

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI
"ALDO MORO"
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA
Corso di laurea in Infermieristica
Corso Integrato : Diagnostica Clinica**

Disciplina: BIOCHIMICA CLINICA
a.a. 2015/2016

Dott.ssa Susanna D'Oria



“ ...la buona medicina non consiste nell'indiscriminata applicazione degli esami di laboratorio ad un paziente, ma piuttosto nell'aver chiaro in mente quali probabilità ci sono che una certa analisi possa avere importanza nella diagnosi....”

W.G. Peabody, Boston med.J., 1922

DIAGNOSTICA CLINICA

La **Diagnostica Clinica** è quella disciplina che fornisce una diagnosi effettuata sull'anamnesi e sui campioni biologici del paziente o sul paziente stesso, con mezzi fisici, chimici e biologici.

Questi dati vengono elaborati in informazioni da utilizzare accanto ai sintomi ed ai segni clinici a scopo preventivo, diagnostico, terapeutico, di monitoraggio e riabilitativo

DIAGNOSTICA CLINICA

- Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica
- Genetica Medica
- Patologia Clinica
- Microbiologia Clinica

BIOCHIMICA CLINICA

La **biochimica clinica** è una scienza applicata che studia l'effetto di una malattia o dei farmaci sui processi biochimici degli organi, dei tessuti e dei fluidi biologici.

Prende in esame qualunque materiale biologico facilmente disponibile per la *misura di sostanze o proprietà* che possono presentare qualche interesse al fine di prevenire, diagnosticare o curare uno stato di malattia nell'individuo.

Biochimica ↔ Biochimica Clinica

La Biochimica si occupa dello studio delle alterazioni dovute ai fenomeni fisiologici e patologici, ma lo fa con l'intento di *ricavare comportamenti e leggi che siano validi in generale*.

La Biochimica Clinica è interessata allo studio del singolo individuo ammalato, ed utilizza la misura delle eventuali alterazioni riscontrabili nei materiali biologici per raccogliere dati che abbiano valore di prove semeiologiche, a favore o contrarie, all'ipotesi formulata dal clinico.

CONTRIBUTI della BIOCHIMICA CLINICA:

- ✓ nelle malattie spiegabili su una base puramente biochimica (es. talassemia).
- ✓ nella classificazione nosografica, in quanto può consentire di separare condizioni morbose apparentemente simili sul piano clinico ma diverse sul piano fisiopatologico (es. diabete mellito insulino-indipendente e insulino-dipendente).
- ✓ nel fornire reperti statisticamente significativi sotto l'aspetto medico, basandosi su cognizioni di fisiopatologia e di clinica, utilizzando il concetto di probabilità statistica di malattia.
- ✓ nel controllo e nell'aggiustamento della posologia di farmaci molto attivi e ad indice terapeutico ristretto (es. antibiotici, antitumorali, litio ecc.).
- ✓ nel controllo dei fattori di rischio nell'ambiente di lavoro (assorbimento di piombo e altri metalli, solventi organici, pesticidi, anticrittogamici, CO, ecc.) così da poter evitare l'insorgenza di alterazioni patologiche permanenti.

CONTRIBUTI della BIOCHIMICA CLINICA: conclusioni

La biochimica clinica oltre alle preminenti funzioni prognostiche , diagnostiche, di controllo della terapia e dei fattori di rischio ambientale o di lavoro

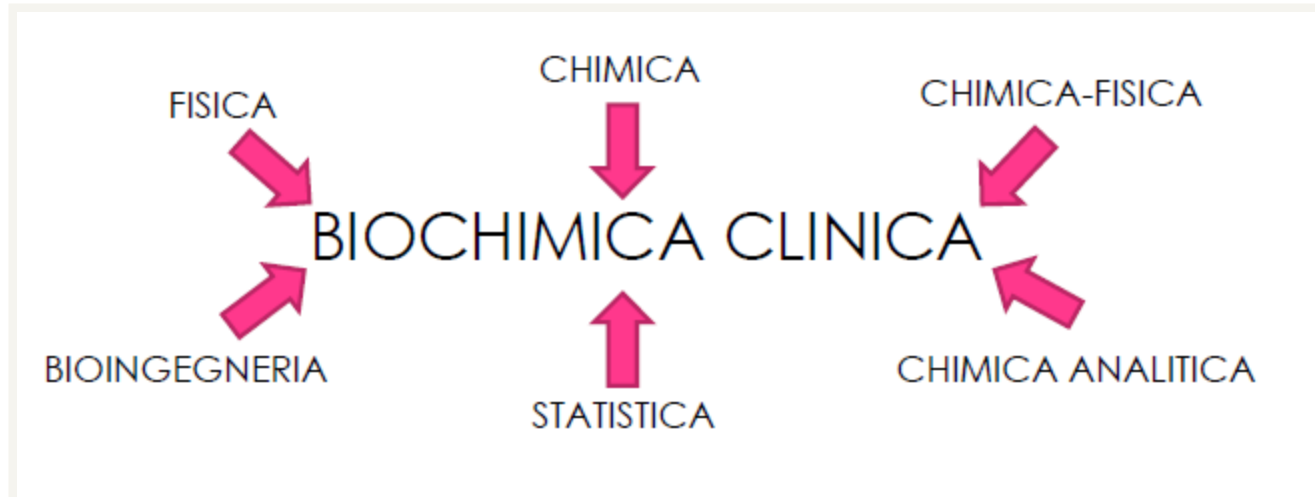
DISPONE

(attraverso lo studio della variabilità individuale dei caratteri biologici nella popolazione)

di mezzi originali e peculiari per contribuire al progresso delle conoscenze fisiopatologiche e alla sistemazione nosografica della patologia, contribuendo talvolta anche alla individuazione di nuove situazioni morbose

BIOCHIMICA CLINICA

La biochimica clinica è una scienza applicata multidisciplinare. Infatti per comprendere i principi fondamentali delle tecniche operative di cui si avvale nella pratica c'è bisogno di conoscenze di fisica, di chimica, di chimica analitica, di chimica-fisica, di statistica e di bioingegneria.



D'altro canto per comprendere i meccanismi fisiopatologici nei quali la biochimica clinica è in grado di far luce, risultano indispensabili conoscenze di genetica, di biologia, di biochimica, di fisiopatologia, di patologia, di farmacologia.

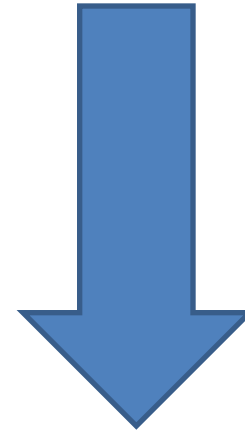
BIOCHIMICA CLINICA



DI BASE

✓ Accenna alle nozioni necessarie per comprendere nelle linee essenziali il processo di produzione di un risultato di laboratorio

✓ Approfondisce i criteri per valutare in dettaglio il valore ed i limiti metodologici ed interpretativi del risultato medesimo,



SPECIALISTICA

✓ Si occupa dei diversi analiti, considerati singolarmente o in gruppi omogenei dal punto di vista biochimico e/o fisiopatologico

✓ Ne esamina le tecniche di misura e la collocazione nel quadro clinico generale.

ESAMI DI LABORATORIO: definizione

Procedimento ***qualitativo, semiquantitativo o quantitativo*** inteso ad evidenziare la presenza o a misurare la quantità di un costituente biochimico in un materiale biologico.

Ha la finalità di indurre un beneficio diretto o indiretto al paziente sul piano preventivo, diagnostico e terapeutico.

In alternativa può essere di utilità per il medico o per la collettività.

Vengono richiesti dal medico curante ed eseguiti in laboratorio.

PERCHE' RICHIEDERE UN TEST DI LABORATORIO: a favore del paziente

- Quando c'è necessità di un intervento immediato su un paziente in pericolo di vita (coma ipo/iperglicemico, intossicazione da CO, da funghi, farmaci...)
- Prima di attuare un trattamento generale (operazione chirurgica per determinare la funzione emocoagulativa o l'omeostasi glicemica ed elettrolitica)
- A scopo diagnostico e prognostico
- Per classificare (*staging*) la malattia o seguire nel tempo i pazienti (*follow up*)
- Per controllare l'effetto dei farmaci e regolare la posologia
- Per controllare i livelli in circolo dei farmaci, soprattutto quando la maneggevolezza del farmaco è delicata per l'eccessiva vicinanza del livello terapeutico a quello tossico, o quando la fase di assorbimento o di escrezione può essere alterata
- Per scopi medico-legali

PERCHE' RICHIEDERE UN TEST DI LABORATORIO: a favore della professione medica

- ✓A scopo medico–legale: vengono richiesti a scopo cautelativo nell'eventualità di possibili contestazioni giudiziarie inerenti a fatti che possono derivare da una decisione medica o per procedere ad un trattamento anestetico, per un intervento chirurgico o per la somministrazione di mezzi di contrasto iodato;
- ✓A scopo conoscitivo (per conoscenze biochimico-metaboliche, fisiopatologiche e farmacologiche);
- ✓Per la ricerca biomedica;
- ✓Per la didattica.

PERCHE' RICHIEDERE UN TEST DI LABORATORIO: a favore della collettività

- ✓ A scopo preventivo: per le vaccinazioni nelle scuole, in istituti pubblici o in altre comunità;
- ✓ A scopo epidemiologico: per valutare lo stato di salute di una popolazione ed indagare i rapporti tra l'esposizione a certi fattori di rischio e l'insorgenza di determinate malattie;
- ✓ Per politica sanitaria: per determinare gli screening

RICHIESTA DI ESAMI DI LABORATORIO

ANALISI SINGOLE:

Hanno lo scopo di fornire una risposta ad una domanda clinica particolare, oppure serviranno a confermare una precedente risposta. Quando il risultato di una singola analisi conferma l'ipotesi clinica di partenza si dice che "convalida" la diagnosi iniziale.

Possono, anche, servire a controllare l'effetto della terapia o monitorare i farmaci

Limite rappresentato dalla loro scarsa sensibilità e specificità diagnostica (es. urea ematica in una sospetta affezione renale).

PROVE DI FUNZIONALITA':

Valutano la risposta ad uno stimolo accuratamente standardizzato, rapportato al comportamento di una popolazione di riferimento (Es. prova di tolleranza al carico orale di glucosio)

RAGGRUPPAMENTI STORICI e/o RAGGRUPPAMENTI STRUMENTALI :

▪ Raggruppamenti "storici" o convalidati dall'esperienza che hanno efficacia diagnostica:

- es. emocromocitometrico
- es. delle urine (chimico, fisico e citologico)
- es. del liquor (chimico e citologico)
- es. dello sperma (chimico e citologico) R es. degli elettroliti
- es. delle proteine plasmatiche (prot. tot., elettroforesi)

▪ raggruppamenti ad ipotetica validità diagnostica generale, in quanto basati sulla scelta di parametri biochimici importanti nei processi omeostatici generali e nei più importanti meccanismi fisiopatologici :

- profili biometabolici (studio del metabolismo dei glucidi, dei lipidi..)
- profili d'organo (funzionalità del rene, del fegato, del cuore..)
- profili di apparato (apparato scheletrico, emopoietico...)
- profili funzionali (funzionalità tiroidea, corticosurrenalica...)

ESAMI DI SCREENING:

Sono effettuati in soggetti asintomatici e sono effettuati in base all'ipotesi che la diagnosi presintomatica di affezioni reali o potenziali sia possibile e vantaggiosa.

Può essere utile anche nel caso di persone che per motivi professionali si trovano abitualmente a contatto con agenti tossici (piombo, mercurio, pesticidi..): la ricerca diretta dell'agente tossico nei fluidi biologici, ed il suo controllo nel tempo, può consentire di eliminare la causa dell'alterazione patologica

ESAMI D'URGENZA:

Sono esami di elevato contenuto diagnostico riguardanti analiti di possibile rapida modificazione nel tempo, il cui referto, fornito rapidamente (10'-60') è indispensabile al medico per trattare pazienti acuti e gravi affetti da malattie terapeutamente modificabili.

E' un esame che viene accettato ed eseguito dal laboratorio in qualunque momento della giornata e in qualunque giorno dell'anno. E' eseguita nei tempi più brevi possibili.

Profili biochimici

Misurando la concentrazione di due o più sostanze tra loro correlate e valutando l'insieme dei risultati è possibile ottenere un numero di informazioni clinicamente utili più elevato che non considerando ciascun risultato separatamente. (Es.: elettroliti plasmatici, test di funzionalità epatica).

Vantaggi: l'acquisizione, su un unico prelievo, di una serie di dati utili a confermare o ad escludere una diagnosi, effettuazione ordinata e regolare all'interno di un laboratorio, contenimento dei costi

Svantaggi: un numero molto elevato di dati possono risultare di difficile interpretazione, possono essere evidenziate anomalie biochimiche di scarsa rilevanza clinica

Nome, cognome,
provenienza, età, sesso

Notizie cliniche o familiari
che possano aiutare a fare
l'eventuale diagnosi

The screenshot shows a medical software window titled "COGNOME NOME - CGNNM077A10F123A - 29 anni". The interface includes a top menu bar with options like "Esami Laboratorio", "Altri Esami", "Protocolli Esami", and "Storico Prescrizioni". A left sidebar contains navigation buttons for "Crisco", "Anagrafe", "Anamnesi", "Diario", "Terapia", "Esami", "Certificati", "Eventi", "Note", and "Esci (esc)". The main area features a table with columns for "Stam.", "Abitu.", "Ricettario", "N.", "Prestazione", "Es.Pat.", "Es.Inv.", and "Es.Red.". Below the table are input fields for "Problema", "Quesito diagnostico", and "Nota prescrizione", along with a date selector set to "26 / 10 / 2006" and checkboxes for "sugerita" and "domicilio". A bottom toolbar contains icons for various actions with keyboard shortcuts: "dettaglio: f8", "nuovo: f3", "salva: f5", "stampa: f4", "anteprima", "canc: f9", "pulisci: f7", "esenz: f10", "verifica: f11", "protocollo", and "stampanti".

Ultima mestruazione,
settimana di gravidanza...

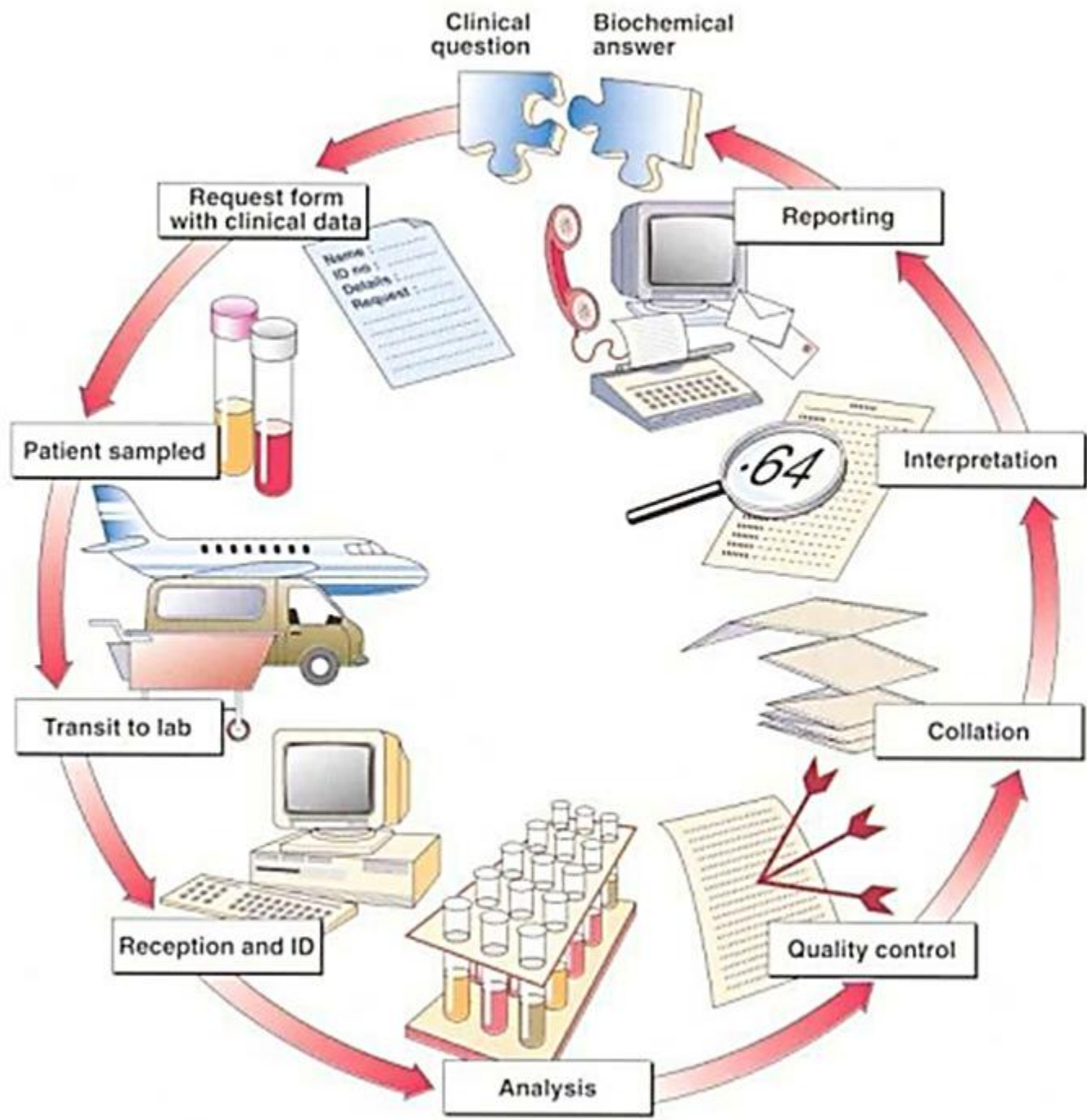
Quali farmaci assume

Prelievo basale, prova da
carico, prova funzionale,
prova circadiana

In ogni tipo di presidio, ospedaliero o territoriale, viene organizzata nel laboratorio una struttura di accettazione del campione biologico su cui eseguire gli esami e, in moltissimi casi, il sistema di accettazione è informatizzato, organizzato cioè mediante sistemi di lettura ottica di schede che consentono di identificare immediatamente il paziente tramite un codice a barre.

Un esame di laboratorio comprende una serie ordinata di passaggi:

1. Richiesta dell'esame
2. Preparazione del paziente
3. Raccolta del campione
4. Fase pre-analitica
5. Fase analitica
6. Fase post-analitica interpretativa
7. Referto
8. Compatibilità dei dati ottenuti



PREPARAZIONE DEL PAZIENTE:

Evitare l'interferenza con metaboliti che può essere di tipo:

1. Biofarmacologica e metabolica

- ❖ Farmaci epatotossici: alterano il livello della fosfatasi alcalina
- ❖ Vitamina K: diminuisce il tempo di protrombina ed il tempo di emorragia
- ❖ Diuretici ed alcuni steroidi: alterano la concentrazione degli elettroliti nei liquidi biologici

2. Fisica

- ❖ Vitamina A, riboflavina, carote ed alimenti contenenti pigmenti gialli, assorbiti nel tratto intestinale, alterano la misura della bilirubina eseguita con il metodo diretto

3. Chimica

- ❖ Interazione del farmaco con l'analita: eparina compete con l'albumina per il colorante (verde di bromocresolo) impiegato per la misura dell'albumina;
- ❖ Interazione con i reagenti: ac. ascorbico sulla determinazione del glucosio
- ❖ Interazione nella tecnica di misura: i farmaci che producono formaldeide (disinfettanti urinari) interferiscono positivamente nei metodi di determinazione delle catecolamine.

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: digiuno

Gli effetti del digiuno sono molto importanti:

la glicemia aumenta nella fase post-prandiale,

la potassiemia e la fosforemia diminuiscono durante i processi di
utilizzo del glucosio,

la lipemia persiste elevata a lungo dopo i pasti.

Possono bastare 6-8 ore.

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: dieta

Prove di tolleranza
al carico glucidico

APPORTO GLUCIDICO EQUILIBRATO
PER ALCUNI GIORNI

Esame dei trigliceridi

REGIME DIETETICO EQUILIBRATO

Azotemia

DIETA RICCA DI PROTEINE NON influisce in persone sane

se presente DISFUNZIONE EPATICA O RENALE tale dieta è dannosa

**Ormoni
tiroidei**

**DIMINUISCONO IN DIETE RICCHE DI
TIOCIANATI (senape) O TIOURACILE**

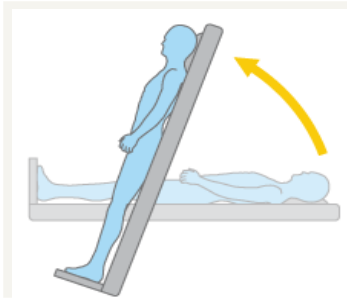
**Aldosterone
nelle urine**

**INTERFERENZA DA PARTE DI AGRUMI,
CAFFÉ, CAROTE, SPINACI**

**Acido 5-
idrossiindolacetico
nelle urine**

**ANANAS E BANANE FRESCHE, RICCHE DI
SEROTONINA, NE AUMENTANO L'ESCREZIONE**

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: postura, riposo fisico ed altre condizioni



Postura e riposo a letto possono influenzare la concentrazione di numerose sostanze nel sangue

In *posizione ortostatica* diminuisce il volume plasmatico del 10% ed aumenta quello del liquido interstiziale. In pazienti ambulatoriali *aumenta*, dunque, la *concentrazione di emoglobina, di proteine totali e di tutte le sostanze che in circolo sono legate alle proteine (es. calcio, colesterolo, NEFA, bilirubina)*.

L'immobilizzazione completa determina demineralizzazione del tessuto scheletrico con *aumento dell'escrezione urinaria del calcio, fosforo ed idrossiprolina*.

L'attività fisica, anche moderata, può influenzare alcuni componenti sierici; le attività enzimatiche localizzate nella muscolatura scheletrica (es. CPK, aspartato-ammino transferasi, aldolasi, lattato-deidrogenasi). Anche la concentrazione di ammoniaca, acido lattico e piruvico tende ad aumentare, anche in maniera consistente, dopo l'esercizio fisico. Se questo è prolungato aumenta anche l'escrezione delle catecolamine urinarie.

Anche l'emozione e lo stress possono dar luogo ad un'alterazione dei metaboliti: il colesterolo diminuisce, gli ormoni tiroidei aumentano.

L'assunzione prolungata di contraccettivi orali può determinare un'elevazione nella concentrazione del glucosio, aumento dei fattori I, VIII, IX e X della coagulazione e del colesterolo.

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: ritmi cronobiologici

Alcuni analiti presentano variazioni ritmiche nel tempo; tali variazioni presentano periodi differenti che possono essere di tipo *ultradiano* (a durata più breve delle 24h) o *infradiano* (a durata più lunga delle 24h).

I ritmi più diffusi in natura sono quelli *circadiani*, che riconoscono come sincronizzatori più comuni l'alternanza luce-oscurità, sonno-veglia, l'assunzione di cibo, etc.

E' stata osservata per esempio una variazione ritmica circadiana della VES, dei livelli di *ACTH*, del *cortisolo*, delle gonadotropine, della calcemia, nonché dell'escrezione urinaria di catecolamine, sodio, potassio, fosfati, etc.

Sono state inoltre osservate variazioni stagionali dei valori di colesterolo, con concentrazioni generalmente maggiori durante l'inverno.

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: ritmi cronobiologici

Effetti delle Stagioni dell'anno

Analita	conc.↑	conc. ↓	variazione % alto vs basso
ALT	inverno	primavera,estate	5%
Albumina	autunno	estate	1%
AST	primavera	estate	12%
LDH	estate	inverno	2%
glicemia	autunno	inverno	1%
TG	primavera	autunno	5%
creatinina	estate	inverno	5%

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: sesso paziente

COMPOSTO	DIFFERENZE
Albumina	M>F
Fosfatasi alcalina (ALP)	M>F
Creatinina	M>F
Creatinchinasi	M>F
Ematocrito (Ht%)	M>F
Ormone della crescita (hGH)	F>M
Colesterolo	F>M
Colesterolo HDL	F>M

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: età paziente

COMPOSTO	DIFFERENZE (Y=young, O=old)
Albumina	Y>O
Ormone della crescita (hGH)	Y>O
Fosfatasi alcalina (ALP)	O>Y
creatinina	O>Y (leggermente)
Colesterolo	O>Y
Tireoglobulina (TG)	O>Y

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE: emolisi

Passaggio nel siero (o nel plasma) dell'emoglobina e di tutte le sostanze contenute all'interno degli eritrociti.

E' la principale causa di inadeguatezza qualitativa dal momento che provoca errore nelle analisi colorimetriche, sia per motivi fisici che chimici (inibizione di reazioni o di attività enzimatiche delle lipasi).Ma anche perché si riversano nel siero o plasma delle sostanze la cui concentrazione negli eritrociti è maggiore rispetto a quella del siero (Lattatodeidrogenasi, transaminasi, catalasi...).



L'emolisi diventa riconoscibile ad occhio quando la concentrazione di emoglobina nel siero supera i 20mg/dL .

Tabella 2.1 Livelli di concentrazione di alcuni analiti nei globuli rossi e nel plasma

Analiti	Globuli rossi	Plasma
Glucosio mg/dl	74,0	90,0
Azoto non proteico mg/dl	40,0	8,0
Acido urico mg/dl	2,5	4,6
Colesterolo totale mg/dl	139	194
Colesterolo esteri mg/dl	0	129
Na ⁺ mmol/l	16	140
K ⁺ mmol/l	100	4,4
Cl ⁻ mmol/l	52	104
HCO ₃ ⁻	19	26
LDH mU/ml	58.000	360
GOT (AST) mU/ml	500	25

Cause di emolisi

MECCANICA : eccessiva forza aspirante al momento del prelievo, oppure, più frequentemente, ad una pressione eccessiva esercitata sullo stantuffo al momento dell'espulsione del sangue dalla siringa.

FISICA: conservazione prolungata del campione, in condizioni di temperatura non idonee (caldo o freddo eccessivo); il congelamento del campione di sangue determina la lisi completa degli eritrociti attraverso il processo di cristallizzazione dell'acqua eritrocitaria e conseguente rottura delle membrane cellulari.

BIOLOGICA : a causa di deficit degli enzimi eritrocitari o per la presenza in circolo di emolisine di varia natura che possono aumentare, anche notevolmente, la fragilità osmotica eritrocitaria.

OSMOTICA o CHIMICA: presenza di acqua, alcool, solventi o disinfettanti, tensioattivi (detergenti) nell'ago, nella siringa o nei contenitori.

QUALI CAMPIONI SI POSSONO PRELEVARE?

Sangue

Urine

Liquor

Liquido sinoviale

Liquidi di versamento delle cavità sierose (Pleurica, Pericardica, Peritoneale)

Liquido amniotico

Liquido seminale

Succo gastrico

Feci

URINE

**RECIPIENTE DI
RACCOLTA**

ASSOLUTAMENTE PULITO E, IN CASO DI
URINOCOLTURA, ANCHE STERILE

CAMPIONE

PRIMA MINZIONE MATTUTINA

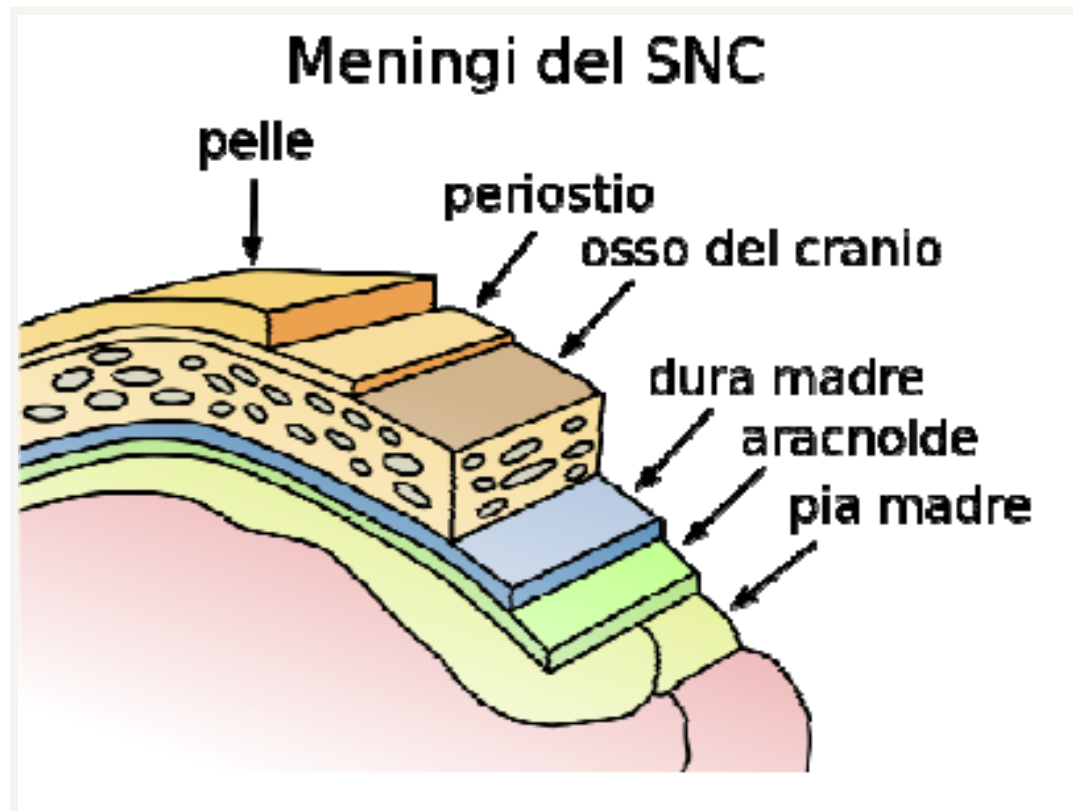
URINE 24 ORE

ALCUNI PARAMETRI BIOCHIMICI SUBISCONO VARIAZIONI
CRONOBIOLOGICHE – SCARTARE PRIMA MINZIONE E
RACCOGLIERE IN UN UNICO RECIPIENTE TUTTE LE URINE
EMESSE NELLE 24 ORE

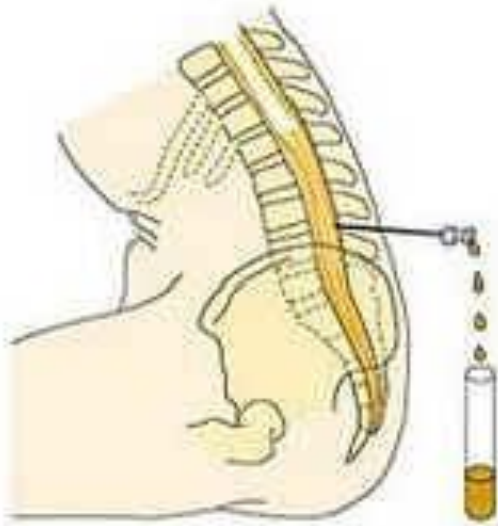
LIQUOR (LCR, Liquido Cefalorachidiano)

Riempie tutti gli spazi lasciati liberi dall'encefalo e dal midollo spinale all'interno della dura madre ovvero la parte più esterna e più spessa delle meningi (membrane che avvolgono l'encefalo e il midollo spinale).

Nell'adulto può raggiungere al massimo la quantità di 160mL, nel neonato varia fra 40 e 60 mL.

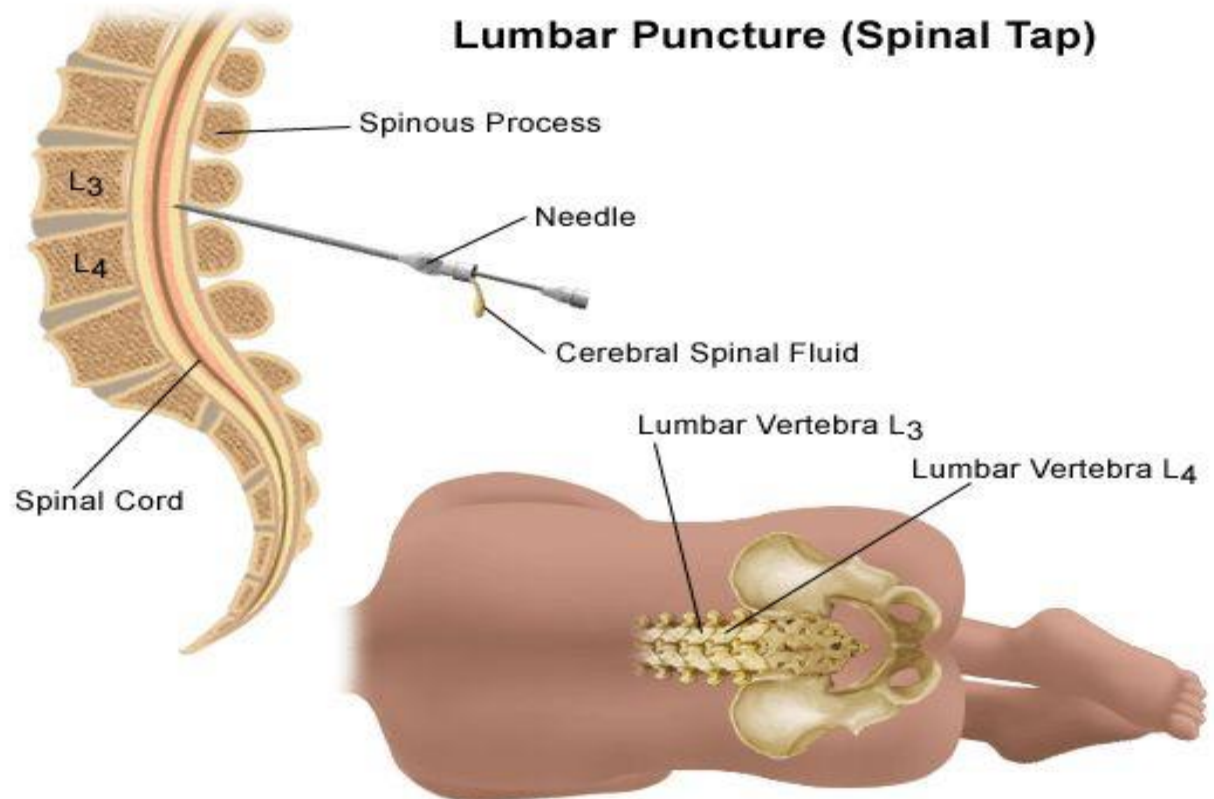


Come prelevare il liquor (rachicentesi)?



Prelievo a livello dello spazio intervertebrale tra la quarta e la quinta vertebra lombare; più raramente nello spazio compreso fra atlante ed osso occipitale.

Pressione
liquorale
dipendente
dalla postura
(>seduti).



Quando prelevare il liquor ?

Permette di accertare infezioni sospette a carico del cervello (es. meningiti), verificare patologie demielinizzanti e rilevare la presenza di eventuali cellule neoplastiche.

Colore limpido “acqua di roccia”, a meno che durante il prelievo non si leda qualche vaso sanguigno nell'attraversare cute, sottocute, fascia muscolare e dura madre.



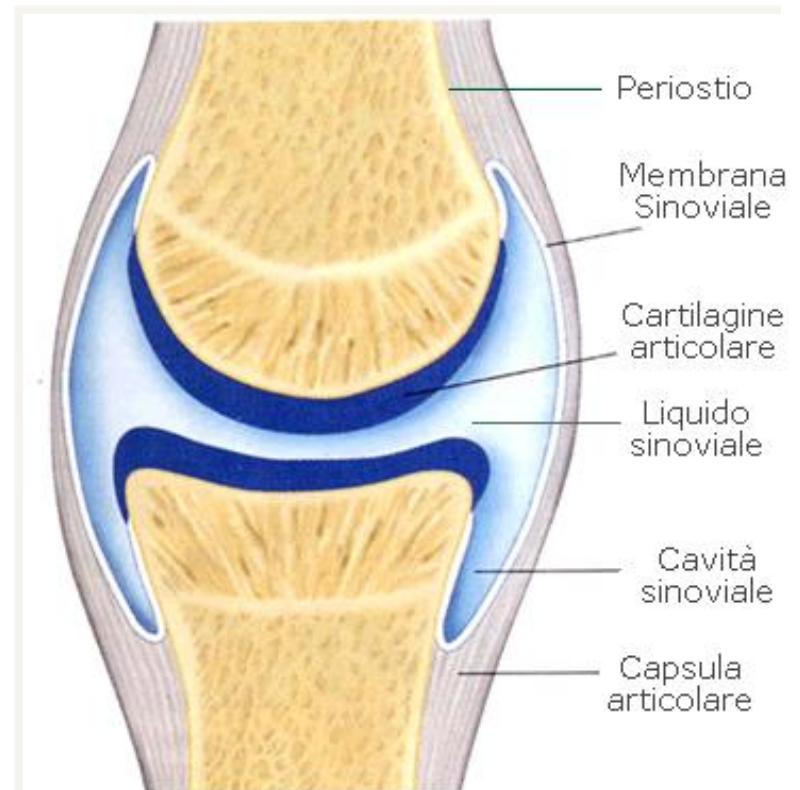
Sufficienti ~ 3-4 mL per esami chimici e citologici, da consegnare entro un'ora (es.citologici) a temperatura ambiente. Nell'adulto possono essere prelevati fino a 15-20 mL per identificare anche minime quantità di singole frazioni proteiche (IgG oligoclonali nella sclerosi multipla).

Come deve essere il liquor ?

	Normale	Meningite batterica	Meningite virale	Meningite tubercolare
<i>Aspetto</i>	limpido	smerigliato lattescente, purulento	limpido o lievemente opalescente	Solitamente limpido raramente smerigliato (in fase iniziale), reticolo di Mya
<i>Pressione</i>	10-20 cm H ₂ O in decubito laterale 20-40 cm H ₂ O seduto	Nettamente aumentata	Aumentata	Nettamente aumentata
<i>Glucosio</i>	50-60 mg%	Diminuito talvolta fino a scomparsa totale	Normale o modesto aumento	Nettamente diminuito (anche < 30 mg%)
<i>Proteine</i>	20-40 mg%	Nettamente aumentate	Lievemente aumentate	Nettamente aumentate >100mg%
<i>Cloruri</i>	720-750 mg%	Lievemente diminuiti o normali	Normali o lievemente diminuiti	Nettamente diminuiti
<i>Elementi figurati</i>	3-5 linfociti	Netta pleiocitosi neutrofila	Pleiocitosi linfocitaria	Pleiocitosi linfocitaria (con PMN solo precocemente)

LIQUIDO SINOVIALE

Ultrafiltrato plasmatico prodotto dalle cellule che rivestono internamente la membrana sinoviale delle grosse articolazioni. Ha funzione lubrificante e nutritiva delle cartilagini che rivestono i capi articolari delle ossa.

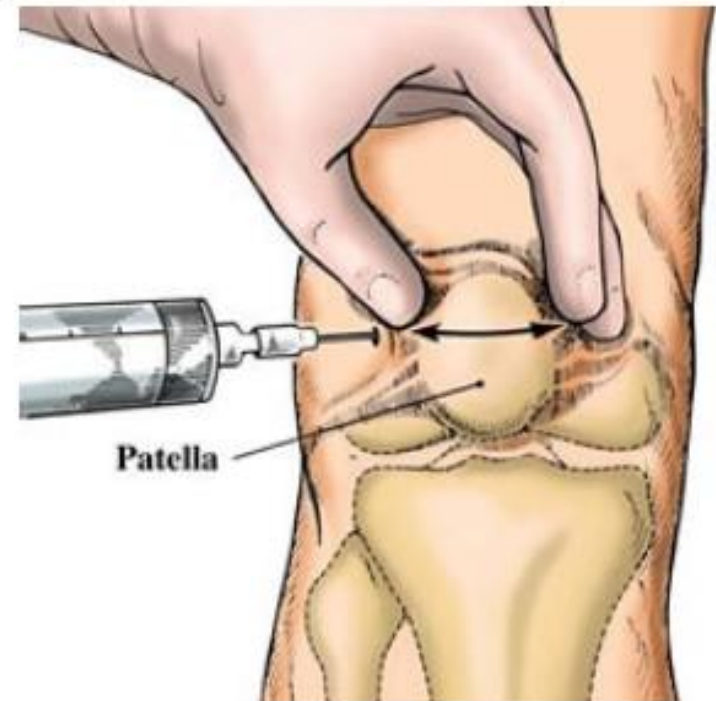


Come prelevare il liquido sinoviale (artrocentesi)?

