 6.8, i s'apropa més al pH sanguini que l'amortidor àcid carbònic/bicarbonat.

En aquest cas, per tal que el pH sanguini sigui de 7.4, s'ha de mantenir un quoci-ent [HPO₄²⁻] / [H₂PO₄⁻] de 4. De la mateixa manera que abans, només cal substituir en l'equació de Henderson-Hasselbach.

$$K = \frac{[\text{H}^+] [\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \rightarrow 7,4 - 6,8 = \lg \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \rightarrow [\text{HPO}_4^{2-}] = 4 * [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$$

Sabent que la concentració de monohidrogenfosfat és de 2 mM, podem calcular la de dihidrogenfosfat: 0.5 mM.

És un tampó amb menor capacitat tamponadora que l'anterior ja que les seves espècies es troben en concentracions molt baixes. Però com que totes les molècules que contenen grups fosfats i que es troben dins de la cèl·lula intervenen en l'equilibri, a nivell intracel·lular és el millor tampó. No ho és a nivell sanguini!

Algunes d'aquestes molècules amb grups fosfat localitzades intracel·lularment i que intervenen en l'equilibri són: èsters triosa i hexosa, glicerofosfats, fosfolípids i fosfoproteïnes.

15.4.3 Proteïnes intracel·lulars

Les proteïnes tenen grups ionitzables que es poden protonar i desprotonar i, per tant, intervenen en el control del pH. Presenten una gran importància com a tampons intracel·lulars.

15.4.4 Hemoglobina

És tracta d'un tampó plasmàtic. La desoxigenació de l'hemoglobina als teixits incrementa l'afinitat de certs grups d'aquesta molècula pels hidrògens (H^+). L'hemoglobina pot controlar els H^+ generats a l'eritròcit a través de dos mecanismes:

- Per compensació de càrrega. L'hemoglobina té àcids carboxílics que poden agafar protons i tamponar-se.
- Per pèrdua de càrrega. La histidina no té càrrega i quan capta un protó es carrega, es protona, es torna positiva.

15.4.5 Amortidor ossi

- Medi àcid. Els ossos poden captar els protons dissolent els carbonats i els fosfats que formen part d'aquestes estructures. Un medi àcid provoca una pèrdua de massa òssia.
- Medi bàsic. Incrementa la precipitació de carbonats i fosfats, fent desaparèixer els protons de la circulació.

15.5 Mecanismes de compensació del pH

L'increment de protons es compensa per mecanismes que produeixen bases. Per contra, la baixada de protons es compensa per mecanismes que produeixen àcids.

L'objectiu és obtenir una relació $[HCO_3^-] / [H_2CO_3]$ de 20. Per aconseguir aquest objectiu existeixen tres mecanismes: metabòlics, respiratoris i renals.

Els mecanismes metabòlics acostumen a aparèixer a llarg termini, en situacions cròniques. Per contra, els mecanismes respiratoris i renals apareixen de forma ràpida, immediata.

15.5.1 Mecanismes metabòlics

Consisteixen en l'activació de reaccions enzimàtiques que produeixen o consumeixen protons.

15.5.2 Mecanismes respiratoris

Si la concentració de bicarbonats incrementa, el quocient $[HCO_3^-] / [CO_2 \text{ dissolt}]$ serà superior a 20. Conseqüentment, el pH serà superior a 7.4 i ens trobarem en una situació d'alcalosi (OH^- elevats). Si l'increment de OH^- arriba al líquid cefalorraquidi, les neurones inspiratòries quedaran inhibides provocant hipoventilació. Quan s'hipoventila, s'incrementa la retenció de CO_2 . Per tant, el denominador (CO_2 dissolt) augmenta i es restableix el pH.

L'acidosi pot ser produïda per una disminució de la concentració de bicarbonat o per un excés de CO_2 dissolt.

Si la concentració de bicarbonats disminueix, el quocient $[HCO_3^-] / [CO_2 \text{ dissolt}]$ serà inferior a 20.

