

---

# BIOQUÍMICA ANALÍTICA I CLÍNICA

---



CIÈNCIES BIOMÈDIQUES UB - PRIMAVERA 2017

ALBERT TORELLÓ PÉREZ

---

# Índex

<b>1</b>	<b>Variabilitat Clínica</b>	<b>2</b>
	Mesura o determinació — 2	
<b>2</b>	<b>Semiologia</b>	<b>6</b>
	Valors de referència — 6 • Determinació de la capacitat discriminant — 6	
<b>3</b>	<b>Control de qualitat</b>	<b>8</b>
	Normativa aplicable — 8 • Control de qualitat — 8	
<b>4</b>	<b>Proteïnes plasmàtiques</b>	<b>10</b>
	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	
<b>5</b>	<b>Hemostàsia i coagulació</b>	<b>18</b>
	Introducció — 18 • Hemostàsia primària — 19 • Hemostàsia secundària/Coagulació proteica — 24 • Fibrinòlisi — 28	
<b>6</b>	<b>Hemoglobina i ferro</b>	<b>33</b>
	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	
<b>7</b>	<b>Enzimologia clínica</b>	<b>54</b>
	Enzims — 54 • Estratègies bioquímiques per l'estudi clínic del metabolisme — 56 • Enzims marcadors habituals en enzimologia clínica — 59	
<b>8</b>	<b>Disfuncions del metabolisme glucídic</b>	<b>68</b>
	Regulació de la concentració de la glucosa sanguínia — 68 • Hiperglucèmies — 68 • Paràmetres clínics — 69 • Hipoglucèmies — 71 • Intoleràncies — 71	

---

# 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, ingesta 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 original.

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 erecta 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 CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> en sang arterial però no en sang venosa.
- Augmenta la concentració plasmàtica d'enzims musculars, com la creatina quinasa o la LDH (degut al microtrencament de fibres musculars).

- **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'estrès i les alteracions dels ritmes circadians:

- 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 sudoració 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  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{OH}$ . La malnutrició i el dejuni causen la disminució de proteïnes plasmàtiques.
  - La obesitat augmenta el colesterol.
  - La ingesta 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 (degut 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 dona 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 produeix 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 quocient 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.

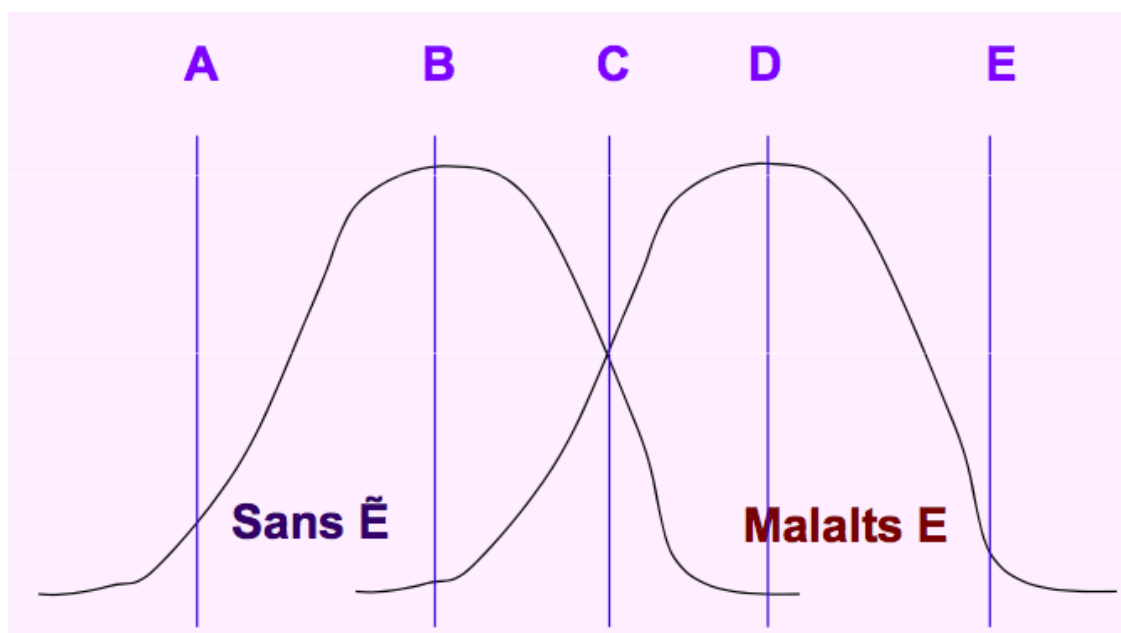
- Positiu: Probabilitat de patir-la si el diagnòstic és positiu:

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

- 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 les 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'espèimens, 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.

---

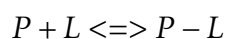
## 4. Proteïnes plasmàtiques

Hi ha 4 grans grups de proteïnes plasmàtiques:

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

### 4.1 Proteïnes plasmàtiques de transport

Aquests sistemes estan en equilibri:



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 albumina 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'albumina té un pI molt baix i corre molt, la prealbumina 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 **prealbumina** 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.

L'**albumina** 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'albumina 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  $\text{Fe}_3^+$ . 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  $\beta$  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'albumina, RBP, transferrina) i positives (augmenten quan hi ha infecció).

Hi ha 2 proteïnes de fase aguda positives importants:

- **Proteïna C reactiva:** Té una mobilitat electroforètica 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.
- **$\alpha$  antitripsina:** Té mobilitat  $\alpha$ . 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'estrès respiratori del nounat. 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.

<b>Grup III x1000</b>	<b>[normal]</b>	<b>[inflamació]</b>	<b>Temps resposta (h)</b>
Proteïna C reactiva	0.0008-0.008	0.4	6-10
30-65	64-76	69-74	6-10

<b>Grup II x2-4</b>	<b>[normal]</b>	<b>[inflamació]</b>	<b>Temps resposta (h)</b>
$\alpha$ 1-antiquimiotripsina	0.3-0.6	3	10
$\alpha$ 1-antitripsina	0.78-2	7	?
$\alpha$ 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 respostes 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
- Glomerulonefritis
- Lupus
- Artritis reumatoide
- 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 dona 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  $A_{280}$  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  $factor \cdot A_{260}$ .
- 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 µg–1 mg	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 µg	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).
[ <sup>3</sup> H]Dansyl chloride	0.1–1 µg	Reactive with amines, phenols, thiols and imidazoles. Sensitive but slow and complex procedure. Some detergents can interfere (84).
Fluorescamine	0.1–50 µg	Fluorescent on reaction with primary amines under alkaline conditions. Relatively free of interference, simple procedures, rapid results (Roche).
(Micro) Lowry	1–50 µg	Some variability with proteins, interfering detergents can be solubilized by SDS (79).
Manual ninhydrin	1–50 µg	No protein variability since proteins are degraded to amino acids. High levels of detergents can interfere. Time consuming (77).
BCA (Pierce)	0.5–50 µg	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)			[Albúmina] (g/L)		
Edat	Dones	Homes	Edat	Dones	Homes
18-30	66-77	70-78	18-30	42-50	46-50
30-65	64-76	69-74	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 pobre 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'albumina i les globulines  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ .

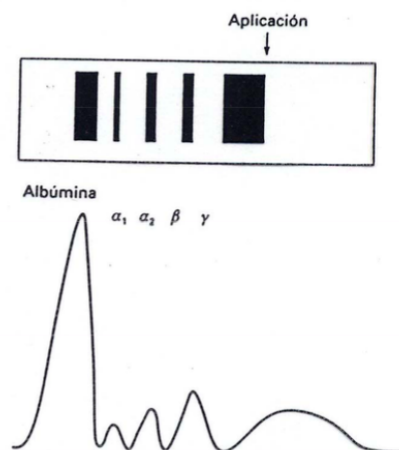


FIGURA 3: Separació de proteïnes del sèrum per electroforesi en acetat de cel·lulosa

Fracció	%	[ ] g/dL
Albumina	53.0-67.0	3.2-5.0
Globulines $\alpha_1$	2.5-5.0	0.1-0.4
Globulines $\alpha_2$	7.0-13.0	0.6-1.0
Globulines $\beta$	9.0-14.0	0.6-1.3
Globulines $\gamma$	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'albumina)
- **Síndrome nefròtic:** es perden les proteïnes de baix pes molecular i es conserven les d'alt pes molecular
  - Disminueixen l'albumina i les  $\gamma$ -globulines.
  - Augmenten les  $\alpha_2$ -globulines
- **Proteïnúria tubular:** Degut a trastorns renals tubulars que comporten pèrdua de proteïnes. Disminueixen  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ -globulines.
- **Cirrosi:** Augmenta  $\gamma$ -globulines i disminueix l'albumina (dany hepàtic)

- 
- **Reactants de fase aguda:** Augmenten les  $a_1$  (antitripsina i glicoproteïna àcida) i les  $a_2$  (haptoglobina).
  - **Dèficit de Fe:** Augmenta les  $b_1$  (transferrina).
  - **Hipergammaglobulinèmies:** Augmenten les bandes específiques en regió  $\gamma$  corresponent als Abs monoclonals. Es dona 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

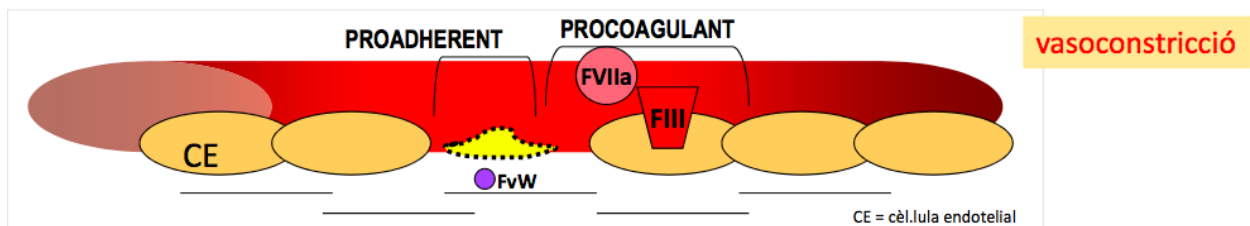
Es basa en anticossos contra una proteïna en concret.

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



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 constitutivament.



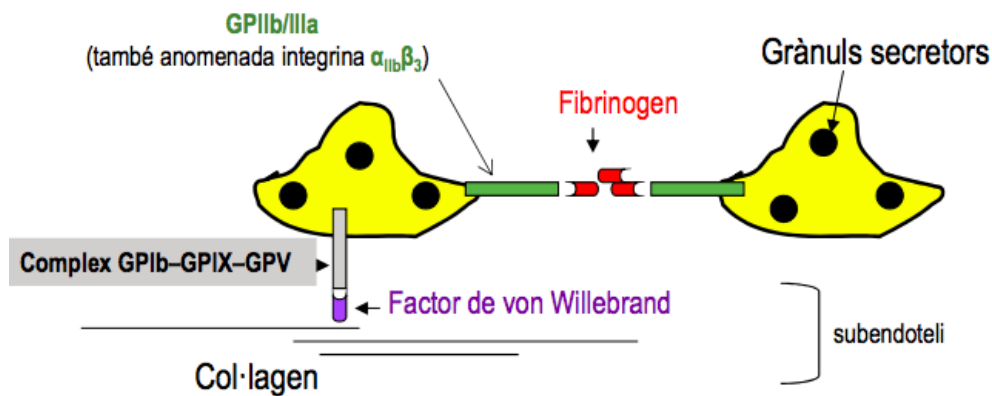
## 5.2 Hemostàsia primària

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 plaqueta 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, TXA<sub>2</sub>. El ADP, tromboxà, vWF reforcen la senyalització que activa a les plaquetes circumdants i fa que es tornin més adherents permetent la agregació plaquetària. El tromboxà, la serotonina activen la vasoconstricció local que produeix 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 TXA<sub>2</sub> 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 suplementos dietètics: competeixen amb l'àcid araquidònic com a substrats per la COX i produeixen TXA<sub>3</sub> que és biològicament inert.

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

### 5.2.1 Patologies relacionades amb l'hemostàsia 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 símptoma 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 GPIb $\alpha$ , GPIX, GPIb $\beta$ : Síndrome de Bernard 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 ( $\alpha$ IIb $\beta$ 3; malaltia de Glanzmann)
    - \* GPIa-IIa ( $\alpha$ 2 $\beta$ 1)
    - \* GPVI
    - \* GPIV
  - Anormalitats dels receptors d'agonistes solubles
    - \* Receptor del Tromboxà A<sub>2</sub>
    - \* Receptor P2Y<sub>12</sub> (ADP)
    - \* Receptor  $\alpha$ 2-adrenèrgic
  - Anormalitats dels grànuls plaquetaris
    - \*  $\delta$ -grànuls ( $\delta$ -storage pool deficiency, Hermansky-Pudlak syndrome, Chediak-Higashi syndrome, thrombocytopenia with absent radii syndrome\*)
    - \*  $\alpha$ -grànuls (Gray platelet syndrome\*, ARC syndrome\*, Quebec platelet disorder\*, Paris-Trousseau-Jacobsen syndrome\*)
    - \*  $\alpha$ - i  $\delta$ -grànuls ( $\alpha$ ,  $\delta$ -storage pool deficiency)
  - Anormalitats de les vies de transducció de senyal
    - \* Defectes primaris de secreció
    - \* Anormalitats de la via de l'àcid araquidònic/tromboxà A<sub>2</sub>

- 
- \* 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 produeixen 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<sup>2</sup>

- 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.

- $< 150 \times 10^9 / L$  Trombocitopènia asimptomàtica
- $< 50 \times 10^9 / L$  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  $\mu m$ .



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 envol·leixen 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
<b>Fragilitat</b>	+	+	+	Normal
<b>T sangria</b>	Alt	Alt	Alt	Normal
<b>Recompte</b>	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 quel·larà el Ca. Es centrifuga la sang a baixes revolucions. Al sobrenedant quedaran les plaquetes i s'afegeixen diferents elements (ADP, col·lagen, ristocetin, arauidonat) que indueixen 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 arauidonat està disminuïda en la intoxicació per aspirina.

## 5.3 Hemostàsia secundària/Coagulació proteica

El trombe blanc és inestable. Intervenien 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 subendoteli.

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.

Intervenien 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 complexos 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.