Puntura percutanea delle cavità intra-articolari. Il materiale prelevato è posto in un contenitore sterile ed esaminato immediatamente.

Si studiano le caratteristiche fisiche, chimiche, citologiche, immunologiche e microbiologiche.

Nelle provette viene usato l'EDTA, quando si vuole effettuare uno studio citologico.



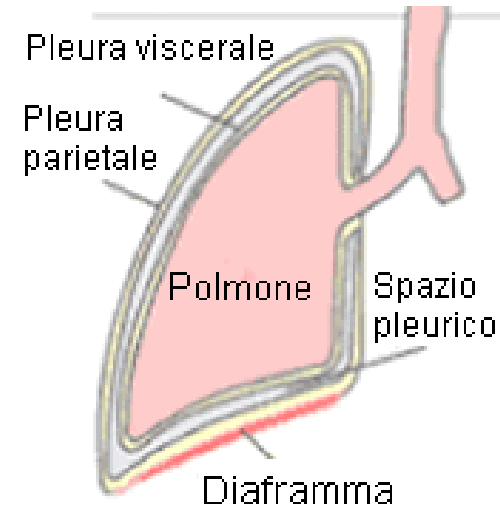
Come deve essere il liquido sinoviale ?

Condizioni normali	Condizioni patologiche
Cristalli = assenti	Tumefazione intra-articolare con aumento della quantità di fluido.
Leucociti = 200/mL	
Mucine = normale	
Viscosità = normale	

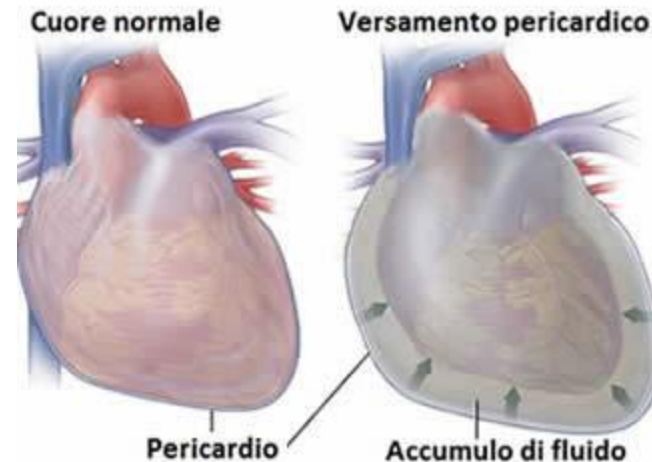
LIQUIDI DI VERSAMENTO DELLE CAVITÀ SIEROSE

(pleurica, pericardica, peritoneale)

Fisiologicamente le cavità sierose contengono quantità minime di un fluido simile al siero per colore e caratteristiche chimico-fisiche. Svolge funzione lubrificante favorendo lo scorrimento endocavitario dei visceri, a loro volta rivestiti da membrana sierosa come le cavità che li contengono.



Aumentano in seguito a lesioni infiammatorie, neoplastiche o traumatiche degli organi endocavitari.



Si formano per ultrafiltrazione del plasma e vengono riassorbiti attraverso i capillari delle sierose.

Come prelevare i liquidi di versamento delle cavità sierose (toracentesi)?

Toracentesi Evacuativa

Paziente seduto in posizione eretta e appoggiato ad un tavolo

Il liquido spinge sul polmone destro causando difficoltà respiratorie, dolore toracico, tosse secca e stizzosa

Eccessivo accumulo di liquido nello spazio pleurico

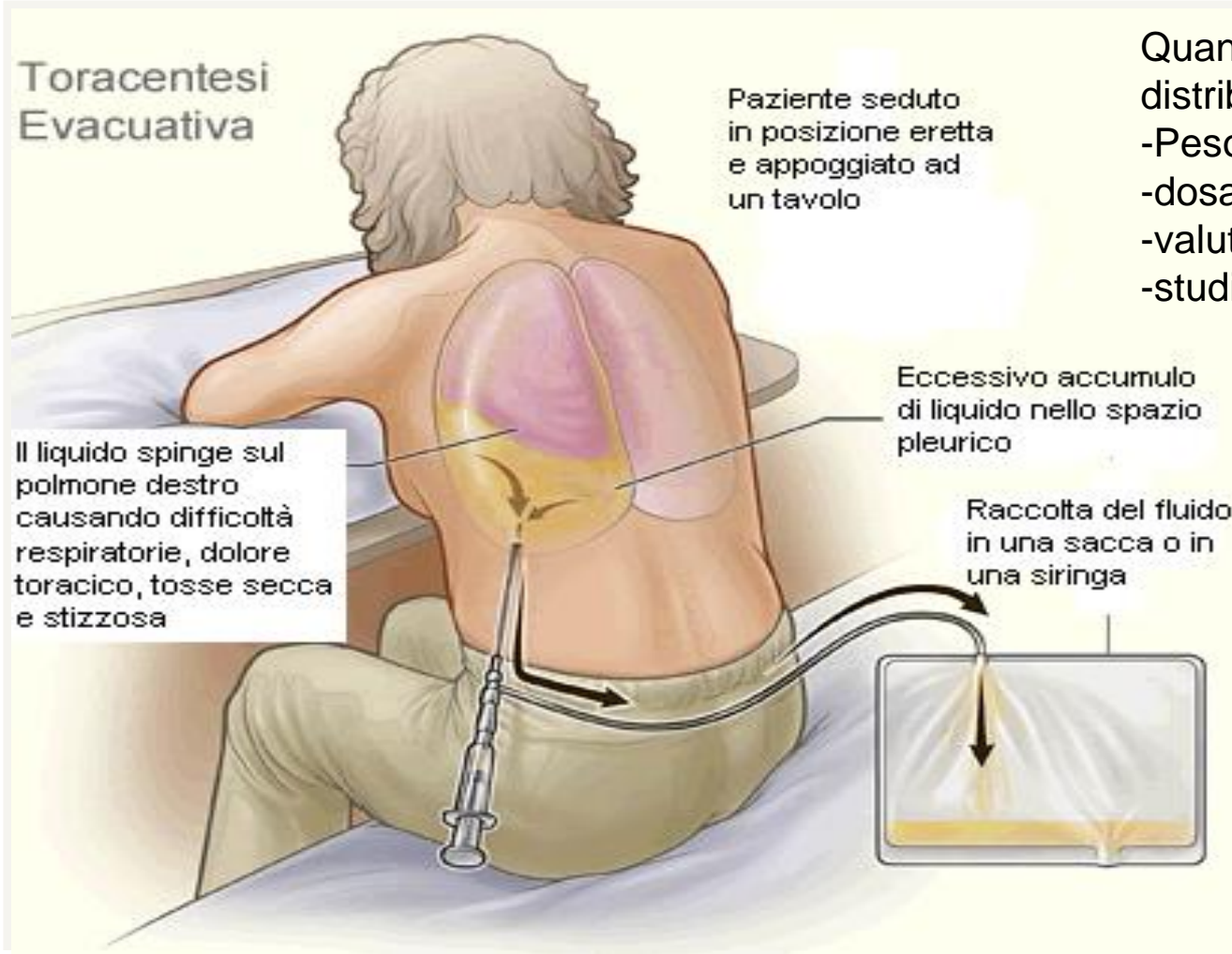
Raccolta del fluido in una sacca o in una siringa

Quantità minima 50 mL da distribuire in varie provette:

- Peso specifico
- dosaggi chimici
- valutazione citologica
- studio microbiologico

EDTA per gli studi citologici

EPARINA per gli esami microbiologici e colturali



LIQUIDO AMNIOTICO

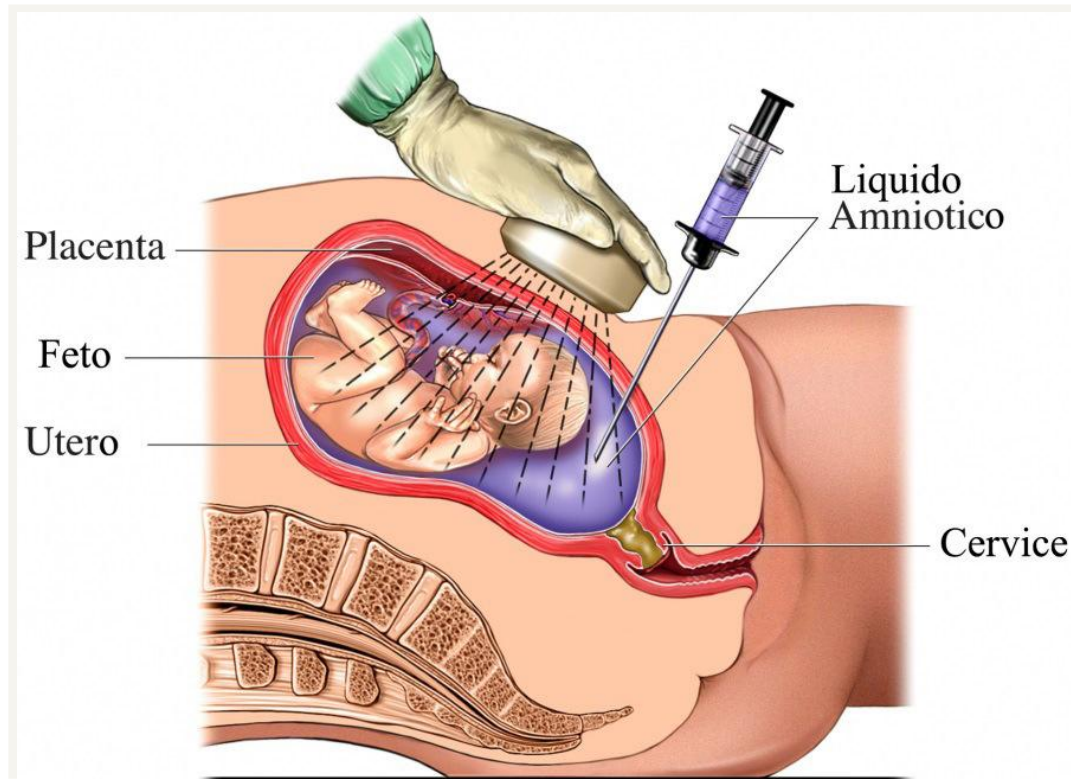
E' lievemente opalescente e di colore citrino molto tenue in condizioni normali; può essere inquinato da sangue materno per rottura di qualche piccolo vaso durante la penetrazione dell'ago da prelievo.

Permette di:

- Valutare la funzionalità e la maturità di organi e apparati fetali (apparato urinario, digerente e respiratorio)
- Rivelare malformazioni fetali (per es. del SN)
- Accertare eventuali malattie genetiche o cromosomiche (indagini biologiche, biochimiche e citogenetiche)

Come e quando prelevare il liquido amniotico

Puntura transaddominale del sacco amniotico e aspirazione in siringa



LIQUIDO SEMINALE



Permette di ottenere lo spermioγραμμα, ossia l'analisi del liquido seminale finalizzata a valutare la *qualità* degli spermatozoi, attraverso la verifica della **forma**, del **numero** e della **motilità**.

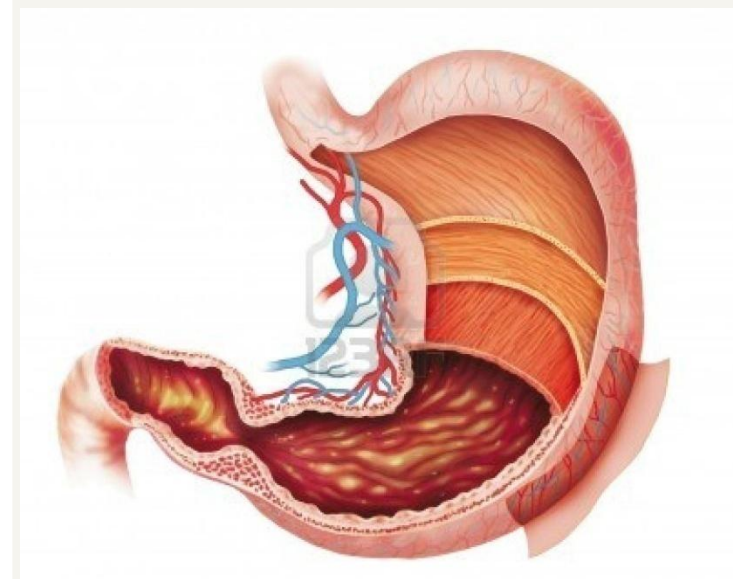
Tale esame rappresenta lo strumento principale per la valutazione della fertilità maschile. Il paziente deve effettuare almeno 2-3 giorni di astinenza prima del prelievo (quantità variabile fra i 2 e i 6 mL).

Il campione va tenuto a 37°C per 30' per favorire la colliquazione prima dell'esecuzione delle indagini richieste.

SUCCO GASTRICO

Il succo gastrico è rappresentato dalle secrezioni acide dello stomaco a digiuno.

L'esame è indicato in tutte le situazioni nelle quali ci sia il sospetto di alterazioni della qualità/quantità della secrezione acida dello stomaco.

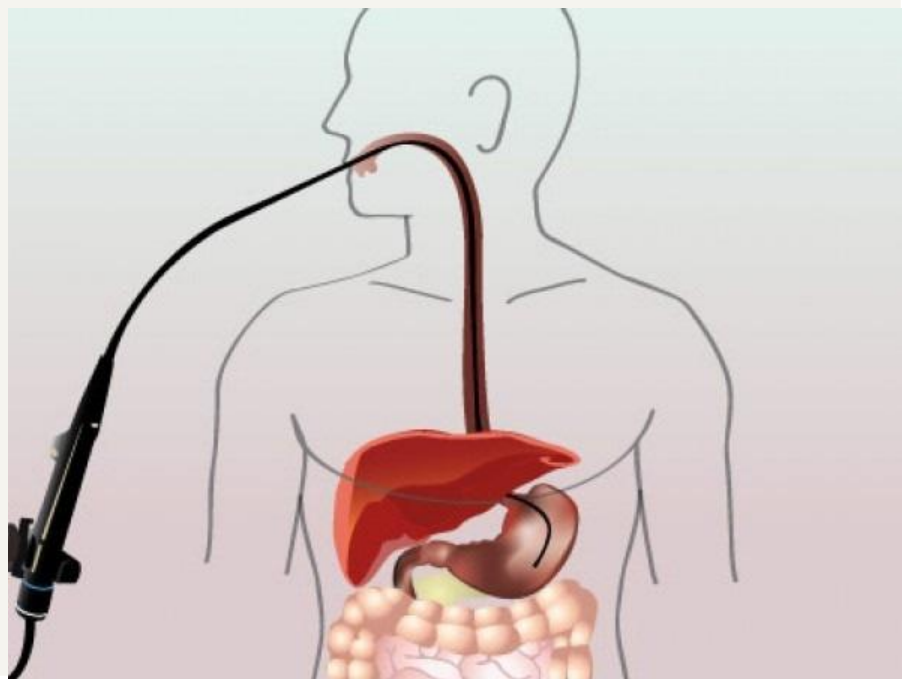


Come e quando prelevare il succo gastrico

Prelievo mediante sondaggio gastrico di pochi mL.

Si introduce il sondino dal naso o dalla bocca fino a che l'estremità distale di esso raggiunge l'antro gastrico. Dopo l'introduzione del sondino si aspira mediante siringa il residuo gastrico.

Per la valutazione della secrezione basale, il succo gastrico viene aspirato per 4 periodi consecutivi di 15 min ciascuno: si ottengono 4 campioni di ognuno dei quali si misurano volume e acidità titolabile.



Occorre sospendere l'assunzione di farmaci almeno 24 ore prima del prelievo che deve avvenire a digiuno da almeno 12 ore.

FECI

Qualsiasi contenitore è idoneo, purchè pulito (la sterilità è superflua).

Le feci devono essere emesse spontaneamente senza l'uso di lassativi



La ricerca del sangue occulto nelle feci consiste nell'evidenziare piccoli sanguinamenti provocati da lesioni dell'intestino. È un test utile per la prevenzione del tumore del colon-retto.



SANGUE

Il sangue è un tessuto che costituisce circa 1/12 del peso corporeo, circa quindi 5-6 litri, che svolge numerose ed importanti funzioni:

- **Respiratoria:** per mezzo dell'emoglobina contenuta negli eritrociti, porta l'ossigeno ai vari tessuti e ne preleva l'anidride carbonica (CO₂)
- **Nutritiva ed escretiva:** trasporta sostanze nutritive (amminoacidi, zuccheri, sali minerali) e raccoglie quelle escrete dai vari apparati che verranno eliminate attraverso il filtro renale od elaborate dal fegato.
- **Regolazione:** trasporta inoltre ormoni, enzimi e vitamine.
- **Difesa:** presiede anche alla difesa dell'organismo attraverso l'azione svolta dai globuli bianchi
- **Termoregolatrice:** mantenimento del tasso idrico
- **Regolazione dell'emostasi**
- **Mantenimento della pressione osmotica** (minerali) **e oncotica** (proteine)

QUALSIASI RISULTATO PRODOTTO

DAL LABORATORIO

E' TANTO BUONO

QUANTO IL CAMPIONE

DA CUI E' STATO OTTENUTO

PRELIEVO : disinfezione e strumenti per il prelievo



Disinfezione della cute prima del prelievo



Introduzione dell'ago nella vena e drenaggio del sangue nella provetta sterile sottovuoto



PRELIEVO di SANGUE

TIPO DI PRELIEVO DI SANGUE:

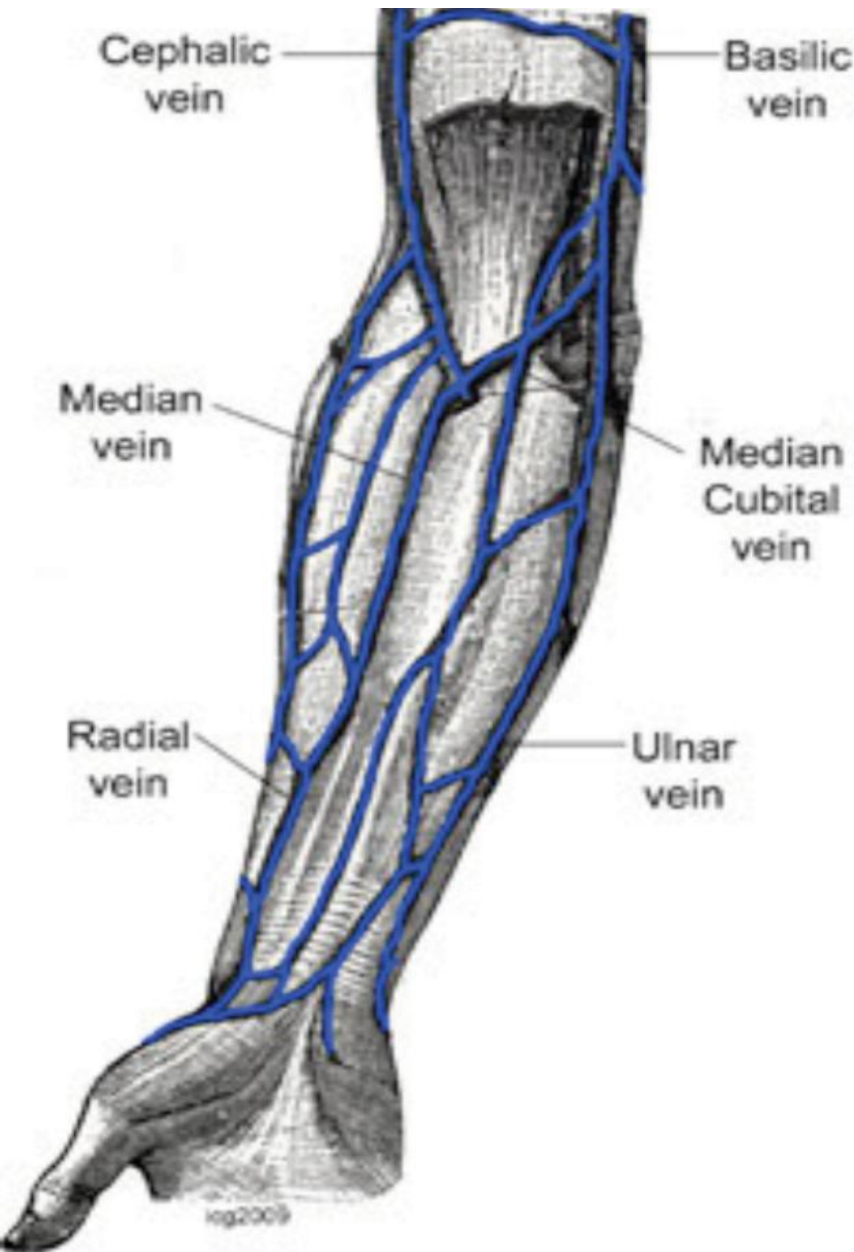


Venoso: da 1-2 mL a 10-20 mL, da vena periferica (cubitale) evitando la stasi venosa; si utilizzano provette di plastica, tipo “vacutainer”.

Capillare: da qualche μL a 1 mL, negli adulti dal polpastrello di un dito o dal lobo dell'orecchio, nei bambini dal calcagno (pungere con lancetta d'acciaio alla profondità 3-4mm). Si scarta la prima goccia di sangue e si raccoglie il successivo.

Arterioso: circa 5 mL, da arteria radiale, dalla brachiale o dalla femorale; posizionarsi a 90° rispetto alla superficie cutanea e al termine applicare una pressione idonea per almeno 5'

Prelievo venoso



1. **Vena cubitale mediana**: spesso utilizzata per drenare il sangue (venipuntura)

2. **Vena basilica**: solitamente è la vena più grande presente nelle braccia, spesso viene utilizzata come punto d'accesso per l'emodialisi

3. **Vena cefalica**: corre lungo i bicipiti, è la vena che contraddistingue tutti i bodybuilder.

Per le analisi chimico-cliniche di routine interessa soltanto il sangue venoso e quello capillare.

I dati ematochimici ottenuti da sangue venoso non differiscono significativamente da quelli ottenuti su sangue capillare, purché si eviti nel primo caso una stasi prolungata e, nel secondo caso, il passaggio di liquido dallo spazio interstiziale a quello vascolare.

Il sangue arterioso viene invece considerato il materiale standard per lo studio dei parametri dell'equilibrio acido-base.

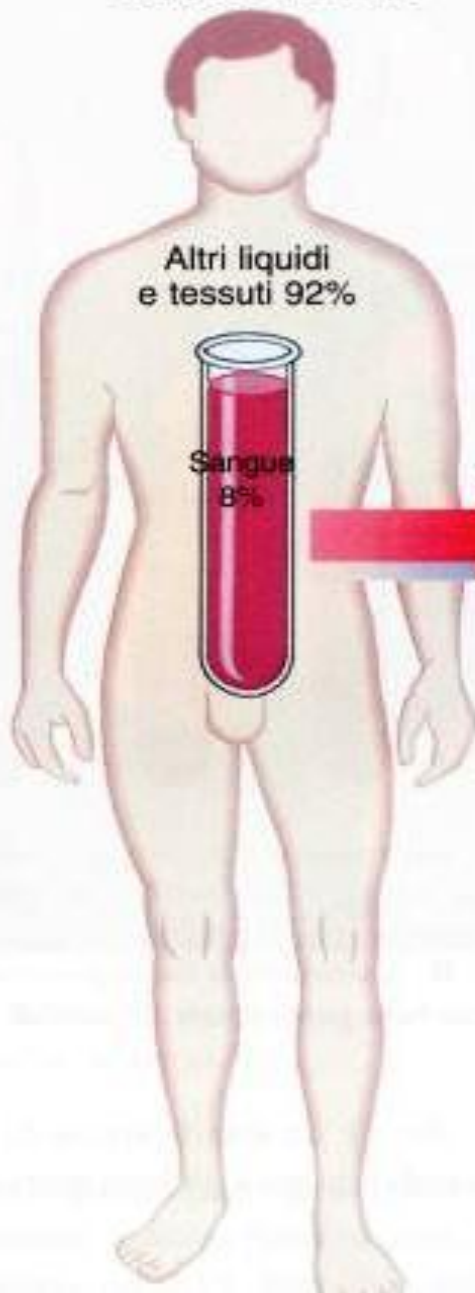
SANGUE: composizione

Il **sangue** è formato da elementi figurati (eritrociti, leucociti e piastrine) e da una sostanza intercellulare liquida, denominata plasma.

Il **plasma** è la componente fluida del sangue, cioè il sangue deprivato degli elementi figurati, ma che contiene i fattori della coagulazione.

Il **siero** identifica quel liquido normalmente chiaro che si separa dal sangue quando questo viene lasciato coagulare. Quindi il siero è la componente liquida del sangue che rimane dopo la rimozione degli elementi figurati e del coagulo di fibrina.

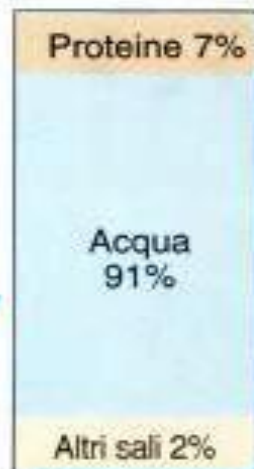
Percentuali del peso del corpo



Percentuale in volume



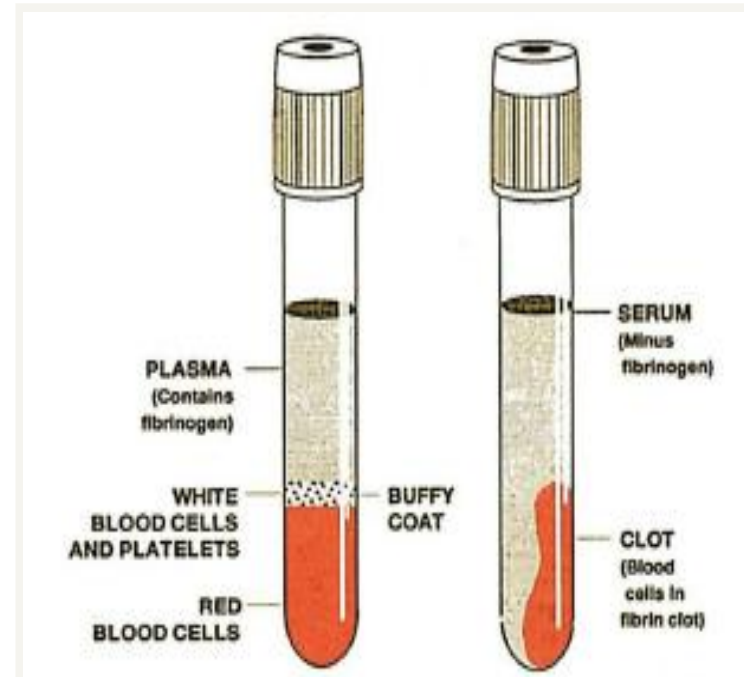
Plasma (percentuale in peso)



Elementi figurati del sangue (numero per mm cubico)



TIPO di CAMPIONE: sangue intero, plasma o siero



Le provette per siero con separatore integrato contengono un gel che è presente nella parte inferiore della provetta. Durante la centrifugazione il gel si muove verso l'alto formando una barriera stabile che separa il siero dalle cellule.

TIPO di CAMPIONE: plasma o siero

Rispetto al siero, il plasma presenta il vantaggio di un'emolisi inferiore tanto che i valori di potassio, su plasma, sono inferiori mediamente del 10% rispetto a quelli su siero.

Anche alcuni enzimi, come la fosfatasi acida e la lattatodeidrogenasi, che vengono liberati dalle piastrine durante il processo coagulativo, sono presenti nel siero in maggiore quantità.

ANTICOAGULANTI e PRESERVANTI

VACUTAINER

Provette pre-etichettate, dotate di vuoto precalibrato e sterili.

Sono dotate di chiusure di sicurezza che riducono drasticamente l'esposizione al rischio biologico sia nel momento del prelievo, sia durante il trattamento dei campioni ematici, consentendo agli Operatori Sanitari di operare nella massima sicurezza.



Possono contenere diversi additivi, indicati da specifici colori regolamentati da accordi internazionali.

-11. Scelta mediante codice cromatico degli anticoagulanti di comune utilizzo

Colore del tappo	Additivo	Note
Rosso	Nessuno	Raccolta di siero
Lavanda	EDTA (Versene)	Raccolta di sangue intero; lega il calcio
Verde	Eparina	Inibisce l'attivazione di trombina
Blu	Tampone citrateo	Studi della coagulazione; lega il calcio
Nero	Tampone sodium citrato	Westergren ESR
Grigio	Contiene un inibitore di glicolitico per glucosio	Determinazioni del glucosio
Giallo	Destrosio citrato (ACD)	Preserva le emazie

Colour Code	Tube Type	Inversions
 Light Blue	Sodium Citrate	3-4 Times
 Black	Sodium Citrate ESR	8-10 Times
 Red	Serum	5-6 Times
 Gold	SST™ II	5-6 Times
 Green	Heparin & PST™ II	8-10 Times
 Lavender	EDTA	8-10 Times
 Pink	Cross Match	8-10 Times
 Grey	Fluoride Oxalate	8-10 Times
 Royal Blue	Trace Element	8-10 Times

Siero	→	azotemia, creatininemia, colesterolo, ac.urico...
Plasma	→	chimica clinica, immunometria
Plasma citratato	→	test coagulativi
Sangue citratato	→	VES
Sangue con EDTA	→	emocromo, alcuni ormoni



SANGUE: quale additivo scegliere

Citrato (sale sodico)

- Soluzione alla concentrazione di 3.4-3.8 g/dL.
- Il rapporto tra il volume sangue e l'anticoagulante sodio citrato è di 9:1.
- Si comporta da anticoagulante complessando gli ioni Ca^{++}
- Raramente usato in ematochimica, più frequentemente in ematologia dove costituisce l'anticoagulante di scelta per gli studi sulla coagulazione



SANGUE: quale additivo scegliere

Citrato (sale sodico)

- Soluzione alla concentrazione di 3.4-3.8 g/dL.
- Il rapporto tra il volume sangue e l'anticoagulante sodio citrato è di 9:1.
- Si comporta da anticoagulante complessando gli ioni Ca^{++}
- Raramente usato in ematochimica, più frequentemente in ematologia dove costituisce l'anticoagulante di scelta per gli studi sulla coagulazione



SANGUE: quale additivo scegliere

Citrato (sale sodico)

Le provette per VES contengono una soluzione tamponata 3.8% di trisodio citrato (0.129 mol/l). Rapporto diluizione: 1 parte di soluzione di citrato con 4 parti di sangue. Le provette VES sono utilizzate per determinare la velocità di eritrosedimentazione.

SANGUE: quale additivo scegliere

Eparina (sale di sodio, di ammonio, di litio)

- Soluzione alla concentrazione di 10-20 UI/ml
- E' un anticoagulante naturale: inibisce la cascata coagulativa attivando antitrombine ed inibendo in questo modo la coagulazione del campione ematico.
- E' indicata per indagini ematologiche (sodio eparina) e per la determinazione del sodio, potassio, bicarbonati, cloruri (litio eparina).

SANGUE: quale additivo scegliere

EDTA (acido etilendiaminotetracetico sale bi o tripotassico o bisodico)

- Concentrazione finale di 1,5-2 mg/mL.
- Si comporta da ottimo anticoagulante chelando gli ioni Ca^{++}
- Usato per analisi ematologiche, in quanto conserva inalterate le componenti cellulari: gli eritrociti, i leucociti e i trombociti in un campione di sangue anticoagulato per mezzo di EDTA rimangono stabili fino a 24 ore.



SANGUE: quale additivo scegliere

Fluoruro

- Concentrazione finale di 2 mg/mL.
- Esplica azione competitiva con il calcio plasmatico e come tale è un debole anticoagulante, quindi si usa in associazione con l'EDTA.
- Usato per analisi della glicemia.



SANGUE: quale additivo scegliere

Ossalato (sale di sodio, potassio, ammoni, e litio)

- Concentrazione finale di 1-2 mg/mL (concentrazioni maggiori possono determinare emolisi)
- Esplica attività anticoagulante attraverso la formazione di complessi, poco solubili, con gli ioni Ca^{++} .
- Ha ampia applicazione soprattutto per ricerche emocoagulative.

Anticoagulanti

Sostanza anticoagulante	Concentrazione consigliata nel campione di sangue	Test per cui è particolarmente indicata	Test in cui interferisce
Litio eparina	~0,20 mg/ml	Sodio e potassio, bicarbonati, cloruri	Ammoniaca, calcio, colesterolo, CK, fosfato in., G6-PDH, γ GT, α HBDH, insulina, NEFA
Sodio eparina	~0,20 mg/ml	es. emocromocitometrico (in alternativa all'EDTA) resistenza globulare, emoglobine patologiche, enzimi plasmatici (escl. i controindicati)	Sodio e gli stessi del litio eparina
EDTA, sale bisodico o bipotassico	~1 mg/ml	es. emocromocitometrico, emoglobine patologiche, fibrinogeno	Calcio, colesterolo, CO ₂ , CK, ferro, LAP, potassio, proteine tot., tempo di protrombina, sodio, VES
Fluoruro (antiglicolitico)	~2 mg/ml	Glucosio	Ammoniaca, amilasi, calcio, cloruri, colesterolo, CO ₂ , fosfatasi acida-alcalina, potassio, sodio, urea (enzim.), VES
Citrato di sodio tribasico	Test emocoagulaz.: 0,38%; VES: 0,76%	Tempo di protrombina, PTT, TT, fibrinogeno, tromboelastogramma	Calcio, colesterolo, fosfatasi acida/alcalina, fosfato in., magnesio, NEFA, sodio, trigliceridi
Ossalato di potassio	1-2 mg/ml	Alcuni test di emocoagulazione, fibrinogeno (in alternativa al citrato)	Ammoniaca, calcio, colesterolo, CO ₂ , fosfatasi acida/alcalina, fosfato in., α -HBDH, insulina, LDH, PTT, sodio/potassio, urea (Berthelot), VES

SANGUE: come maneggiare il prelievo

- Il campione di sangue prelevato può essere analizzato immediatamente oppure conservato.
- Richiede la preparazione/separazione del plasma o siero o altro.
- Deve essere suddiviso in aliquote e si conserva a temperatura ambiente, a 4°C, a -20°C oppure a -80°C a seconda della stabilità degli analiti da determinare.
- Prima dell'analisi, se congelato, il campione va scongelato correttamente.

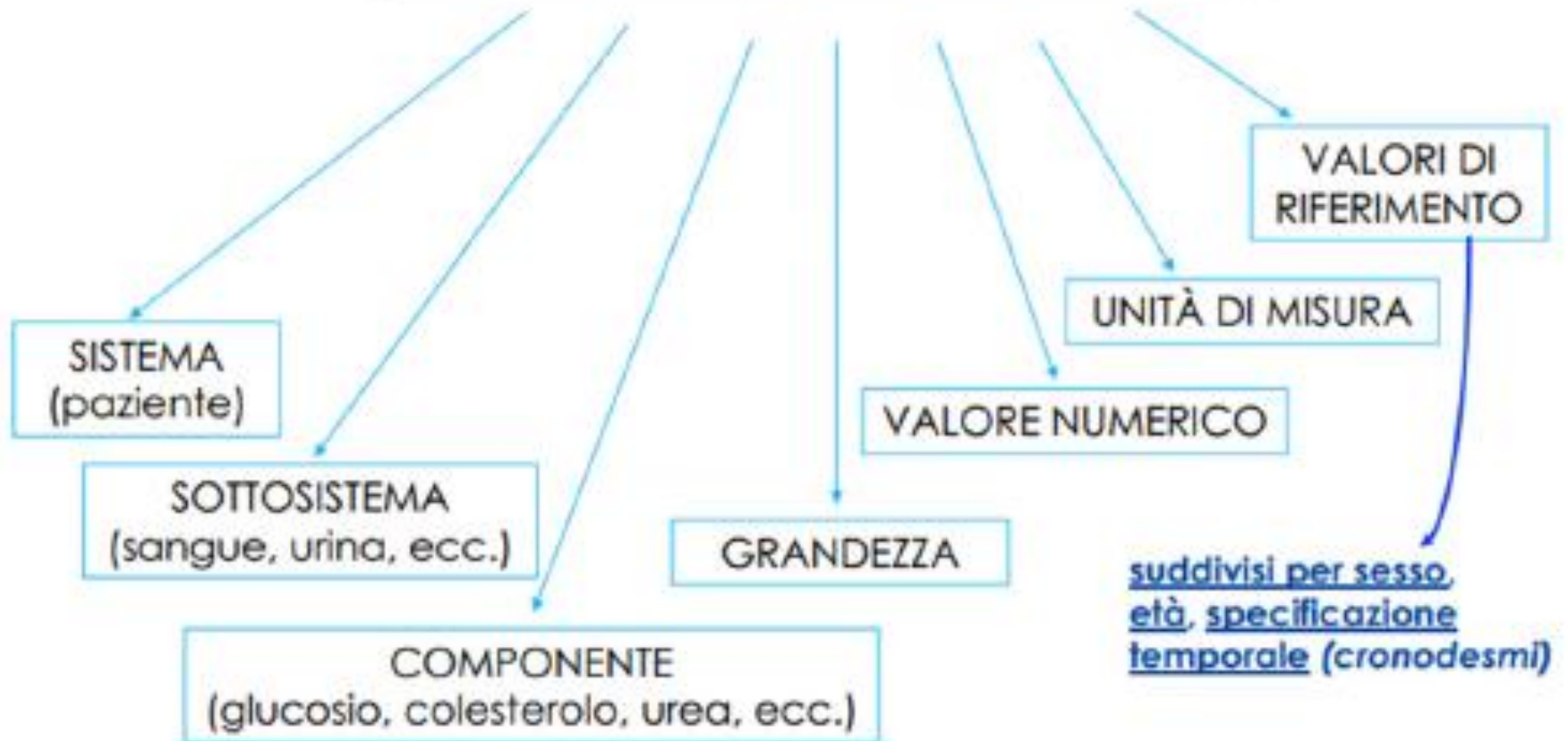
NON CONFORMITA' nel prelievo

- ❖ Bisogna eseguire il prelievo di sangue venoso evitando una eccessiva stasi venosa che può indurre fenomeni di emoconcentrazione.
- ❖ Inoltre, è importante far defluire il sangue nella provetta spontaneamente e delicatamente per evitare l'emolisi.
- ❖ E' la causa più frequente di inadeguatezza qualitativa del prelievo di sangue (60% dei campioni non processati)



REFERTAZIONE

RISULTATO DELLE ANALISI DI BIOCHIMICA CLINICA



REFERTAZIONE

CRITERI A CUI DEVE OBBEDIRE IL REFERTO

COORDINAZIONE



corretta attribuzione
del risultato al paziente

PLAUSIBILITÀ



concordanza di più dati analitici,
in test multipli, nell'ambito di una
condizione fisiopatologica

Inoltre, il risultato numerico può presentarsi:

- inatteso, ma possibile
- inatteso e incompatibile con la sopravvivenza del paziente → errore preanalitico??????

TEMPESTIVITA' O TEMPO DI RISPOSTA (TURN AROUND TIME - TAT):

meglio il risultato tempestivo e approssimato piuttosto che quello accurato,
ma ottenibile tardi (es: nelle urgenze, coma, intossicazioni, ecc.)