Conseqüentment, el pH serà inferior a 7.4 i ens trobarem en una situació d'acidosi (H^+ elevats). Si l'increment de H^+ arriba al líquid cefalorraquidi, les neurones inspiratòries seran estimulades provocant hiperventilació. Quan s'hiperventila, s'incrementa l'eliminació de CO_2 . Per tant, el denominador (CO_2 dissolt) disminueix i es restableix el pH.

15.5.3 Mecanismes renals

Podem tenir 2 ocasions:

- **Acidosi:** ens interessa augmentar l'excreció de protons en orina i disminuir l'excreció de bicarbonat en aquest sistema.
- **Alkalosi:** ens interessa augmentar l'excreció de bicarbonat en orina i disminuir l'excreció de protons en aquest sistema.

Aquestes dues situacions fan variar el pH de l'orina des de 4.5 fins a 8.2. Davant aquests canvis de pH, el mecanisme final de defensa és el ronyó.

Els mecanismes de regulació de l'excreció de protons i bicarbonat:

- **Intercanvi Na^+/H^+ .** La bomba de $Na^+/K^+/H^+$ es localitza als tubs distal i col·lector i es troba controlada per l'aldosterona. Aquesta hormona és alliberada quan falta Na^+ . Quan es necessita Na^+ captem Na^+ i, a canvi, s'allibera K^+ o H^+ .

Si hi ha acidosi, s'excreten els protons (i no els potassis!). Si hi ha alkalosi, s'alliberen els potassis (i no protons!). Si hi ha hipertotassèmia, els potassis competeixen amb els protons i això dificulta la recuperació de l'acidosi, ja que s'excreten potassis i no protons (o s'excreten protons però no els suficient com per restablir el pH).

-
- **Excreció renal d'amoni (NH_4^+).** L'excreció renal té lloc al tub distal. Les cèl·lules del tub distal s'encarreguen de degradar la glutamina (Glu) generant amoni. L'amoni no pot ser excretat de la cèl·lula tubular si no és a través d'un transportador. Per poder sortir de les cèl·lules tubulars, l' NH_4^+ es descompon en amoníac (NH_3) i protons. L'amoníac SÍ és capaç de creuar la membrana d'aquestes cèl·lules. En orina, l'amoníac ràpidament reacciona amb protons generant amoni → producte que és detectat en orina.
 - **Reabsorció de bicarbonat (HCO_3^-).** Si els protons de l'orina, procedents de la bomba de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{H}^+$, troben bicarbonat, formen àcid carbònic que acabarà generant CO_2 i aigua. El CO_2 produït serà absorbit per les cèl·lules tubulars i a través de l'anhidrasa carbònica donarà lloc a àcid carbònic que es descompon en protons i bicarbonat.

15.6 Alteracions de l'equilibri àcid-base

Tipus d'afeccions clíniques:

- Trastorns que afecten a la concentració de bicarbonat: patologies **METABÒLIQUES**.
- Trastorns que afecten a la concentració de diòxid de carboni: patologies **RESPIRATORIES**. Si l'afectació té lloc directament sobre els protons també rep aquest nom.

Segons el resultat de l'equilibri:

- **ACIDOSI:** trastorn per un increment dels àcids o per una disminució de les bases. El pH és inferior a 7.35.
- **ALCALOSI:** trastorn per una disminució dels àcids o per un increment de les bases. El pH és superior a 7.45.

A continuació parlarem del concepte de GAP o déficit d'anions. El GAP es calcula a partir de paràmetres analitzats en una mostra de sang.

Els ions més comuns en sang són el SODI, el POTASSI, el CLORUR i el BICARBONAT. Els dos primers són cations i els dos últims són anions.

En una situació normal, la diferència entre cations i anions hauria de ser zero, però la realitat no és aquesta. A part dels dos anions que hem comentat (clorur i bicarbonat), hi ha d'altres que no es consideren però que també es troben presents:

- Fosfats i sulfats procedents del metabolisme tissular.
- Lactat i cetoàcids procedents de l'oxidació incomplerta de carboni i àcids grassos, respectivament.
- Proteïnes, generalment carregades negativament. Implicació important de l'albümina.

El GAP resultant és precisament per no haver considerat tots aquests anions/molècules carregades negativament!