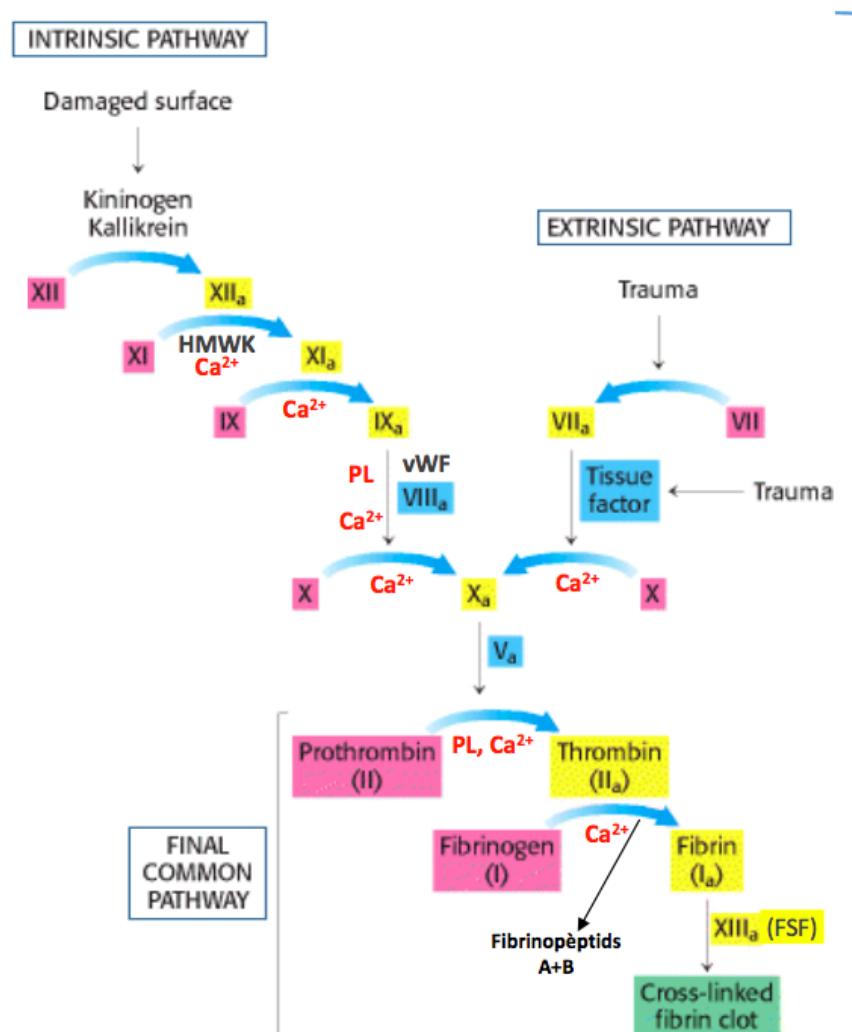


FIGURA 5: Visió clàssica de la cascada de coagulació

### 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: Ca<sup>2+</sup>, PL, vitamina K

#### 5.3.3.1 Vitamina K

La vitamina K és liposoluble. Hi ha dues formes naturals, la vitamina K1 (filloquinona) 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  $\gamma$ -glutamil carboxilasa que transforma els residus de glutamat en  $\gamma$ -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.

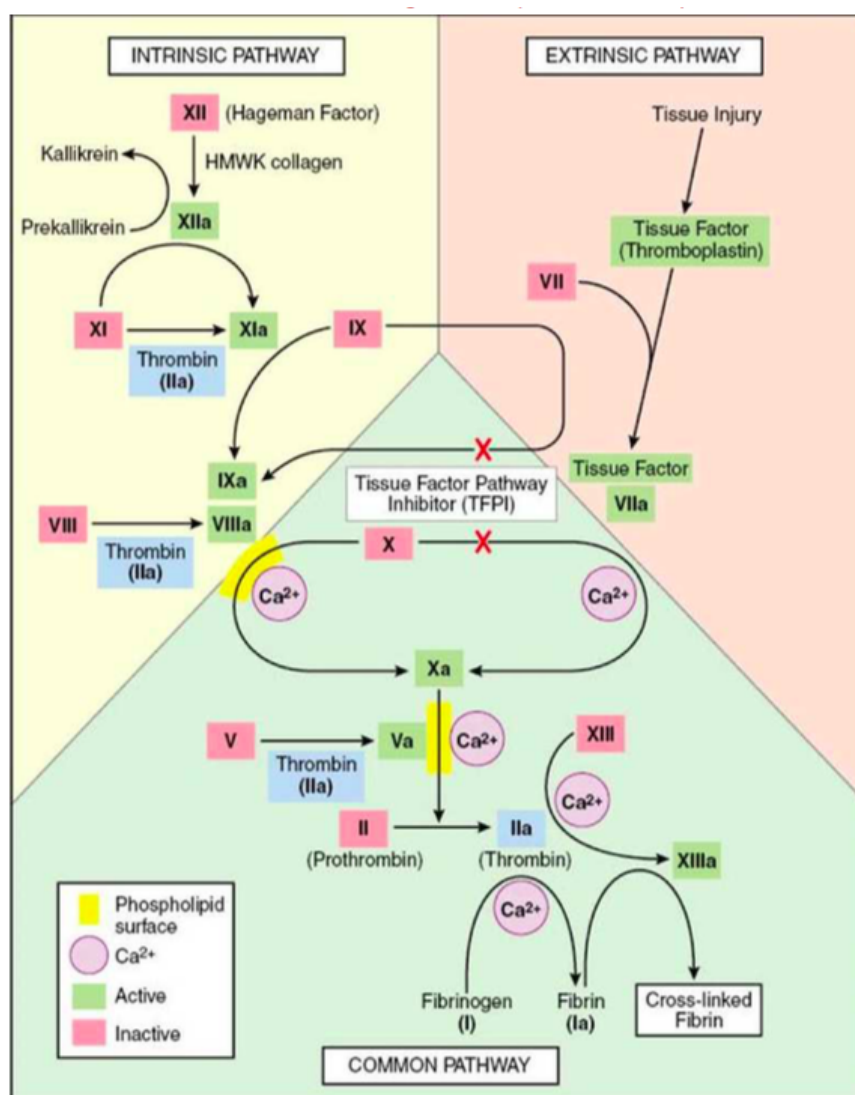
Diversos anticoagulants orals com la warfarina o el Sintrom actuen per bloqueig de la reducció i per tant reciclatge i disponibilitat de la vitamina K.

### 5.3.4 Visió actual de la coagulació

Hi ha circuits d'activació i inhibició per feedback. El factor XIII s'entrecreu 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 fibrinolisisina, 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, supprimeixen 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)
- Malaltia 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  $\text{Ca}^{2+}$

#### 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 subendoteli i la inflamació que fa que les citokines estimulin la producció del factor III.

- 
- Traumatismes
  - Cirurgia
  - Aterosclerosi
  - **Factors hemàtics:** Augment de la viscositat de la sang
    - Elevació de plaquetes (trombocitosi), eritròcits (policitemia) 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 coàgul de fibrina per espectrofotometria o altres tècniques.

- **APTT o PTT:** S'addiciona  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{CaCl}_2$ ), 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  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{CaCl}_2$ ) 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 estandaritzar 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 espaïant 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'euglobines (ELT):** Es precipiten les euglobines (fibrinogen, PAI-1, tPA, plasminogen,  $\alpha$ 2-antiplasmina, FVIII ) a pH 5,2 (acètic) d'un plasma citratat. Es resuspenen i es coagulen amb CaCl<sub>2</sub> 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 hemostàsia:

- **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 produeixen trombocitopènia. El control hemostàtic es duu a terme per APTT (Tiempo de tromboplastina parcial).
  - *Antivitamines K:* Disminueixen el factor II, VII, IX i X.
    - \* Varfaran: warfarina sòdica; Sintrom: acenocumarina
    - \* Controls imprescindibles INR (Ratio Internacional Normalitzat)
      - $INR = TQ_{pacients} / TQ_{control}$  (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  $O_2$ . 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  $O_2$ )
  - Talassèmies (hemoglobines alterades)
    - \*  $\alpha$ -talassèmies
    - \*  $\beta$ -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:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ .

La hemoglobina és un heterotetràmer  $\alpha_2\beta_2$  en adults. Presenta cooperativitat amb l'oxigen. També té al·lostèricisme 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).

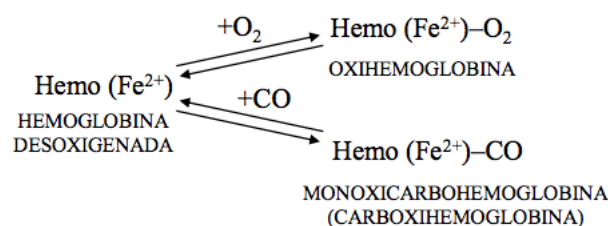
La hemoglobina presenta diferents subunitats segons l'estadi de desenvolupament de l'individu:

- 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:  $\zeta_2\gamma_2$

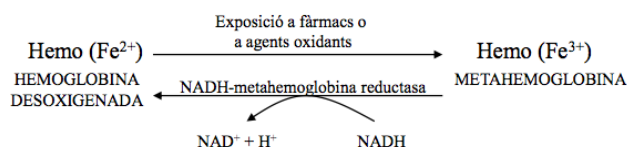
Hi ha 2 loci d'  $\alpha$ -globina al cromosoma 16 i un locus de  $\beta$ -globina al cromosoma 11.

## 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  $\text{Fe}_3^+$ ), 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  $\text{Fe}_3^+$ . 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 dona un canvi d'aminoàcid Glu- $\rightarrow$ Val a la cadena beta. És insoluble a baixes pressions de  $\text{O}_2$ . 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'agreuja amb oxidants.

Altes concentracions d'HbS d'afinitat baixa per  $\text{O}_2$  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 fàrmcs en estudi. La profilaxi es basa en una bona nutrició i higiene, contra la malària. En cas d'infecció, s'actua sobre l'agent infecciós. 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 $\beta$ 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  $\beta$  humana normal i algunes hemoglobines amb cadenes  $\beta$  anormals. Altres hemoglobines tenen cadenes  $\alpha$  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 Metaglobinèmia

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

Ens podem trobar:

- Metaglobinèmia adquirida: Produïda per fàrmacs, oxidants...
- Metaglobinèmia 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  $\beta$ -talassèmies són més greus perquè només hi ha un locus gènec de cadena  $\beta$ -globina.

#### 6.3.2.1 $\beta$ -Talassèmies

La síntesi de la cadena  $\beta$  està disminuïda o és nul·la. No està alterada la síntesi de la cadena  $\alpha$ .

- $\beta^0$ -talassèmia: No hi ha síntesi de cadena  $\beta$  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.
- $\beta^+$ -talassèmia: Síntesi de la cadena  $\beta$  disminuïda (augmenta la HbA2). Els homozigots tenen els mateixos símptomes que l'anterior.
- $\delta\beta$ -talassèmia: Síntesi de la cadena  $\beta$  i  $\delta$  de globina disminuïdes. La gravetat depèn de si està compensada per una síntesi de cadena  $\gamma$ .
- $\gamma\delta\beta$ -talassèmia: No hi ha síntesi de cadena  $\gamma$  i  $\delta$  i la cadena  $\beta$  està disminuïda.

#### 6.3.2.2 $\alpha$ -Talassèmies

Alterada la síntesi de la cadena  $\alpha$ . Es sintetitzen en excés les cadenes  $\gamma$  (hemoglobina de Bart) i les cadenes  $\beta$  (hemoglobina H).

- $\alpha^0$ -Talassèmia: No hi ha síntesi de la cadena  $\alpha$  de globina. La hemoglobina de Bart (tetràmer de  $\delta$ ) representa el 80-90 % de la hemoglobina total. És mortal ja que la HbBart no pot transportar  $O_2$ .
  - Homozigots: Es produeix hidropesia 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.
- $\alpha^+$ -Talassemia: La síntesi de la cadena  $\alpha$  està disminuïda. En els nounats la hemoglobina de Bart ( $\delta_4$ ) 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  $O_2$  (el D-2,3-difosfoglicerat s'uneix més a la desoxihemoglobina A que a la desoxihemoglobina F). Augmenta en  $\beta^0$ -talassèmies i en  $\beta^+$ -talassèmia homozigòtiques. Es troba inalterada en  $\beta^0$ -talassèmies i en  $\beta^+$ -talassèmia heterozigòtiques.
- Fracció d'hemoglobina  $A_2$  ( $\alpha_2\delta_2$ ): En una situació normal representa 2,5-3% de la hemoglobina en adult. Es troba augmentada en  $\beta$ -talassèmia heterozigòtica,  $\beta^0$ -talassèmia homozigòtica i en  $\beta^+$ -talassèmia homozigòtica. Es troba disminuïda en  $\alpha^0$ -talassèmia.
- Fracció d'hemoglobina H ( $\beta_4$ ): Incapaç de transportar  $O_2$ , és molt afí i no el pot alliberar. Es troba augmentada en  $\alpha^0$ -talassèmia.
- Fracció d'hemoglobina de Bart ( $\delta_4$ ): Incapaç de transportar  $O_2$ , és molt afí i no el pot alliberar. Es troba augmentada en  $\alpha^0$ -talassèmia.

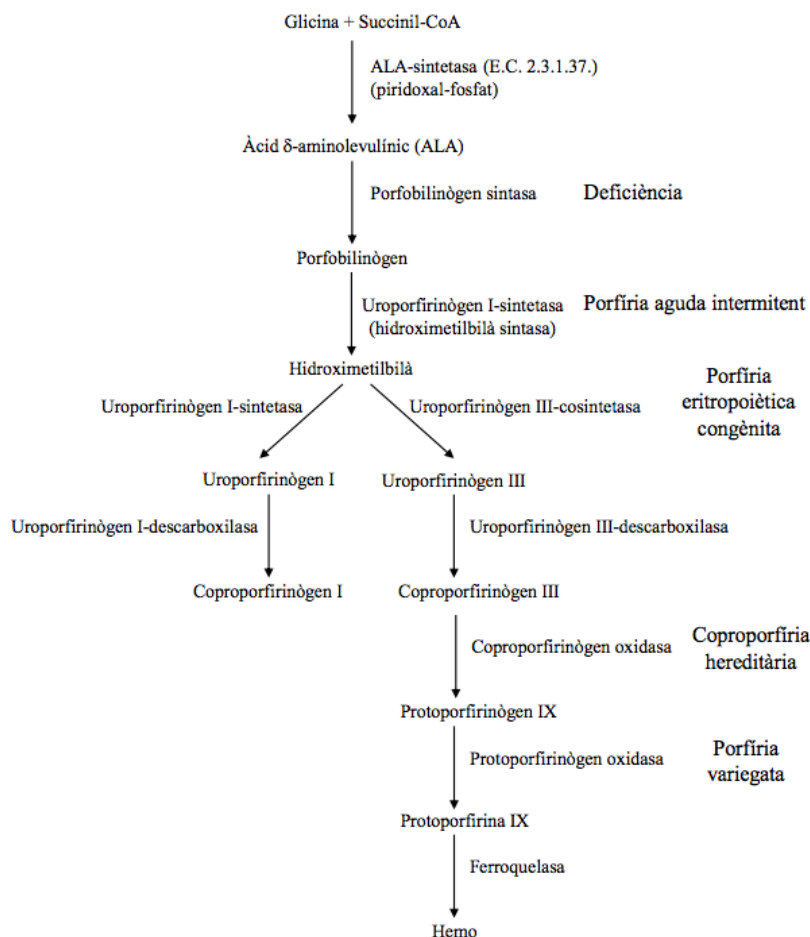
## 6.4 Desordres de la síntesi del grup hemo

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 porfíries.