Profilo d'ingresso

Glucosio

Creatinina

Acido Urico

Sodio

Potassio

Cloro

Bicarbonato

Calcio

Fosforo

Bilirubina diretta

Bilirubina totale

LDH

AST (GOT)

ALT (GPT)

Fosfatasi alcalina

Albumina

Proteine totali

Colesterolo

Trigliceridi

Organo/Sistema interessato

Metabolismo, equilibrio idricosalino, valutazione di rischio cardiaco

rene, equilibrio idrosalino

rene

rene, equilibrio idrosalino

rene, equilibrio idrosalino

rene, equilibrio idrosalino

rene, equilibrio idrosalino

osso, equilibrio idrosalino

rene, osso

fegato

fegato

fegato, muscolo

fegato, muscolo

fegato

fegato, ossa

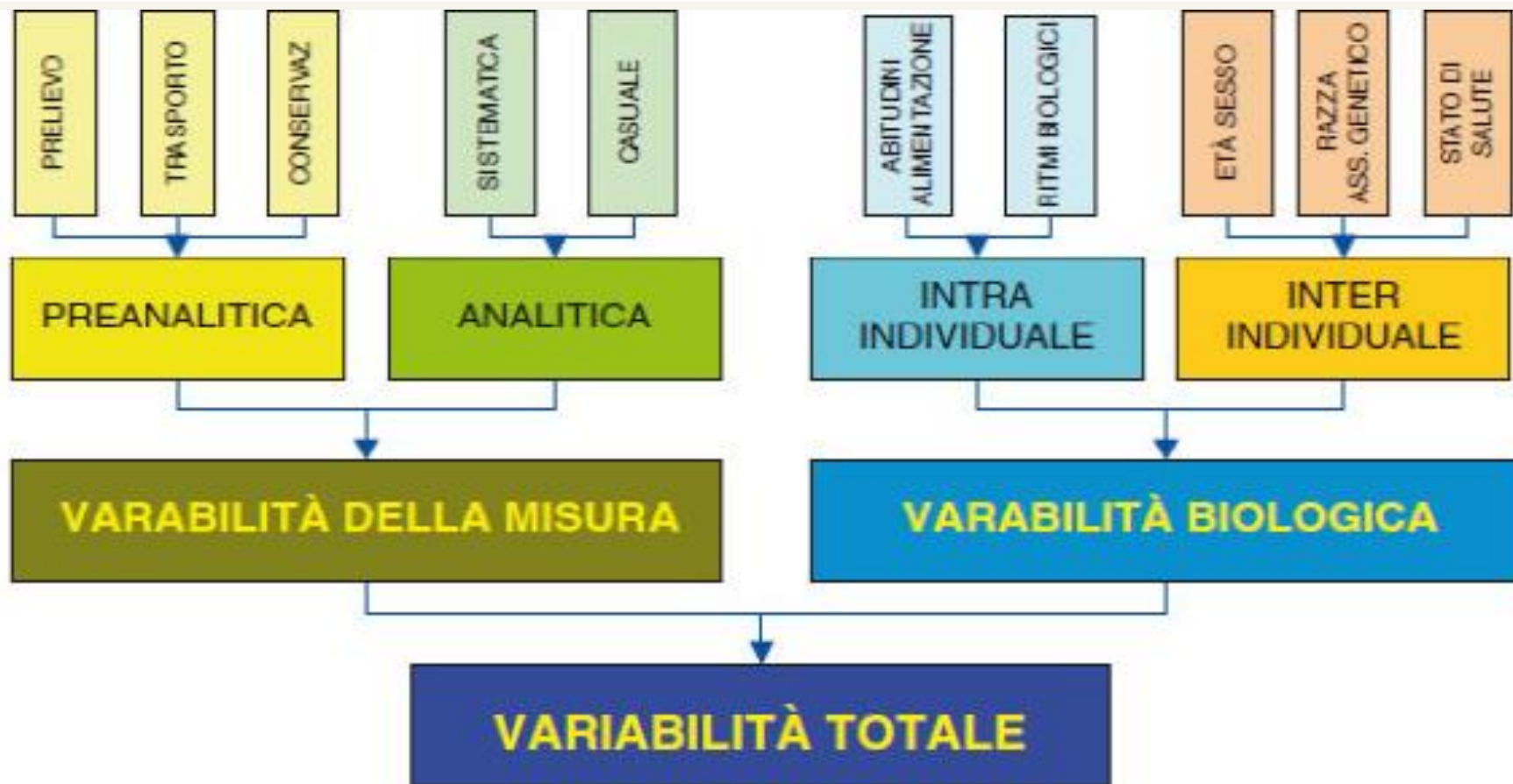
nutrizione, fegato, rene

nutrizione, fegato

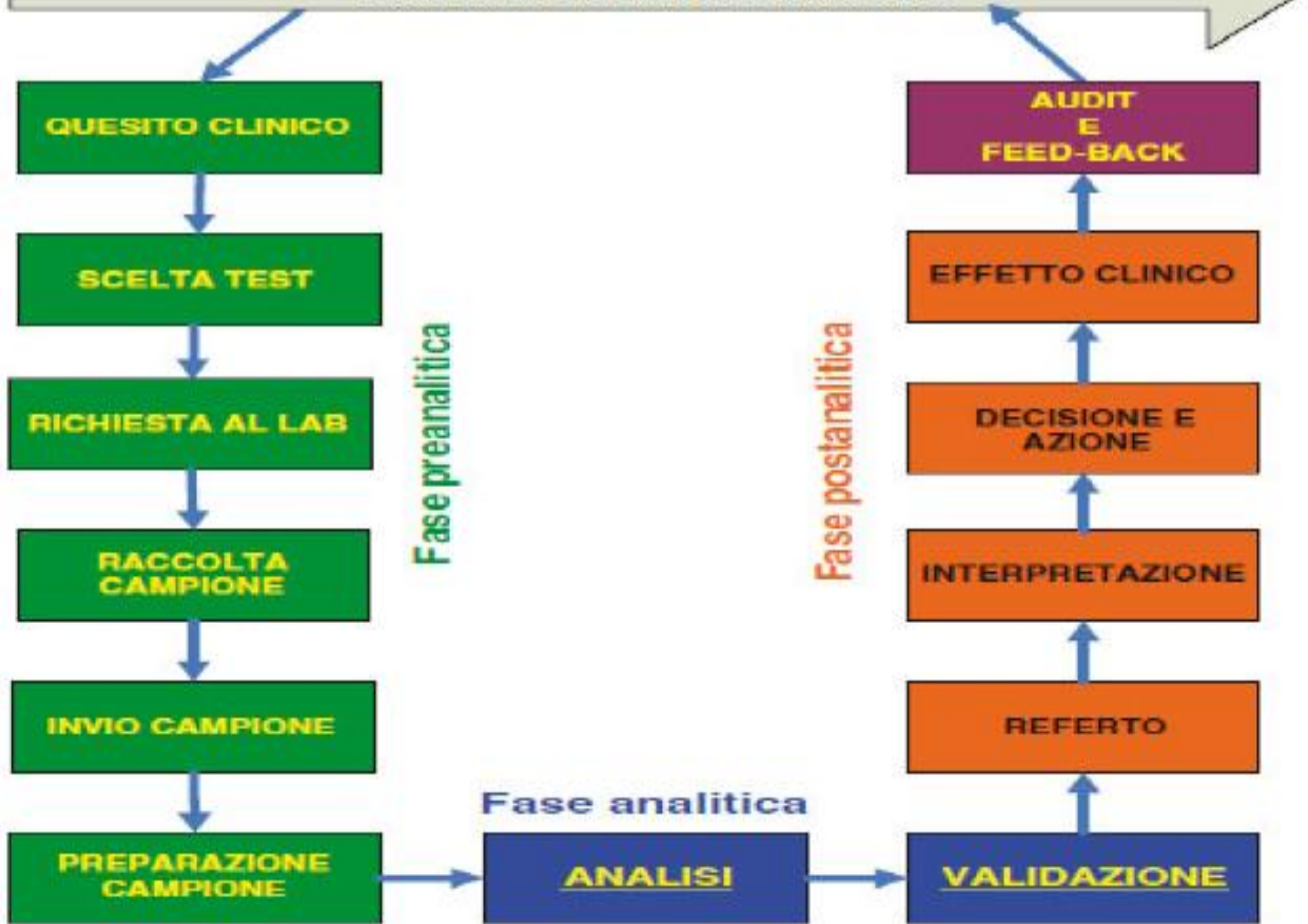
nutrizione, valutazione di rischio cardiaco

nutrizione, valutazione di rischio cardiaco

**Variabilità analitica e
biologica.
Trattamento dei
campioni.**



DIAGNOSI E CURA DEL PAZIENTE

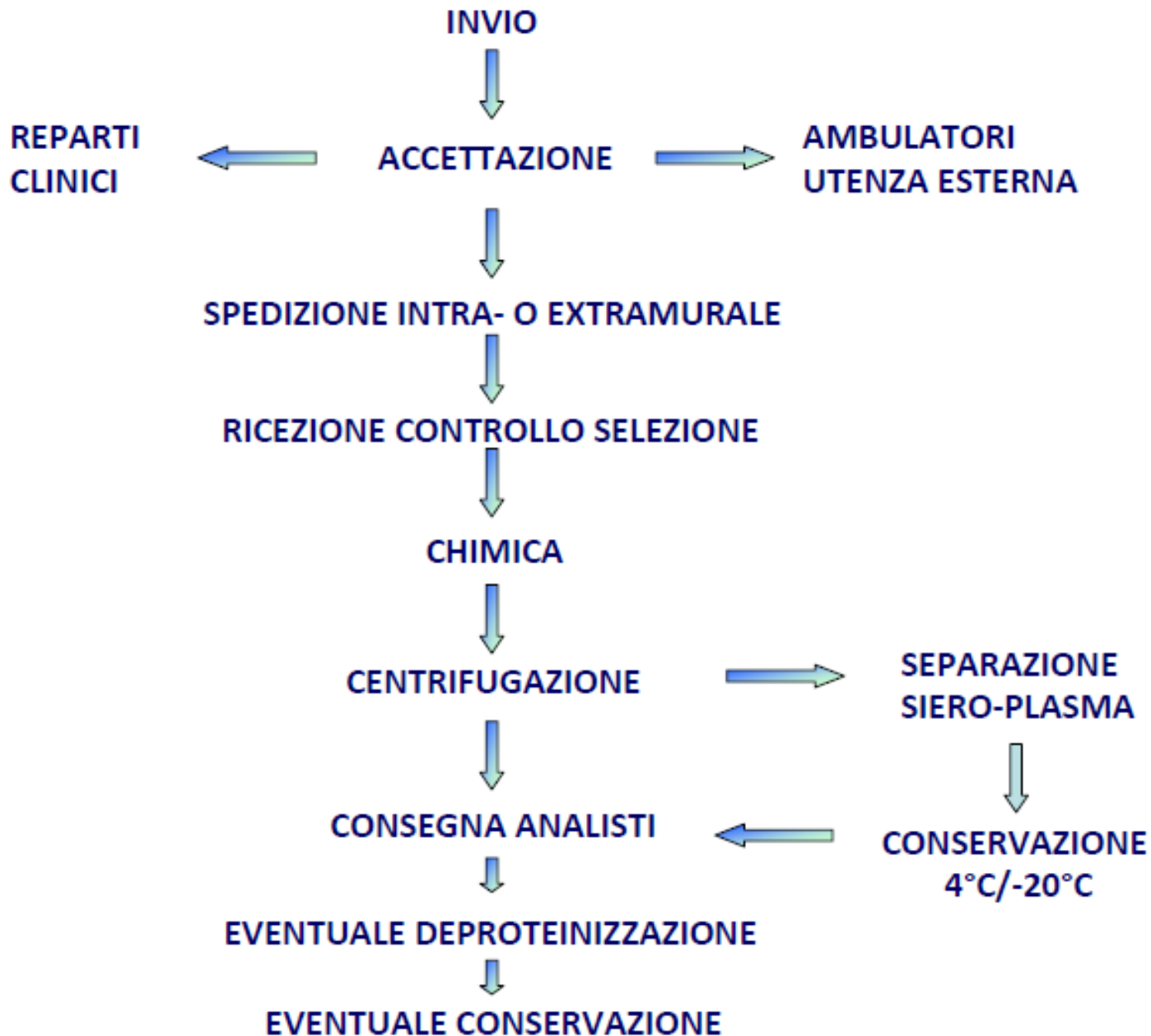


FASE PRE-ANALITICA

La fase pre-analitica può essere soggetta a variabilità. Per migliore rappresentatività e costanza di composizione del campione, la variabilità si riduce quando:

- Il paziente, ben informato e motivato, segue le istruzioni (modalità di raccolta, digiuno, riposo, ecc)
- Le manovre di prelievo/raccolta sono corrette ed adeguate (ambiente, impiego di materiali e dispositivi idonei, ecc)
- Il trasporto (invio) del materiale al laboratorio è adeguato.

FASE PRE-ANALITICA



FASE PRE-ANALITICA: criteri di non accettabilità dei campioni biologici

- Identificazione assente o incompleta
- Mancanza di informazioni necessarie per l'esecuzione dei test
- Contenitore non idoneo (non conforme alle indicazioni o necessità del laboratorio, non sterile e/o a imperfetta chiusura, non esente da metalli in tracce, non integro..)
- Prelievo non corretto (effettuato durante terapia infusionale, senza impiego di terreni di trasporto, ecc.)
- Quantità insufficiente
- Rapporto sangue/anticoagulante inadeguato o scorretto
- Mancata aggiunta di idoneo conservante
- Presenza di coaguli (per esempio emocromo, test coagulativi)
- Emolisi evidente
- Conservazione a temperatura non corretta (emogasanalisi, ammoniemia, ecc.)
- Esposizione a luce solare diretta
- Congelamenti e scongelamenti ripetuti
- Paziente non a digiuno per esami come glucosio, lipidi, ecc.
- Paziente non sottoposto al previsto regime dietetico (per esempio sangue occulto)
- Paziente non a riposo per test in cui il riposo è indispensabile (per esempio dosaggio di renina)

FASE PRE-ANALITICA: conservazione dei campioni

**ACIDO LATTICO
ACIDO PIRUVICO**

- DEPROTEINIZZAZIONE
- RAFFREDDAMENTO

BILIRUBINA

- BUIO
- RAFFREDDAMENTO

GLUCOSIO

- GLICOSTATICI
- RAFFREDDAMENTO

CK

AGGIUNTA DI RIDUCENTI PER I GRUPPI -SH
(cisteina, glutazione, acetil-cisteina, DTT, DTE, ecc.)

**PORFIRINE
URINARIE**

- ALCALINIZZAZIONE (con Na_2CO_3)
- RAFFREDDAMENTO
- BUIO

**FOSFATASI
ACIDA**

- MODIFICAZIONE DEL pH
- RAFFREDDAMENTO

**PROCESSI
FIBRINOLITICI**

INIBITORI DELLE PROTEASI

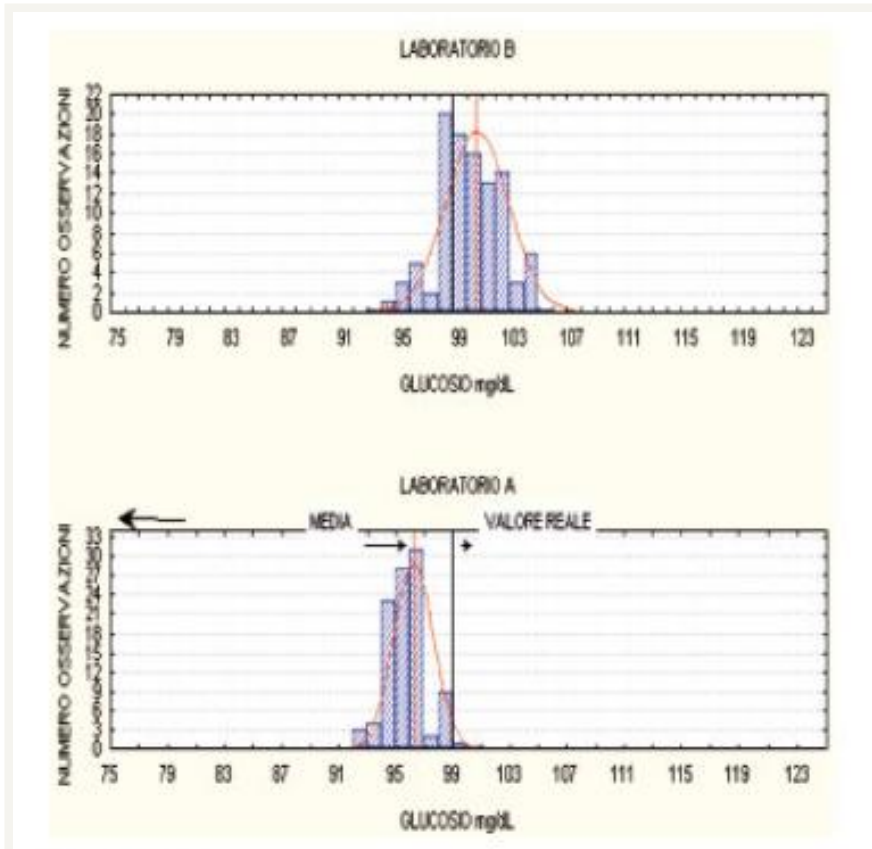
FASE PRE-ANALITICA:ricapitolando

Tabella 3.7 Cause di variazioni preanalitiche e possibili rimedi.

Fase della variazione	Meccanismi	Fattori	Rimedi
Raccolta del materiale	Contaminazione	Provette Aghi Tappi	Usare materiale controllato e standardizzato
	Metabolismo	Additivi Anticoagulanti Deproteinizzanti	Aggiungere gli inibitori metabolici adatti e raffreddare a temperatura adeguata
Trasporto	Emolisi	Vibrazioni Temperatura	Evitare vibrazioni e congelamento
	Inattivazione	Esposizione alla luce Temperatura Stabilizzanti	Evitare riscaldamento ed esposizione alla luce. Aggiungere stabilizzanti
Separazione	Coagulazione	Centrifugazione Tempo Temperatura	Centrifugare 5-15 min. a 1000-1200 g Separare siero o plasma entro 1 h Evitare riscaldamento
	Separazione	Separatori Filtri Distributori di campioni	Usare separatori controllati Controllare l'identificazione dei campioni
Distribuzione	Confusione	Identificazione Volume	Etichettare i sottocampioni —
	Precipitazione o flottazione	Solubilità Peso specifico	Mescolare il campione —
Conservazione	Evaporazione	Superficie del contenitore Umidità Tempo	Usare contenitori profondi e stretti Tenere tappati i campioni Evitare contatti d'aria
	Precipitazione	Temperatura Solubilità	Modificare il pH e controllare la temperatura
	Adsorbimento	Contenitori	Usare i contenitori di materiale adatto

VARIABILITA' ANALITICA

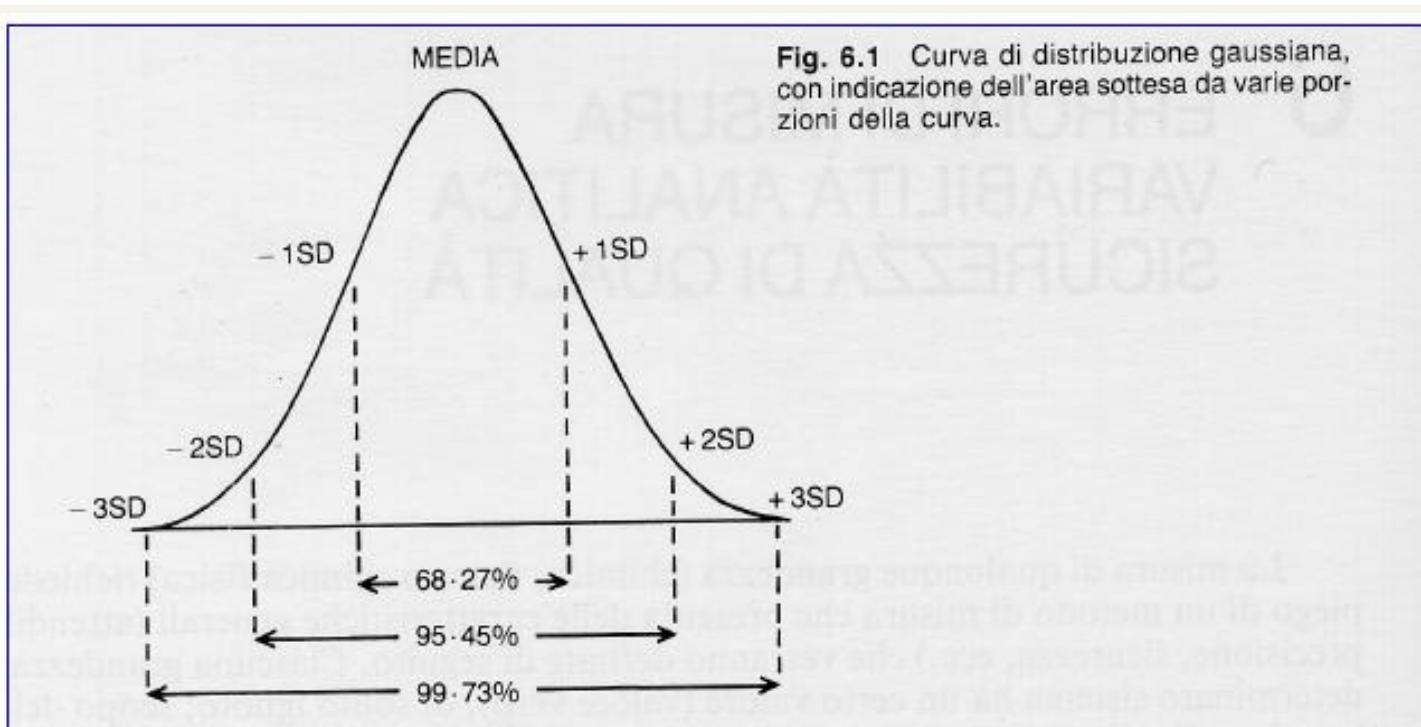
Se si eseguono più misurazioni di una stessa quantità, raramente le misure coincidono: se ne trae la conclusione ovvia che i valori misurati sono in genere diversi dal vero valore della quantità oggetto di misura.



VARIABILITA' ANALITICA

PRECISIONE: Concordanza tra i risultati di una serie di misure distinte ottenute con lo stesso metodo su aliquote di uno stesso campione

IMPRECISIONE: Espressa quantitativamente dalla Deviazione standard (Dispersione o variabilità analitica)



VARIABILITA' ANALITA

Il concetto di precisione contiene anche quelli di ripetibilità e riproducibilità.

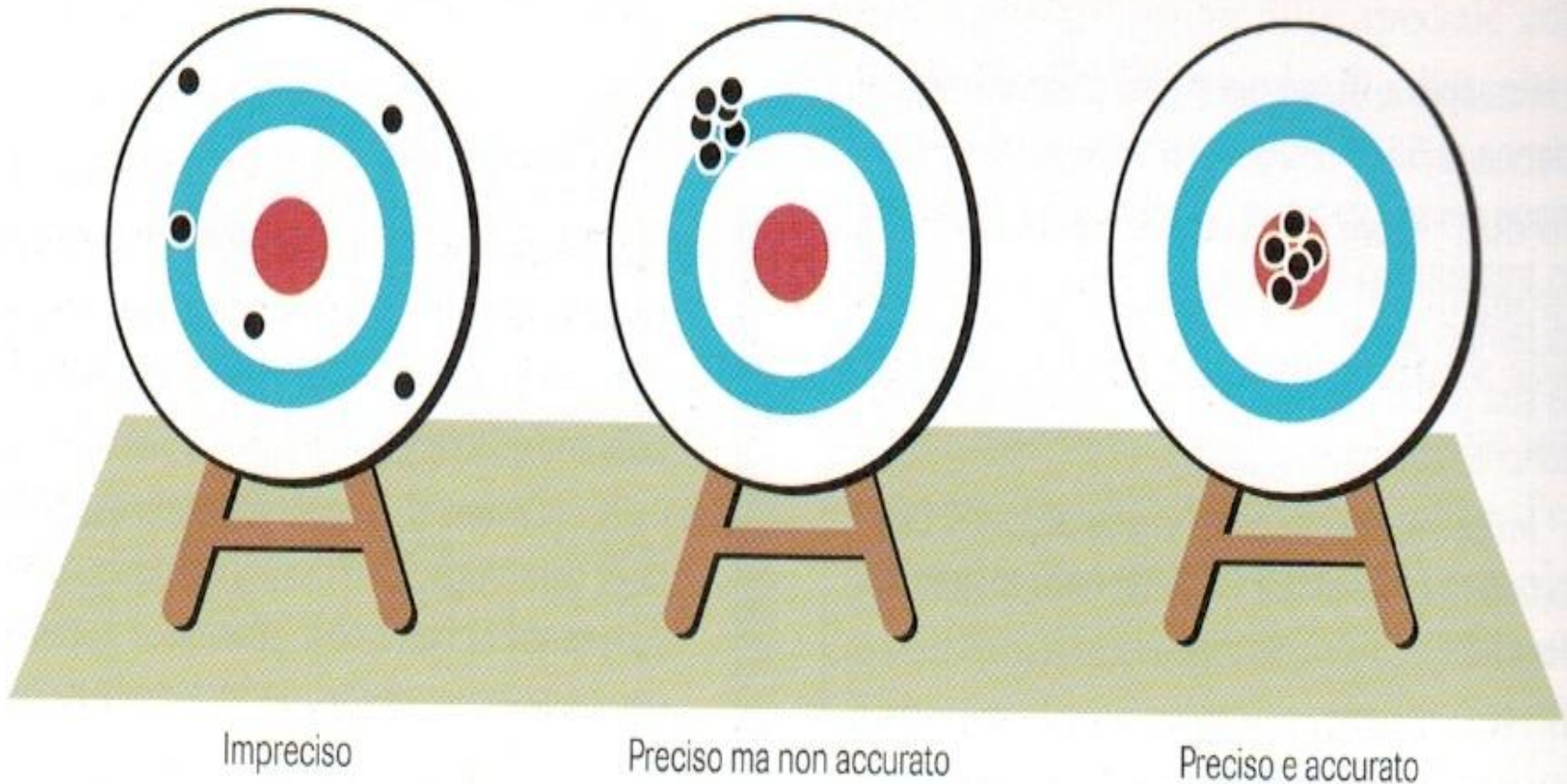
La **ripetibilità** è la misura della deviazione dal valore medio dei risultati ottenuti da uno stesso operatore in un'unica serie analitica e senza cambiare reattivi o apparecchiature (precisione entro la serie).

La **riproducibilità** è la misura della deviazione dal valore medio dei risultati ottenuti in un arco variabile di tempo da operatori diversi che non conoscono l'identità del campione analizzato e che usano lotti di soluzioni e reagenti diversi

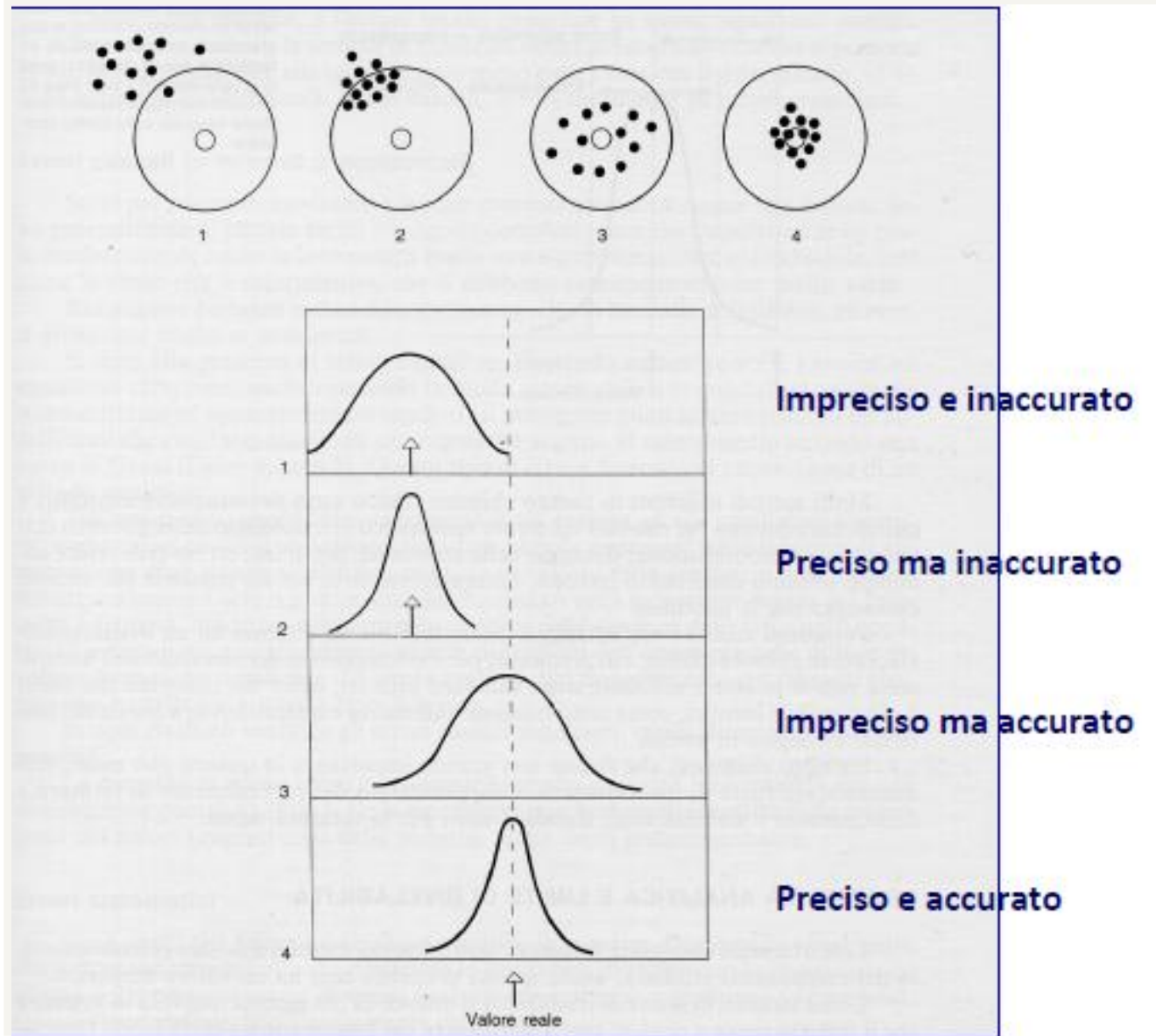
VARIABILITA' ANALITA

ACCURATEZZA: Definisce il grado di concordanza tra il valore medio fornito dall'analisi (valore analitico) ed il valore REALE (valore vero) del parametro analizzato in una serie distinta di repliche di una stessa analisi sul medesimo campione.

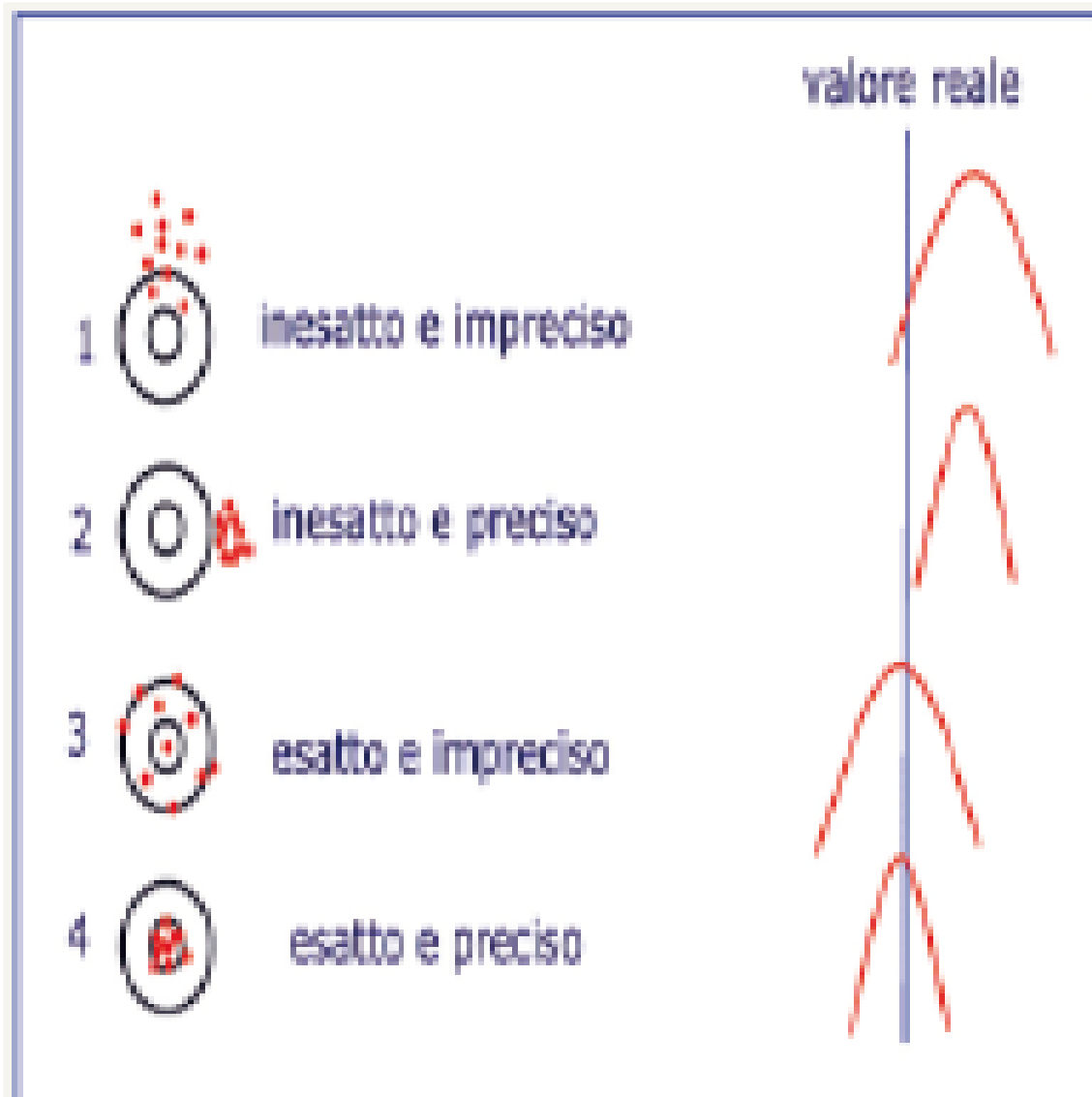
INACCURATEZZA: Differenza tra il valore medio sperimentale ed il valore vero.



VARIABILITA' ANALITA

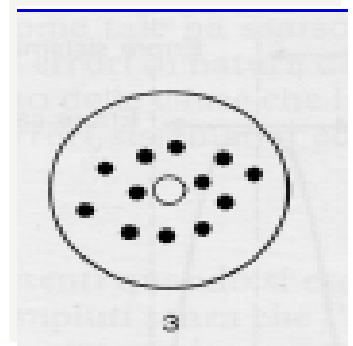


VARIABILITA' ANALITA



VARIABILITA' ANALITICA: come evitarla?

In pratica il controllo si effettua utilizzando sieri di controllo, cioè campioni appositamente predisposti con quantità note di vari componenti e sottoposti ad analisi contemporaneamente ai sieri dei pazienti. In ogni gruppo di analisi relative a sieri di pazienti vi saranno così dati che si riferiscono ad un siero di controllo. La concordanza tra i valori analitici e quelli noti dei composti usati come calibratori garantirà la correttezza analitica dei risultati.



VARIABILITA' ANALITA

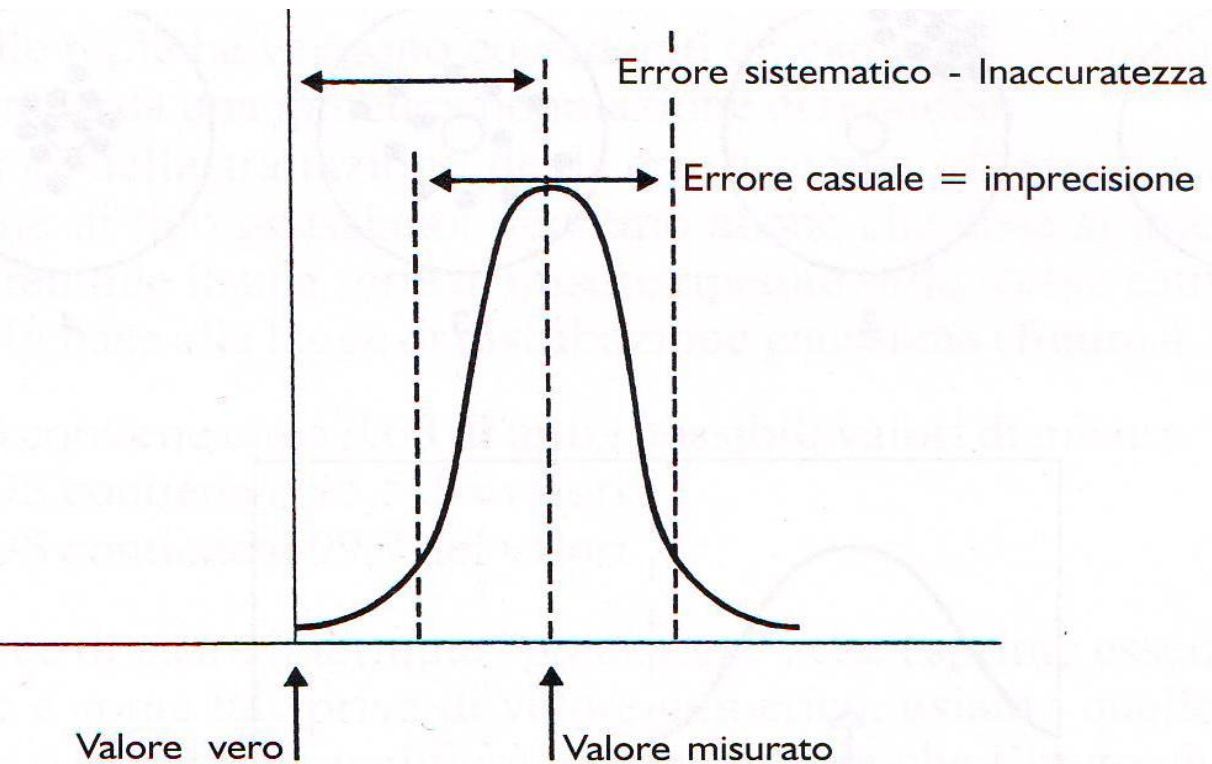
SPECIFICITA': la specificità analitica indica la capacità del metodo di determinare un dato analita senza subire interferenze, ossia la capacità del metodo di distinguere tra una sostanza e possibili sostanze interferenti.

SENSIBILITA': la sensibilità analitica è data dalla minima quantità di un analita rilevabile in un campione biologico.

VARIABILITA' ANALITICA: errori

Errore di un'analisi quantitativa: differenza tra il valore vero della sostanza dosata ed il valore analitico, ossia quello trovato con il procedimento analitico utilizzato (Errore totale)

Risulta dalla somma di numerosi errori di natura diversa, suddivisibili in **ERRORI SISTEMATICI** ed **ERRORI CASUALI**



Errore sistematico: falsano il risultato analitico in maniera «sistematica», ossia ripetendolo tutte le volte che si effettua lo stesso tipo di analisi con lo stesso metodo.

Causa nota o individuabile (cattiva taratura strumentale, concentrazioni o pH dei reagenti errate, ecc)

QUALITA' del LABORATORIO

ATTENDIBILITA'



Indica la **QUALITA'** di un metodo (o di un risultato) analitico

CRITERI

Precisione

Accuratezza

Sensibilità

specificità

Precisione ed accuratezza sono monitorati tramite il
CONTROLLO INTERNO di QUALITA'
per scoprire, quantificare, classificare e minimizzare errori sistematici e casuali

QUALITA' del LABORATORIO: controllo interno

Controllo di qualità previsto per legge (art.. 124 del DPCM del 10/2/84):

- Uso giornaliero di standard per la calibrazione
- Controllo settimanale con materiale a titolo noto*
- Carte di controllo (registrazione grafica)

*Per effettuare un valido controllo di qualità, si rende necessario l'utilizzo di un "materiale di controllo", omogeneo, stabile nel tempo, a composizione chimica e fisica nota e il più possibile vicina a quella dei campioni in esame.

**I CAMPIONI DI CONTROLLO DEVONO ESSERE ANALIZZATI CONTESTUALMENTE
AI CAMPIONI IN ESAME IN MANIERA CASUALE**

QUALITA' del LABORATORIO: controllo esterno

Si tratta di un controllo di qualità non più intra-laboratorio, ma INTERLABORATORIO, in cui sono effettuate analisi di campioni provenienti dall'esterno o da altri laboratori della stessa regione o da laboratori di altre nazioni.