En una situació patològica o d'estrès, aquesta diferència encara es troba més allunyada de zero. Per exemple, quan fem una activitat física anaeròbica, la producció de lactat incrementa. Si el lactat no es considera, el GAP encara serà més gran, ja que en aquesta situació la producció de lactat és molt considerable!

15.6.1 Acidosi metabòlica

En aquest cas tenim el pH per sota de 7.35 i no hi ha excés de CO_2 , sinó que tenim una alteració amb la concentració de bicarbonat.

- **Amb GAP normal:** Si el GAP és normal, l'acidosi metabòlica pot ser deguda a diferents motius:

1. Pèrdua de bicarbonat (HCO_3^-). La pèrdua de bicarbonat pot tenir lloc a nivell renal o a nivell digestiu. A nivell renal: el túbul proximal es troba danyat de manera que el HCO_3^- no s'absorbeix suficientment. El dany al túbul proximal pot ser degut a una acidosi tubular proximal aïllada o associada al síndrome de Fanconi, a una acidosi per dilució (en què hi ha un increment del volum plasmàtic), a inhibidors de l'anhidrasa carbònica o a un hiperparatiroidisme. A nivell digestiu: incrementen les secrecions de HCO_3^- en el pàncrees i en budell prim, generalment per diarrea o per un drenatge del budell prim.
2. Insuficient regeneració de HCO_3^- pel túbul distal. Això pot ser degut a una acidosi tubular distal (les cèl·lules del tub distal que envolten el nefró s'acidiifiquen sent incapaces d'excretar protons; únicament poden llençar potassi), a un hipoaldosteronisme o a l'administració de diürètics (com l'espironolactona).
3. Substàncies productores de H^+ a la dieta. Hi ha sals acidificants que formen HCl en el catabolisme, creant un ambient àcid. Algunes d'aquestes sals són la lisina (Lys), l'arginina (Arg) i la histidina (His).

- **Amb GAP elevat:**

1. Excreció reduïda d'àcids inorgànics, com a conseqüència d'una insuficiència renal.
2. Gran producció d'àcids orgànics. L'excessiva producció d'àcids orgànics pot ser deguda a una acidosi làctica o a una cetoacidosi.

Acidosi làctica. Es pot produir per una hipòxia tissular deguda a un xoc, a una anèmia greu, a una intoxicació amb CO o a un increment de l'exercici

físic. També pot ser produïda per ingestió d'etanol, per una leucèmia o per un dèficit congènit d'enzims implicats en el metabolisme.

Cetoacidosi. Deguda a alcoholisme, diabetis o a una situació de dejuni.

3. Ingesta de certs productes, com ara etilenglicol, metanol o salicilats. Existeixen una sèrie de mecanismes compensatoris per disminuir l'acidosi metabòlica. Podem trobar mecanismes compensatoris respiratoris o mecanismes compensatoris renals. Respecte els mecanismes compensatoris respiratoris. Hiperventilació per tal d'eliminar el CO_2 . Això fa incrementar la concentració de bicarbonat i, per tant, el pH.

Respecte els mecanismes compensatoris renals. Incrementa l'eliminació d'àcids a través de la bomba de $\text{Na}^+/\text{H}^+/\text{K}^+$. També incrementa la formació d'amoni (NH_4^+) en orina i, per tant, augmenta l'eliminació de protons en forma d'amoniàc (NH_3). Per últim, hi ha una major reabsorció de bicarbonat. Destacar que l'eliminació d'àcids a través de la bomba de $\text{Na}^+/\text{H}^+/\text{K}^+$ pot ser dificultada per una hiperpotassèmia, ja que el potassi, que es troba en excés és excretat i els H^+ s'acumulen, ja que no poden sortir (hi ha una competició entre els K^+ i els H^+).