## Síntesi del grup hemo

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

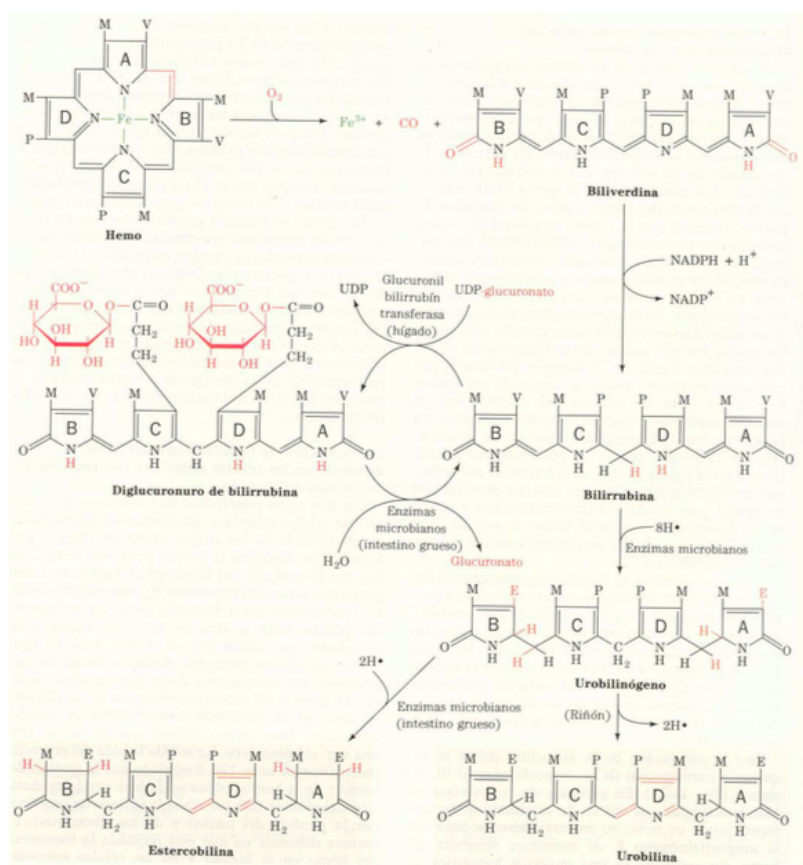


## Degradació del grup hemo

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 urina.
- 6) La major part de l'urobilinogen s'elimina per la femta en forma d'un pigment marró anomenat estercobilina, que li dona 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  $\delta$ -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  $\delta$ -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  $\delta$ -aminolevulínic i porfobilinogen en orina.

S'atribueix a un bloqueig del pas coproporfirina III  $\rightarrow$  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  $\delta$ -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, ingesta 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 uroporfirinogen 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'algun dels enzims de síntesi del grup hemo.

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

Els anàlisis 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.

Transtorns	Eritròcit			Orina				Femta		
	UP	CP	PP	ALA	PBG	UP	CP	UP	CP	PP
Porfíria aguda intermitent	N	N	N	↑↑	↑↑	↑	↑ / N	N	N	N
Coproporfíria hereditària	N	N	N	↑	↑	N	↑	N	↑	N
Porfíria variegata (atacs aguts)	N	N	N	↑	↑	↑ / N	↑ / N	N	↑	↑↑
Porfíria eritropoiètica congènita	↑↑	↑↑	↑	N	N	↑↑	↑	N	↑	N
Porfíria eritropoiètica	N	N	↑↑	N	N	N	N	N	↑	↑
Porfíria 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
<b>Eritròcit</b>	
Coproporfirina	0,5 – 2 µg/dl (0,75 – 3 nmol/l)
Protoporfirina	4 – 52 µg/dl (7,2 – 93,6 nmol/l)
<b>Orina</b>	
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)
<b>Femta</b>	
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 coproporfinogen

La determinació d'**ALA i PBG** es fa pel mètode de Watson (1941). El PBG es condensa amb p-dimetil-aminobenzaldehyd en àcid clorhídric (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
Eritròcit	
Coproporfirina	0,5 – 2 $\mu\text{g/dl}$ (0,75 – 3 $\text{nmol/l}$ )
Protoporfirina	4 – 52 $\mu\text{g/dl}$ (7,2 – 93,6 $\text{nmol/l}$ )
Orina	
ALA	1,5 – 7,5 $\text{ml} / 24 \text{ h}$ (11,2 – 57,2 $\mu\text{mol} / 24 \text{ h}$ )
PBG	< 1 $\text{mg} / 24 \text{ h}$ (< 4,4 $\mu\text{mol} / 24 \text{ h}$ )
Coproporfirina	50 – 160 $\mu\text{g} / 24 \text{ h}$ (0,075 – 0,24 $\mu\text{mol} / 24 \text{ h}$ )
Uroporfirina	10 – 30 $\mu\text{g} / 24 \text{ h}$ (0,012 – 0,037 $\mu\text{mol} / 24 \text{ h}$ )
Femta	
Coproporfirina	0 – 500 $\mu\text{g} / 24 \text{ h}$ (0 – 0,75 $\mu\text{mol} / 24 \text{ h}$ )
Protoporfirina	0 – 600 $\mu\text{g} / 24 \text{ h}$ (0 – 1,08 $\mu\text{mol} / 24 \text{ h}$ )

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  $O_2$  i  $CO_2$ . Es transporta el 20% del  $CO_2$  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  $O_2$  que arriba als teixits).

Hi ha 2 tipus d'anèmies:

- Anèmies arregeneratives per fallida a la eritropoesis:
  - 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 dèficit 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'eritropoesi (asincronia madurativa entre nucli i citoplasma de cèl·lules precursors de l'eritròcit). L'eritropoesi 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.  $^{57}\text{Co}$ -cianocobalamina + factor intrínsec
2.  $^{58}\text{Co}$ -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  $^{58}\text{Co}$  i per  $^{57}\text{Co}$ ). Deguda a:
  - Deficiència alimentària de cianocobalamina (iguals que en individus sans: excreció de cianocobalamina disminuïda, sense canvis en administrar el factor intrínsec (< 4% per  $^{58}\text{Co}$  i per  $^{57}\text{Co}$ ))
  - Síndrome de malabsorció
  - Malabsorció secundària a anomalies intestinals o pancreàtiques
  - Infecció per *Dibothriocephalus latus*
  - Deficiència de transcobalamina II
- Excreció de cianocobalamina disminuïda amb augment de la seva eliminació després d'administrar el factor intrínsec (5% per  $^{58}\text{Co}$  i 5-14% per  $^{57}\text{Co}$ ). 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 (melsa, medul·la òssia i fetge)
- **Hemòlisi intravascular.** En alguns cassos, la hemòlisi és a la sang, que alliberen la hemoglobina, que s'uneix ràpidament a la cadena  $\alpha$  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  $\text{Fe}^{3+}$  durant el període hemolític, a la fase regenerativa pot disminuir

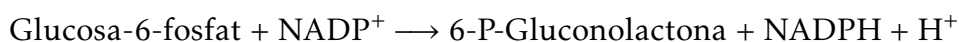
La hemoglobina s'oxida a metahemoglobina. La metahemoglobina es dissocia i allibera hematina. La hematina forma un complex amb l'albumina (metahemalbumina) o és eliminada amb la hemopexina (una  $\beta$ -globulina hepàtica).