- Analisi dei campioni da parte di un numero elevato di laboratori di riferimento (calcolo della media e della DS)
- Impiego dei cosiddetti valori di consenso, cioè i valori medi e DS ottenuti da tutti i partecipanti al controllo di qualità interlaboratorio (scartando i risultati aberranti e ricalcolando la media e la DS in base ai rimanenti risultati)

QUALITA' del LABORATORIO: Valutazione Esterna della Qualità

La **VEQ (Valutazione Esterna della Qualità)** è un programma di verifica effettuato da un ente esterno al laboratorio detto «ente di controllo» che di solito è rappresentato da una istituzione governativa, un'organizzazione professionale o un'azienda privata specializzata.

Consiste nell'invio di campioni contenenti diversi analiti a concentrazione sconosciuta ai laboratori partecipanti al programma, i quali analizzano i campioni e comunicano i dati all'ente di controllo che provvederà all'elaborazione statistica. Il valore conferito da ciascun laboratorio è confrontato con i corrispondenti valori di tutti gli altri partecipanti, ciò permette di ottenere informazioni sull'andamento di un metodo, di uno strumento o di un reattivo.

Dal confronto dei dati dei diversi partecipanti al programma di controllo esterno, ciascun laboratorio può rilevare eventuali inaccurately del proprio sistema ed essere stimolato a perfezionare le proprie scelte in un ambito di miglioramento continuo del sistema.

VARIABILITÀ BIOLOGICA E VALORI DI RIFERIMENTO

Il dato di laboratorio serve per poter decidere un comportamento verso un paziente.

Bisogna quindi avere il mezzo per confrontare il dato ottenuto con quello della popolazione da cui il paziente stesso è tratto. Si dovranno stabilire dei valori al di fuori dei quali si presume vi sia un'anormalità con un limite di errore accettabile.

Occorre osservare che il termine “normale” ha diversi significati:

- in senso statistico definisce un tipo di distribuzione;
- in senso epidemiologico può essere confuso con il valore tipico di una popolazione;
- in senso clinico la parola normale spesso indica un'assenza di una certa malattia.

Si preferisce quindi parlare di “**VALORI DI RIFERIMENTO**”: calcolato su una popolazione ristretta che abbia almeno caratteristiche genetiche ed ambientali molto “omogenee” e confrontabili con quelle del soggetto a cui il risultato di laboratorio si riferisce.

VALORI DI RIFERIMENTO

FATTORI CHE INFLUENZANO I VALORI DI RIFERIMENTO:

-**Genetico:** (gruppi sanguigni, antigeni di istocompatibilità);

-**Fisiologico:** (età, sesso, eccesso di peso, fattori ambientali, stato nutrizionale, gravidanza, ora e giorno del prelievo, modalità di prelievo, postura);

-**Esogeno:** (alimentazione, attività fisica, attività professionale, fattori psichici, abitudini di vita in genere, fumo, alcool, stress, ansia, dolore, assunzione di contraccettivi, assunzione di farmaci, altitudine, clima);

-**Variabilità intra ed interindividuale:** (variabilità biologica della specie);

-**Variabilità biologica ritmica:** (oscillazioni dei valori di alcuni analiti nel corso della giornata, della settimana, del mese)

Sistema di gestione qualità per Patologia Clinica UNI EN ISO 9001: 2008 certificato da Certiquality

Accettazione **1.026** del **20/09/2012** - Referto N. **1**

Inserita il 20/09/2012 alle ore 08:42

Sexo **MASCHILE** Data Nascita **23/07/1946**

A.S.L.:

BA/4

Provenienza:

ATTIVITA' AMBULATORIALE ESTERNA

Egregio Signor

Descrizione Esame / Test	Risultato	U.M.	Valori di Riferimento
ESAME EMOCROMOCITOMETRICO			
WBC	4,88	10 ³ /ul	4+10
RBC	4,02	10 ⁶ /ul	4,2+5,7
HGB	12,0	g/dl	14+17,5
HCT	35,8	%	41+50
MCV	89,0	fl	80+95
MCH	29,7	pg	27+33
MCHC	33,4	%	30+36
RDW	12,4	%	11,5+14,5
PLT	155	10 ³ /ul	150+450
PDW	36,8	%	25+70
MPV	8,1	fl	7+12
NEUT%	56,0	%	50+70
LYMPH%	33,1	%	20+40
MONO%	8,0	%	1+10
EO%	2,6	%	0+4
BASO%	0,4	%	0+1
NEUT#	2,7	10 ³ /ul	2,0+7,0
LYMPH#	1,6	10 ³ /ul	0,8+4,0
MONO#	0,4	10 ³ /ul	0,1+1,0
EO#	0,13	10 ³ /ul	0,0+0,4
BASO#	0,02	10 ³ /ul	0,0+0,1
ELETTROFORESI DELLE PROTEINE SIERICHE			
ALBUMINA	62,4	%	55,8+66,1
ALFA 1	4,2	%	2,9+4,9
ALFA 2	11,4	%	7,1+11,8
BETA 1	5,3	%	4,7+7,2
BETA 2	3,8	%	3,2+6,5
GAMMA	12,9	%	11,0+20
RAPPORTO A/G	1,66	%	1,10+2,40
PROTEINE TOTALI	6,8	g/dl	6,4+8,2
GLICEMIA	102	mg/dl	70+110
URICEMIA	5,6	mg/dl	3,5+7,2
CREATININA	0,84	mg/dl	0,80+1,30

Accettazione 1.026 del 20/09/2012 - Referto N. 1
 Reparto/Provenienza : **ATTIVITA' AMBULATORIALE**

Egregio Signor

Descrizione Esame / Test	Risultato	U.M.	Valori di Riferimento
TRIGLICERIDI	55	mg/dl	30+200
COLESTEROLO TOTALE	187	mg/dl	<200
COLESTEROLO HDL	63	mg/dl	superiore a 35
BILIRUBINA TOTALE	0,51	mg/dl	<1,00
AST (GOT)	30	U/l	10+37
ALT (GPT)	34	U/l	25+65
GAMMA GT	17	U/l	15+85
FOSFATASI ALCALINA	77	U/l	Adulti: 20 - 136 Bambini (12 - 24 mesi): 77 - 455 Adolescenti (9 - 15 anni): 91 - 490
LDH	203	U/l	* 100+190
FERRO	74	ug/dl	65+175
TPA	40,0	U/l	0+77
BETA 2 MICROGLOBULINA	1,7	ug/ml	0,8+2,0
PSA (IU gen.)	1,18	ng/ml	0+4
FT3	2,54	pg/ml	2,2+4,2
FT4	1,01	ng/dl	0,9+1,7
TSH	1,23	mU/l	0,3+3,6
VES I° ora	9		1+10
ESAME CHIMICO FISICO URINA			
Colore	Incolore		
Aspetto	Limpido		
pH	7,5		* 5.5+6.5
Glucosio	0	mg/dl	0+0
Proteine	0	mg/dl	0+10
Emoglobina	0	mg/dl	0+0
Corpi Chetonici	0	mg/dl	0+0
Bilirubina	0	mg/dl	0+0
Urobilinogeno	0,2	EU/dl	0.2+1.0
Nitriti	-		ASSENTI
Leucociti	0	Leu/ul	0+0
Peso Specifico	1,008		* 1,015+1,025
ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO			
	Rare emazie		

Fine Referto

Il Direttore

Esami validati da: Dott. L.Fiore, Dott.ssa M.Rossini, Dott.ssa E.Sparapano, Dott.ssa M.D'Addario, Dott.ssa A.Vinella

Gli intervalli di riferimento sono espressi in base al sesso e all'età del Paziente, o, se non disponibile la data di nascita, a persona adulta.

U.O. PATOLOGIA CLINICA UNIVERSITARIA

DIRETTORE : PROF. R. FUMARULO

A.O. OSPEDALE CONSORZIALE POLICLINICO PIAZZA GIULIO CESARE, 11 70124 - BARI

SETTORE ELETTROFORESI - IF / BJ

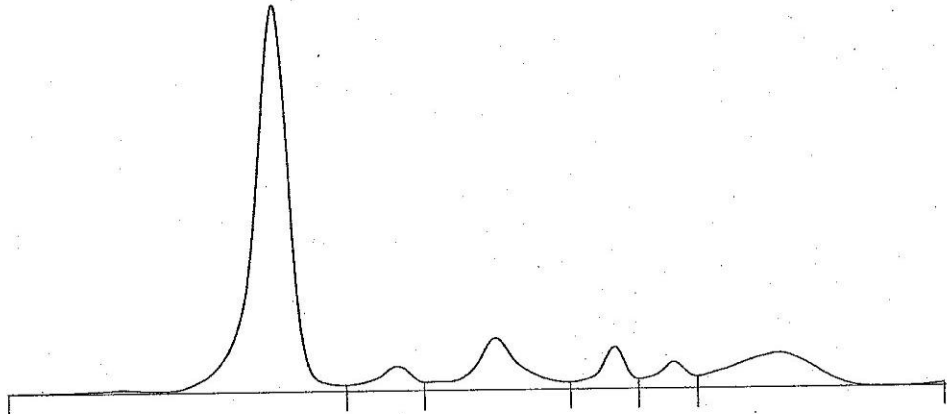
Sig. [REDACTED]

Campione nr. 54 del 20/09/2012

Data prelievo : 20/09/2012

ID: 11007529

Reparto: ATTIVITA' AMBULATORI



Elettroforesi delle Sieroproteine (Capillarys)

Frazioni	%	Int. rif. %
Albumina	62,4	55,8 - 66,1
Alfa 1	4,2	2,9 - 4,9
Alfa 2	11,4	7,1 - 11,8
Beta 1	5,3	4,7 - 7,2
Beta 2	3,8	3,2 - 6,5
Gamma	12,9	11,0 - 20,0

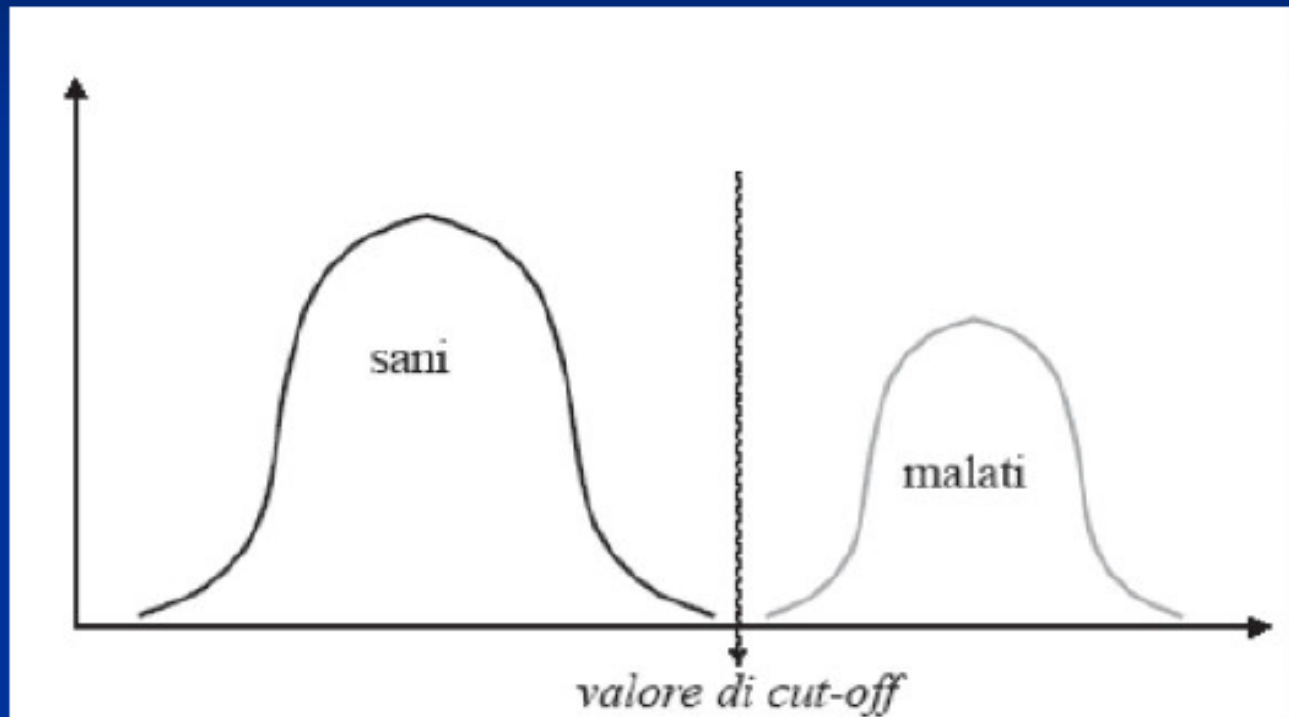
A/G 1,66 (Rif.: 1,10 - 2,40)

Proteine Totali : g/dl (Rif.:6.4 - 8.2)

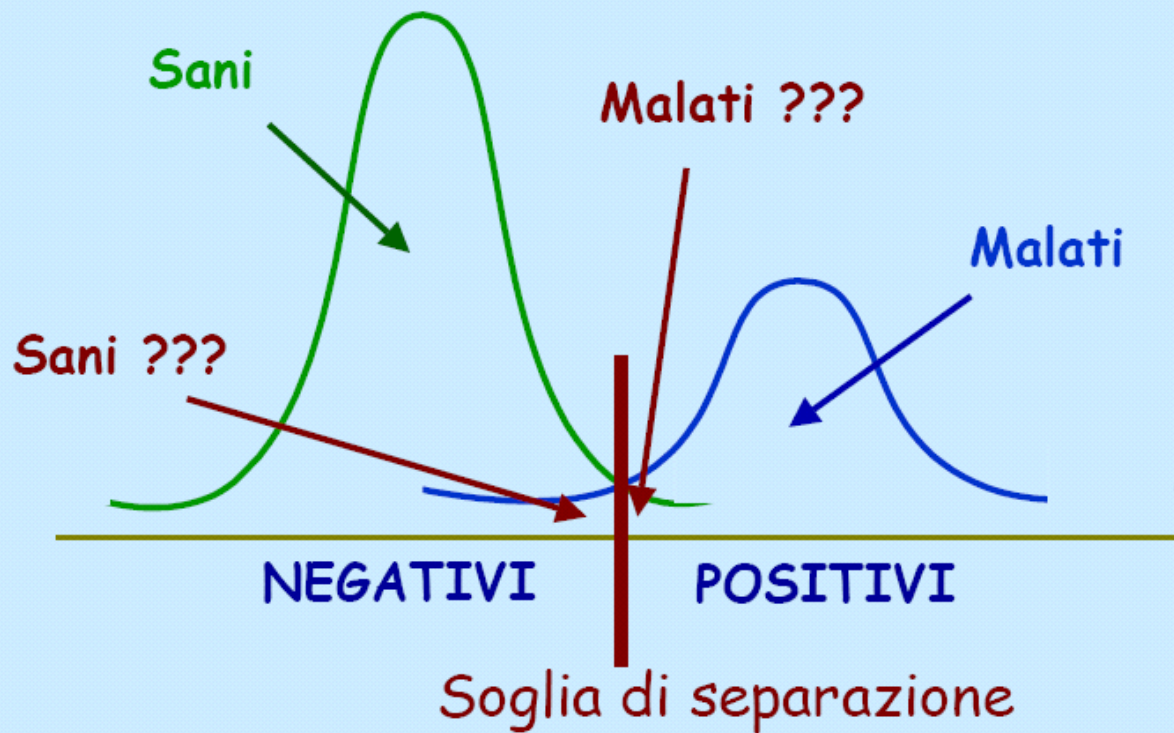
Commento :

IL DIRETTORE
[Signature]

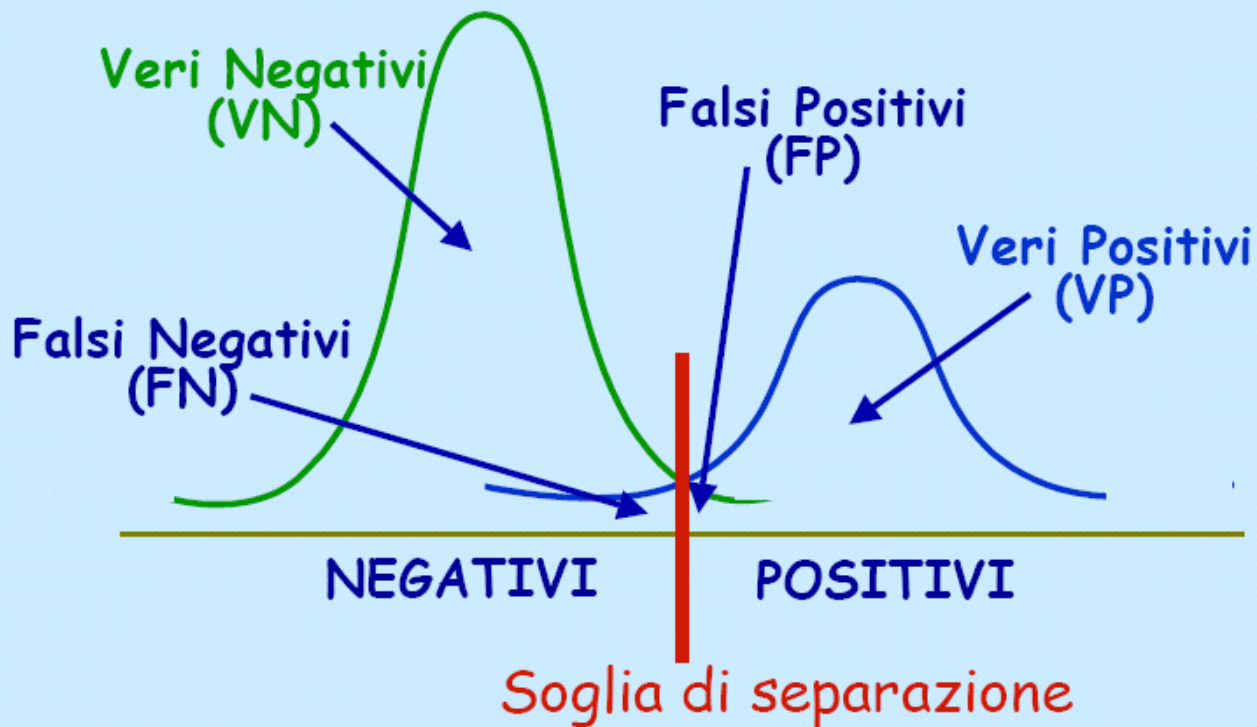
Misure di Validità: la situazione ideale



Distribuzione "normale" del dato di laboratorio



SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA



- VP: risultati positivi per pazienti con patologia;
- VN: risultati negativi per pazienti senza patologia;
- FP: risultati positivi per pazienti senza patologia;
- FN: risultati negativi per pazienti con patologia.

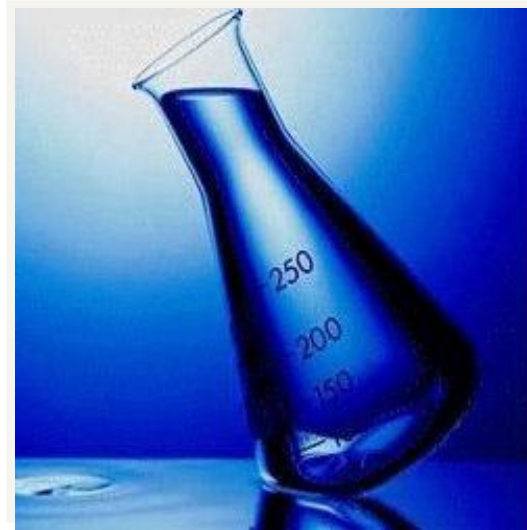
SENSIBILITA' (diagnostica): la capacità di identificare correttamente gli individui ammalati.

SENSIBILITA' (probabilità): la probabilità che un individuo ammalato risulti positivo al test.

SPECIFICITA' (diagnostica): la capacità di identificare correttamente gli individui sani.

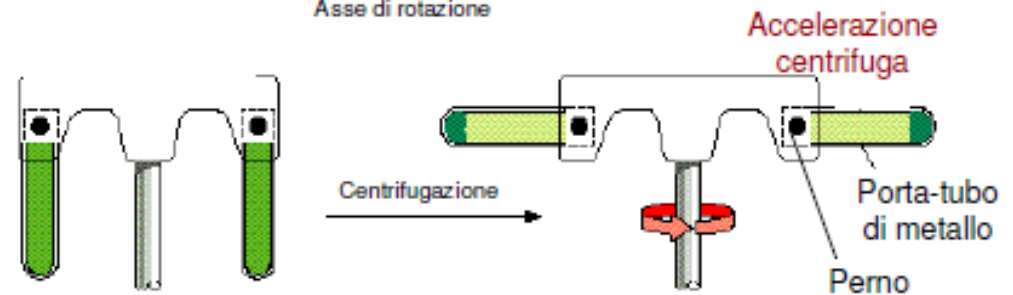
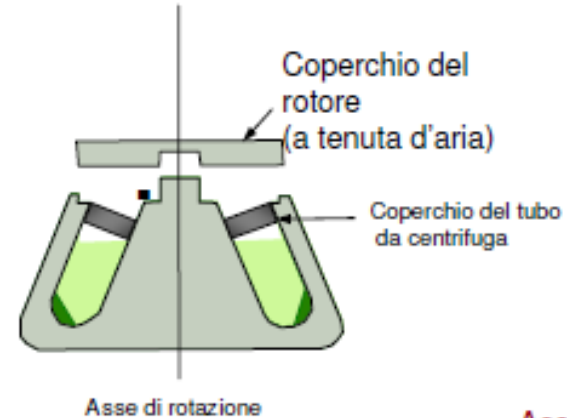
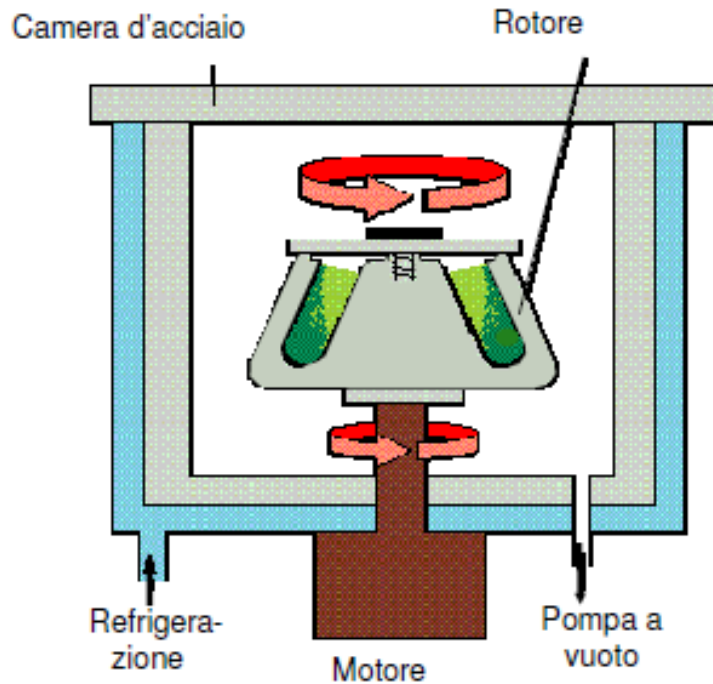
SPECIFICITA' (probabilità): la probabilità che un individuo sano risulti negativo al test.

Principali tecniche e metodologie utilizzate in biochimica clinica



CENTRIFUGAZIONE

La centrifugazione è un metodo di separazione che consente di separare sostanze a diversa densità per mezzo della forza centrifuga. In una centrifuga, le provette sono sottoposte a centrifugazione cioè ad una rotazione ad altissima velocità.



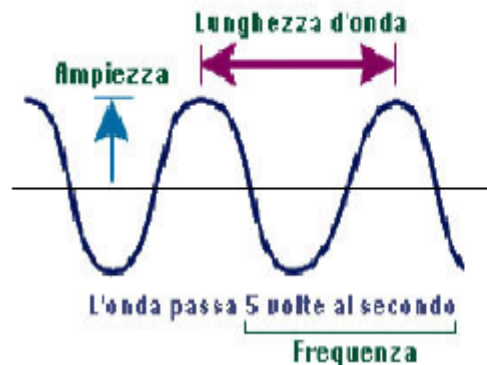
TECNICHE SPETTROMETRICHE

E' basata sulla misura dell'energia radiante.

Le radiazioni possono essere ottenute nel fenomeno di eccitazione di atomi di elementi (fotometria di emissioni), o all'energia luminosa emessa da una sorgente radiante o parzialmente assorbita a livello dell'interazione con la materia allo stato atomico (fotometria di assorbimento) o molecolare (spettrofotometria di assorbimento nel visibile e nell'ultravioletto)

Frequenza:	ν (ni)	<ul style="list-style-type: none">è il numero di vibrazioni nell'unità di temposi misura in s^{-1}, chiamati Hertz (Hz)
Periodo:	T	<ul style="list-style-type: none">è il tempo occorrente per compiere una oscillazione completa (o per percorrere uno spazio pari alla lunghezza d'onda)il periodo è l'inverso della frequenza ($T=1/\nu$) e si misura in secondi
Lunghezza d'onda:	λ (lambda)	<ul style="list-style-type: none">è la distanza tra due punti adiacenti in fase (ad esempio tra due massimi consecutivi)si misura in m, μm, nm, Å $[1\mu m=10^{-6} m, 1nm=10^{-9} m, 1\text{Å}=10^{-10} m]$
Velocità di propagazione:	c	<ul style="list-style-type: none">dipende dal mezzo in cui si propaga la radiazionenel vuoto è di circa 300 000 km/s: $C = 3,00 \times 10^8$ m/s

O con la materia presente in fine sospensione in un mezzo fluido (torbidimetria).



La frequenza è una grandezza costante per ogni radiazione

$$\lambda = \frac{c}{\nu}$$






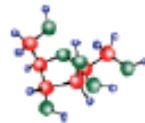


Frequenza e lunghezza d'onda sono INVERSAMENTE PROPORZIONALI

TECNICHE SPETTROMETRICHE

I diversi tipi di radiazione elettromagnetica

Esistono quindi vari tipi di radiazione elettromagnetica, che differiscono per la loro lunghezza d'onda (e di conseguenza per la loro frequenza ed energia).

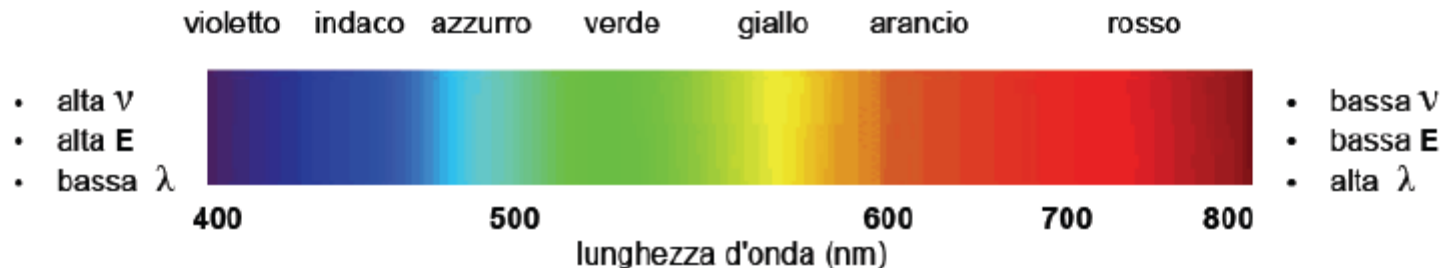
Spettro delle radiazioni elettromagnetiche:

Tipi di radiazione						
<i>onde radio</i>	<i>micro- onde</i>	<i>raggi IR</i>	<i>luce visibile</i>	<i>raggi UV</i>	<i>raggi X</i>	<i>raggi gamma</i>
10^7	10^{10}	10^{12}	10^{14}	10^{15}	10^{17}	10^{20}
ordini di grandezza (in Hz) delle FREQUENZE						
bassa ν bassa E alta λ						alta ν alta E bassa λ
ordini di grandezza (in cm) delle LUNGHEZZE D'ONDA						
10^3	1	10^{-3}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-8}	10^{-11}
						

TECNICHE SPETTROMETRICHE

La radiazione visibile rappresenta solo una piccola parte dello spettro elettromagnetico.

Alle diverse radiazioni visibili, che differiscono per la loro lunghezza d'onda (e di conseguenza per la loro frequenza ed energia) corrispondono i diversi colori.



TECNICHE SPETTROMETRICHE

L'analisi spettrofotometrica consiste nella misurazione di radiazioni elettromagnetiche emesse o assorbite dalle sostanze in esame.

Poichè ogni sostanza assorbe o emette radiazioni di lunghezza d'onda caratteristica, l'analisi spettrofotometrica è in grado di fornire informazioni sia qualitative che quantitative.

La misura dell'intensità delle radiazioni emesse o assorbite permette di risalire alla quantità di sostanza analizzata.

L'analisi dello spettro permette di individuare la natura della sostanza in esame

TECNICHE SPETTROMETRICHE

Spettroscopia di ASSORBIMENTO

(spettrofotometria e colorimetria)

Quando atomi o molecole vengono eccitati da opportune radiazioni elettromagnetiche ($h\nu$), passando a stati energetici maggiori, si ha il fenomeno di ASSORBIMENTO

Spettroscopia di EMISSIONE

(fluorimetria e fosforimetria)

Dagli stati eccitati, ritornando allo stato fondamentale, gli atomi e le molecole emettono energia sotto forma di radiazioni elettromagnetiche ($h\nu$) : fenomeno di EMISSIONE

Le applicazioni analitiche

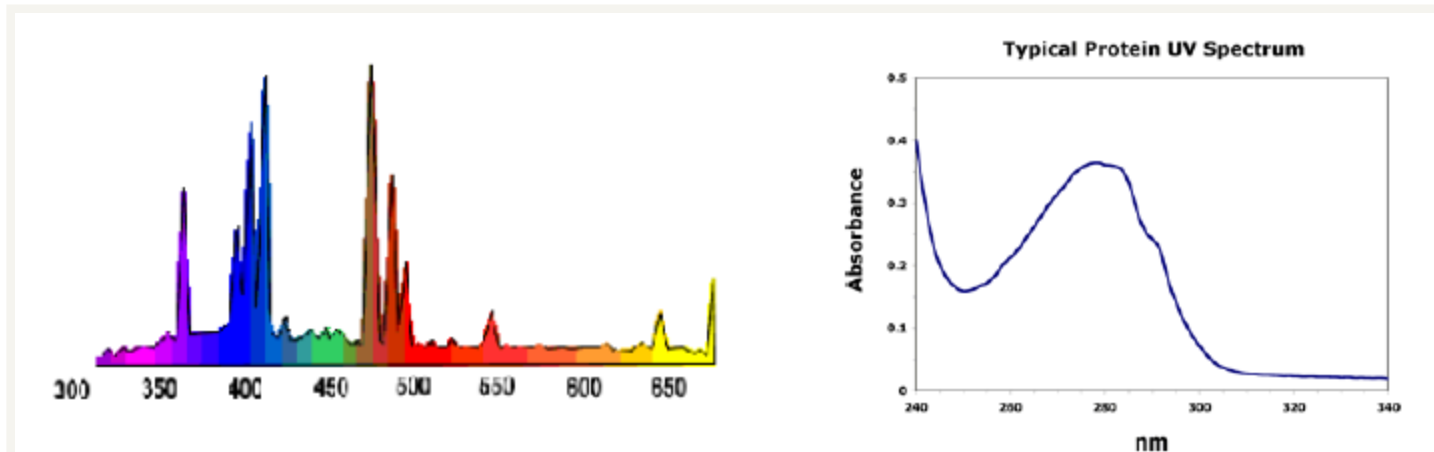
La lunghezza d'onda delle radiazioni emesse o assorbite sono caratteristiche delle varie sostanze: ciò consente di effettuare analisi QUALITATIVE

L'intensità delle radiazioni emesse o assorbite dipendono dalla quantità di sostanza: ciò consente di effettuare analisi QUANTITATIVE

TECNICHE SPETTROMETRICHE: analisi qualitative

Per effettuare analisi qualitative si fa uso di raggi policromatici a spettro continuo. Le singole radiazioni monocromatiche di tale raggio si fanno passare, una alla volta, attraverso la sostanza in esame, la quale assorbirà in modo diverso, cioè con diversa intensità, le diverse radiazioni.

Riportando perciò in un grafico i valori registrati di assorbimento in funzione della lunghezza d'onda, si ottiene lo **spettro di assorbimento della sostanza** esaminata.



Per il fatto che ogni sostanza ha il suo spettro di assorbimento, l'esame di tali spettri permette di identificare una sostanza (per confronto diretto con campioni noti o tramite banche dati di spettri) o di controllarne il grado di purezza.

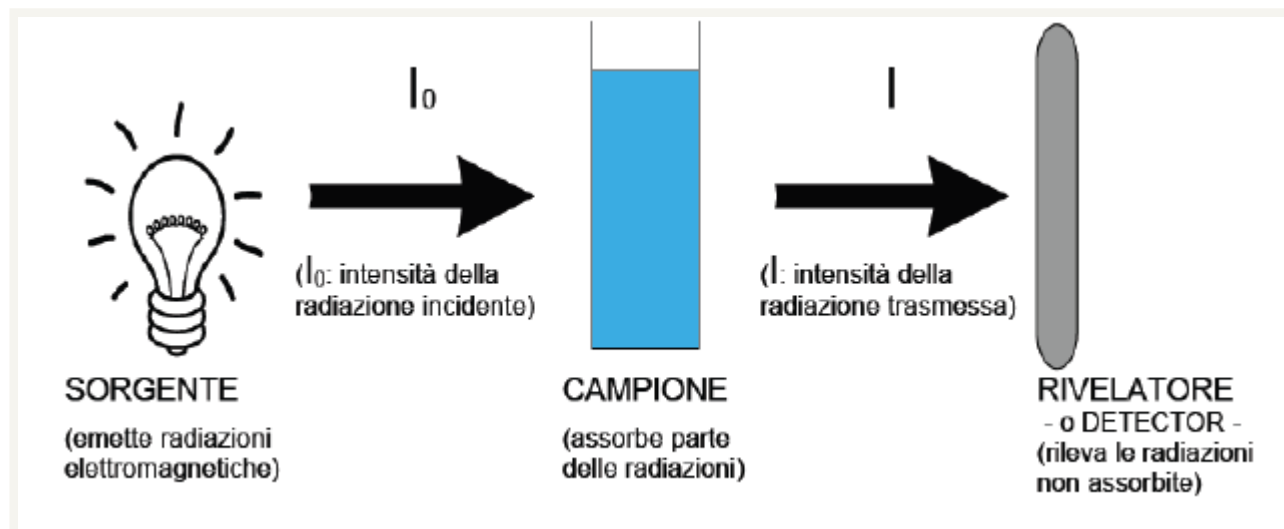
TECNICHE SPETTROMETRICHE: analisi quantitative

Per eseguire analisi quantitative si fa uso di raggi monocromatici.

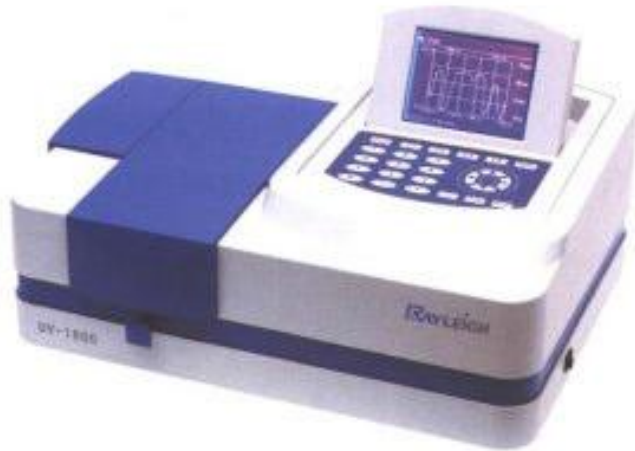
Le determinazioni quantitative sono basate sul fatto che, quando una radiazione attraversa una soluzione, viene assorbita più o meno intensamente in funzione della concentrazione.

Appositi dispositivi sono in grado di misurare l'intensità del flusso luminoso ed in particolare:

- I_0 : intensità del flusso luminoso all'ingresso della cella con il campione;
- I : intensità del flusso luminoso all'uscita della cella con il campione.



TECNICHE SPETTROMETRICHE: analisi quantitative - spettrofotometro



SORGENTE:

lampada di tungsteno (visibile) o lampada a scarica di deuterio (UV)

CAMPIONE:

si alloggia in celle al quarzo (UV) o in vetro o policarbonato (visibile)

CONCENTRAZIONE:

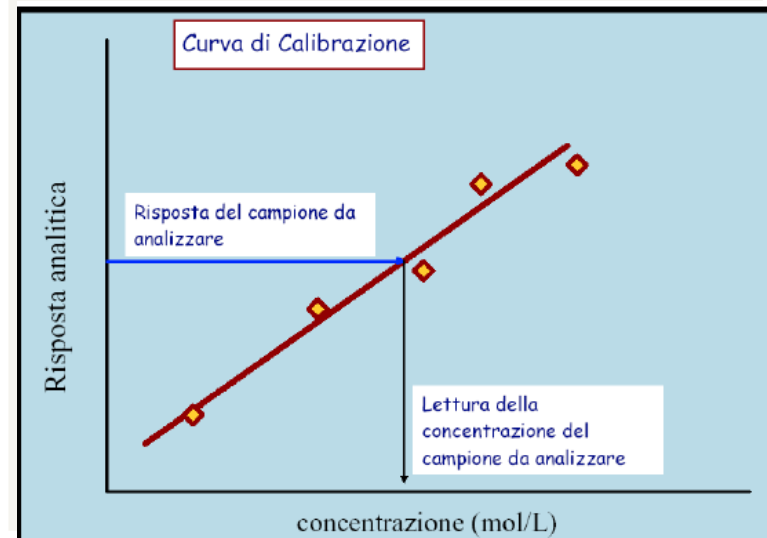
bisogna sceglierla in modo tale che l'assorbanza non superi il valore di 2-3

Curva di calibrazione (curva standard)

Impiega **soluzioni standard** per poter misurare nei campioni da analizzare le concentrazioni incognite di analita.

$$C : C_{ST} = A : A_{ST}$$

$$C = (A / A_{ST}) C_{ST}$$

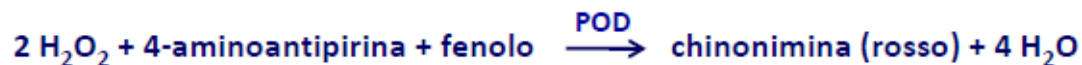
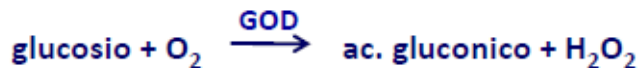


TECNICHE SPETTROMETRICHE: reazione end-point enzimatiche

Utilizzano come reattivo un enzima che ha come substrato proprio l'analita da dosare; a partire da questa reazione si sviluppa, al termine del dosaggio, un prodotto colorato, direttamente o in seguito a reazioni successive.

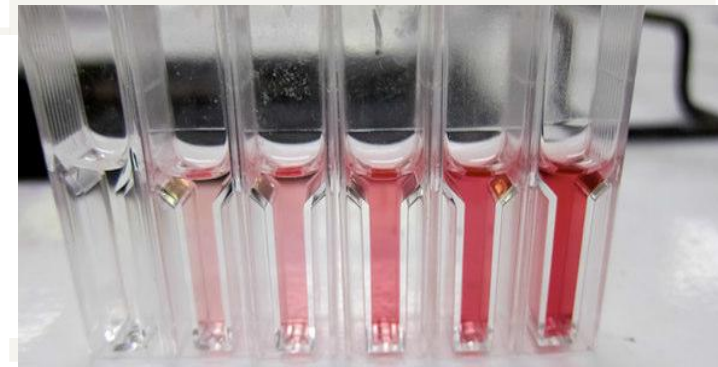
Tra i più comuni analiti dosati con queste metodiche vi sono:

- glucosio (glucosio ossidasi)
- colesterolo (colesterolo esterasi)
- trigliceridi (lipoproteinlipasi-GPO)



Il colore sviluppato è proporzionale al contenuto di glucosio nel campione.

$\lambda = 510 \text{ nm}$



TECNICHE SPETTROMETRICHE: reazione end-point non enzimatiche

Lo sviluppo di un prodotto colorato, da leggere al termine del dosaggio, si ha a partire da una reazione chimica con l'analita da dosare.