15.6.2 Alcalosi metabòlica

En aquest cas tenim el pH per sobre de 7.45 i hi ha una alteració amb la concentració de bicarbonat. Aquesta patologia pot ser deguda als següents motius:

- 1) **Administració excessiva de bases**, com per exemple carbonat sòdic, citrat en transfusions i antiàcids gàstrics.
- 2) **Contracció del volum plasmàtic amb pèrdua gastrointestinal de H^+** . Dues situacions que comporten la contracció del volum plasmàtic i la pèrdua gastrointestinal de protons:
 - La pèrdua d'àcid gàstric per la presència de vòmits continuats (pèrdua d' HCl). És a dir, vòmits \rightarrow pèrdua de HCl .
 - Una alcalosi congènita amb diarrea, també anomenada clororrea. És tracta d'un problema hereditari. Els transportadors de clorur del budell no funcionen, de manera que aquest ió no es pot captar. Com que el clorur no es pot captar, és excretat en forma de diarrea. Com a conseqüència, els nivells de clorur al budell disminueixen. Per poder mantenir la neutralitat, cal aturar els transportadors de bicarbonat: s'intenta no excretar bicarbonat per tal de compensar les càrregues negatives dels clorurs que no es poden captar. Això genera alcalosi.
- 3) **Contracció del volum plasmàtic amb pèrdua renal de H^+** . Tres situacions que comporten la contracció del volum plasmàtic i la pèrdua renal de protons:

- Un tractament prolongat amb diürètics.
- Una situació de posthipercàpnia. Prèviament a la posthipercàpnia, ens trobem en situació de hipercàpnia que implica: augment de CO_2 que genera acidosi. Es posen en marxa mecanismes per captar bases. Si la hipercàpnia s'atura de cop, en la posthipercàpnia por haver una captació excessiva de bases. Això succeeix en casos de xocs o ofegaments.
- Un cas d'hipopotassèmia greu. Quan es necessiti Na^+ , la bomba de $\text{Na}^+/\text{H}^+/\text{K}^+$ llançarà protons, ja que els potassis es troben disminuïts.

4) Hiperfunció suprarenal. L'administració exògena de mineralocorticoids i l'hiperaldosteronisme poden conduir a aquesta hiperfunció suprarenal, al igual que els dos síndromes comentats a continuació:

- Síndrome de Cushing. Patologia relacionada amb el cortisol.
- Síndrome de Bartter. Problema congènit que afecta als transportadors de Na^+ de la nansa ascendent de Henle. En aquest síndrome el que succeeix és que s'activa la bomba de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{H}^+$ al túbul distal, que per poder captar sodi, llença protons i potassi, donant lloc a una alcalosi.

5) Altres. Transfusions sanguínies consecutives.

Existeixen una sèrie de mecanismes compensatoris. Podem trobar mecanismes compensatoris respiratoris o mecanismes compensatoris renals. Respecte els mecanismes compensatoris respiratoris. L'augment del pH provoca la inhibició del centre respiratori. Això fa que hipoventilem. D'aquesta manera augmenta la retenció del CO_2 , fent disminuir el numerador. Aquest mecanisme compensatori té una limitació: si la pressió parcial de diòxid de carboni no supera els 55-60 mmHg, es pot produir una caiguda important de la pressió parcial de l'oxigen arterial.

Respecte els mecanismes compensatoris renals. Si hi ha alcalosi, no s'eliminen àcids per la bomba de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{H}^+$ sempre i quan hi hagi K^+ disponible, de manera que també hi ha una limitació. També es pot disminuir la reabsorció de bicarbonat i la formació de NH_4^+ .

En cas d'alcalosi metabòlica, és necessària l'administració de K^+ . En cas contrari, pot passar el següent:

- Quan hi ha alcalosi prolongada, si no hi ha suplements orals de potassi, la hipopotassèmia causa un alliberament de protons en orina. Com a resultat, l'orina apareix àcida → acidúria paradoxal (l'orina apareix àcida, però realment ens trobem en una situació d'alcalosi!).

15.6.3 Acidosi respiratòria

Hi ha una interferència en la capacitat pulmonar per eliminar el CO₂ que fa incrementar la pressió parcial del diòxid de carboni (hipercàpnia) produint, finalment, acidosi respiratòria.

1) Factors que inhibeixen el centre respiratori.

- Fàrmacs (narcòtics, barbitúrics).
- Infeccions (encefalitis, meningitis).
- Traumatismes, tumors i degeneració del SNC.
- Estats de coma.

2) Factors que afecten els pulmons.

- Obstrucció pulmonar crònica.
- Fibrosi pulmonar.
- Estats asmàtics.
- Infeccions pulmonars greus.
- Pneumotòrax i vessament pleural.