#### **6.5.2.1 Anèmies hemolítiques degudes a dèficits enzimàtics**

Són anèmies cròniques degudes a la deficiència d'algun 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'urobilinogen 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 anticossos freds

Els “anticossos freds” 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 dona 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  $\text{Fe}^{3+}$  i el  $\text{Fe}^{2+}$  es 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  $\mu\text{mol}$ ) és similar a l'excretat. Una dieta equilibrada d'entre 10,5 i 12,5 kJ aporta 200-400  $\mu\text{mol}$  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  $\mu\text{mol}$  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  $\text{Fe}^{2+}$ . 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:

1. **[Fe<sup>2+</sup>] + [Fe<sup>3+</sup>] 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:
  - a) Estats d'anèmia ferropènica
  - b) Malalties infeccioses, inflamatòries cròniques i neoplàsies
2. **[Transferrina] en plasma:** És una glicoproteïna  $\beta_1$ -globulina de 80000 g/mol. Es sintetitza al fetge i no té tantes fluctuacions com el ferro:
  - a) Augmenta en l'embaràs
  - b) Augmenta en estats d'anèmia ferropènica
  - c) Disminueix en síndrome nefròtic, malnutrició i malalties cròniques
3. **[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.
  - a) Disminueix en l'anèmia ferropènica (abans que es manifestin els símptomes)
  - b) Augmenta en hepatopaties, malalties inflamatòries i neoplàsies
4. **[Protoporfirina (Zn)] en sang:** Indica la disponibilitat de ferro. En general la relació  $\frac{Protoporfirina(Zn)}{Hemoglobina(Fe)}$  és baixa. En l'últim pas de síntesi s'incorpora el Fe<sup>2+</sup>. Disminueix en:
  - a) Anèmia ferropènica
  - b) Talassèmia, hepatopaties, neoplàsies, intoxicació per plom

### 6.6.2 Anèmia ferropènica

Poden ser:

- 1) **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.
- 2) **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
    - Metrorràgia per fibromatosis uterines
    - Infeccions
    - Neoplàsies
  - Diverticulosi
  - Vasculitis
  - Malaltia de Rendu-Osler
  - Hemosiderosis pulmonar idiopàtica
  - Donació repetida i voluntària de sang

**3) Anèmia secundària per ingesta 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 ingesta 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 Hemocromatosis

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:

- **Hemocromatosis hereditària:** Té caràcter recessiu i s'ha associat amb l'antigen HLA-A3.
- **Hemocromatosis 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 conformationals) i es catabolitzen. Els enzims es destrueixen en fagòcits, melsa, endotelials, cèl·lules sanguínies.

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 katal.
  - Activitat específica: Unitats de l'enzim per mil·ligram de proteïna
  - Activitat molecular o molar: Número de molècules de substrat transformades 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'adequar a les concentracions òptimes de l'enzim.

### 7.1.3 Distribució cel·lular dels enzims

Citosol	Mitochondria	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 hística (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-carbamoïl-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	$\alpha$ -Lecitinas, LPL, aliesterasa, fructosa-6-aldolasa, MD, $\beta$ -glucuronidasa, GD, guanasa, GR Lipoproteína lipasa Glutamato deshidrogenasa Glutamina reducció
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) Enzima convertidor de angiotensina
E. Dades escasses per a ser utilitzats clínicament (o utilitat nul·la)	ATPasa (alcalina i àcida), heroínerasa, procainesterasa, DNases (I i II), colesterolsterasa, glucokinasa, fosfoglucomutasa, triosa-P-isomerasa, gliceraldehid-3-P-deshidrogenasa, fosfoglicerat-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

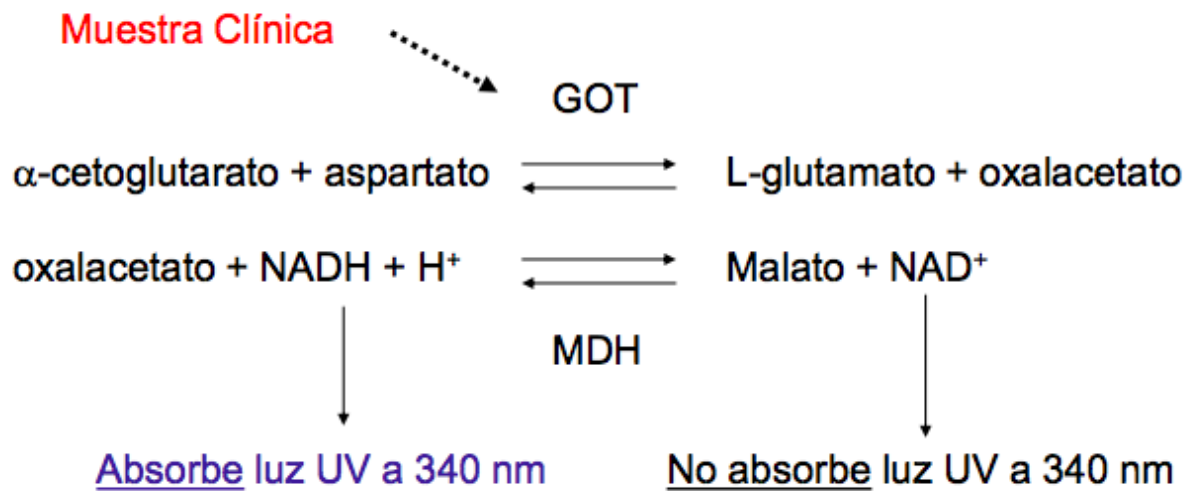
La concentració dels enzims és molt baixa (nmol) i per tant es mesura la seva activitat (o bé s'aplica immunoanàlisi).

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 malaltia deshidrogenasa té concentracions molt baixes, per tant s'aplica a reaccions acoblades. 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-glutamiltanspeptidasa	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, fosfohexosaisomerasa, 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 produeix 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:

- $\alpha$ -amilasa pancreàtica
- Lipasa pancreàtica
- Tripsina

#### 7.3.1.1 $\alpha$ -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
  - Lesions en glàndules salivals
  - Intoxicació alcohòlica
  - Malalties de tractes biliars i intestinals
  - Insuficiència renal crònica

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
- $\gamma$ -glutamil transpeptidasa (marcador de membrana i canalicule biliar i d'alcoholisme)
- Fosfatasa alcalina