Tra i più comuni analiti dosati con queste metodiche vi sono:

- Fe
- P
- Ca
- Bilirubina

fosforo + molibdato di ammonio \longrightarrow acido fosfomolibdico

acido fosfomolibdico + solfato ferroso \longrightarrow blu di molibdato

Il colore sviluppato è proporzionale al contenuto di fosforo nel campione.

$\lambda = 650 \text{ nm}$



TURBIDIMETRIA e NEFELOMETRIA

La turbidimetria è una metodica ottica di analisi che permette di determinare il livello di torbidità di un liquido sfruttando l'assorbimento e la riflessione di raggi luminosi di determinata lunghezza d'onda (utilizza il fotometro o lo spettrofotometro).

Se prevale il fenomeno di assorbimento (quando la dimensione delle particelle che provocano torbidità è dell'ordine o superiore al micrometro), si ricorre alla misura turbidimetrica; se, invece, si è in presenza di particelle di più piccole dimensioni (dell'ordine di decine o centinaia di nanometri), si utilizza la nefelometria.

TURBIDIMETRIA e NEFELOMETRIA

Applicazioni della tecnica turbidimetrica in chimica clinica: alcuni esempi.

Sostanza	Reazione o materiale utilizzato per l'analisi turbidimetrica
Albumina e altre Plasmaproteine	Complesso antigene-anticorpo
Fibrinogeno	Solfato di ammonio; trombina-fibrina
Proteine del siero e lipoproteine	Soluzione tamponata di timolo (Mac Lagan); cloruro mercurio in ambiente moderatamente alcalino Takata)
Proteine urine	Acido solfosalicilico, complesso antigene-anticorpo
β -lipoproteine	Eparina + CaCl_2 a bassa forza ionica, complesso antigene-anticorpo
β_2 -microglobulina	Complesso antigene-anticorpo
Lipasi	Emulsione olio oliva
Lisozima	Micrococcus lysodeicticus

Applicazioni della tecnica nefelometrica in chimica clinica.

Sostanza determinata	Materiale usato per l'analisi
Lipoproteine	Siero dopo filtrazione per membrana
Frazioni plasmaproteine	Plasma + anticorpo + polietilenglicole
Amilasi	Siero + emulsione di amido
Lipasi	Siero + emulsione olio di oliva
Proteine urinarie	Siero + anticorpi specifici

FLUORIMETRIA

Sono fluorescenti le sostanze che assorbono radiazioni elettromagnetiche ad una data λ (luce eccitante) e riemettono in tempi brevi (10^{-8} s) radiazioni a λ superiore (luce fluorescente)

Misura della fluorescenza diretta:

la sostanza da determinare è autofluorescente in determinate condizioni (es. barbiturici, porfirine)

Misura della fluorescenza indiretta:

la sostanza diventa fluorescente in seguito a reazioni con determinati reagenti

Fluorimetria di inibizione:

La sostanza da dosare riduce specificamente e quantitativamente la fluorescenza di un determinato fluoroforo (es. determinazione dei gruppi sulfidrilici)

ELETTROFORESI

Principio:

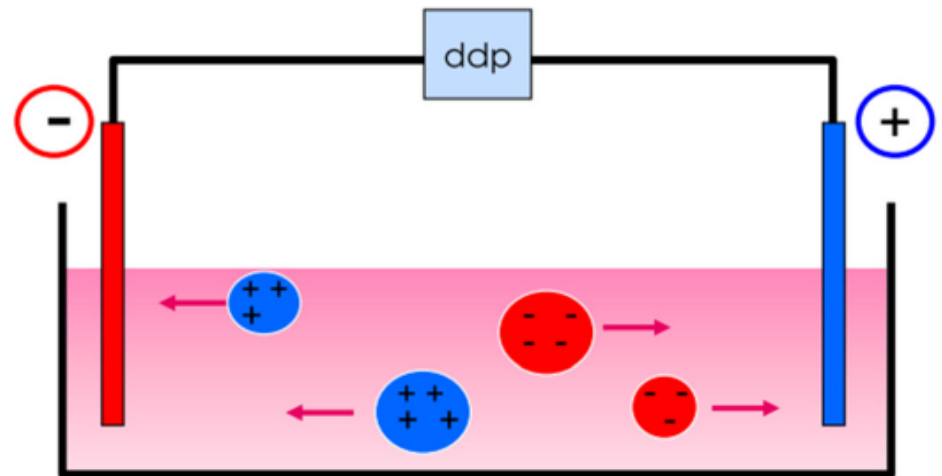
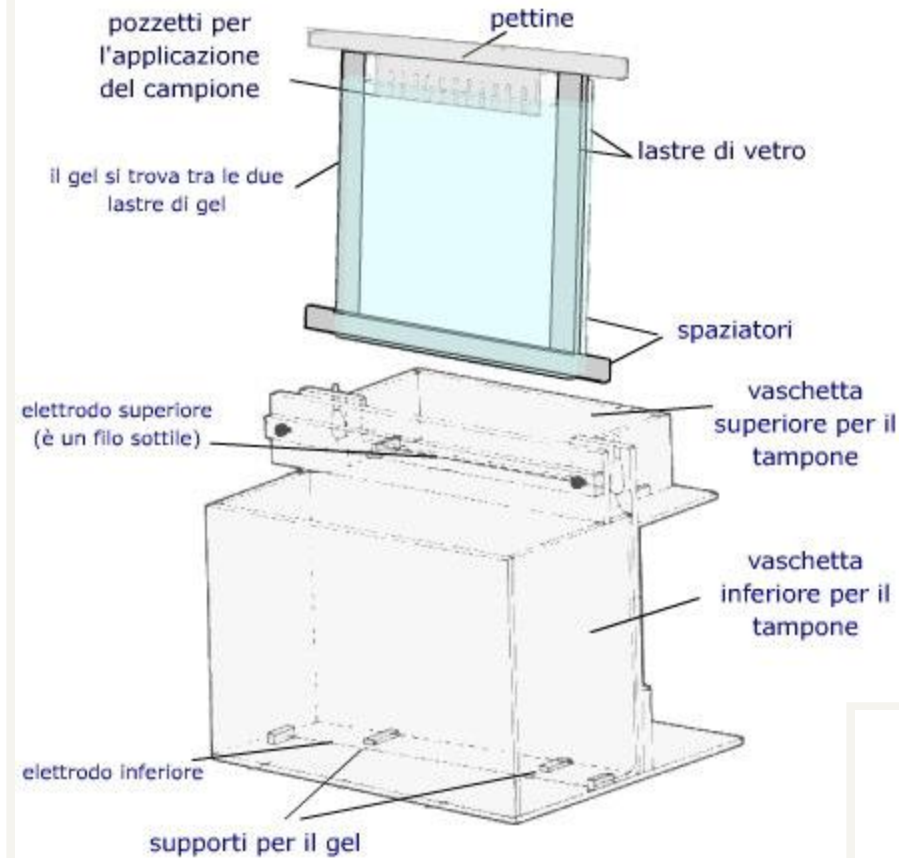
Migrazione, attraverso un mezzo liquido e/o solido, e sotto l'impulso di un campo elettrico, di particelle dotate di cariche, ioni o polielettroliti.

Molte molecole biologiche (aa, peptidi, proteine, DNA, RNA) hanno gruppi ionizzabili e pertanto ad un determinato pH esistono in soluzione come specie cariche elettricamente, cationi (+) e anioni (-) che, sotto l'azione di un campo elettrico migrano al catodo o all'anodo.

L'alimentatore fornisce un flusso di corrente continua agli elettrodi applicati alla cella elettroforetica. I cationi migrano verso il catodo (-) e gli anioni verso l'anodo (+) a una velocità che dipende dall'equilibrio tra la forza di spinta del campo elettrico e le forze frenanti (frizionali ed elettrostatiche) esistenti tra ioni e mezzo circostante.

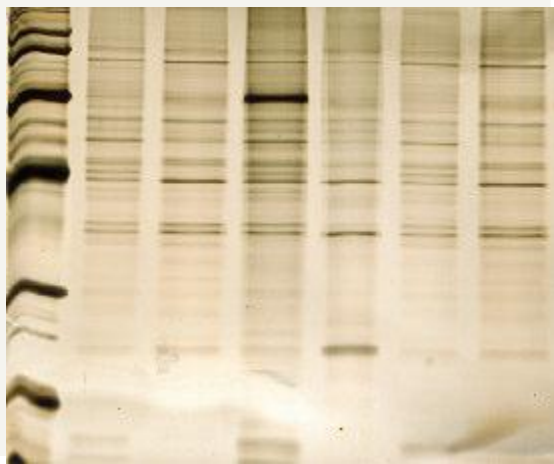
ELETTROFORESI

Quindi, la migrazione è DIRETTAMENTE proporzionale alla carica netta di una molecola, (che dipende dal proprio punto isoelettrico e dal pH del mezzo), ed INVERSAMENTE proporzionale alle dimensioni.

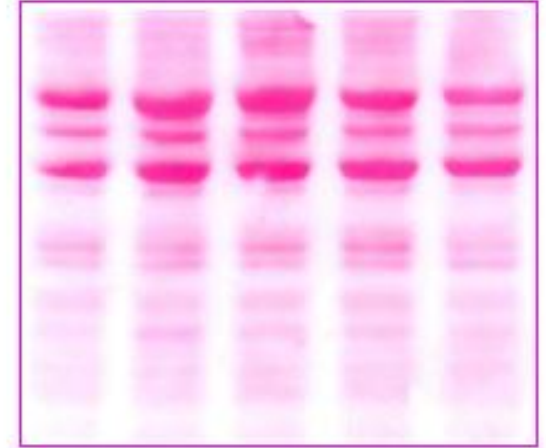


ELETTROFORESI: colorazione

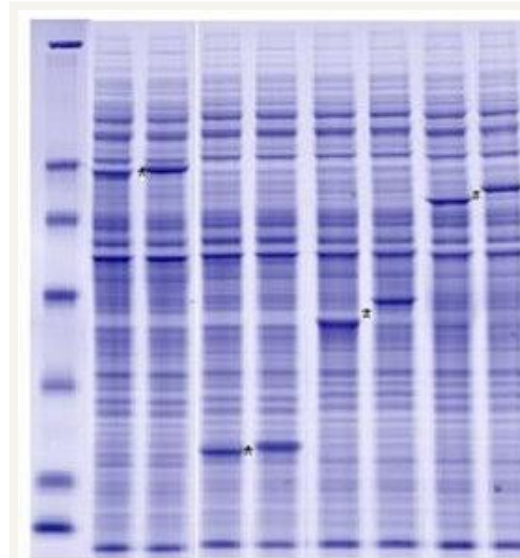
Per visualizzare le proteine si ricorre a colorazioni specifiche



Nitrato Di Argento



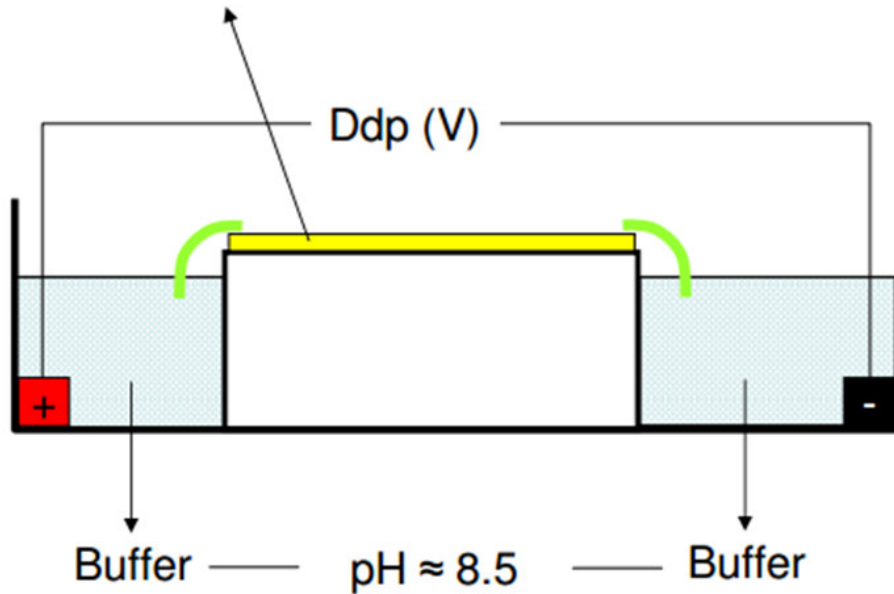
Ponceau



Coomassie Blu

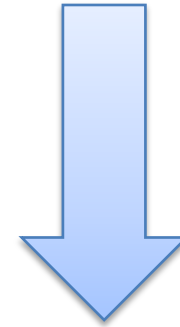
ELETTROFORESI: acetato di cellulosa

Striscia di acetato di cellulosa



Analisi condotta in circa 15 minuti

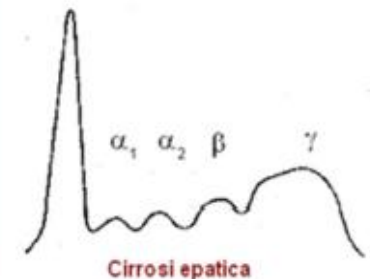
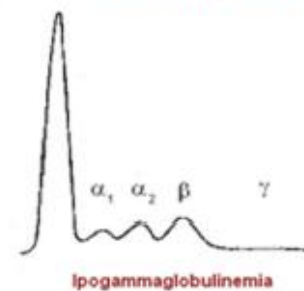
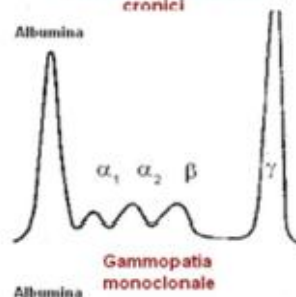
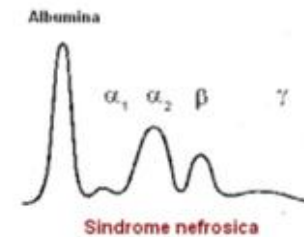
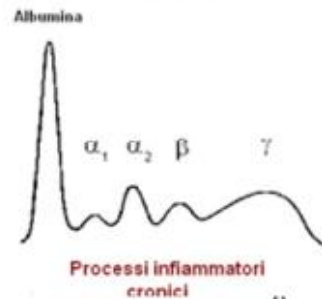
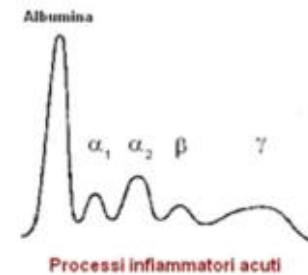
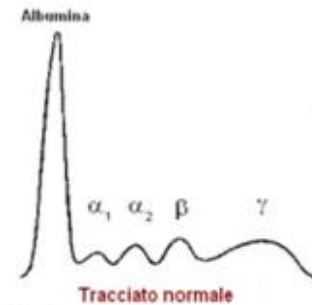
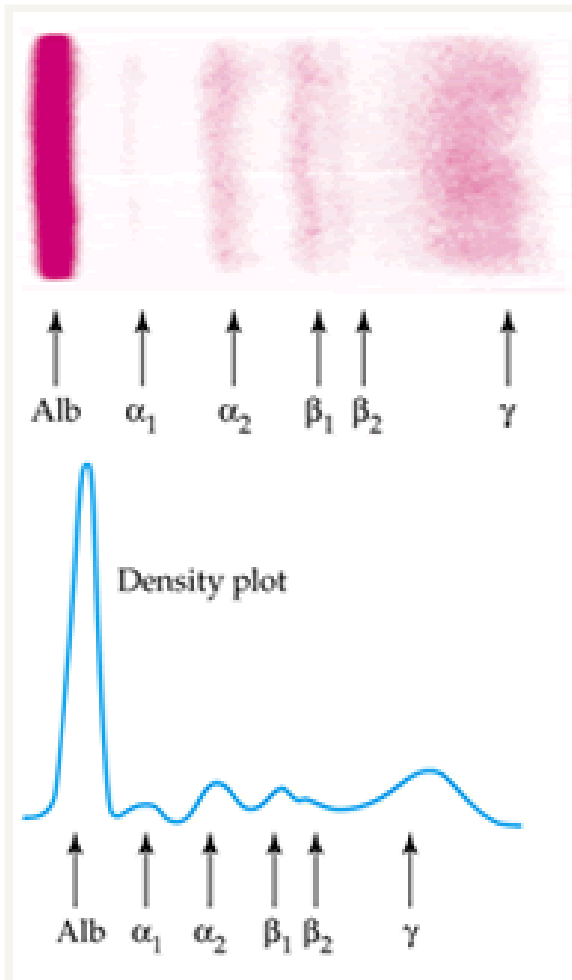
Il campione viene depositato sulla superficie del supporto di acetato di cellulosa che è imbevuto del tampone di corsa a pH 8.6. Successivamente viene applicata la differenza di potenziale.



Metodica relativamente veloce con buona applicabilità in campo diagnostico/clinico (test rapidi)

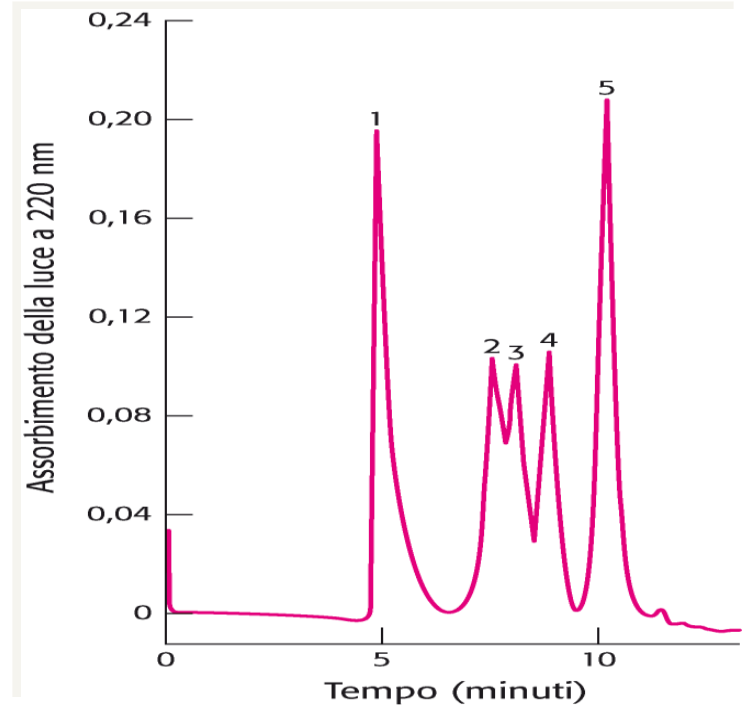
ELETTROFORESI: sieroproteine

Con l'elettroforesi su acetato di cellulosa in tampone basico le sieroproteine possono essere separate in albumina e globuline.



CROMATOGRAFIA

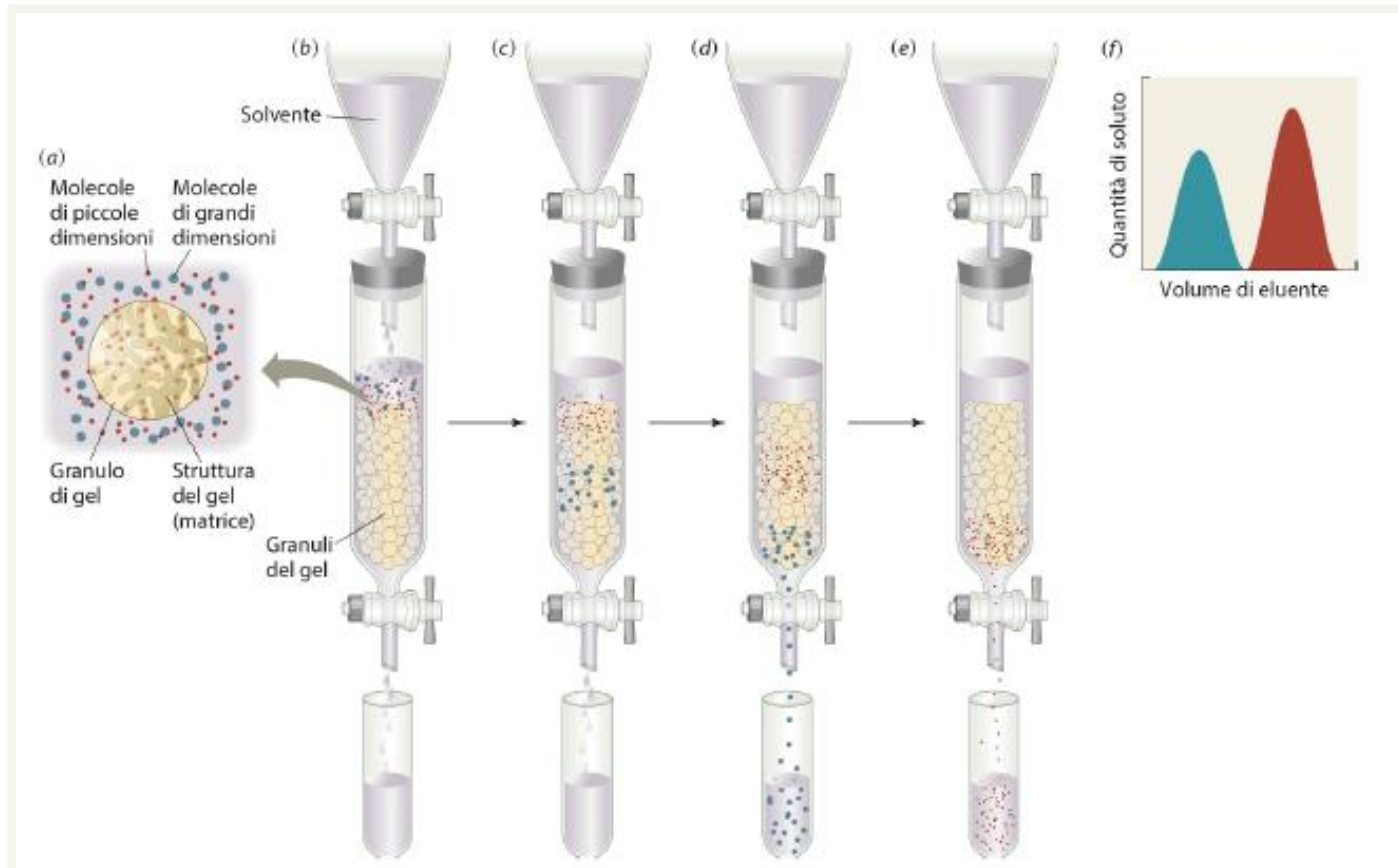
Il processo della cromatografia (dal greco *chòma*, colore e *gràphein*, scrivere) si basa su interazioni tra una miscela di sostanze da frazionare sciolte in un liquido (**fase mobile**) ed una matrice solida porosa (**fase stazionaria**).



Nella **cromatografia a scambio ionico** le molecole cariche si legano a gruppi immobilizzati sulla matrice (cellulosa o agarosio).

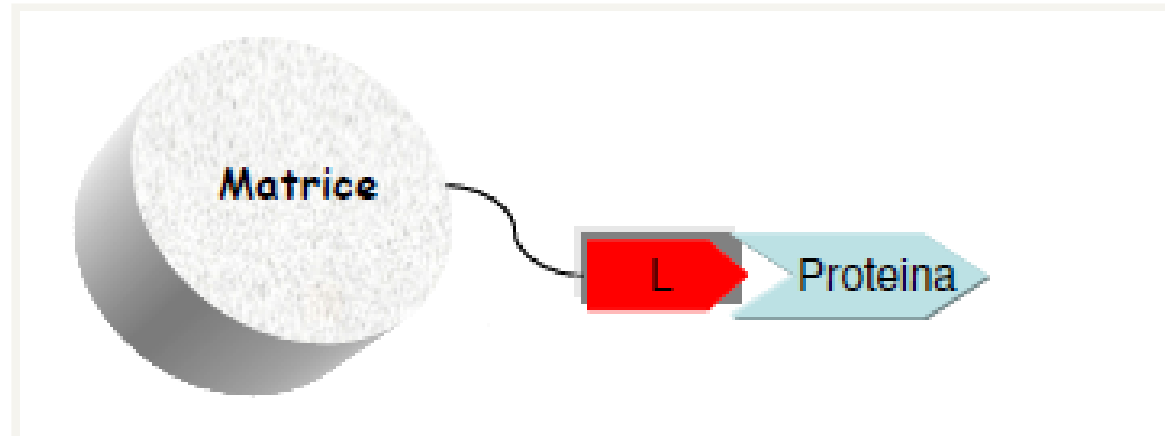


Nella cromatografia per gel filtrazione (esclusione molecolare o setaccio molecolare) le molecole sono separate in base alle loro dimensioni e alla loro forma. La fase stazionaria è formata da granuli di gel contenenti pori di dimensioni variabili.

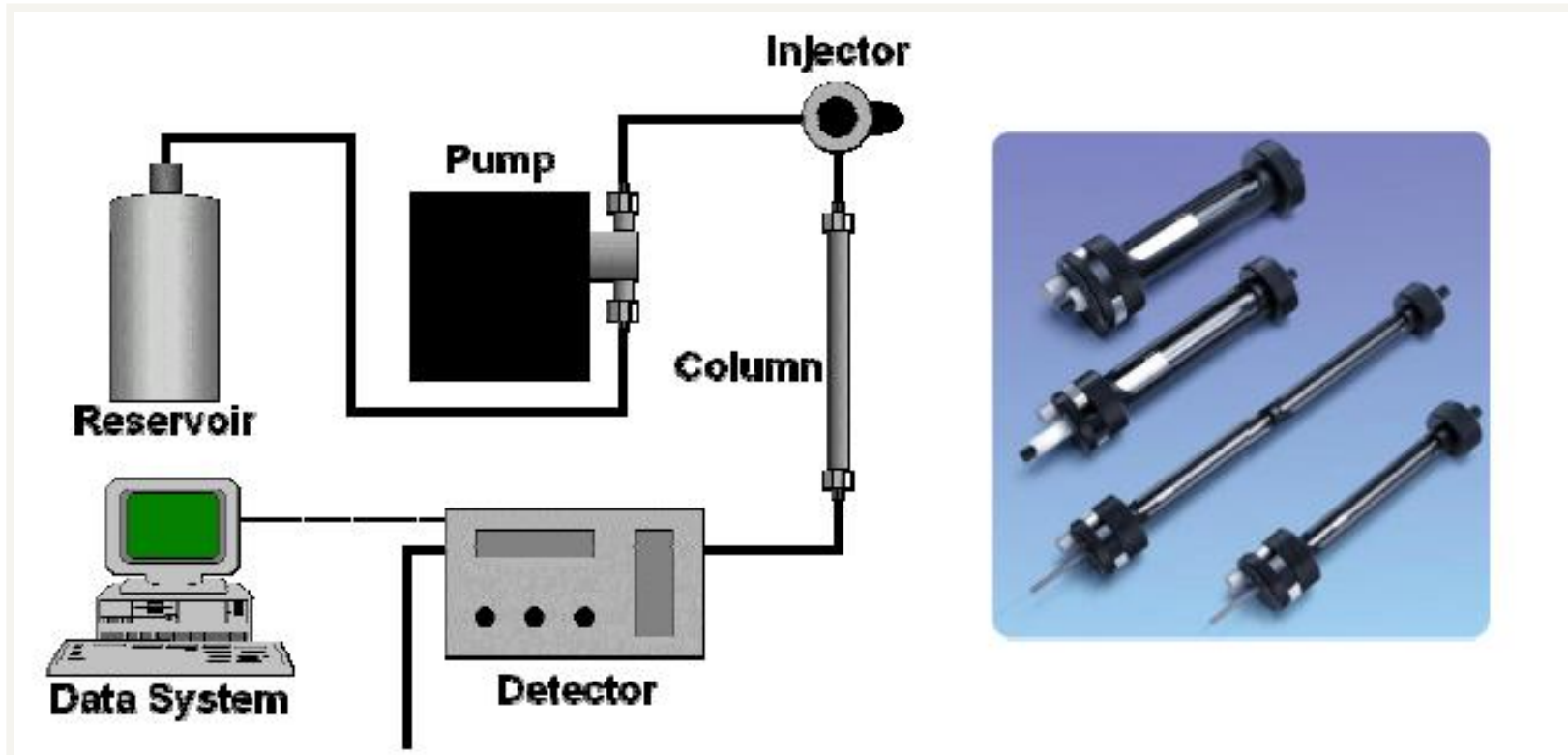


Nella **cromatografia per affinità** una molecola (ligando) che si lega specificamente alla proteina di interesse è legata covalentemente alla matrice inerte della fase stazionaria.

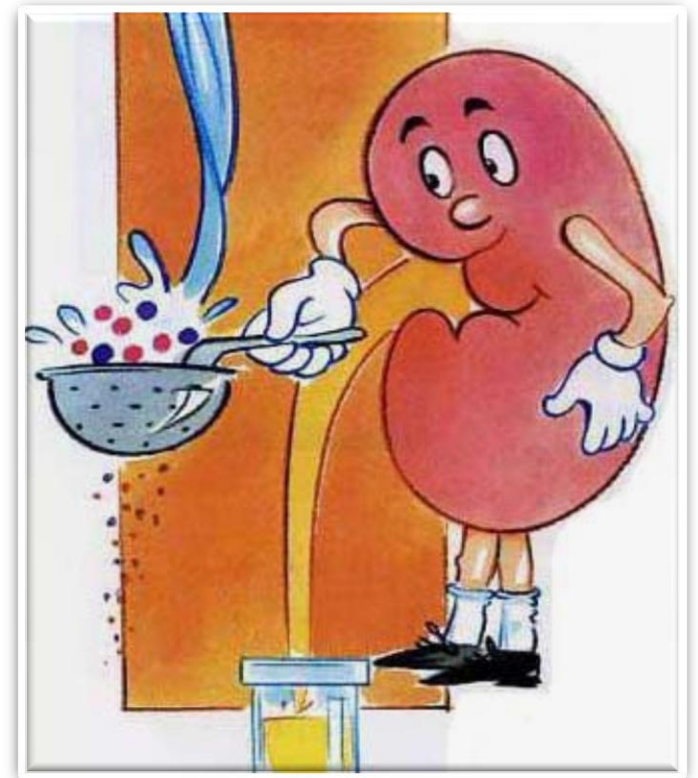
- La proteina bersaglio viene recuperata variando la forza ionica del tampone in modo tale da eluire la proteina dalla matrice.
- A differenza degli altri tipi di cromatografia non si basa sulle differenze nelle proprietà fisiche delle molecole da separare, ma sfrutta le interazioni altamente specifiche delle molecole biologiche.



L'HPLC (cromatografia liquida ad alta prestazione) impiega sistemi automatizzati con campioni applicati in modo preciso, velocità di flusso controllate, mantenute ad alte pressioni, una matrice di plastica del diametro compreso tra 3 e 300 μm e rivestiti di uno strato uniforme di materiale cromatografico.



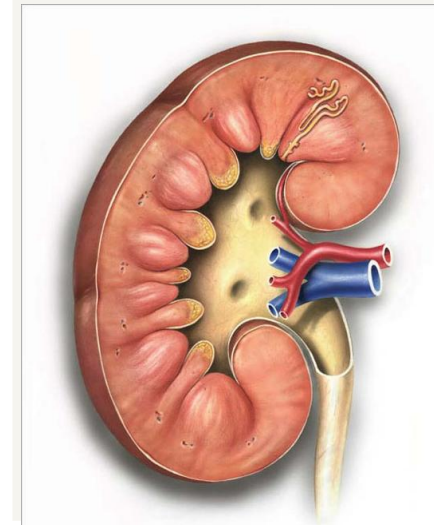
Esami di laboratorio per valutare la funzionalità renale



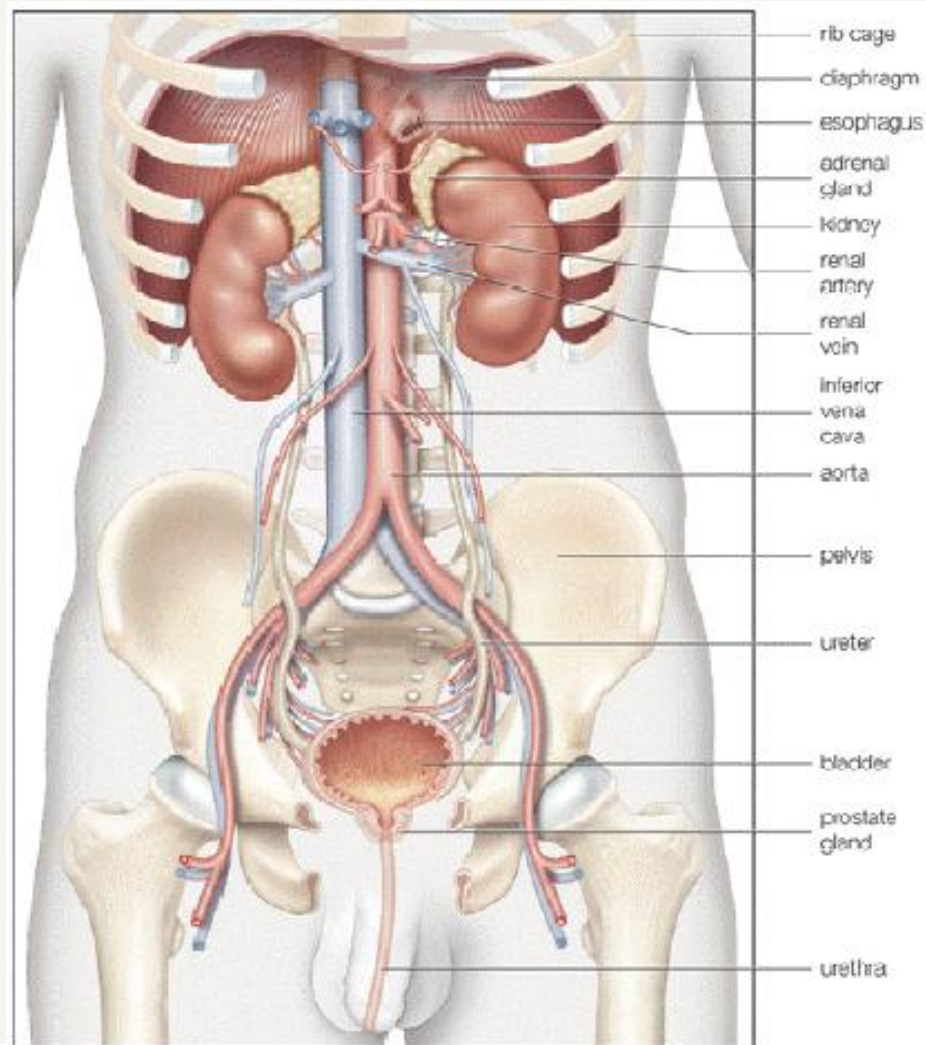
RENE

Le funzioni principali del rene sono:

- ✓ Escrezione dall'organismo di sostanze di scarto, mediante la produzione delle urine, prodotte dal catabolismo e di eventuali sostanze tossiche;
- ✓ Trasformazione della vitamina D nel suo metabolita biologicamente attivo, la vitamina D₃ (1,25-diidrossicolecalciferolo o calcitriolo)
- ✓ Produzione di sostanze di natura endocrina fa parte dell'apparato inxtaglomerulare(e.g. renina ed eritropoietina)
- ✓ Regolazione dell'acqua, degli elettroliti e del bilancio osmolare
- ✓ Regolazione del volume, della pressione e del pH del sangue



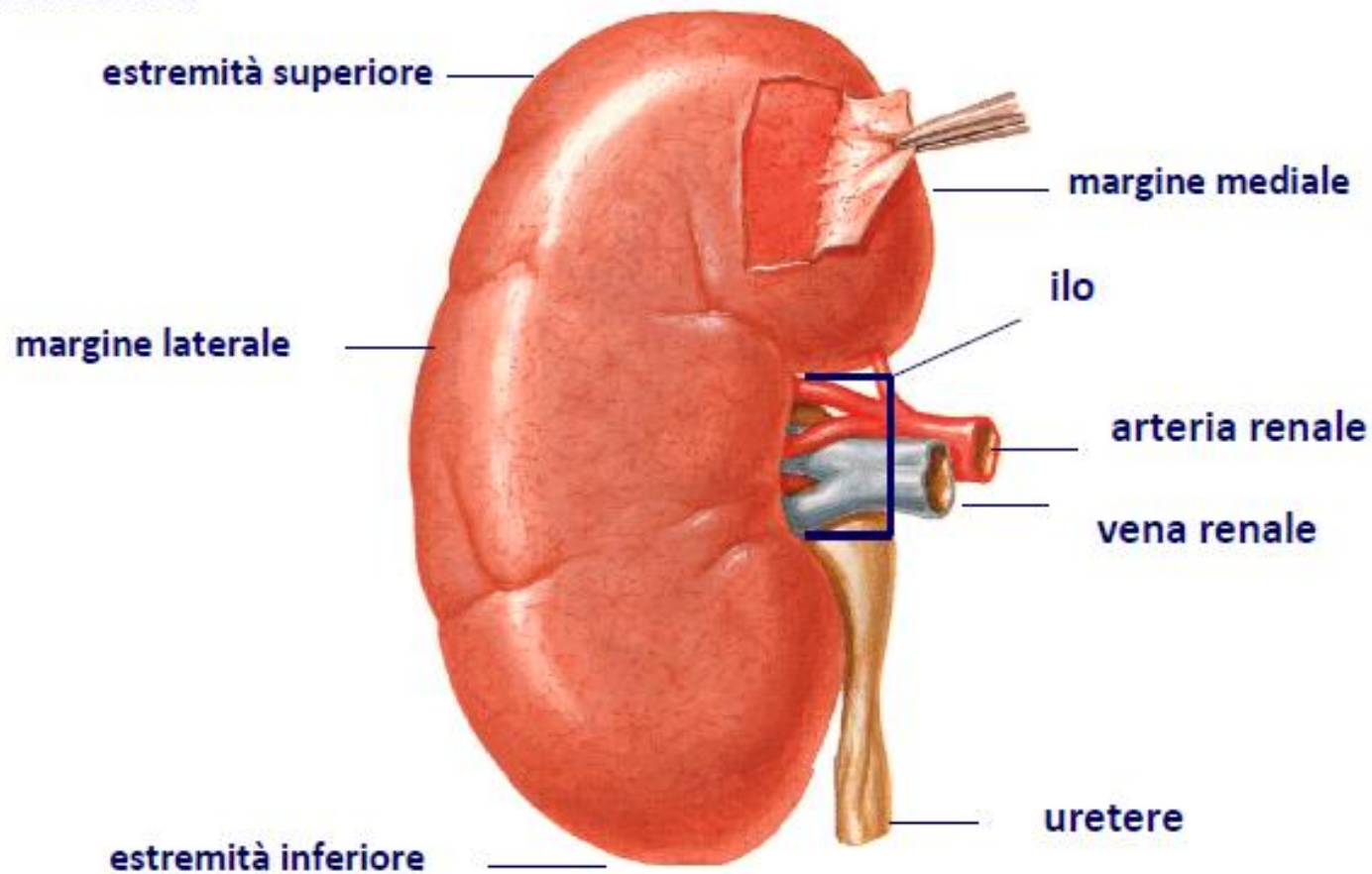
RENI: localizzazione



I reni sono localizzati nella cavità addominale ai lati delle ultime vertebre toraciche e delle prime lombari.