3) Altres

- Laringospasmes.
- Tumors en vies respiratòries superiors.
- Greus distensions abdominals.
- Obesitat extrema.
- Trastorn del somni (apnea nocturna)

Existeixen una sèrie de mecanismes compensatoris. Podem trobar mecanismes compensatoris respiratoris o mecanismes compensatoris renals. Són iguals que els utilitzats durant l'acidosi metabòlica.

Respecte els mecanismes compensatoris respiratoris. Són poc eficients. Rarament funcionen perquè els problemes són respiratoris.

Respecte els mecanismes compensatoris renals. Augmenta l'eliminació d'àcids amb l'antiport Na⁺/H⁺. Augmenta l'eliminació en forma d'amoni. Incrementa la reabsorció de HCO₃⁻.

15.6.4 Alcalosi respiratòria

Aquesta patologia és provocada per una hiperventilació, que fa incrementar la freqüència, la qual cosa comporta la pèrdua o la baixada de diòxid de carboni. L'eliminació incrementada de diòxid de carboni provoca hipocàpnia, per la disminució de la pressió parcial del diòxid de carboni. A més, si el denominador disminueix, el numerador (concentració de bicarbonat) incrementa. Això fa incrementar el pH.

1) Factors que estimulen el centre respiratori.

- Ansietat/Histèria.
- Accidents vasculars cerebrals (insuficiència).
- Septicèmia per bacteris gram negatius.
- Encefalopatia metabòlica.
- Infeccions del SNC.
- Hipòxia greu (per asma, pneumònia, grans alçades).
- Hipotensió.
- Compressió respiratòria a una acidosi metabòlica.
- Progesterona alliberada durant l'embaràs.

2) Administració de fàrmacs.

- Catecolamines: ansietat, estrès.
- Fàrmacs: salicilats, aminofil·lina.
- Nicotina.

3) Ventilació mecànica excessiva.

Es compensa amb tampons tissulars o renals que disminueixen l'eliminació d'àcids amb l'antiport Na^+/H^+ , disminueix la formació de NH_4^+ i disminueix la reabsorció HCO_3^- .

Per últim comentar que en casos d'acidosi, els clorurs en orina es troben incrementats. En casos d'acidosi, el pH de l'orina baixa per compensació renal. Hi ha reabsorció de bicarbonat, la qual cosa fa que augmenti la càrrega negativa: els transportadors de clorur s'aturen ja que si no tindríem un excés de càrrega negativa i aquests llavors es perden per orina.

16. Control dels electròlits i l'aigua

16.1 Aigua i ions corporals

En el nostre cos l'aigua és la molècula més abundant i representa un 60% del pes corporal. La podem trobar repartida en:

- Líquid intracel·lular (LIC): representa un 40% d'un adult normal.
- Líquid extracel·lular (LEC): representa un 20% d'un adult normal i es troba dividit en líquid plasmàtic (5%) i intersticial (15%).

Ha d'haver un balanç nul entre l'aigua que entra i la que surt en un adult sa. Incorporarem aigua per ingestió i per catabolisme oxidatiu, i en perdrem per orina (principalment), suor i vapor espirat.

El catió més important és el Na^+ , que és també el més abundant en el LEC. En el LIC, en canvi, el catió més abundant és el K^+ , seguit del Mg^{2+} . Pel que fa a anions, el més abundant és el Cl^- en el LEC i el HPO_4^{2-} en el LIC.

Les membranes cel·lulars són permeables a aigua i aquesta es mourà segons on estiguin distribuïts els ions per mantenir la pressió osmòtica. Per tant, el Na^+ i el K^+ condicionen la distribució de l'aigua.

En conseqüència, el cos per regular la distribució d'aigua, regularà la distribució Na^+/K^+ amb la bomba Na^+/K^+ que consumeix ATP per llençar 3 Na^+ a fora i entrar 2 K^+ . Això genera una diferència de potencial a la membrana cel·lular, fent que el medi extracel·lular sigui més positiu que l'intradcel·lular.

Altres elements que també contribueixen a la pressió osmòtica són les proteïnes i la glucosa.