#### 7.3.3.1 $\gamma$ -glutamil transpeptidasa

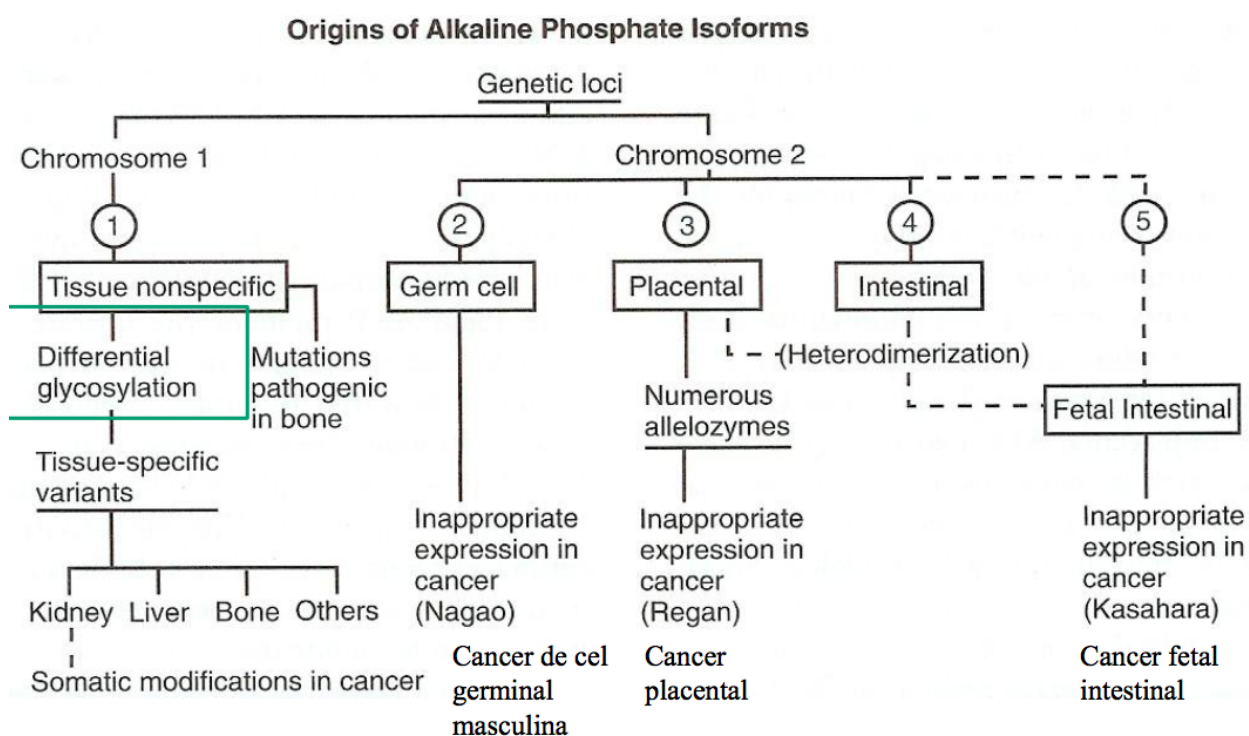
Transfereix residus de glutamat d'un pèptid a un aminoàcid per transportar-lo a través de la membrana plasmàtica. Abunda a la membrana plasmàtica de les cèl·lules del tracte biliar, els túbuls renals i l'epiteli intestinal. La  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa normal del plasma és l'hepàtica.

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 extrahepàtica. Augmenta però no tant en dany hepatocel·lular i també augmenta en alcoholisme, serveix com a control d'abstinència. Els nivells poden variar amb:

- Fàrmacs (anticonceptius i altres)
- Diabetis, hipertiroidisme, 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.



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	
Icterícia obstructiva	↑↑↑	Osteítis deformant	↑↑↑	Fractures en consolidació	↑
Cirrosi biliar	↑↑↑	Raquitisme	↑↑	Creixement normal	↑
Colestasi intrahepàtica	↑↑↑	Osteomalàcia	↑↑	Embaràs (darrer trimestre)	↑
Lesions que ocupen espai (granulomes, abscessos, carcinoma metastàtic)	↑↑	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 neuroaminidasa, 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

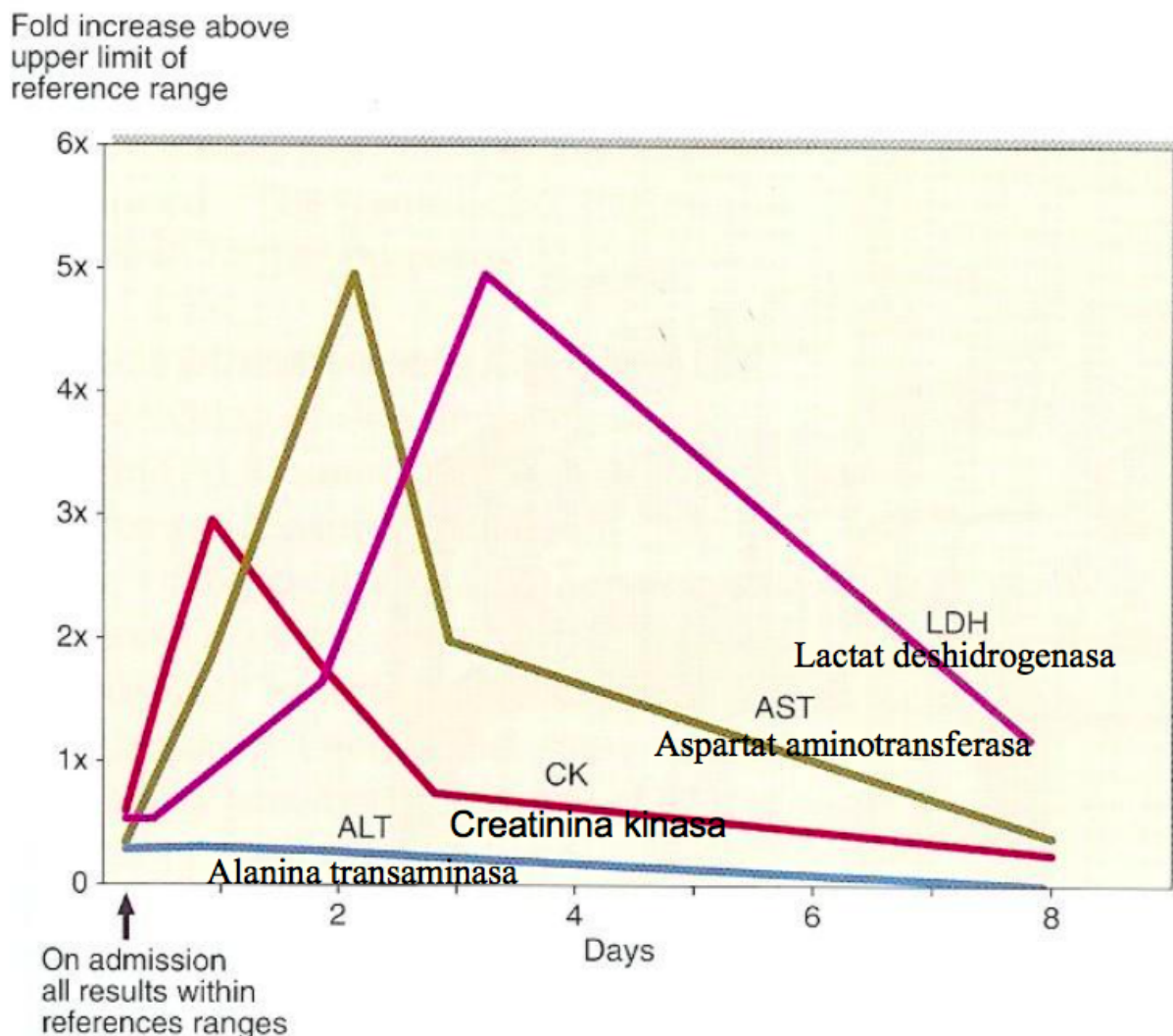


FIGURA 12: Canvis en la cinètica d'alguns enzims durant i post infart de miocardi

#### 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.

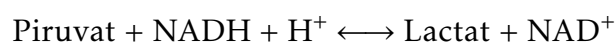
No augmenta gairebé en problemes hepàtics.