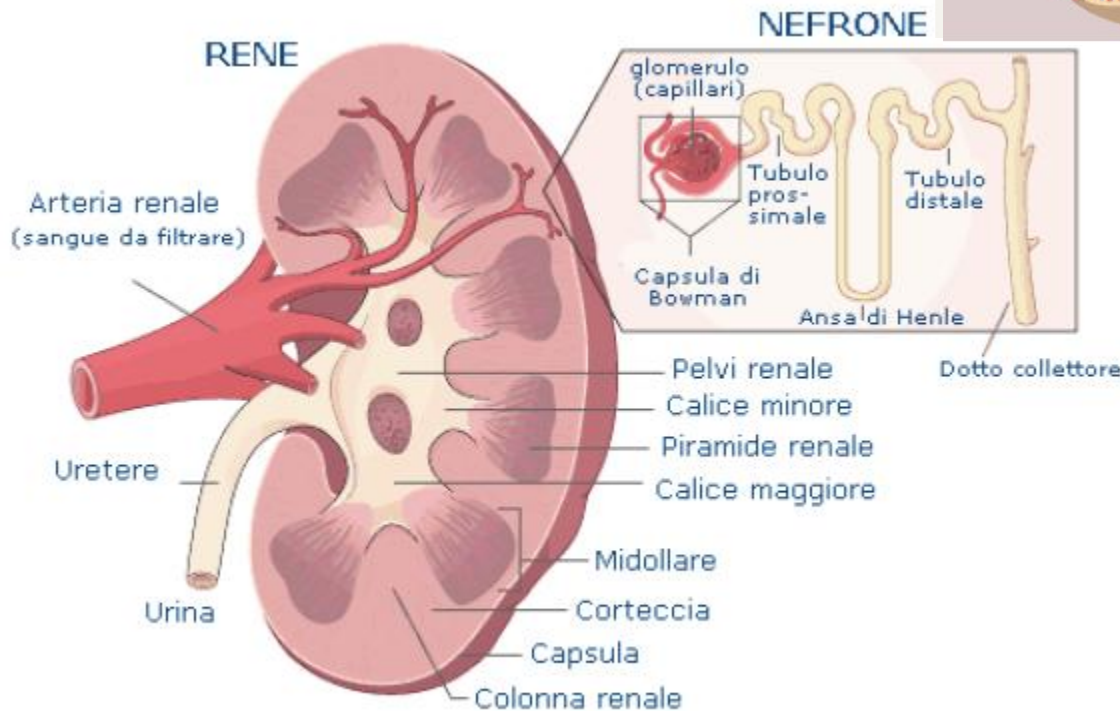
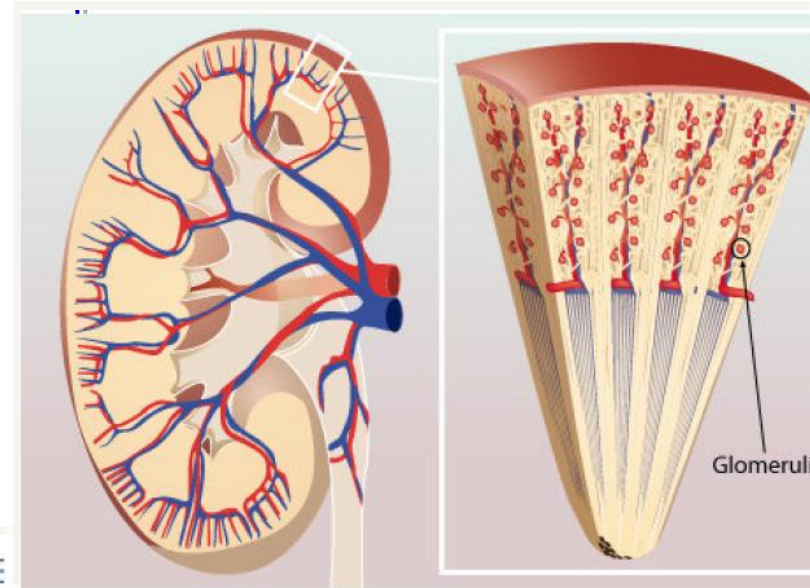
RENI: anatomia

Nel rene si distinguono una parte anteriore convessa, una parte posteriore pianeggiante, un polo superiore arrotondato, un polo inferiore più appuntito, un margine laterale convesso ed un margine mediale. Nel margine mediale è presente una profonda fessura verticale, detta ILO renale, da cui entrano ed escono i vasi renali (arteria e vena) e da cui parte l'uretere, che porta l'urina nella vescica.



RENI: unità funzionale (nefrone)

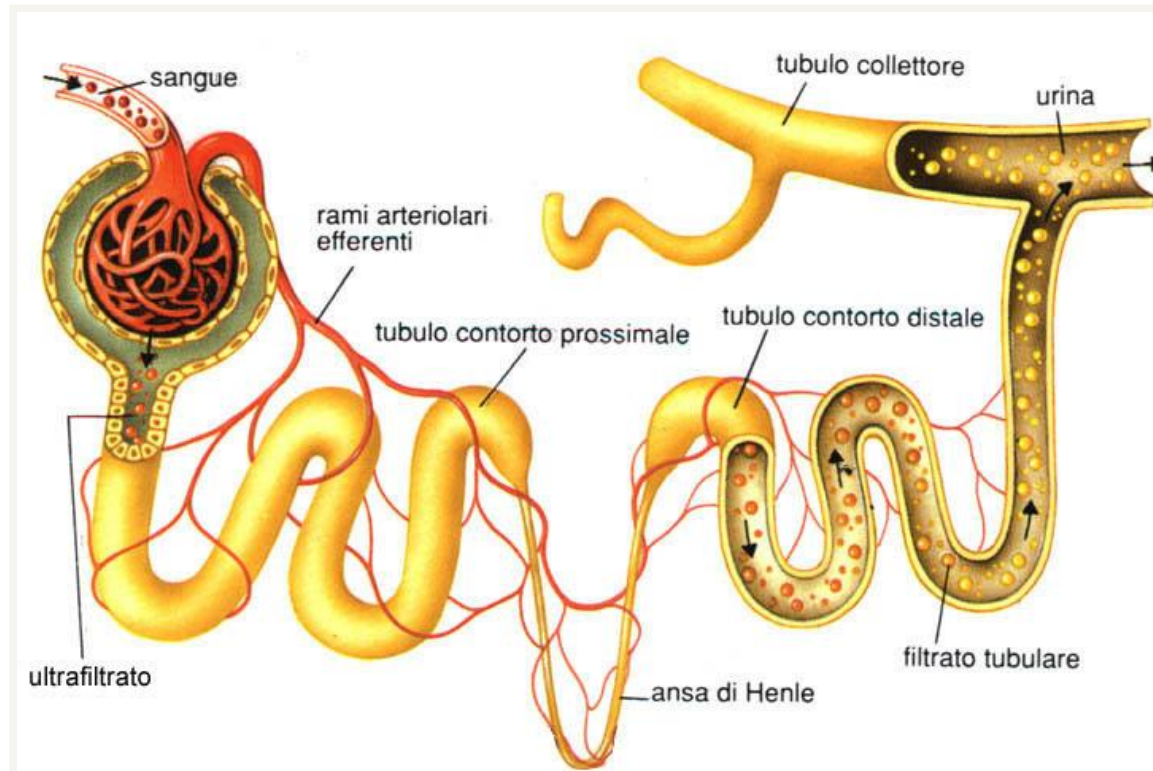
L'unità funzionale del rene è il **nefrone**, dove avviene la *trasformazione del filtrato glomerulare in urina*. I nefroni occupano la parte corticale e la parte midollare del rene, e ogni coppia di reni ne contiene circa un milione.



Il nefrone è composto dal **glomerulo**, che produce il filtrato glomerulare e dal **tubulo renale** che converte il filtrato in urina.

RENI: unità funzionale (nefrone)

I vasi renali apportano sangue ai glomeruli ed ai tubuli permettendo la formazione di urina. I glomeruli filtrano il sangue e, trattenendo le cellule e le proteine plasmatiche, producono un ultrafiltrato che i tubuli trasformano in urina concentrandovi i cataboliti quali urea, creatinina, cataboliti azotati e ioni idrogeno.

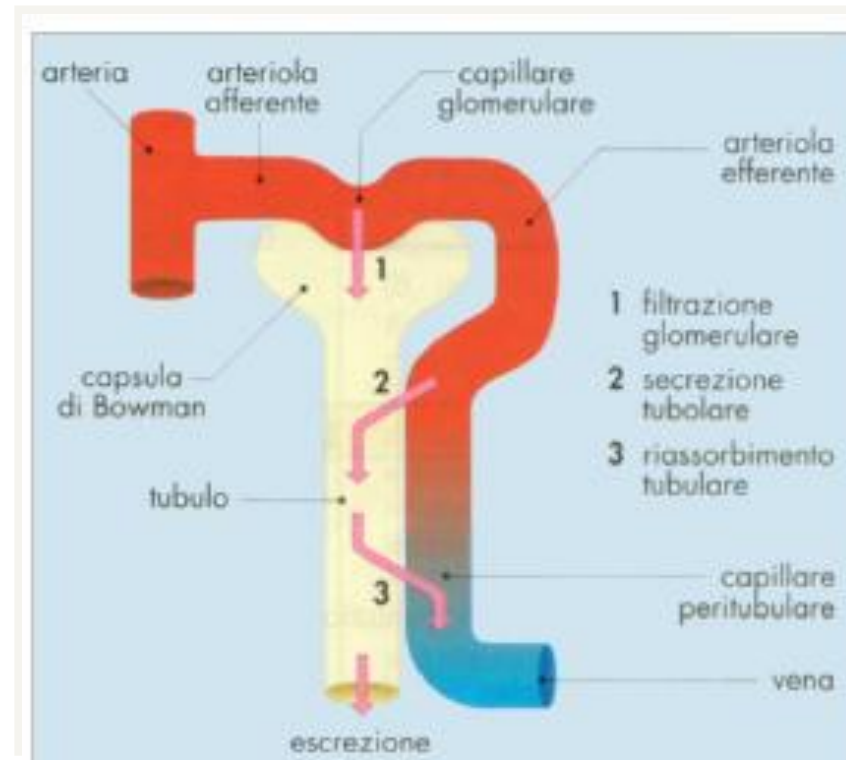


I reni ricevono circa 1,3 litri di sangue al minuto e filtrano ogni giorno 190 litri di liquido (*pre-urina*), mentre la quantità di urina eliminata in un giorno è di circa 1-1,5 litri (<1%).

Circa il 95% del volume dell'urina è rappresentato dall'acqua.

Il nostro organismo compie tutto questo lavoro, apparentemente inutile, per poter eliminare in fretta eventuali eccessi o sostanze nocive.

In tal modo, il rene è determinante nel mantenimento del volume e della composizione chimico-fisica dei liquidi corporei, eliminando prodotti di rifiuto e regolando l'omeostasi di acqua ed importanti elettroliti e metaboliti. Poichè acqua e soluti sono in continuo scambio intra/extra-cellulare i processi regolano anche i volumi dei due compartimenti.



FILTRAZIONE:

avviene tra capillari glomerulari e capsula di Bowman.

La membrana filtrante è permeabile all'acqua, ai sali inorganici, e alle piccole molecole organiche, mentre trattiene cellule del sangue e grosse molecole proteiche (albumina, globulina, fibrinogeno). Si forma il **filtrato glomerulare** (ultrafiltrato 180 L/die ovvero 125 ml/min) che assume la stessa composizione del plasma privato delle proteine.

RIASSORBIMENTO:

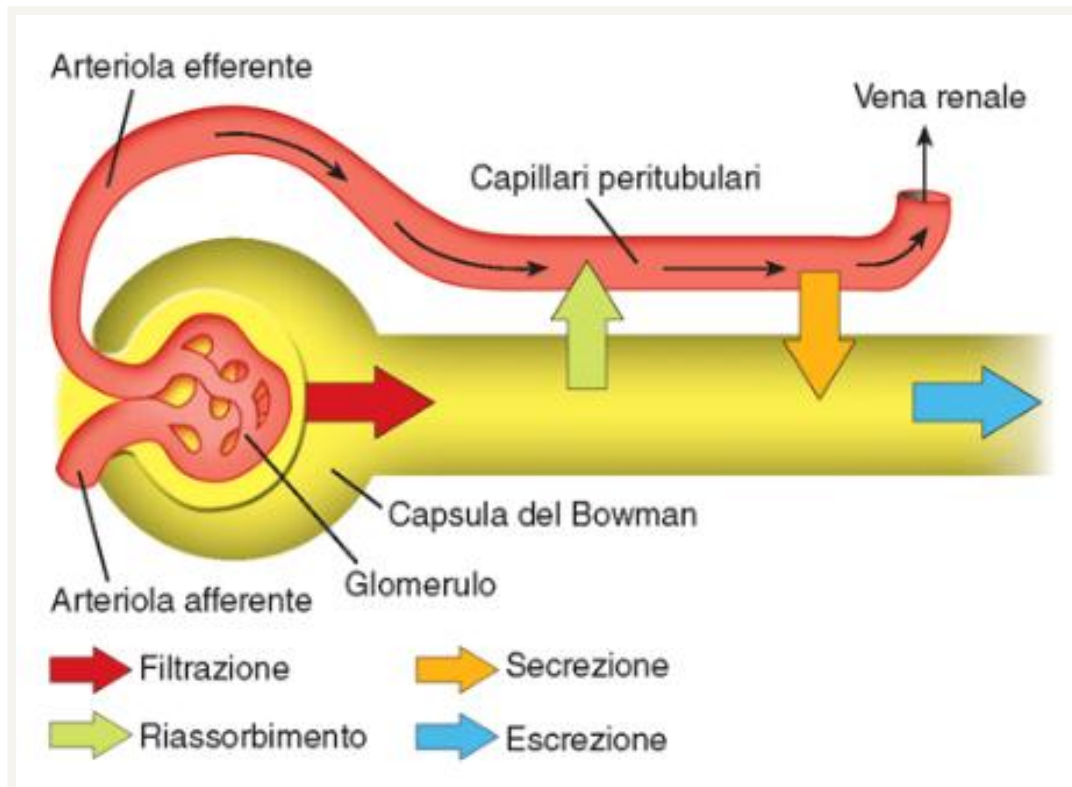
Nel tubulo prossimale si ha il riassorbimento dell'80-90% dell'acqua, del sodio, del cloro, di tutto il glucosio, della maggior parte del calcio, del magnesio, della vitamina C e di parte dei fosfati.

Nell'ansa di Henle viene riassorbita ulteriore acqua e sodio.

Nel tubulo distale viene riassorbita acqua e fosfati e quella parte di sodio non ancora riassorbita dai segmenti precedenti.

SECREZIONE ed ESCREZIONE

Tra le sostanze secrete rientrano tutte quelle che necessitano di una rapida eliminazione, come i farmaci, gli ioni H⁺ e prodotti del catabolismo delle proteine come l'urea e la creatinina (10%).



ESCREZIONE: *eliminazione dell'urina nella pelvi renale.*

**Carico Escreto (E) =
Carico Filtrato (F) – Carico Riassorbito (R) + Carico Secreto (S)**

	F	R	E	% riass
Creatinina	0,00125	0	0,00125	0
acqua	125	124	1	>99%
glucosio	100	100	0	100%
sodio	17,75	17,64	0,11	99,4
urea	0,0325	0,0162	0,0163	50%
Bicarbonato	3	2,99	0,01	>99,9%

DANNO RENALE: insufficienza renale

L'insufficienza renale rappresenta la cessazione della funzione renale con perdita di nefroni ed incapacità ad eliminare scorie, concentrare le urine e regolare il bilancio elettrolitico.

❖ **Nell'insufficienza renale acuta** i reni funzionano male per ore o giorni (reversibile).

E' dovuto ad un'alterata perfusione ematica renale o ad una azione di nefrotossine (sostanze tossiche o farmaci). E' caratterizzata dalla ritenzione nel sangue di prodotti terminali dei catabolismi, specie di quello proteico (urea)

❖ **L'insufficienza renale cronica** si sviluppa nell'arco di mesi o anni e porta, alla fine, all'insufficienza renale in toto (irreversibile). Ha numerose cause eziologiche (glomerulonefrite, nefropatia ostruttiva...). C'è sempre una situazione di intossicazione uremica dovuta non solo alla ritenzione di urea, ma di altri cataboliti azotati come la metilguanidina. fino a quando il GFR non scende al di sotto dei 15 mL/min (10% della normale funzione) e la patologia è in fase avanzata.

DANNO RENALE: insufficienza renale

INDICI PRECOCI

Clearance della creatinina bassa

Creatininemia e BUN elevati (FG<50%)

INDICI TARDIVI

Iperpotassemia (ritenzione di H⁺ e K⁺, FG<15%)

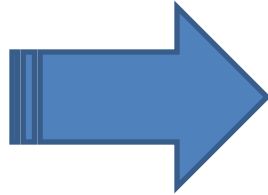
Aumento del paratormone (fasi avanzate)

Iperfosfatemia (danno renale, FG<30%)

Ridotta sintesi di 1,25-diidrossicolecalciferolo ed eritropoietina (FG<5%)

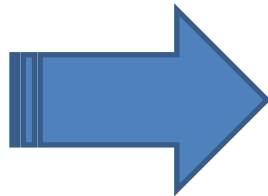
IL LABORATORIO NELLO STUDIO DELLE MALATTIE RENALI

Clearance della creatinina



per valutare diminuzioni di funzionalità renali di modestà entità, per seguire il progredire di una malattia verso l'insufficienza renale e per controllare gli effetti della dialisi.

**Aminoaciduria,
fosfaturia, glicosuria, pH
delle urine (capacità di
escrezione di H⁺),
bicarbonati**



per valutare diminuzioni di funzionalità dei tubuli

ESAMI DI LABORATORIO

- ❑ **Funzione glomerulare**
- ❑ **Funzione tubulare**

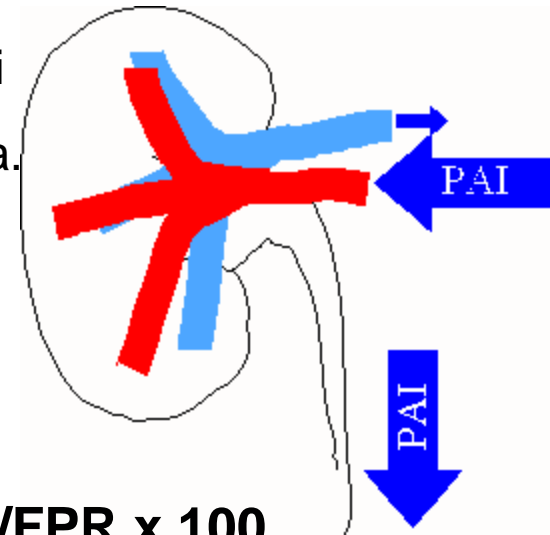
Utili nell'accertare la presenza e nel monitorare la progressione delle alterazioni.



FUNZIONE GLOMERULARE: flusso plasmatico renale(RPF)

E' la quantità di plasma che perfonde il rene in un minuto
(compreso tra 600 e 700 ml/min)

Viene valutata infondendo in vena a bassa concentrazione l'acido para-amino-ippurico (PAI); esso viene eliminato sia per filtrazione glomerulare che per secrezione tubulare. A basse concentrazioni tutto il PAI viene eliminato dal rene in un solo passaggio, per cui la clearance del PAI risulta uguale alla portata renale plasmatica.



Dal FPR calcoliamo:

$$\text{FRAZIONE di FILTRAZIONE (FF)} = \text{GFR/FPR} \times 100$$

FUNZIONE GLOMERULARE: velocità di filtrazione glomerulare (GFR)

Quantità di sangue depurato dai reni nell'unità di tempo (mL/min).

1. Velocità di filtrazione: circa 120-140 mL/min;
2. Dipende da pressione arteriosa, flusso sanguigno, età e dimensioni corporee influenzano la GFR

La diminuzione di velocità di filtrazione glomerulare porta ad un aumento di ritenzione dei prodotti di rifiuto del metabolismo nel sangue

FUNZIONE GLOMERULARE: velocità di filtrazione glomerulare (GFR)

La sostanza ideale da dosare per valutare la GFR :

- deve essere liberamente filtrata dal glomerulo
- deve essere eliminata senza riassorbimento o secrezione
- deve poter essere dosata con semplicità su plasma e urine

	Urea	Creatinina	Inulina
Si lega alle proteine	NO	NO	NO
Liberamente filtrata	SI	SI	SI
Non secreta o riassorbita	NO	SI	NO
Produzione endogena costante	NO	SI	NO
Facilmente misurabile	SI	SI	NO

FUNZIONE GLOMERULARE: clearance renale

Volume di plasma che viene depurato da quella sostanza nell'unità di tempo

Esprime l'efficacia con cui i reni rimuovono varie sostanze dal plasma nell'unità di tempo attraverso l'attività renale.

E' quindi il risultato finale dell'azione associata dei meccanismi di:

- 1) filtrazione glomerulare,
- 2) riassorbimento tubulare,
- 3) secrezione tubulare

La **clearance** si esprime in ml/min e può essere definita attraverso il seguente rapporto:

$$\text{Clearance} = \frac{U \times V}{P} \cdot \frac{1,73}{A}$$

Dove:

U è la concentrazione urinaria della sostanza in mg/dl

P è la concentrazione plasmatica della sostanza in mg/dl

V è il flusso urinario espresso in ml/min

1,73 è la superficie corporea standard (m²)

A è la superficie corporea del paziente (m²)

FUNZIONE GLOMERULARE: clearance della creatinina

La concentrazione plasmatica di creatinina è generalmente stabile ed indipendente dalla dieta.

La sua eliminazione renale dipende da:

- Filtrazione del glomerulo
- nessun riassorbimento
- secrezione trascurabile (< 10%)

Valori di riferimento: 85-125 ml/min (uomo); 75-112 ml/min (donna)

I valori della clearance della creatinina tendono a ridursi fisiologicamente con l'età a partire dai 40 anni fino a giungere al 50% dei valori normali sui 70 anni.

Quindi, una stima della GFR può essere ottenuta calcolando il contenuto di creatinina nelle urine delle 24 h e la sua concentrazione plasmatica nello stesso periodo.

FUNZIONE GLOMERULARE: cistatina C

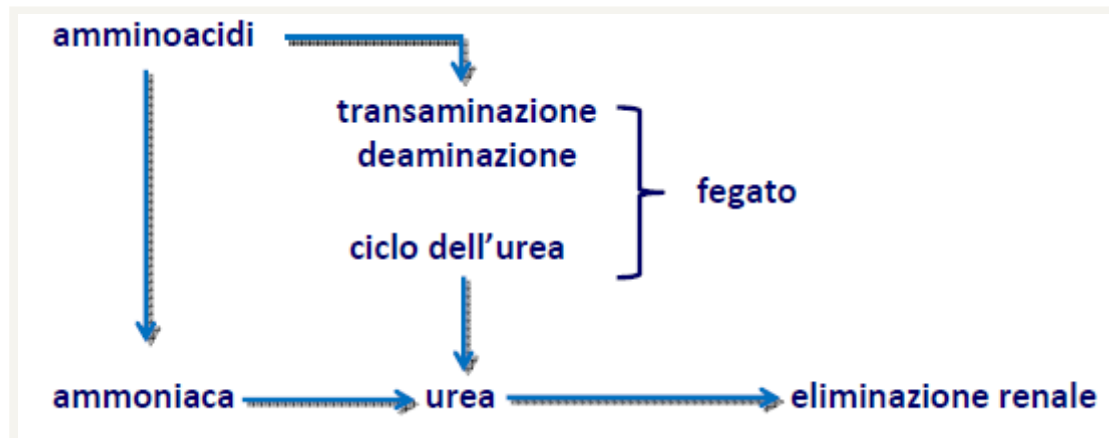
- Polipeptide cationico di circa 13 kDa appartenente alla famiglia delle cisteine proteasi coinvolte nel catabolismo proteico.
- Viene prodotta a velocità costante.
- Poichè viene eliminata esclusivamente dal rene i suoi livelli sono inversamente proporzionali alla velocità di filtrazione glomerulare.

Sembrerebbe più sensibile della creatinina nel segnalare una riduzione della filtrazione glomerulare, ma il suo utilizzo è ancora molto limitato in diagnostica.

FUNZIONE GLOMERULARE: urea

L'urea è prodotta nel fegato come prodotto del catabolismo degli amminoacidi.

L'urea viene rapidamente escreta dal rene: il 40% dell'urea filtrata dai glomeruli viene riassorbita dai tubuli



In passato per la misura dell'urea si sfruttava la liberazione dell'azoto dall'urea presente nel sangue (BUN, Blood urea nitrogen). Anche se oggi si misura direttamente l'urea nel siero/plasma (da cui si calcola poi l'azoto) il termine BUN è tuttora utilizzato.

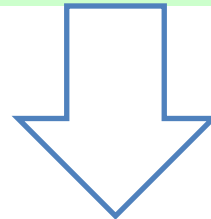
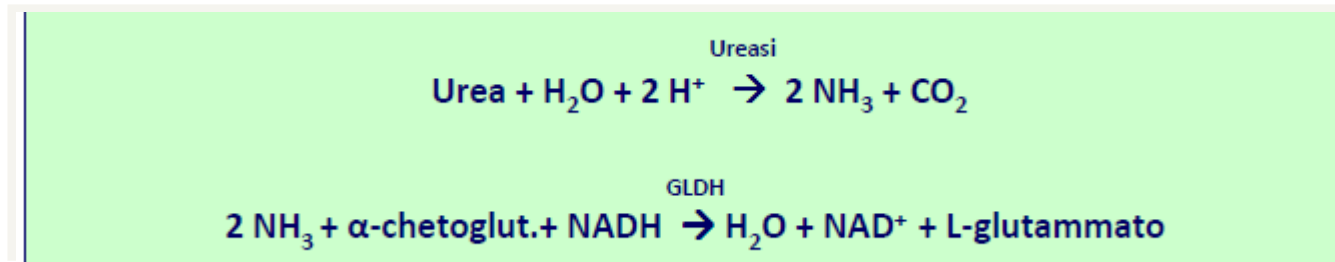
Si definisce **azoto ureico** il solo azoto contenuto nell'urea. Il termine azotemia, invece di uremia, è pertanto improprio ma di uso comune.

FUNZIONE GLOMERULARE: urea-azotemia

PRINCIPIO DEL METODO

Si tratta di una metodica end-point enzimatica.

L'urea nel campione viene idrolizzata enzimaticamente ad ammoniaca (NH_3) e anidride carbonica (CO_2). L'ammoniaca formatasi reagisce con l' α -chetoglutarato in una reazione catalizzata dalla glutammato deidrogenasi (GLDH) con simultanea ossidazione dell' NADH a NAD^+ :



La diminuzione della concentrazione di NADH è proporzionale alla concentrazione dell'urea nel campione:

il NADH si segue mediante lettura spettrofotometrica a 340 nm

FUNZIONE GLOMERULARE: urea-azotemia

✓L'urea prodotta dal fegato entra in circolazione ed è in gran parte escreta dal rene: nelle 24 h, normalmente, un individuo adulto elimina con le urine 10-20 g di azoto sotto forma di urea (1-2 g con le feci).

✓La concentrazione plasmatica dell'urea dipende dalla sintesi epatica e dall'eliminazione renale.

✓E' filtrata a livello glomerulare (56 g/die): una quota è riassorbita, insieme all'acqua, nel tubulo prossimale, mentre un'altra lascia il lume a livello del dotto collettore e si accumula nell'interstizio della midollare; **la quota escreta è di circa 28 g/die, ovvero il 50% di quella filtrata.**

✓La produzione di urea non è costante: aumenta, se la dieta è iperproteica o c'è ipercatabolismo delle proteine endogene, o diminuisce, in caso di denutrizione o per ridotta attività del ciclo enzimatico.

Per questi motivi la molecola dell'urea non ha i requisiti ideali per la determinazione del filtrato glomerulare.

FUNZIONE GLOMERULARE: azotemia

L'azotemia aumenta in casi di insufficienza renale quando i reni sono ormai lesi oltre il 50%. L'aumento dell'azotemia determina uno stato tossico, che prende il nome di tossicità uremica.

Valori normali: 20-50 mg/dl

FUNZIONE TUBULARE

Test di concentrazione delle urine: si esegue mantenendo il paziente in restrizione di fluidi dalle 22 fino alle 14 del giorno successivo, raccogliendo le urine in tre campioni successivi alle ore 11, 12 e 14 valutando l'osmolarità plasmatica, urinaria, il volume urinario e la densità dell'urina.

Normalmente il rene risponde con un aumento (> 1026 g/L) ed una riduzione del volume urinario.

Il test non ha valore in presenza di alterazioni del bilancio idro-elettrolitico, sieroproteico, edema, gravidanza ed insufficienza renale evidente.

Test dell'Adiuretina (ADH): più sensibile può essere usato in condizioni edematose e di alterazione sieroproteica; prevede la raccolta di 3 campioni urinari 1, 2, e 3 ore dopo iniezione sottocute di 10 U di ADH.

Normalmente il rene risponde con un aumento della densità urinaria > 1026 g/L

ESAME DELLE URINE

L'urina è un liquido a composizione ampiamente variabile.

Contiene un numero estremamente elevato di composti, la maggior parte di derivazione ematica.

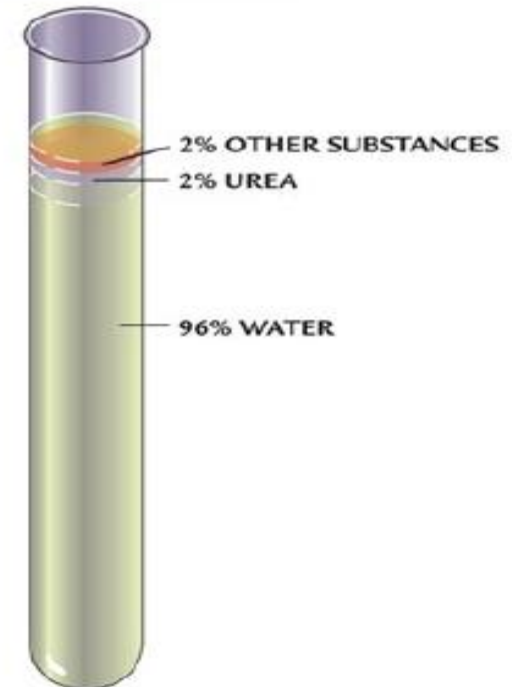
Qui confluiscono i prodotti finali dei vari catabolismi sia normali che patologici, sia delle sostanze endogene che di quelle esogene.

H₂O g 1200 - 1500

Sostanze solide g 40 - 70

	Concentrazione mmoli	
Urea	mmol	250 - 500
Creatinina	mmol	7 - 16
Acido urico	mmol	1.5 - 4.5
N amminico	mmol	10 - 20
N ammoniacale	mmol	35 - 70
Fosfati (come P)	mmol	16 - 32
Solfati (come S)	mmol	0.16 - 0.34
Cloruri	mmol	125 - 300
Na	mmol	50 - 200
K	mmol	30 - 90
Mg	mmol	3 - 5
Proteine (albumina 30-50 mg/l)		
Glucosio 0,1 g/l		
Enzimi		
Ormoni		
Vitamine		
Pigmenti (urocromo e urobilina)		
Acidi organici		
Acidi fenolici e derivati		

	Concentrazione g	
Urea	g	15 - 30
Creatinina	g	0.8 - 1.8
Acido urico	g	0.25 - 0.75
N amminico	g	0.15 - 0.30
N ammoniacale	g	0.5 - 1.0
Fosfati (come P)	g	0.5 - 1.0
Solfati (come S)	g	0.5 - 1.1
Cloruri	g	4.5 - 10.5
Na	g	1.2 - 4.8
K	g	1.2 - 3.5
Mg	g	0.075 - 0.125



UTILITA' DIAGNOSTICA DELL'ESAME DELLE URINE

1. Malattie renali
2. Alterazioni delle vie urinarie (infezioni, tumori)
3. Malattie sistemiche e metaboliche



Indicatori di stato di rene e vie urinarie	
Aspetto	Colore
	Trasparenza
	Odore
	Schiuma
Peso specifico	
Test chimici	Proteine
	Sangue
	Nitriti
	Esterasi leucocitaria
Sedimento urinario	Cellule
	Cilindri
	Cristalli
Indicatori di malattia o disturbo metabolico	
pH	Equilibrio acido-basico
Aspetto	Pigmenti
	Concentrazione o diluizione
Peso specifico	
Test chimici	Glucosio e chetoni (diabete mellito)
	Bilirubina (ittero-epatopatie)
	Bilirubina e urobilinogeno (epatopatie-anemie emolitiche)
	Emoglobina (emolisi intravascolare)
	Mioglobina (rabbdomiolisi)
	Proteine a catena leggera (mieloma γ -globulinopatie)
	Porfobilinogeno (porfiria)

Quali esami si possono effettuare sulle URINE?

- I. Un raggruppamento di analisi qualitative e semiquantitative, indicato genericamente con la tradizionale dizione di “esame delle urine”
- II. Analisi semiquantitative di accertamento preliminare particolare (test di gravidanza)
- III. Analisi quantitativa di sostanze endogene presenti normalmente o in situazioni patologiche (dosaggio della glicosuria, di metaboliti ormonali)
- IV. Determinazione di farmaci e di loro metaboliti per indagini farmacologiche e tossicologiche (barbiturici, morfina)
- V. Analisi batteriologiche
- VI. Analisi citologiche

ANALISI DELLE URINE: fase pre analitica

Le urine contengono componenti con caratteristiche chimiche, fisiche e citologiche molto labili. Il campione di urina deve essere raccolto (volume 10-12 mL) con distinte modalità, in relazione al tipo di indagine da eseguire:

ANALISI QUANTITATIVE:

urine del mitto intermedio per le analisi di chimica clinica (dosaggio di metaboliti, ormoni o metalli) o raccolta temporizzata generalmente nelle 24h (negli studi di clearance).

ANALISI ROUTINARIA:

urine del primo mattino raccolte in recipienti sterili evitando contaminazioni (per l'esame completo delle urine: l'urina è più concentrata, quindi sono più evidenti eventuali alterazioni)

ANALISI MICROBIOLOGICA: urine del mitto intermedio previa pulizia preventiva genitali esterni al fine di ottenere un campione assolutamente non contaminato per le indagini colturali.

ANALISI DELLE URINE: fase pre analitica

Per una corretta analisi di routine delle urine il campione dovrebbe essere analizzato fresco (30') e comunque entro le 2 ore dalla minzione, altrimenti può essere refrigerato. Ciò è importante soprattutto per l'indagine microscopica del sedimento.

La stabilità dipende da:

- Intensità della luce
- Temperatura e pH
- Specifiche caratteristiche chimico-fisiche

Col passare del tempo:

- I batteri ed i lieviti iniziano a moltiplicarsi
- I batteri ureasici producono NH_3 che aumenta il pH
- I batteri utilizzano glucosio diminuendone la concentrazione
- I cilindri e le cellule si deteriorano
- Avvengono modificazioni chimico-fisiche:
 - Degradazione di bilirubina e urobilinogeno
 - Formazione di cristalli e sedimenti amorfi

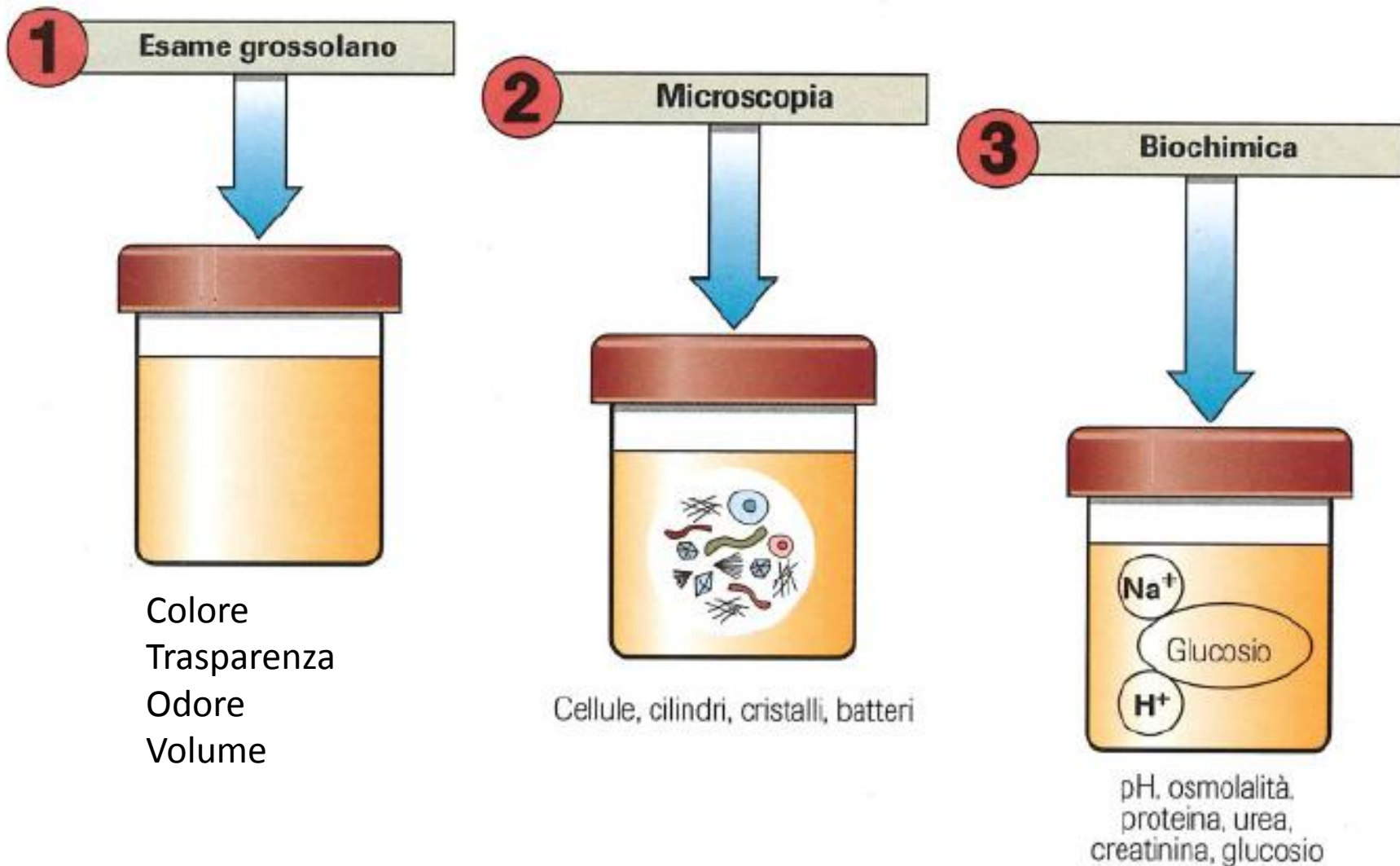
Tabella 24.4

Modificazione di un campione di urine a temperatura ambiente

Costituente	Variazioni osservate	Meccanismo
pH	↑	Trasformazione di urea in NH_3
Cellule	↓	Lisi
Cilindri	↓	Dissoluzione
Glucosio	↓	Glicolisi (batterica)
Ketoni	↓	Conversione ac. diacetico → acetone + evaporazione
Bilirubina	↓	Ossidazione a biliverdina
Urobilinogeno	↓	Ossidazione a urobilina

Analita	Conservante o stabilizzante	Stabilità massima alle temperature indicate	
Sodio	4°C o mertiolato o acido borico o timolo	4°C	7 giorni
Potassio	4°C o mertiolato o acido borico o timolo	4°C	7 giorni
Osmolalità	4°C o mertiolato o timolo	4°C	1 giorno
Urea	4°C o mertiolato o acido borico o timolo	4°C	2-3 giorni
Creatinina	4°C o mertiolato o timolo	4°C	2-3 giorni
Calcio	50 ml di HCl 3 mol/l	4°C	7 giorni
Fosfati	50 ml di HCl 3 mol/l	4°C	7 giorni
Urati	15 ml di NaOH 2 mol/l	Temp. amb.	5 giorni
Proteine totali	4°C o mertiolato o timolo	4°C	2-3 giorni
Glucosio	4°C o mertiolato o acido	4°C	7 giorni
Cloruri	4°C o mertiolato o acido borico o timolo	4°C	7 giorni
Ossalati	50 ml di HCl 3 mol/l	-20°C	7 giorni
Acido 5-HIA	50 ml di HCl 3 mol/l	-20°C	7 giorni
Acido VM	50 ml di HCl 3 mol/l	-20°C	7 giorni
Amilasi	4°C o mertiolato o timolo	4°C	7 giorni

ANALISI DELLE URINE: fase analitica



ANALISI DELLE URINE: fase analitica

1. Esame Fisico
2. Esame chimico
3. Esame microscopico

1. Valutazione fisica
Colore
Trasparenza
Odore
Schiuma
2. Valutazione chimica
pH
Peso specifico
Proteine
Sangue
Nitriti
Esterasi leucocitaria
Ketoni
Bilirubina urobilinogeno
3. Esame del sedimento urinario
Emazie
Leucociti
Cellule epiteliali
Batteri
Altre cellule
Cilindri
Cristalli
Altri componenti

ANALISI DELLE URINE: esame fisico - volume

Un adulto elimina tra 1200 e 1600 ml di urina al giorno. L'adeguatezza del volume è valutabile solo nel caso di raccolta temporizzata.