16.2 Regulació de l'osmolalitat

L'espai intracel·lular: manté el seu contingut iònic constant gràcies a l'activitat metabòlica de transportadors iònics. Canvis en el LEC faran que les cèl·lules captin o alliberin aigua.

Les alteracions metabòliques, sobretot a nivell de transportadors, faran que no regulem bé la permeabilitat selectiva de les membranes i es pot arribar a comprometre la viabilitat cel·lular.

En l'espai extracel·lular, el balanç d'aigua/ions es produeix bàsicament gràcies a la ingestió/orina. La regulació de l'osmolaritat i del volum del LEC la realitzen 3 estructures.

16.2.1 Hipotàlem

Controla la ingestió d' H_2O a través de la sensació de set quan falten líquids, i regula també l'eliminació d' H_2O produint vasopressina (ADH).

L'ADH viatja per les neurones (transport neuronal amb neurofisina) fins a la hipòfisi posterior, i es secreta a la sang. Arriba al ronyó on actua activant les aquaporines, fent que retinguem més aigua.

Per tant, si falta aigua, s'incrementa la sensació de set i es secreta més ADH. Com sap l'hipotàlem que falta aigua? Per les següents situacions:

- **Hipovolèmia:** una disminució del volum intravascular genera una baixada de pressió dins els vasos, que és detectada pels baroreceptors (receptors de pressió).
- **Augment de l'osmolalitat del LEC:** si falta aigua, augmenta l'osmolalitat i els osmoreceptors estimularan l'hipotàlem fent que produueixi set i ADH.
- **Angiotensina II:** estimula directament l'hipotàlem.

16.2.2 Renina-angiotensina-aldosterona

Si falta aigua, baixa la pressió i això ho detecta el glomèrul; també hi pot haver una estimulació simpàtica renal o que hi hagi poc Na al túbul distal (al túbul proximal els transportadors no es saturen i per això baixa tant el Na).

Per tot això, el ronyó allibera renina. Hi ha angiotensinogen circulant al plasma sintetitzat pel fetge, i es fabrica angiotensina II. L'angiotensina II té receptors als vasos, al ronyó i a l'hipotàlem. Al còrtex adrenal provoca l'alliberament d'aldosterona i afavoreix la captura de sodi i aigua. A l'hipotàlem actua al centre de la set i secretant ADH. Als vasos sanguinis actuarà provocant vasoconstricció per tal d'arreglar el problema de la baixa pressió.

16.2.3 Pèptid natriurètic atrial

Actua en el cas contrari. Si augmenta el volum del LEC, disminueix l'osmolalitat i augmentarà la pressió auricular, i això estimularà la secreció d'aquest pèptid. Les seves funcions son augmentar la velocitat de filtració glomerular i augmentar l'excreció renal d' H_2O i Na^+ .

Les membranes dels vasos són permeables a aigua i ions, però no a proteïnes. Això vol dir que el LIC té la mateixa composició en ions que el LEC però sense proteïnes. Això és essencial, ja que la pressió osmòtica que exerceixen les proteïnes dins dels vasos evita que el líquid surti fora en rebre la pressió hidrostàtica del cor.

16.3 Alteracions hidroelectrolítiques

16.3.1 Aigua

Es dóna quan hi ha un déficit o excés d'aigua. Es determina normalment a 'ull' observant la presència d'edemes quan hi ha excés, o la pell molt enganxada, venes marcades, etc en cas de deshidratació.

-
- ↑ retenció H_2O i Na^+ total = ct. → hipotonicitat del LEC
 - ↑ pèrdua H_2O i Na^+ total = ct. → hipertonicitat del LEC

Quan el diagnòstic és d'hiponatrèmia, cal investigar si el problema està en el sodi o en un augment de l'aigua. I el contrari passa amb hipernatrèmia, que podria estar causada per una disminució de l'aigua.

16.3.2 Sodi

Es determina fent servir elèctrodes selectius o espectrofotometria de flama.