- 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), cromatografia 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 tertramèrica rica en triptòfan. Presenta una conformació  $\beta$  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 complexos 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 musculars

AST i ALT també s'alteren en:

- Diabetis mellitus, mononucleosis, lupus, febre tifoidea, càncer, fàrmacs
- Valors baixos en situacions de dèficit 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**
- **Troponines 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 hística d'enzims; augments de l'alliberació a partir del teixit o ambdós	Malaltia neoplàsica (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	Pepsinògen	Nivells augmentats d'amilasa, secundaris a fracàs renal i d'origen incert
	Urèmia	Amilasa	
	Icterícia 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

Els nivells normals de glucosa en sang són de 3,89-5,83 mmols/L (70-105 mg/dL).

### 8.2 Hiperglucèmies

Hi ha 4 tipus d'hiperglucèmia:

- Diabetis tipus 1: Hiperglucèmia de manera abrupta. Els pacients necessiten insulina per sobreviure.
- Diabetis tipus 2: Progressió gradual i la insulina no acostuma a ser necessària pel tractament.
- Altres tipus específics
- Diabetis gestacional: Es produeix en l'últim terç de la gestació. Normalment acaba després del part però en alguns casos el quadre hiperglucèmic continua.

Hi ha 2 subgrups poblacionals en risc de diabetis:

- Intolerància a la glucosa: 2h després de la ingesta de 75 de glucosa, els nivells de glucosa es troben entre 140 i 199 mg/dL.
- Disfunció de la glucosa en dejuni: La glucosa es troba entre 100 i 125 mg/dL.

Hi ha un marcador circulant usat per monitoritzar els diabètics que és la hemoglobina  $A_{1c}$ . L'hemoglobina incorpora glucosa espontàniament a la seva estructura i són un reflex dels nivells circulants de glucosa. Aquesta hemoglobina té una vida mitja llarga.

Els nous criteris diagnòstics de la diabetis són:

- Síntomes de diabetis més una concentració casual (no en dejuni) de glucosa superior a 200 mg/dL.
- Glucosa en plasma després d'un dejuni mínim de 8 hores superiors a 126 mg/dL.
- Glucèmia superior a 200 mg/dL després de 2 hores del test de tolerància oral de glucosa.
- Nivells  $HbA_{1c}$  superiors a 6,5%.

---

### 8.2.1 Alteracions metabòliques

Augmenten els nivells de TAG ja que la LPL és sensible a insulina. Cetoacidosi.

El fetge activa la gluconeogènesi i la glicogenòlisi, fet que augmenta la glucosa circulant.

També augmenta la cetogènesi, degut a la beta oxidació dels àcids grassos alliberats del teixit adipós, que està fent lipòlisi. Els acetilCoA no es poden utilitzar al cicle de Krebs ja que els intermediaris estan dirigits a la GNG. Els cossos cetònics proporcionen energia a altres teixits però provoquen cetoacidosi (acidosi metabòlica).

### 8.2.2 Complicacions

Alteracions de la microvasculatura i la macrovasculatura. Els vasos es malmeten i generen gangrena sobretot als peus.

Hi ha neuropatia.

També hi pot haver retinopatia diabètica.

Els ronyons també pateixen un dany. La glucosa és un osmòlit, i com que la concentració és tant alta no es pot reabsorbir a nivell tubular. La glucosa malmet els glomèruls renals. L'epiteli fenestrat presenta càrregues negatives i impedeix el pas de proteïnes. La glucosa alta fa que els glomèruls siguin més permeables i que a la orina hi hagi més proteïnes, majoritàriament albúmina perquè és la proteïna més abundant del plasma i té un pes de 65 kDa, límit de mida per filtrar als glomèruls (60 kDa).

També hi ha més risc de patir aterosclerosi. Sembla que estar relacionada amb un procés de glicosilació de la superfície de les lipoproteïnes.

## 8.3 Paràmetres clínics

### 8.3.1 Glucosa

El mètode de l'ortotoluidina consisteix que en medi àcid, la glucosa reacciona amb amines aromàtiques i genera color. Un altre mètode, el de Benedict està basat en la reducció del Cu (usat en tires reactives per la orina).

El mètode de referència és el mètode que han de tenir tots els laboratoris i poder avaluar la qualitat inter-laboratoris. Per la glucosa, és el mètode basat en la hexoquinasa i la glucosa-6-P-deshidrogenasa. La reacció genera NADPH, que es pot mesurar a 340 nm.

Hi pot haver diferents fonts de variabilitat:

- Sang/Sèrum o plasma. Normalment no s'usa sang total, ja que els eritròcits consumeixen glucosa i els valors sortien més baixos dels reals.
- La concentració arterial és superior a la venosa.
- L'edat, els fàrmacs (corticoides i diürètics) augmenten la glucosa.

Diferents precaucions que s'han de prendre:

- 
- No ha de ser sang total (eritròcits contenen  $< [glc]$ )
  - Cal ser ràpids per evitar metabolisme eritrocitari
  - Desproteïnització prèvia per evitar interferències
  - Estabilitat 8h a 25°C ??? 72h a 4°C

### 8.3.2 Sobrecàrrega oral de glucosa (SOG)

Si surt un valor alt de glucèmia, es repeteix l'analítica. Si torna a sortir hiperglucèmia es practica un test de sobrecàrrega oral de glucosa o test de tolerància oral a la glucosa. Aquest test es realitza en 4 situacions:

1. Diabetis gestacional
2. Intolerància a la glucosa (IGT)
3. Neuropaties, nefropaties o retinopaties. En casos que la glucèmia sigui inferior a 140 mg/dL (7,7 mM).
4. Epidemiologia

El test consisteix en ingerir 75g de glucosa pels adults i 1,75 g de glucosa/kg en nadons i nens. S'extreu sang a  $t_0$  en dejuni i en situació normal. Cada cert temps es mesura la glucèmia i s'avalua l'evolució de la glucèmia. Els resultats poden ser:

1. Normal: Pic abrupte a 30 minuts fins que a les 2h es normalitza la glucèmia.
2. Diabetis: Fa un pic abrupte a 30 min i després un plateau més o menys estable.
3. Intolerant: Perfil intermig.

En el cas de la diabetis gestacional, es fa un *screening* cap a les 24 setmanes de gestació. El test de O'Sullivan no requereix que la gestant estigui en dejuni. S'administren 50 g de glucosa i es mesura la glucèmia al cap d'1h. Si surt la glucèmia superior a 7,7 mM es practica un test de SOG però amb 100 g de glucosa i es mira si la glucosa al cap de 2h és inferior a 9,4 mM o bé si hi ha 2 punts de la corba per sobre del llindar.

### 8.3.3 Insulina

En el SOG, en paral·lel a la glucosa es pot determinar la insulina. No es fa normalment. En situació normal, el perfil d'insulina és paral·lel al de la glucosa.

Hi ha diferents situacions on és interessant determinar la insulina:

1. Hipoglucèmia
2. Insulinoma (tumor que secreta insulina)
3. Diabètic amb sobredosi

---

El pèptid C és resultat de la proteòlisi de la pro-insulina. La vida mitja del pèptid C circulant és més alta que la de la insulina. Al fetge s'elimina el 75% de la insulina circulant. La relació pèptid C/insulina és equimolar. Normalment, hi ha 5-10 vegades més pèptid C que insulina.

1. Si hi ha nivells elevats d'insulina i pèptid C, és símptoma d'insulinoma.
2. Si hi ha més insulina que pèptid C, vol dir que hi hagut una intoxicació per insulina.

#### **8.3.4 Glicohemoglobines**

#### **8.3.5 Fructosamines**

#### **8.3.6 Cossos cetònics**

### **8.4 Hipoglucèmies**

### **8.5 Intoleràncies**