In riferimento al volume giornaliero di urine, si definiscono le seguenti condizioni:

- **anuria:** urinazione scarsissima o assente causate da collasso circolatorio, ipossia renale (<100mL/24ore)
- **oliguria:** volume inferiore a 500mL/24 ore
- **poliuria:** volume superiore a 2 L
- **nicturia:** eliminazione nella notte di un volume superiore a 500 mL, con alterazione del rapporto giorno/notte (normalmente 4:1)

Diabete mellito e insipido
Nefrosi tubulare

Disidratazione (sudorazione eccessiva, vomito, febbre, diarrea)
Insufficienza renale cronica
Diminuito apporto di acqua

Volume 24 ore	ml
Neonato	30-60
3-10 gg	100-300
10-60 gg	250-450
2 m - 1 a	400-500
1-3 a	500-600
3-5 a	600-700
5-8 a	650-1000
8-14 a	800-1400
Adulti	600-1600
Anziani	250-2400

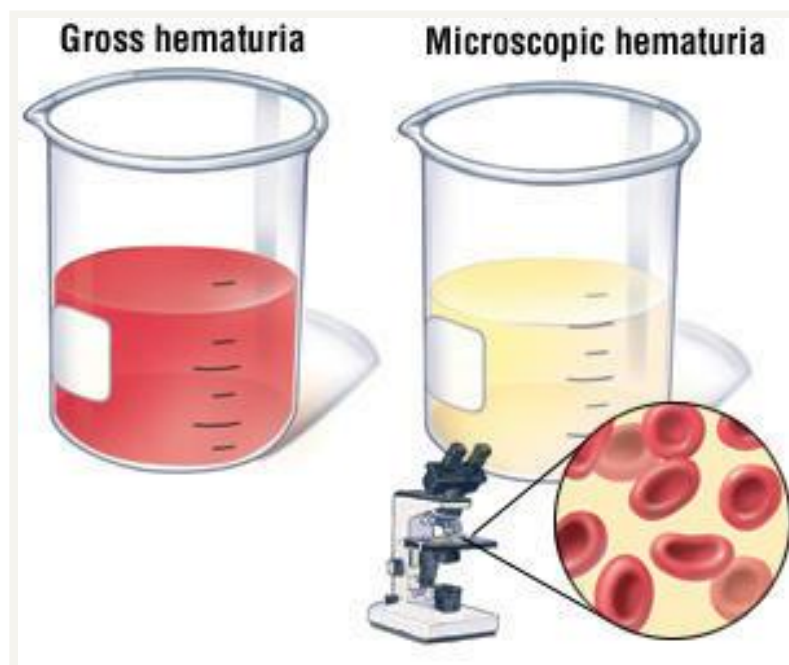
ANALISI DELLE URINE: esame fisico - colore

Colore	Significato	Patologia
Varie gradazioni di giallo	Normale	
Giallo pallido	Urina diluita	Diabete mellito; diabete insipido; difetti capacità di concentrazione
Ambra: giallo scuro + rosso	Urina concentrata	Febbre; sedimento laterizio
Arancio + rosso o + marrone	Urobilina	
Arancio vivo	Farmaci azoici	
Rosso	Sangue o pigmenti ematici	Patologie nefro-urologiche
	Urati	
	Farmaci	Levodopa, metildopa, antrachinonici
Rosso limpido	Emoglobina	Emoglobinuria, emolisi intravascolare
Rosso torbido	Emazie	ematuria
Rosso scuro-marrone	Mioglobina	Sindrome da schiacciamento - infarti muscolari estesi
Rosso porpora	Porfirine	Porfiria
Marrone + giallo o + verde	Bilirubina	Ittero, epatopatie
Marrone-nero	Melanina	Melanoma
	Ac. omogentisico	Alcaptonuria
	Fenolo	Intossicazione da fenolo

Il colore va osservato sempre nelle urine fresche, poichè le urine tendono a scurire leggermente.



ANALISI DELLE URINE: esame fisico - colore



Alterazioni del colore sono evidenti a concentrazioni di emazie maggiori rispetto alle alterazioni messe in evidenza da variazioni della torbidità (500 emazie/ μ L) e dai test chimici (10 emazie/ μ L).

Tabella 24.16**Diagnosi differenziale tra ematuria, emoglobinuria, mioglobinuria**

	Ematuria	Emoglobinuria	Mioglobinuria
Frequenza	Comune	Poco comune	Rara
Aspetto delle urine	Normale o torbido	Limpido	Limpido
Colore delle urine	Rosa, rosso, marrone	Rosa, rosso, marrone	Rosso, marrone
Emazie nel sedimento	Da numerose a tappeto	Reperto occasionale	Reperto occasionale
Cilindri nel sedimento	Renale: cilindri ematici	Talora cilindri di pigmento	Talora cilindri densi, marroni
	Vie urinarie: assenti		
Proteine urinarie	Renale: aumento marcato	Assenti o tracce	Reperto occasionale
	Vie urinarie: presenti o assenti		
Colore plasma	Normale	Rosato	Normale
Aldolasi e CPK plasma	Normale	Normale	Elevate
Aptoglobina plasma	Normale	Ridotta	Normale

ANALISI DELLE URINE: esame fisico - trasparenza

L'aspetto delle urine normali è limpido. Le principali cause di torbidità delle urine sono la presenza di cristalli, cellule o batteri. La comparsa di urine torbide è in genere espressione di un'elevata concentrazione di sali (fosfati e carbonati), proteine, batteri, leucociti o cellule di sfaldamento.



ANALISI DELLE URINE: esame fisico - trasparenza

C'è una certa difficoltà nell'apprezzare e riportare i diversi gradi di torbidità. Per questo si utilizza la **classificazione di Schweizer**.



Figura 24.5

Il test di Schweizer. Il test si esegue antepo-
nendo la provetta contenente il campione a un
testo stampato. A sinistra, un campione di
urine perfettamente limpido e di colore nor-
male, che consente la lettura del testo; al
centro, un campione lievemente torbido, in
cui le lettere del testo appaiono sfocate; a
destra, un campione ematurico fortemente
torbido, in cui le lettere del testo non sono
riconoscibili.

Aspetto delle urine: classificazione di Schweizer

Limpido	Non sono presenti particelle visibili
Lievemente torbido (hazy)	Visibili alcune particelle; guardando un giornale attraverso il recipiente le lettere non sono oscurate o distorte
Mediamente torbido (cloudy)	Guardando un giornale attraverso il recipiente le lettere sono leggibili ma sfocate o distorte
Torbido	Guardando un giornale attraverso il recipiente le lettere non sono visibili

ANALISI DELLE URINE: esame fisico - odore

L'odore normale del campione urinario appena emesso è definito “*sui generis*”, lievemente aromatico. Può essere considerato un valido parametro solo nelle urine appena emesse.

La presenza di odore ammoniacale è dovuto alla fermentazione da parte di batteri produttori di ureasi.

Un odore caratteristico si ha anche dopo ingestione di asparagi.

Nella fenilchetonuria si ha odore di urine di topo.

Tabella 24.10
Odore delle urine

Odore	Causa biochimica
Aromatico	Normale
Ammoniacale, putrido	Scissione batterica dell'urea - infezioni urinarie
Dolce, fruttato	Chetoni (acidosi diabetica)
Zucchero d'orzo	Acidi organici (Mal. urine a sciroppo d'acero)
Cavoli o luppolo	Acidi organici
Urina di topo	Acidi organici
Pesce guasto	Trimetilammina (trimetilamminuria)

ANALISI DELLE URINE: esame chimico - schiuma

La comparsa di schiuma superficiale prodotta in seguito ad agitazione del campione di urine è dovuta alla presenza di sostanze tensioattive.

- una schiuma abbondante, biancastra indica una diminuzione della tensione superficiale legata spesso alla presenza di proteine
- una schiuma abbondante, giallo-verdastra o arancio scuro può indicare la presenza di pigmenti bilirubinici.



ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica

L'esame chimico delle componenti urinarie tradizionalmente studiate nella routine è oggi facilitato da metodiche standardizzate, che sfruttano le strip multifunzionali di carta reattiva.



A seconda del prodotto usato, le strisce reattive multiple consentono di misurare quantitativamente o semiquantitativamente da 6 a 10 parametri nell'urina (pH, peso specifico, glucosio, corpi chetonici, sangue, proteine, bilirubina, urobilinogeno, nitriti e leucociti).

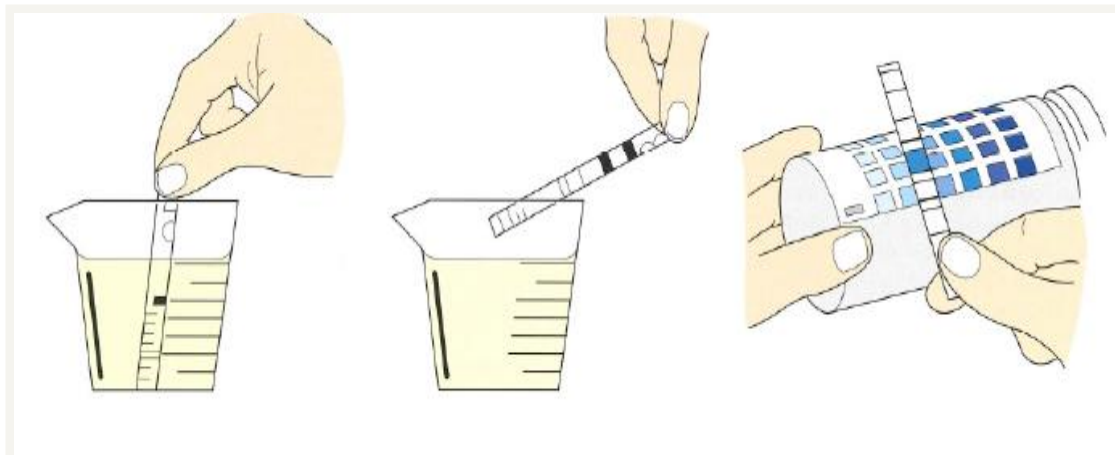


La striscia si colora:

- Se è presente un determinato componente dell'urina
- Proporzionalmente alla concentrazione del componente rilevato

Procedura

- A) Immersione della striscia reattiva in un campione di urina (30"-2')
- B) Rimozione dell'eccesso di urina (posizione orizzontale)
- C) Confronto della striscia con la scala cromatica standard riportata sul contenitore (le variazioni di colore che si verificano dopo 2 minuti non hanno alcun valore diagnostico)



Le strisce possono essere lette visivamente, senza necessita di alcuna attrezzatura. Per la lettura visiva si confrontano le aree reattive con le corrispondenti scale colorimetriche riportate sui flacone.



ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica -pH

L'acidità urinaria è espressione dell'equilibrio acido-base nell'organismo aumentando l'escrezione di acidi o di basi a seconda del fabbisogno.

Di norma è acido (5.5 e 6.5), e può variare tra 4.6 e 8.

E' determinato dalla dieta e dal metabolismo, in condizioni sia fisiologiche che patologiche.

FATTORI FISIOLGICI	FATTORI PATOLOGICI
Dieta a base di carne (diminuisce)	Alterata funzionalità renale
Intenso esercizio muscolare (diminuisce)	Alterazione dell'escrezione di ioni
Aumento della ventilazione polmonare (aumenta)	Presenza di microrganismi nelle urine
Dieta vegetale (aumenta)	Acidosi/alcalosi metabolica o respiratoria
Antibiotici (aumenta)	

ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica -peso specifico

Il peso specifico indica il peso dell'urina confrontato con il peso di un uguale volume di H₂O.

Viene misurato con mezzi chimici, ottici (refrattometro) o con urinometro.

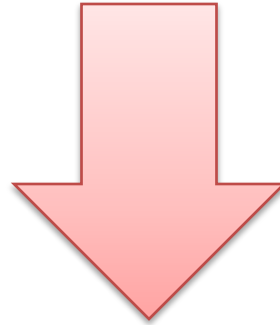
Indica la capacità del rene di concentrare o di diluire le urine (funzionalità renale), una delle prime funzioni perse in seguito a danno tubulare. In condizioni fisiologiche varia tra 1003 e 1035. Valori superiori a 1025 sono considerati come espressione di una normale capacità del rene a concentrare.

Tabella 24.11
Peso specifico

Range di variazione fisiologica	1,003 → 1,035
Valori riferimento campione 24 h	1,016 → 1,022
Normale, senza bere 24 h	>1,026
Normale, carico idrico	>1,003
Campione del mattino	>1,020
Neonato	1,012

ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica -peso specifico

Nel soggetto sano la formazione di urine concentrate o diluite è in stretto rapporto con lo stato di idratazione.



Nel corso di molte nefropatie acute e croniche la capacità di concentrare le urine può venire compromessa.

URINE IPOTONICHE	URINE IPERTONICHE
Impoverimento di liquidi	Presenza di sostanze di scarto
Glomerulonefrite	Diabete mellito
Diabete insipido	Insufficienza renale cronica
Assunzione di diuretici	

ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica - glucosio

Può essere assente o presente in piccole quantità nelle urine.

L'escrezione patologica di zuccheri è legata a malattie renali o malattie generali di cui il diabete costituisce la causa più frequente.

CAUSE

- ✓ Iperglicemia, diabete (programmare altri esami, es. glicemia a digiuno)
- ✓ Gravidanza (aumento del filtrato glomerulare e lieve iperglicemia o abbassamento della soglia renale per il glucosio, anche se la glicemia è normale)
- ✓ Malattie endocrine o metaboliche
- ✓ Disordini tubulari

Una glicosuria, ovvero la presenza di glucosio nelle urine, indica che la quantità di glucosio filtrato supera la capacità dei tubuli renali di riassorbirlo completamente e si verifica in seguito ad iperglicemia.

Il valore soglia oltre il quale il tubulo non riesce più a riassorbire il glucosio è situato intorno ai 180 mg/dL.



ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica – corpi chetonici

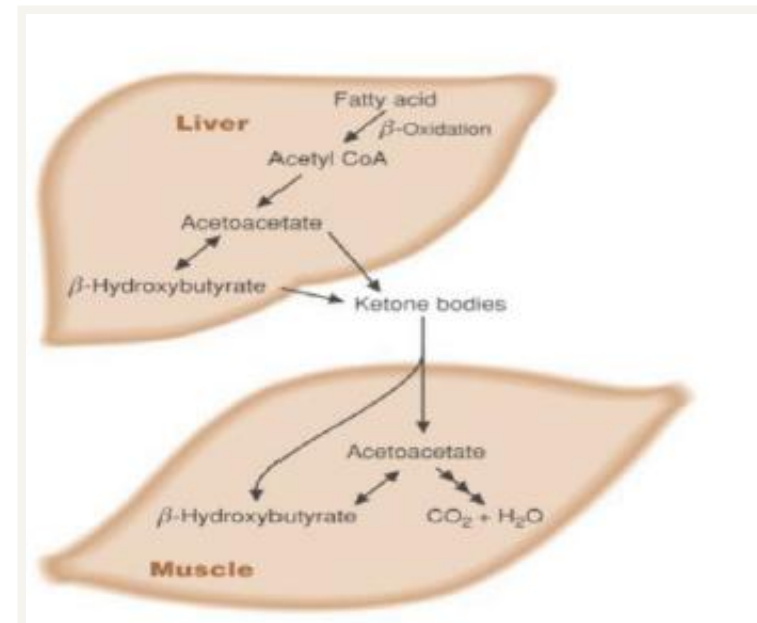
Sono composti chimici (acetone, acido aceto-acetico e acido β -idrossi-butirrico) che derivano dalla degradazione degli acidi grassi.

Normalmente non presenti nelle urine. Aumentano quando l'organismo non potendo utilizzare gli zuccheri, ricorre all'ossidazione dei grassi per ottenere energia.

CAUSE

- Digiuno protratto
- E' frequente la loro presenza nei bambini, durante episodi febbrili, con interruzione dell'alimentazione e/o vomito
- La presenza di chetonuria è anche indicativa di un'acidosi secondaria ad alterazioni del metabolismo glicidico (chetoacidosi diabetica)

La loro presenza indica che l'organismo utilizza acidi grassi per produrre energia, piuttosto che immagazzinarli



ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica – bilirubina

Normalmente assente nell'urina.

Di colore giallo-rosso, è prodotta dal catabolismo dell'emoglobina

Esiste nel sangue nella forma coniugata (solubile in acqua) e non-coniugata

Normalmente escreta, attraverso le vie biliari, nell'intestino, dove viene catabolizzata ad urobilinogeno

Una piccola parte di urobilinogeno è riassorbita nella circolazione portale, ritorna al fegato e viene riescreta nella bile

CAUSE:

➤ La presenza di bilirubina coniugata nelle urine (bilirubinuria) è indice di una interruzione della circolazione entero-epatica (ittero)

Quando è presente, in genere in caso di danno epatico (epatite da virus, alcool, farmaci, avvelenamento da metalli pesanti), ittero ostruttivo (calcoli, tumori delle vie biliari o del pancreas, cirrosi epatica) o anemia emolitica, le urine assumono colore marsala scuro.

ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica – urobilinogeno

Prodotto di trasformazione della bilirubina ad opera dei batteri intestinali.
Una piccola quota di questi prodotti è riassorbita ed eliminata con le urine in tracce (minor significato diagnostico rispetto alla bilirubina)..

Valori normali	0.5 – 2 mg/dL
Valori alti	>2 mg/dL
Valori bassi	< 0.5 mg/dL

CAUSE:

- Epatopatia (virali, acute e croniche, tossiche, cirrosi, neoplasie)
- Anemia emolitica
- Ostruzione delle vie biliari

ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica – sangue

Non deve essere presente nell'urina.

Ematuria: presenza di sangue nell'urina

Possono essere globuli rossi intatti o emoglobina derivante da globuli rossi emolizzati.

I globuli rossi possono provenire dal glomerulo fino all'uretra

CAUSE

- Patologie renali
- Calcoli renali
- Tumori vescicali
- Traumi del rene, della vescica e dell'uretra

ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica – nitriti

Circa il 90 % dei microorganismi responsabili delle infezioni urinarie sono capaci di ridurre i nitrati urinari in nitriti, e la loro presenza viene quindi considerata come indizio di batteriuria.

Il dosaggio dei nitriti può essere effettuato su strip basato su una diazoreazione con produzione di sali di colore rosso.

Un'intensa ematuria può ostacolare la lettura del test.

- Gram-negativi come *E. coli* formano nitriti
- Gli enterococchi non formano nitriti
- Il comportamento dello stafilococco Albus è variabile



ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica – proteine

Le proteine sono filtrate a livello glomerulare in relazione alle loro dimensioni, alla conformazione strutturale ed alla carica. A livello tubulare vengono riassorbite e catabolizzate.

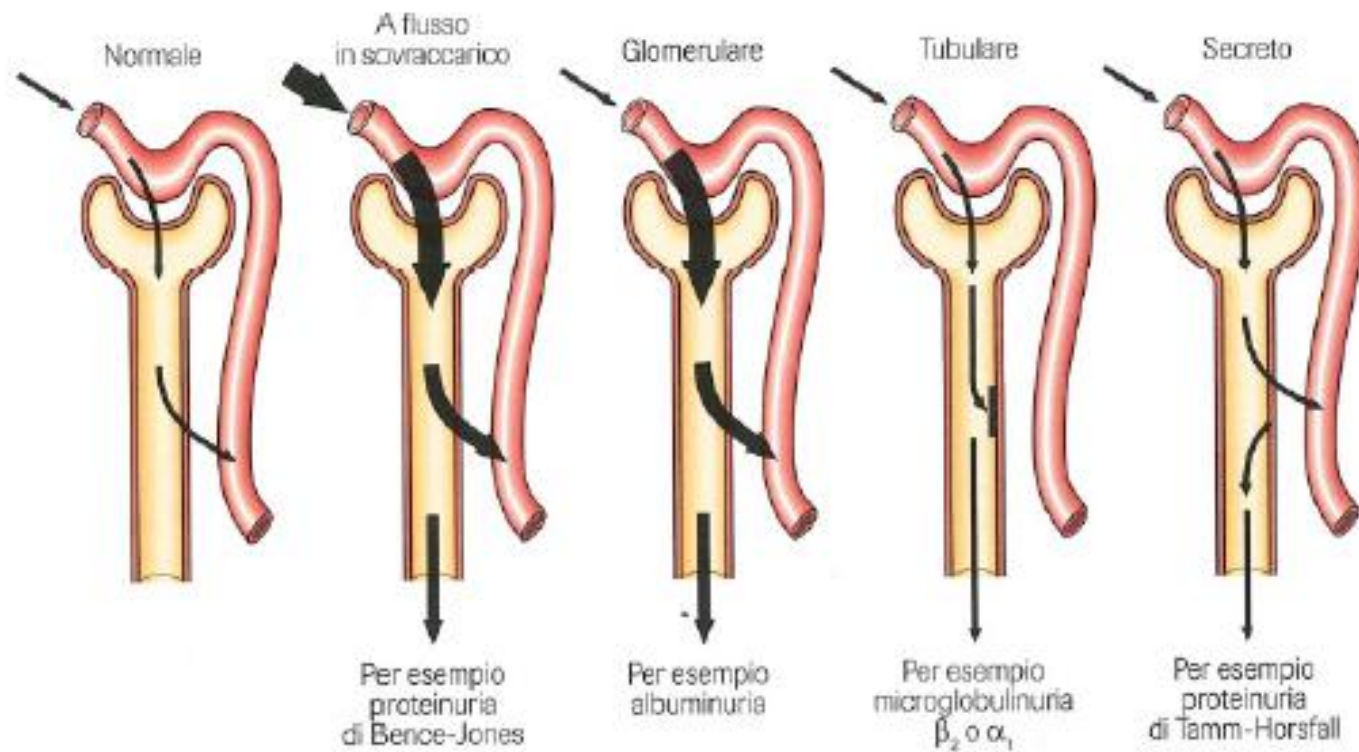
Presenza significativa può essere determinata da patologie che danneggiano il glomerulo. L'entità del danno glomerulare può essere valutata in base a:

- Quantità della proteinuria
- Peso molecolare delle proteine eliminate

Nelle urine dovrebbero essere assenti, ma a volte sono presenti in quantità minime e non patologiche e comunque in quantità inferiore a 150 mg nelle urine delle 24 ore (15-20 mg di albumina).

**Proteinuria: escrezione abnorme di
proteine dai reni**

- **Proteinuria transitoria e intermittente:** non costituisce un quadro patologico e richiede semplicemente controlli ravvicinati
- **Proteinuria funzionale:** tra 200-500 mg/24h; si riscontrano proteine a basso ed alto PM, spesso dopo esercizio fisico violento e protratto, l'esposizione a basse temperature, febbre, disidratazione.
- **Proteinuria minima:** non supera i 1000 mg/24h, si osserva in numerose malattie renali (glomerulonefrite cronica, rene policistico, malattie tubulari, calcolosi renale)
- **Proteinuria moderata:** 1000-4000 mg/24h si osserva nelle nefropatie acute (glomerulonefrite acuta, sindrome nefrosica), nelle nefropatie tossiche e nella nefrosclerosi grave
- **Proteinuria grave:** > 4000 mg/24h si osserva nelle nefropatie gravi (nefropatia glomerulare, nefropatia tubulare grave: sindrome nefrosica, glomerulonefrite acuta)



Proteine specifiche possono ritrovarsi nelle urine in condizioni patologiche particolari tra cui:

❖ **Proteinuria di Bence-Jones (pre-renale):** presente nel 50-60% dei casi di mieloma multiplo, per abnorme sintesi monoclonale di frammenti immunoglobulinici (catene leggere) a basso P.M., che vengono filtrati dal glomerulo. Precipitano a 50-55°C per poi ridisciogliersi a 90-95°C.

❖ **Glicoproteina di Tamm-Horsfal (renale):** polimero costituito da proteine, carboidrati e lipidi, secreto dall'ansa di Henle e dal tubulo contorto distale. Precipita a pH acido.

ANALISI DELLE URINE: valutazione chimica

Riassumendo...

Colore	Giallo
Trasparenza	Limpida
pH	5-7
Peso specifico	1,001-1,035
Proteine, albumina	Negativa-tracce
Emoglobina	Negativa
Nitrito	Negativo
Esterasi leucocitaria	Negativa
Glucosio	Negativo
Ketoni	Negativo
Bilirubina (coniugata)	Negativa
Urobilinogeno	≤1 mg/dL

ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario

Analisi del sedimento a fresco per identificare la presenza di elementi significativi: globuli rossi, globuli bianchi, batteri, cellule epiteliali (prodotte dallo sfaldamento delle vie urinarie, cristalli, cilindri e muco.

In condizioni normali, nell'urina non si dovrebbero riscontrare questi elementi e quindi il sedimento dovrebbe essere quasi nullo

Tabella 24.22

Raccomandazioni del NCCLS per l'esecuzione dell'esame del sedimento urinario

Volume di partenza: 12 ml
Tempo e forza di centrifugazione: 5' a 400 RCF
Fattore di concentrazione: volume del sedimento consigliato 0,5 ml
Volume del sedimento esaminato: costante, in base alla camera di conteggio usata
Osservazione al microscopio. Primo esame a basso ingrandimento (obiettivo 10x, oculare 10=100x) quindi esame a maggiore ingrandimento (obiettivo 40x=400x)
Formato del referto: terminologia, ordine della risposta, valori di riferimento standardizzati

Il sedimento urinario è costituito dagli elementi presenti nell'urina in forma di sospensione che si raccolgono nella provetta dopo centrifugazione. Spesso fornisce informazioni essenziali non ottenibili con il solo esame chimico-fisico.

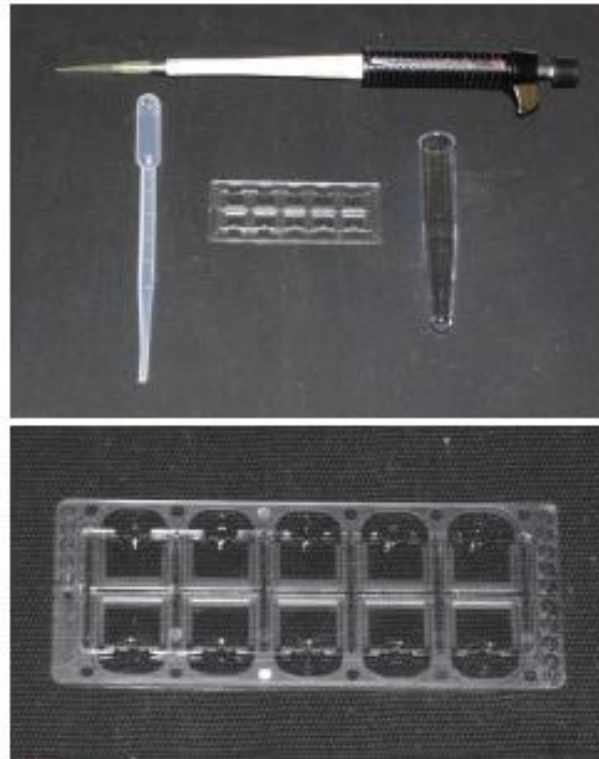


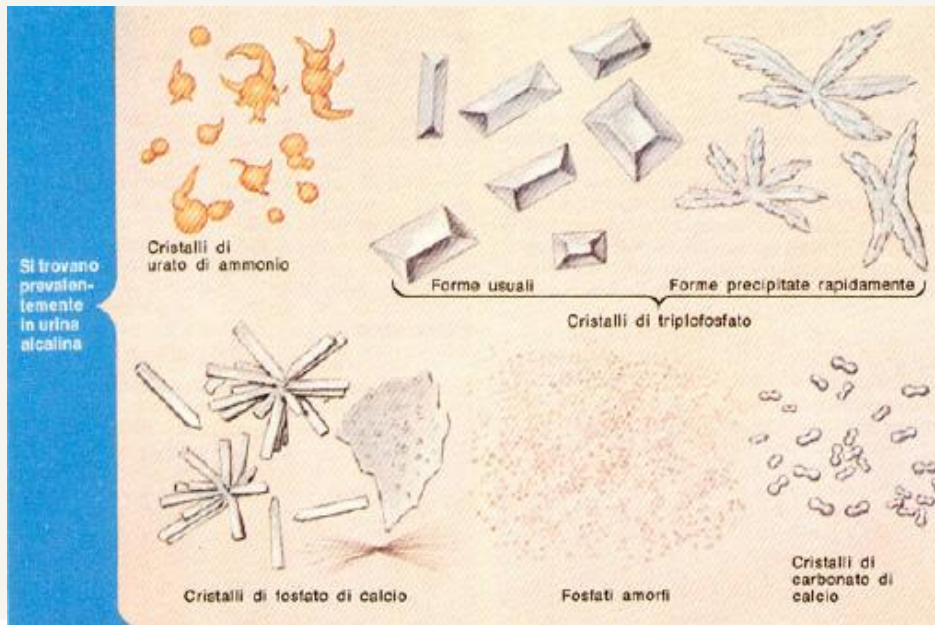
Figura 24.9

Materiale necessario per eseguire l'esame del sedimento urinario. Nella diapositiva superiore si vede una provetta graduata, una micropipetta per risospingere una quantità standardizzata del precipitato, una camera di lettura (Kovaslides®) che, in maggiore ingrandimento è riportata nella parte inferiore della figura. Una volta risospeso il precipitato in un volume standard, si depone una goccia di urina nella sede semicircolare del vetrino di lettura. L'urina per capillarità riempie tutta l'area di conteggio a volume standardizzato di forma quadrata. Il vetrino può accogliere 10 sedimenti urinari diversi.

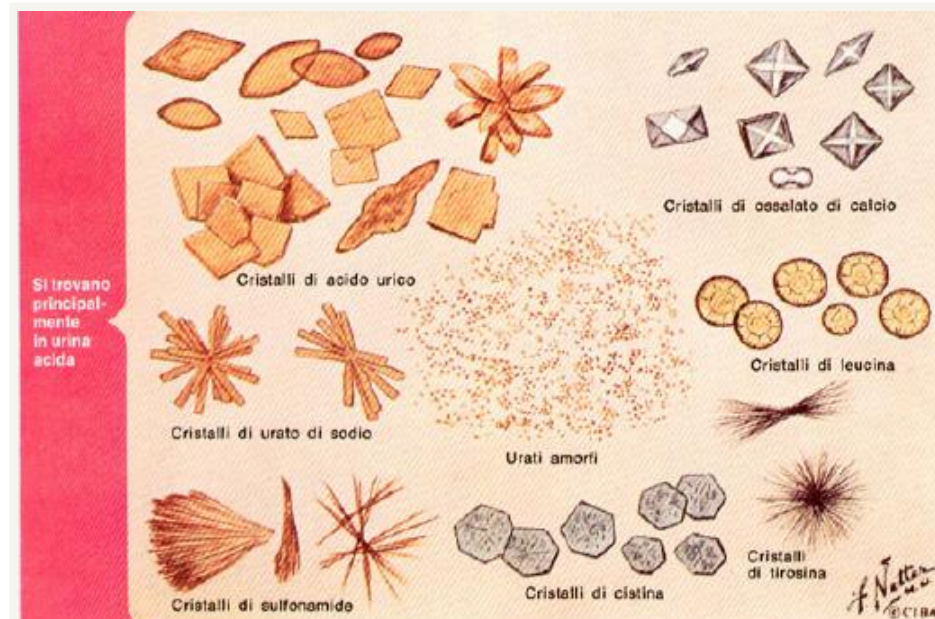
ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario

➤ ELEMENTI ORGANIZZATI
cellule ematiche (emazie-leucociti)
cellule epiteliali

➤ ELEMENTI NON ORGANIZZATI
Muco
Cilindri
Cristalli



➤ ELEMENTI INUSUALI
cellule estranee (spermatozoi)
microrganismi (batteri-miceti)
artefatti



ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario - cellule

GLOBULI ROSSI:

possono originare da ogni parte del rene e delle vie urinarie

GLOBULI BIANCHI:

possono entrare nelle urine in ogni punto, dal glomerulo all'uretra

CELLULE EPITELIALI:

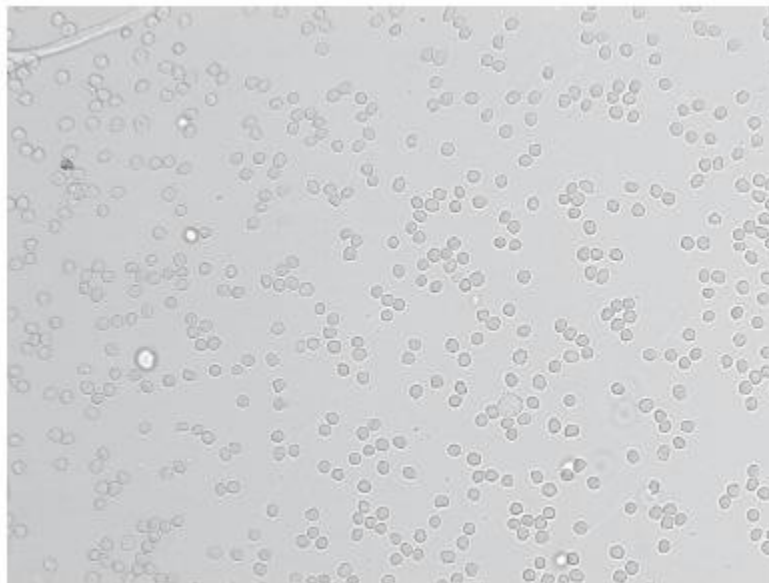
possono originare da ogni parte del tratto genito-urinario

- Cellule epiteliali squamose
- Cellule dell'epitelio di transizione
- Cellule dell'epitelio tubulare renale

ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario – globuli rossi

Figura 24.11

Un tipico sedimento urinario con ematuria. Le emazie sono molto numerose e il quadro si avvicina a quello definito "tappeto di emazie". Le cellule sono isomorfe, ovvero dimostrano una forma e un volume normale, a seguito di una persistenza relativamente breve nelle vie urinarie. Questo tipo di ematuria si osserva spesso nel sanguinamento delle basse vie urinarie. Immagine ottenuta con il sistema di lettura automatica sediMAX® (Cortesia Soc. Menarini Diagnostics).



Valori normali: 0-2 per campo

Se presenti in grosse quantità:

- Infezioni/infiammazioni
- Traumi
- Tumori
- Calcoli renali
- Danno glomerulare
- Contaminazioni di origine mestruale

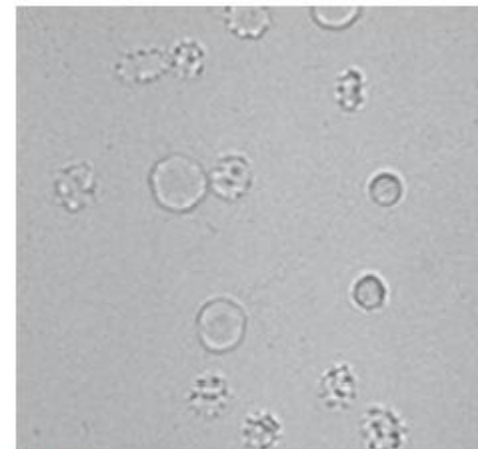


Figura 24.12

Ematuria mista, con emazie isomorfe e dismorfiche, crenate.

ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario – globuli bianchi

Valori normali: 4-8 per campo.

Un aumento è il segnale generico di:

➤ **Infezione del tratto urinario**

Cistiti

Pielonefriti

➤ **Infezioni genitali**

Prostatiti

Cerviciti

Vaginiti

➤ **Condizioni non infettive**

Glomerulonefriti

Disidratazione

Stress

Febbre

ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario – cellule epiteliali



CELLULE DELL'EPITELIO TUBULARE RENALE:
Poco più grandi dei leucociti.
Piatte, cuboidali o colonnari.
La loro presenza suggerisce un danno tubulare:
necrosi tubulare, rigetto trapianto, pielonefrite



CELLULE DELL'EPITELIO DI TRANSIZIONE:
2-4 volte più grandi dei leucociti.
Tonde o a forma di pera.
Originano da: Pelvi renale, uretere, vescica, uretra



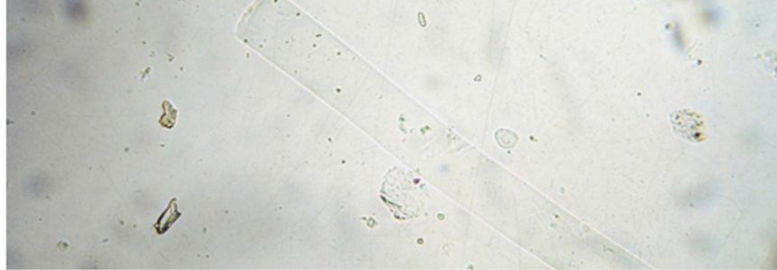
CELLULE EPITELIALI SQUAMOSE:
Origine uretrale o vaginale.
Hanno scarso significato clinico

**Valori di riferimento: poche unità per campo.
Rappresentano il normale sfaldamento delle
cellule senescenti. Un aumento è dovuto a
danno meccanico (calcoli, cateteri),
neoplasie, ecc.**

ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario – cilindri

Derivano da proteine che gelificano all'interno del lume tubulare assumendone la forma. Si generano nel tubulo distale e collettore dove il flusso urinario è più lento, l'urina più concentrata ed il pH è più acido.

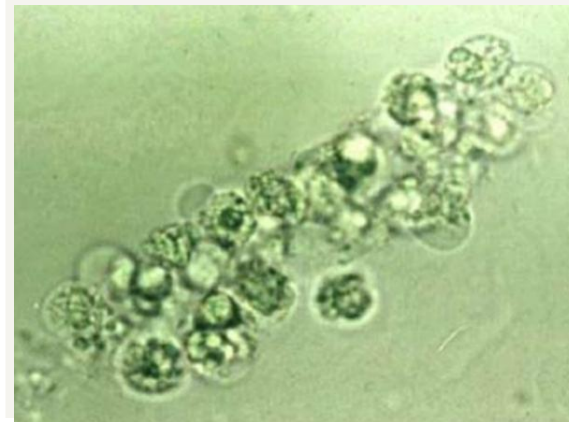
JALINI: proteine. Sono i più comuni, rinvenuti spesso dopo esercizio fisico o stress. Non hanno alcun significato patologico. Si riscontrano anche dopo anestesia, sforzo.



ERITROCITARI:eritrociti. Permettono di accertare l'origine renale di una ematuria. Sono presenti nelle nefriti acute e croniche.



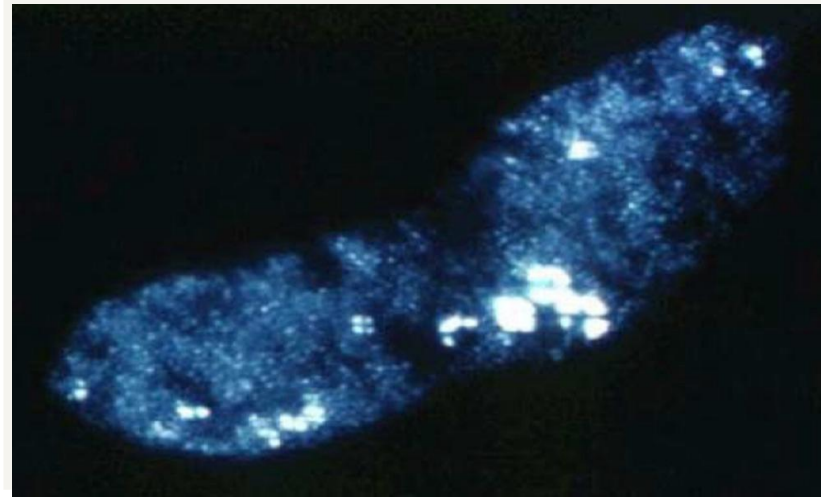
GRANULOSI:cellule di sfaldamento dell'epitelio tubulare. Sono significativi nelle nefropatie solo se accompagnati da albuminuria. la loro presenza indica in genere patologie renali gravi, a volte sono presenti dopo esercizio fisico estremo.