16.3.2.1 Hiponatrèmia

Es determina també la osmolalitat de la mostra, i segons això:

1. Normal (isotònica)
 - Hiperproteïnèmia o hiperlipidèmia: És una pseudohiponatrèmia. Les macromolècules no alteren gaire la pressió osmòtica però sí que alteren el volum extracel·lular.
 - Perfusion isotònica sense Na
2. Alta (hipertònica): Si hi ha un excés de glucosa, provoca que augmenti la pressió osmòtica. Augmenta el LEC gràcies a l'aportació de LIC; i el LEC es dilueix parcialment, i també es dilueix el Na^+ .
3. Baixa (hipotònica): És la més freqüent i es pot classificar segons el volum extracel·lular:
 - Hipervolèmia: Presència d'edemes. L'individu reté molta aigua i Na (menys que l'aigua que es reté). Causes:
 - Insuficiència cardíaca congestiva
 - Insuficiència renal crònica (nefrosi)
 - Dany hepàtic amb hipoproteïnèmia
 - Isovolèmia: Normalment s'acompanya per pèrdues renals de Na^+ . Pot ser deguda a:
 - Alteració ADH
 - Fallada en la resposta d'ADH
 - Tractament amb diürètics (compensat amb aigua del LIC)
 - Hipovolèmia: Pèrdues d'aigua i Na. Deshidratació amb una disminució de Na total. Degut a:

-
- Pèrdues renals de Na
 - * Nefropatia (nefritis, acidosi tubular, necrosi tubular)
 - * Tractament amb diürètics, insulinam adrenalina
 - Pèrdues extarrenals de Na. Normalment en sèrum augmenta la urea, la proteïna i l'hematócrit.
 - * Tracte gastrointestinal (vòmit, diarrea)
 - * Pell (cremades, suor)

L'acidosi tubular fa que la bomba no pugui llençar protons, i hagi de llençar K^+ per poder captar Na^+ . Però tens baix K^+ , llavors és quan es generarà un problema amb el sodi.

16.3.2.2 Hipernatrèmia

Augmenta el Na (concentració), i per tant la osmolalitat del plasma. Es classifica segons el volum extracel·lular:

- **Hipovolèmica:** Pèrdua de líquids hipotònics (deshidratació). Es produeix hipernatrèmia, hipovolèmia, deshidratació i pèrdua de sodi total. La pèrdua d'aigua és superior a la de Na^+ .
 - Renal: La osmolalitat de la orina és inferior a la del plasma. Pot estar causada per:
 - * Diüresi osmòtica per hiperglucèmia
 - * Insuficiència renal amb poliúria: Dèficit d'ADH
 - * Insuficiència adrenal amb poliúria. Dèficit d'aldosterona, que actua sobre la bomba $Na/K^+/H$.
 - Extrarenal: La osmolalitat de la orina és superior a la del plasma. Degut a pèrdues d'aigua per la pell i el tracte gastrointestinal. Es compensa amb l'excreció d'un menor volum d'orina hipertònica.
- **Euvolèmica:** Pèrdua moderada pura d'aigua. En part compensada pel LIC.
 - Renal: La osmolalitat de la orina és inferior a la del plasma. Excreció f'un volum major d'orina hipotònica. Degut a la diabetis insípida. Pot ser:
 - * Neurogènica: Secreció disminuïda d'ADH.
 - * Nefrogènica: Resposta renal a l'ADH disminuïda.
 - Extrarenal: La osmolalitat de la orina és més gran que la del plasma. Degut a la pèrdua inadequada d'aigua per via gastrointestinal, cutània o respiratòria.
- **Hipervolèmica:** Guany d'aigua i Na^+ . Causat per hiperaldosteronisme crònic: augmenta la retenció de Na i per tant també d'aigua. Pot ser deguda a la perfusió amb excés de Na.

16.3.3 Potassi

El K^+ en plasma suposa un 2% del potassi total. És més abundant a l'interior de les cèl·lules, pot indicar mort cel·lular. El túbul distal llença K^+ o protons quan ens interessa captar Na^+ . Llençarà un o altre en funció de quin hi hagi més. Llavors si hi ha molts protons, es centrarà en llençar-los a fora i s'acumularà el K^+ . Per això les classificarem segons el pH (Segons HCO_3^- plasmàtic).

Si LEC és àcid, disminueix l'entrada de K^+ al LIC. Si LEC és bàsic, augmenta el K^+ al LIC.

Les alteracions es classifiquen segons el pH de la sang.

16.3.3.1 Hipopotassèmia

- **Bicarbonat baix:**

- Pèrdua renal: L'acidosi tubular és l'acidificació de les cèl·lules del túbul distal. La bomba de $Na^+/K^+/H^+$ no treu protons i passen a la sang, llavors es secreta K^+ a la orina. L'alcalosi respiratòria és quan s'elimina CO_2 per la respiració degut a una hiperventilació. El ronyó secreta K^+ per compensar.
 - Pèrdua extrarrenal: Diarrea aguda o fistula pancreàtica.

- **Bicarbonat alt o normal:**

- Pèrdua renal:
 - * Alcalosi metabòlica: Excés de HCO_3^- . Es recuperen protons al ronyó però es secreta K^+ .
 - * Excés d'aldosterona: la bomba llença més K^+ i H^+ .
 - Pèrdua extrarrenal: Diarrea crònica, abús de laxants, adenoma de colon...

16.3.3.2 Hiperpotassèmia

- **Bicarbonat normal:** Degut a un déficit d'aldosterona. La distribució del K^+ entre els compartiments pot ser errònia degut a un déficit d'insulina, necrosi tissular, cremades, leucocitosi.
- **Bicarbonat alt:** Acidosi respiratòria crònica. El ronyó treu protons per Na^+ , i augmenta el K^+ al plasma. Es captaran molts HCO_3^- ja que tindrà molts H^+ en orina.
- **Bicarbonat baix:** Acidosi metabòlica. Augmenta el GAP aniónic, es perden protons i es reté K^+ .

16.3.4 Clor

Alteracions al LEC paral·leles al Na^+ .

16.3.4.1 Hipoclorèmia

Dèficit de Cl^- no associat a Na^+ . Quan hi ha excés de secrecions gàstриques (vòmits). Es produeix alcalosi metabòlica, i es llença potassi, pel que va associada a hipopotassèmia.

La clororrea és una malaltia en que no funcionen els transportadors de Cl^- de l'intestí.

16.3.4.2 Hiperclorèmia

Nosaltres fabriquem HCl i en situacions com vomitar molt, aquest baixa i perdem Cl^- . En aquest cas també estaríem perdent protons i tindríem certa alcalosi. Això, produirà també hipopotassèmia ja que la bomba voldrà conservar H^+ i llençarà K^+ .

Un altre cas és la diarrea sumada a alcalosi congènita, que és coneix com a clororrea. Produïda per:

- Acidosi metabòlica: Degut a insuficiència renal crònica, acidosi tubular o inhibidors de l'anhidrasa carbònica. Si es perden HCO_3^- , es reabsorbeix Cl^- per compensar la pèrdua de càrregues negatives.
- Alcalosi respiratòria: Es compensa capturant protons al ronyó i secretant K^+ . Es perden HCO_3^- i es capturen Cl^- .

16.4 Determinacions analítiques

La osmolalitat es determina amb un osmòmetre; que determina el punt de congelació, la pressió de vapor i la viscositat.

En el cas de la sang, s'usa el sèrum per eliminar els anticoagulants.

$$\text{Osmolalitat (mosm/kg)} = 2^* ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) + [\text{urea}] + [\text{gluc.}]$$

La orina s'ha de centrifugar.

sèrum: 275-300 mosm/kg

orina: 300-900 mosm/kg

$\text{osm.orina}/\text{osm.sèrum} = 1.0 - 1.3$

El Cl^- es pot determinar amb elèctrodes seletius o amb colorimetria. S'analitza en plasma, orina i suor.

Per mesurar el Na^+ i el K^+ , s'usen anticoagulants sense Na^+/K^+ . S'ha d'evitar la coagulació ja que els eritròcits es trencarien i augmentaria el K^+ . S'ha de centrifugar la sang abans d'1h de l'extracció. Es fan servir elèctrodes selectius o per espectrometria de flama (recordem que aquesta última ens serveix per descartar la hiponatrèmia isotònica).

	Na+	K+
sèrum	136-146 mM	3.5-5.1 mM
sèrum (elect. sel.)	145-155 mM	3.9-5.3 mM
orina (24h)	40-220 mM	25-125 mM