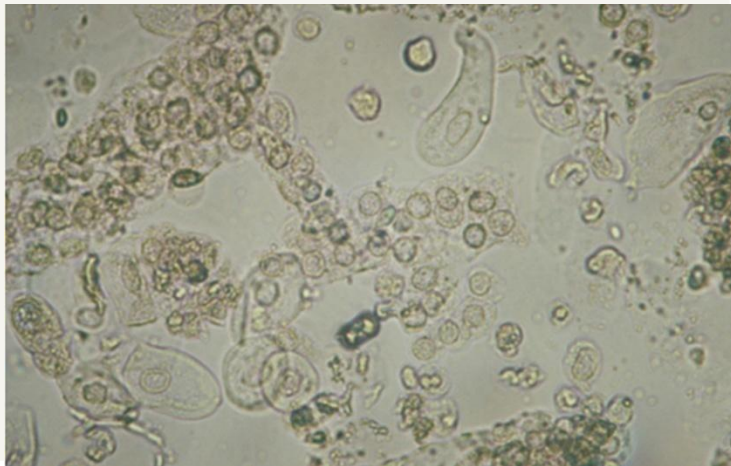
LEUCOCITARI: leucociti. Permettono di accertare l'origine renale di una leucocituria. Sono presenti nelle pielonefriti.

ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario – cilindri

LIPOIDEI: derivano da degenerazione lipoidea dell'epitelio tubulare, sindrome nefrosica



DI CELLULE EPITELIALI: derivano da stasi urinaria, degenerazione tubulare, necrosi tubulare



CEREI: derivano dalla degenerazione dei cilindri granulari, osservati in insufficienza renale cronica severa, ipertensione maligna, patologie renali acute

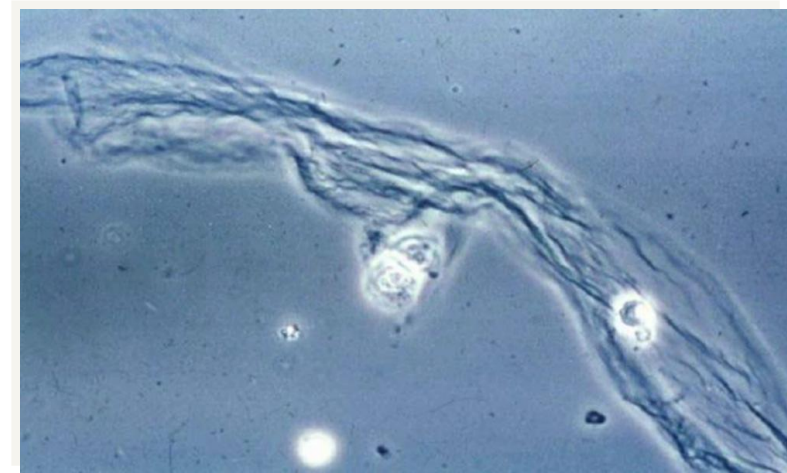
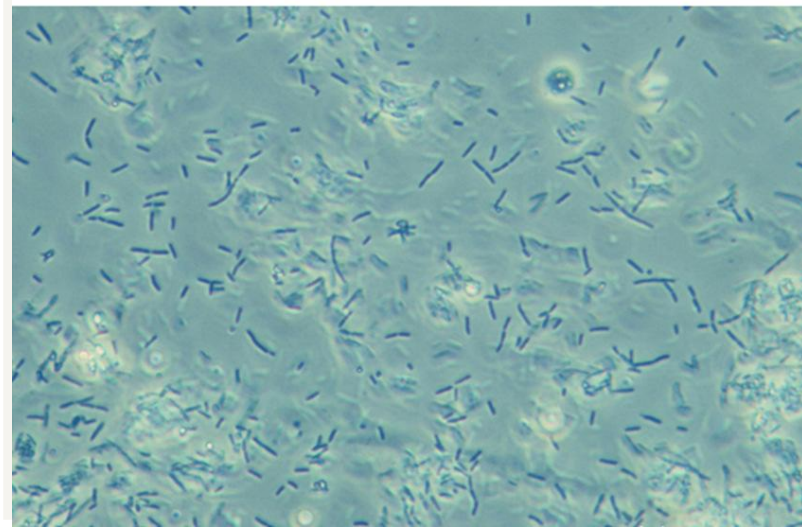
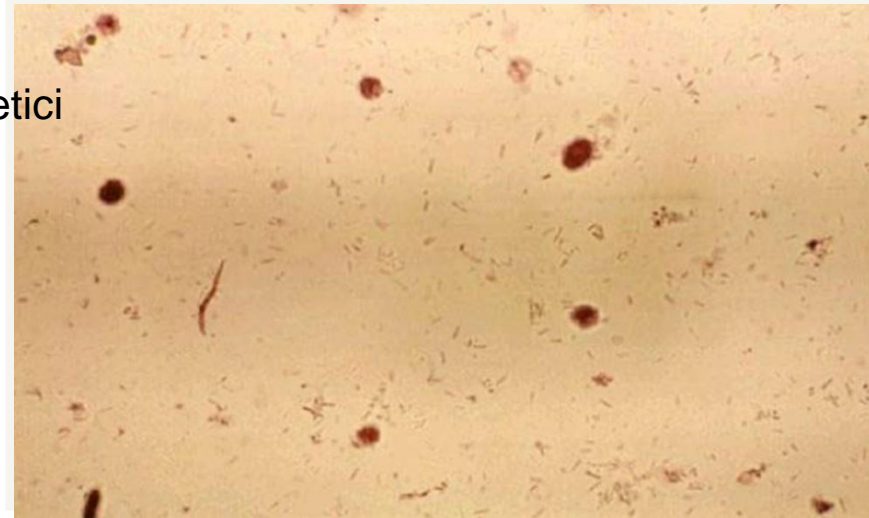


ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario

BATTERI: le urine sono normalmente sterili. Un grande numero di batteri è indicativo di infezione urinaria.

LIEVITI: Possono riscontrarsi nelle infezioni e nei diabetici

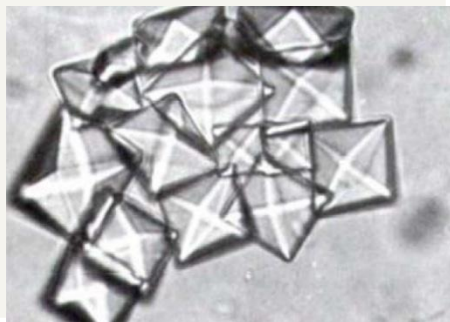
MUCO



ANALISI DELLE URINE: esame microscopico del sedimento urinario - cristalli

In stati patologici:

Cistina
Leucina
Tirosina
Sulfadiazina



Sono spesso presenti nelle urine di soggetti sani.

A pH basico: fosfati amorfi, fosfati tripli, biurato di ammonio, etc.

A pH acido: di acido urico, urati amorfi, ossalato di calcio



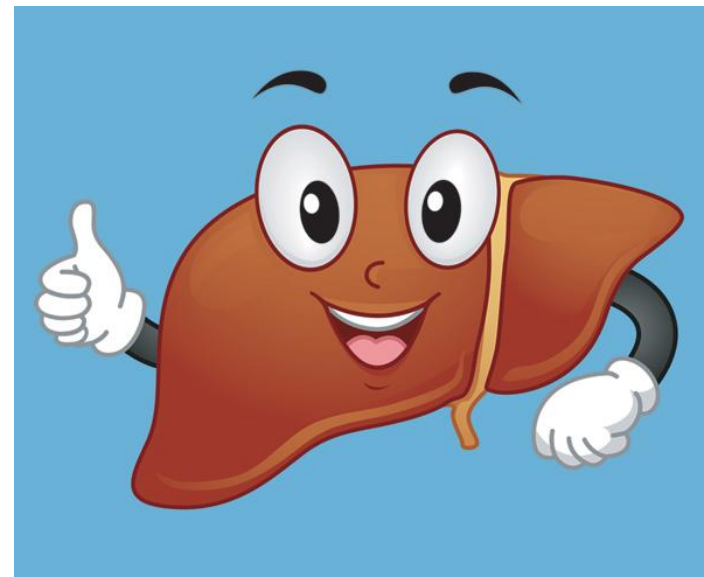
CRISTALLI di AC.URICO:

Presenti anche nelle urine normali, nel 16% dei pazienti con gotta.

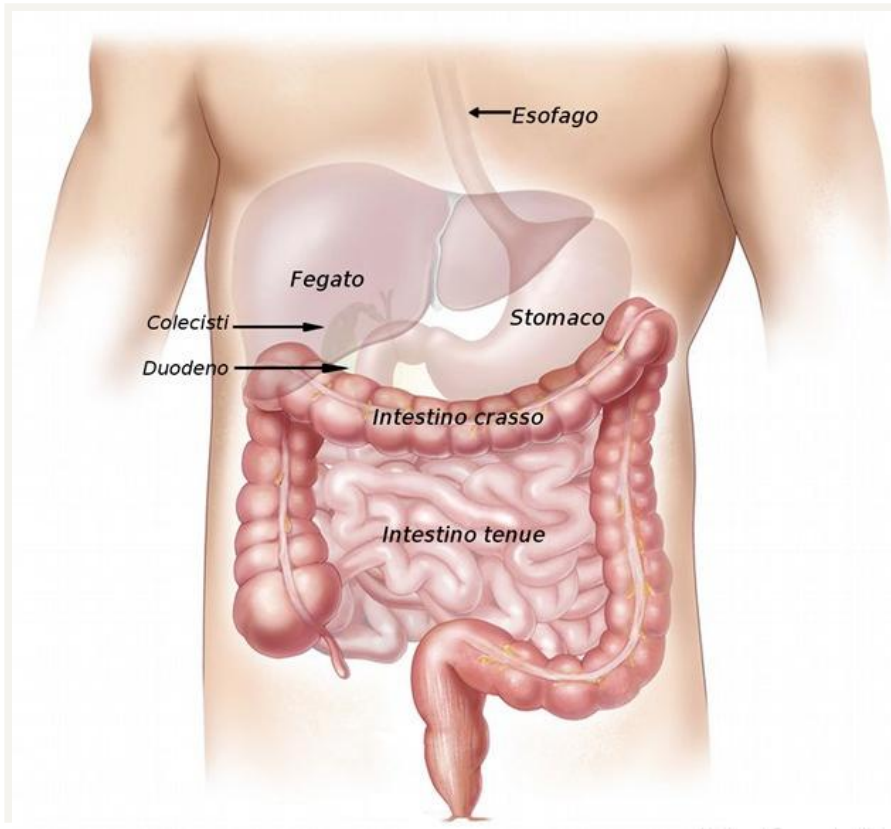
CRISTALLI di OSSALATO di CALCIO: alte concentrazioni di acido ossalico sono presenti nei vegetali a foglia verde, pomodori, bibite gassate, the, cioccolato.



GLI ESAMI DEL SANGUE PER CAPIRE SE IL FEGATO STA BENE



II FEGATO



Il fegato è il più voluminoso organo viscerale (~1.5 kg), situato nella parte alta e destra dell'addome, subito sotto il diaframma.

Conserva le sue dimensioni grazie alla capacità di auto-rigenerarsi.

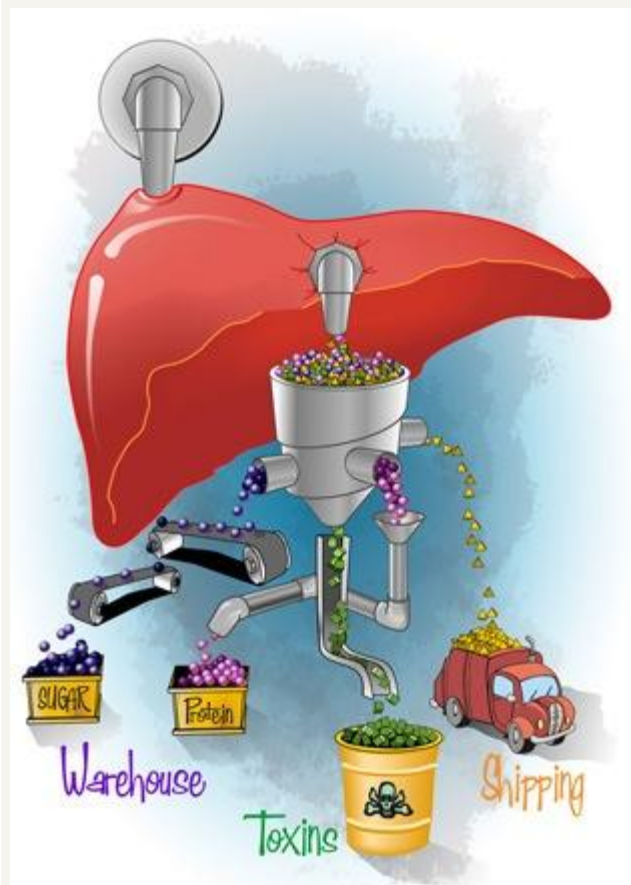
Molto irrorato (a riposo circa 1.5 L di sangue/min).

Costituito dagli epatociti e da pochi altri tipi cellulari.

FUNZIONALITA' EPATICA

Glicolisi, sintesi di aminoacidi,
fosforilazione ossidativa

Sintesi e catabolismo delle plasma
proteine



Metabolismo, detossificazione,
escrezione di composti endogeni ed
esogeni

Escrezione di prodotti catabolici
idrosolubili (metabolismo di
nutrienti e tossine)

FUNZIONALITA' EPATICA:

funzione di sintesi

Riguarda la maggior parte delle proteine plasmatiche come albumina, globuline (ad eccezione delle immunoglobuline), dei fattori della coagulazione (protrombina), dei composti azotati non proteici (urea, purine, pirimidine, eparina ecc.).

Il fegato svolge un ruolo principale nell'omeostasi di proteine, carboidrati e lipidi. Le vie metaboliche della glicolisi del ciclo di Krebs, della sintesi degli amminoacidi e i processi di fosforilazione ossidativa avvengono tutti all'interno degli epatociti, che sono particolarmente ricchi di mitocondri.

Il fegato interviene nel metabolismo di quasi tutte le sostanze organiche:

- **metabolismo glucidico: mantiene l'omeostasi glucidica, regolando gluconeogenesi, glicogenesi, glicogenolisi**
- **metabolismo lipidico: sintesi di trigliceridi, di acidi grassi, di lipoproteine, con formazione di corpi chetonici, scissione dei trigliceridi, sintesi ed escrezione di colesterolo, fissazione, formazione e scissione dei fosfolipidi**
- **metabolismo di vitamine (B12) e degli acidi biliari**
- **metabolismo dei pigmenti biliari (bilirubina)**

FUNZIONALITA' EPATICA: funzione di accumulo, cataboliche e escrezione

Funzioni di accumulo

Costituisce la sede di deposito di glicogeno, dei trigliceridi, degli acidi grassi, dei fosfolipidi, del colesterolo, delle proteine plasmatiche, delle vitamine idro- e liposolubili, dei fattori ematopoietici come ferro, rame, acido folico e vitamina B12.

Funzioni cataboliche

Attraverso reazioni di ossidazione, riduzione, idrolisi, decarbossilazione e ossidrilazione, il fegato catabolizza sostanze endogene come l'insulina, il glucagone, gli estrogeni, e detossifica da sostanze esogene, dannose per l'organismo, come prodotti chimici inquinanti e farmaci.

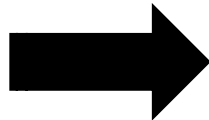
Funzioni di escrezione

- Coniugando composti, sia esogeni che endogeni, con molecole come l'acido glucuronico (prodotto solo dagli epatociti), la glicina, l'acido solforico, l'acido acetico e la taurina, ne consente l'escrezione.
- Produzione ed escrezione della bile, costituita da pigmenti biliari, acidi biliari, colesterolo, fosfolipidi, ioni inorganici e proteine in limitata quantità.

FUNZIONALITA' EPATICA: esami

Gli esami della funzionalità epatica sono determinazioni dei componenti ematici che forniscono semplicemente un'indicazione per l'esistenza, l'estensione e il tipo di danno epatico.

- ostruzione del tratto biliare
- danno acuto epatocellulare
- malattia epatica cronica



- Bilirubina, diretta e indiretta
- Enzimi (AST/ALT, ALP, γ -GT, LDH, fosfatasi alcalina)
- Proteine plasmatiche (albumina e globuline)
- Fattori della coagulazione

La funzionalità epatica è mantenuta fino a che rimane attivo anche solo il 10% del parenchima epatico.

FUNZIONALITA' EPATICA: marcatori biochimici

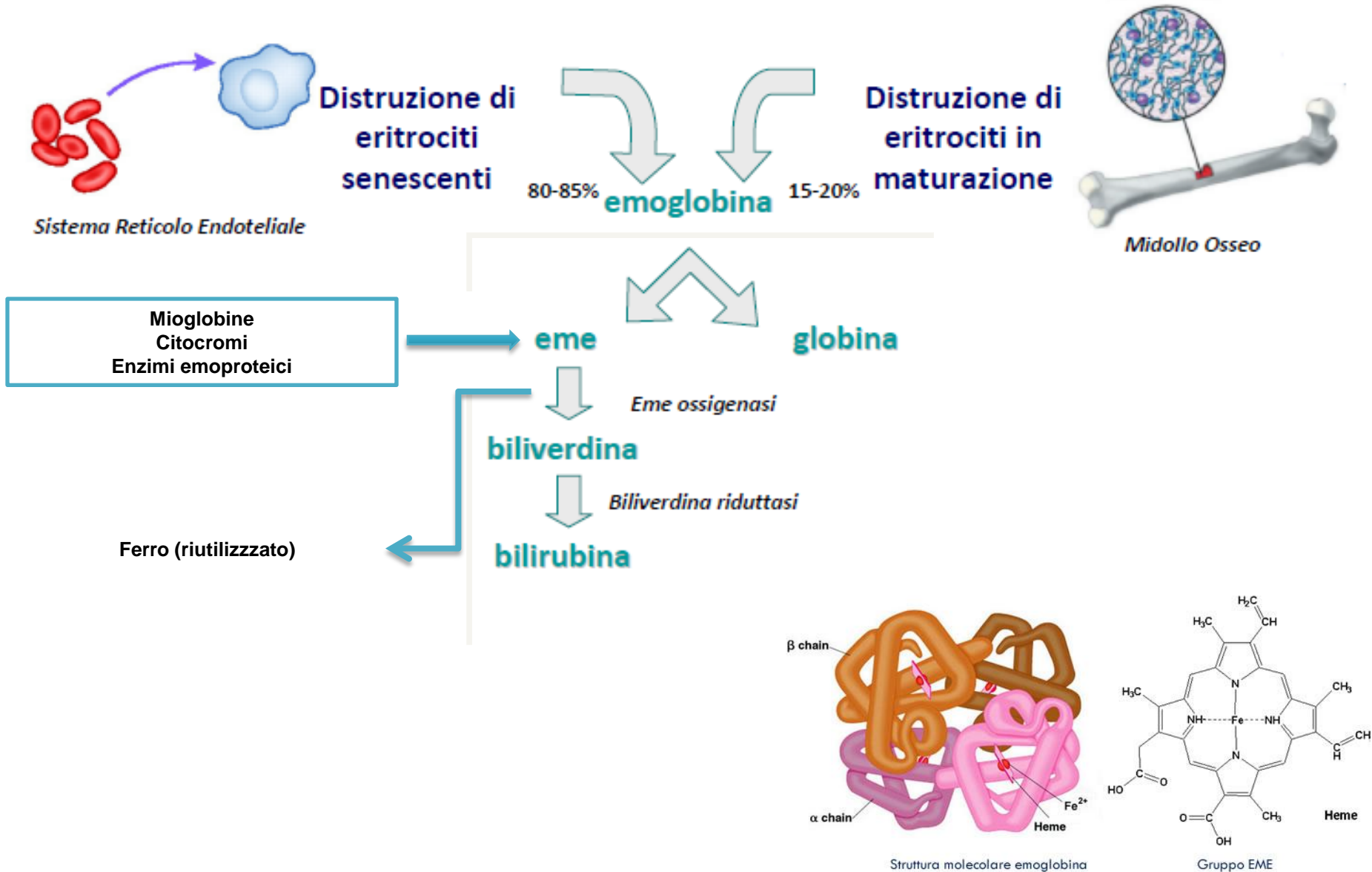
Metabolismo della bilirubina e dei sali biliari
(es. Bilirubina totale, diretta ed indiretta)

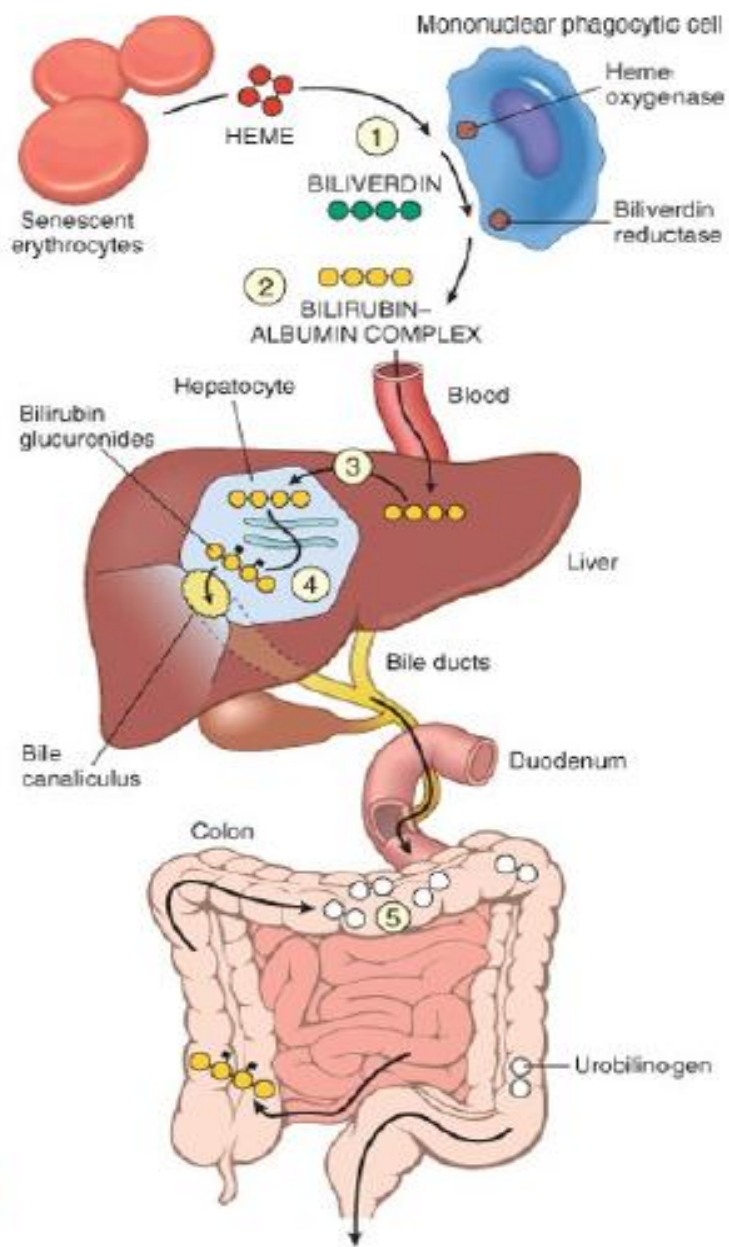
Marcatori di citolisi:
valutano la fuoriuscita di componenti cellulari che vengono liberati nel sangue per cui aumentano i loro livelli ematici (es. enzimi plasmatici come ALT, AST, LDH)

Marcatori di colestasi:
valutazione della incapacità di secrezione (es. fosfatasi alcalina, γ -glutamiltanspeptidasi)

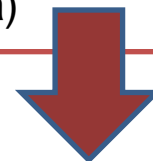
Marcatori di protidosintesi:
proteine plasmatiche, fattori della coagulazione, pseudocolinesterasi

FUNZIONALITA' EPATICA: bilirubina





Nei microsomi avviene il *processo di coniugazione* (tramite glucoronil transferasi) della bilirubina con acido glucuronico (**bilirubina diretta**)



La bilirubina glucoronata passa dall'epatocita al canalicolo biliare e attraverso la bile arriva nell'intestino



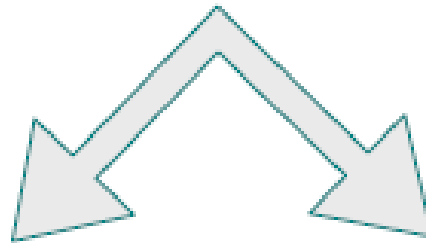
A livello del colon è degradata in composti incolore (**urobilinogeno** o **stercobilinogeno**), ad opera della flora intestinale, che vengono eliminati con le feci mentre una piccola parte ritorna al fegato

FUNZIONALITA' EPATICA: bilirubina

Bilirubina totale

Valori di riferimento: 0.4-1 mg/dL

coniugata
0-0.4 mg/dL



legata all'albumina
0.4-1 mg/dL

Bilirubina diretta

Bilirubina indiretta

La **bilirubina non coniugata (indiretta)** è insolubile in acqua ed è trasportata nel plasma legata all'albumina; quindi, in condizioni normali, NON PASSA NELLE URINE. Avendo, inoltre, alta affinità per i lipidi di membrana, un suo aumento causa alterazioni della funzionalità delle membrane cellulari, soprattutto del sistema nervoso.

Al contrario, la **bilirubina coniugata (diretta)** è relativamente solubile in acqua ed un suo aumento porta ad elevate concentrazioni nelle urine, che avranno un'intensa colorazione giallo-marrone.



FUNZIONALITA' EPATICA: dosaggio della bilirubina nel siero

La misura della bilirubina nel siero si può ottenere utilizzando il colore naturale della sostanza (colore giallo con massimo di assorbimento a 463 nm) o facendo reagire la bilirubina con un sale di diazonio dell'acido solfanilico, conosciuto come reagente di Ehrlich (reazione di copulazione) con formazione di un azocomposto della bilirubina (rosso in ambiente acido e verde-azzurro in ambiente alcalino)

La bilirubina glucoronata reagisce direttamente con il reattivo di Ehrlich (dove la denominazione di bilirubina diretta), mentre la bilirubina coniugata (legata alla albumina) deve venire scissa dal legame con l'albumina (con alcool metilico, acetato di sodiocaffaina, dimetilsolfossido, ecc.) per poter reagire con il sale di diazonio (bilirubina indiretta)

FUNZIONALITA' EPATICA: iperbilirubinemia

Quando la concentrazione di bilirubina nel sangue supera 2mg/dL → ITTERO

Tre sono le cause di iperbilirubinemia:

- **Difetto funzionale congenito o acquisito dell'epatocita:** a livello di captazione, coniugazione, trasporto o escrezione (*↑bilirubina diretta e indiretta*)
- **Emolisi:** squilibrio fra quantità di produzione della bilirubina e capacità della cellula epatica di captare, coniugare o eliminare il pigmento (*↑bilirubina indiretta*)
- **Ostruzione dei dotti biliari :** *↑ della bilirubina diretta* nel sangue

FUNZIONALITA' EPATICA: transaminasi

Enzimi che appartengono alla classe delle transferasi e catalizzano la reazione di trasferimento di un gruppo amminico da un amminoacido ad un chetoacido.

Aspartato aminotrasferasi (AST)

o

glutammico-ossalacetico transaminasi (GOT)

Valori di riferimento

- Maschi: 8-48 UI/L
- Femmine: 7-45 UI/L

AUMENTO:

- Fisiologicamente nel neonato
 - infarto del miocardio
 - Epatite virale
- Necrosi epatica su base tossica
 - Cirrosi
 - Tumore epatico
 - Malattie muscolari

Alanina aminotrasferasi (ALT)

o

glutammico-piruvico transaminasi (GPT)

Valori di riferimento

- Maschi: 7-55 UI/L
- Femmine: 7-45 UI/L

AUMENTO:

- Epatite virale
- Necrosi epatica su base tossica
 - Cirrosi
 - Tumore epatico
- Malattie muscolari

FUNZIONALITA' EPATICA: transaminasi

Le transaminasi sono enzimi presenti all'interno delle cellule e di norma le membrane cellulari sono impermeabili ad essi. Se la cellula è integra e la membrana cellulare è ben funzionante, nel sangue si versano poche molecole enzimatiche.

AST (GOT), enzima legato ai mitocondri (60%) o libero nel citoplasma (40%)

ALT (GPT), enzima principalmente libero nel citoplasma

Sono enzimi ubiquitari:

AST → miocardio, muscolo, rene ed eritrociti

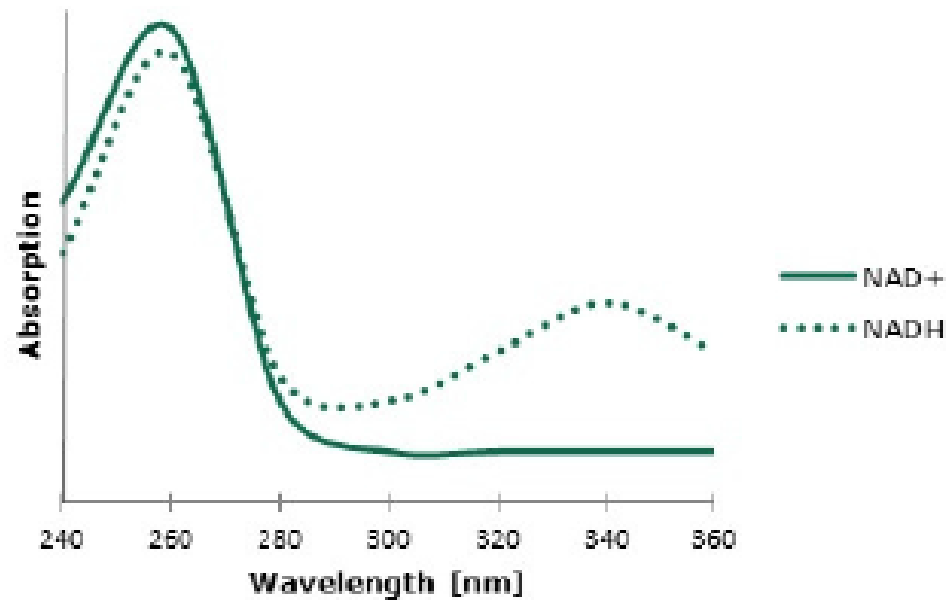
ALT → presente in quantità più alte nel fegato che negli altri tessuti

In condizioni di salute ALT è in concentrazione minore di AST, mentre in caso di danno epatico la prima transaminasi diventa pari o superiore alla seconda (fanno eccezione malattie dovute all'alcool, cirrosi e tumori). Se AST è il doppio o più di ALT è probabile che il danno sia causato dall'abuso di alcool.

Un valore di AST elevato in presenza di un valore normale di ALT indica un fegato sano ed un danno in un organo diverso od emolisi.

FUNZIONALITA' EPATICA: dosaggio transaminasi nel siero

1. chetoglutarato + alanina \rightarrow glutammato + piruvato (ALT) oppure chetoglutarato + aspartato \rightarrow glutammato + ossalacetato (AST)
LDH (o MDH)
2. Piruvato (o Ossalacetato) + NADH+H⁺ \rightarrow Lattato (o Ac. Malico)+ NAD⁺



FUNZIONALITA' EPATICA: lattico deidrogenasi

La lattato deidrogenasi è un enzima ubiquitario (fegato, miocardio, polmone, globuli rossi, reni) che catalizza l'interconversione tra lattato e piruvato. È un tetramero: H (*Heart*) ed M (*Muscle*) per dare origine a cinque forme tetrameriche.

Valori di riferimento:

LDH totale sierica 313-618 UI/L

Si possono avere artefatti dovuti ad emolisi in quanto negli eritrociti la sua concentrazione di LDH è 200 volte quella sierica.

AUMENTO:

- Anemie perniciose ed emolitiche
- Infarto del miocardio
- Leucemie
- Distrofia muscolare
- Neoplasie
- epatopatie



- H4 (LDH1)
- H3M (LDH2)
- H2M2 (LDH3)
- HM3 (LDH4)
- M4 (LDH5)



FUNZIONALITA' EPATICA: γ -glutamil-transpeptidasi

E' un enzima microsomiale presente ampiamente nei tessuti, compresi il fegato e i tubuli renali.

Indica colestasi.

E' influenzato dall'assunzione di alcool e di farmaci

Valori di riferimento

Uomo: 6-28 UI/L

Donna: 4-18 UI/L

FUNZIONALITA' EPATICA: fosfatasi alcalina (ALP)

È un enzima (idrolasi) aspecifico.

Viene prodotto dalle cellule del fegato ma anche dalle ossa, dall'intestino tenue, dalla placenta e dai reni.

Vi sono numerosi isoenzimi.

Valori di riferimento
Adulto: 50-190 UI/L

AUMENTO:

- Fisiologicamente durante l'accrescimento, la gravidanza (terzo trimestre)
- In caso di iperattività osteoblastica
- Ostruzione biliare

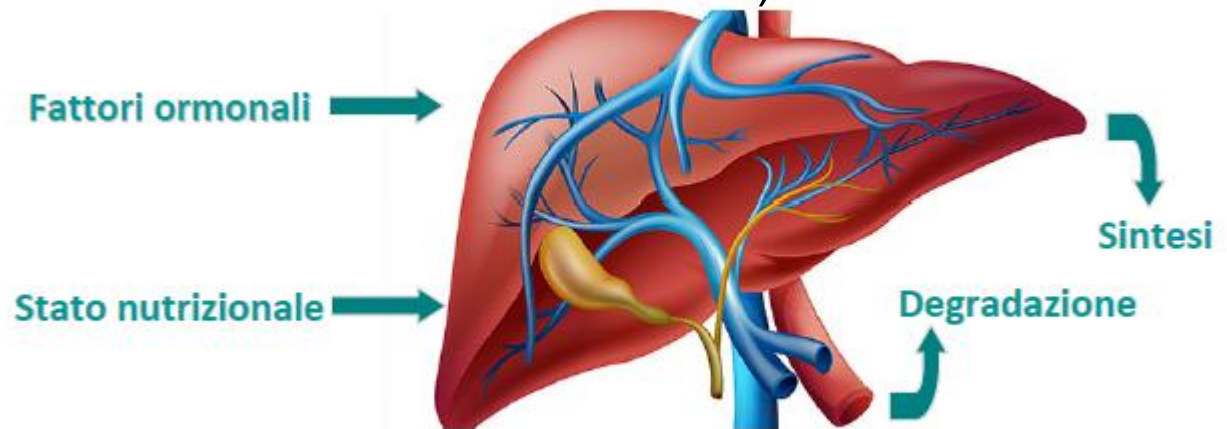
LE PROTEINE PLASMATICHE

In base alla solubilità, le sieroproteine sono frazionabili in:

1. Albumine, solubili in acqua
2. Globuline, solubili in soluzioni saline

Sono **sintetizzate** prevalentemente dal fegato, ad eccezione:

- delle immunoglobuline (sintetizzate dalle plasmacellule),
- di alcuni costituenti del sistema del complemento (sintetizzati dai macrofagi),
- di alcune lipoproteine (sintetizzate dalle cellule intestinali)
- di proteine endoteliali



LE PROTEINE PLASMATICHE

Alcune proteine rivestono precise funzioni biologiche nel plasma:

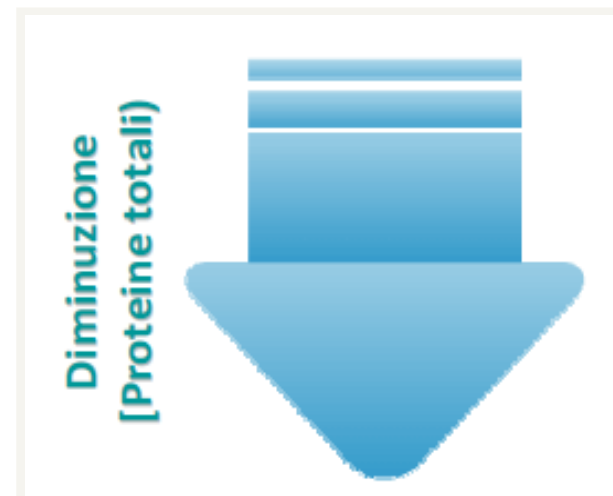
1. **Funzione nutritiva:** frazione albuminica
2. **Capacità tampone:** emoglobina
3. **Coagulazione e fibrinolisi:** molte proteine coinvolte sono già presenti allo stato attivo nel plasma, altre sono in uno stato inattivo o vengono liberate in conseguenza alla cascata emocoagulativa
4. **Fattori di difesa:** immunoglobuline e fattori del complemento
5. **Funzioni di trasporto:** le proteine plasmatiche rendono biodisponibili molte sostanze insolubili in acqua-lipidi (e.g. ormoni steroidei, vitamina, bilirubina, sostanze tossiche, farmaci, alcuni metalli)
6. **Mantenimento della pressione colloidale-osmotica:** l'albumina gioca un ruolo chiave nella distribuzione dei fluidi extracellulari (pressione osmotica delle proteine plasmatiche → pressione oncologica)

LE PROTEINE PLASMATICHE

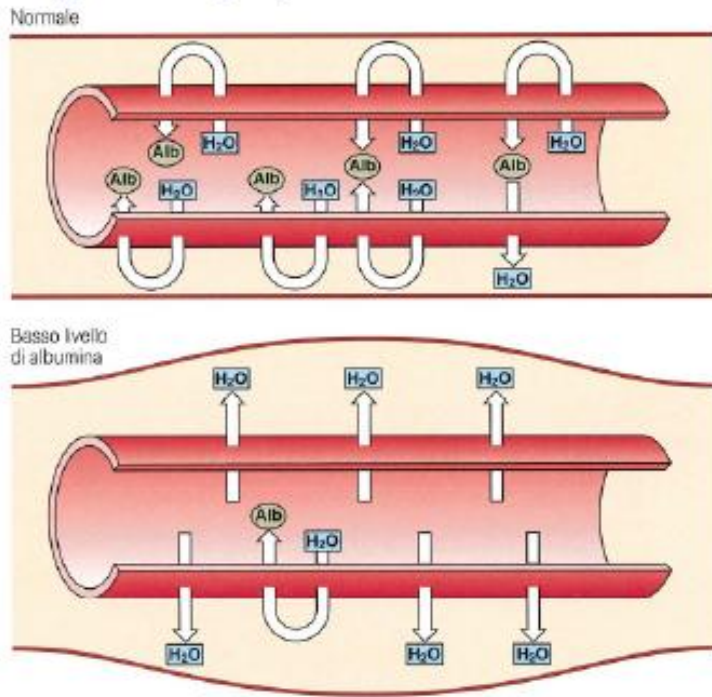
1. Variazioni del volume del plasma conseguente a disidratazione o processi di emoconcentrazione fisiopatologici o legati a fenomeni di stasi durante il prelievo (applicazione prolungata del laccio emostatico);
2. Presenza di proteine abnormi;
3. Aumentata sintesi (ipergammaglobulinemie).



1. Diminuita sintesi (malnutrizione, malassorbimento, malattie epatiche croniche);
2. Perdita (rene, intestino, emorragie, neoplasie, ustioni);
3. Gravidanza, a causa della iperidratazione, ma che non corrisponde ad una diminuzione in senso assoluto



LE PROTEINE PLASMATICHE



In condizioni fisiologiche, le plasmaproteine si distribuiscono negli spazi extravascolari (nel liquido interstiziale, sinoviale e cerebrospinale, nelle cavità sierose e nel liquido intraoculare) in condizioni di equilibrio con il pool plasmatico.

1. Modificazioni idrostatiche per aumento della pressione arteriosa capillare o della pressione venosa o per ostruzione dei vasi linfatici;
2. Modificazioni osmotiche da ipoproteinemia, e in particolare da ipoalbuminemia, che provoca una diminuzione del gradiente osmotico tra il plasma e i tessuti e quindi un movimento di H₂O verso gli spazi interstiziali;
3. Aumento della permeabilità capillare che caratterizza le patologie infiammatorie. In particolare, se l'integrità anatomica-capillare è preservata, il liquido extravascolare presenta un modesto contenuto in proteine e si parlerà di trasudato; mentre, se i capillari sono gravemente danneggiati, si riscontra un incremento spiccato della quota proteica e si parlerà di essudato, caratterizzati da una concentrazione proteica superiore a 25-30 g/

LE PROTEINE PLASMATICHE: perché dosarle?



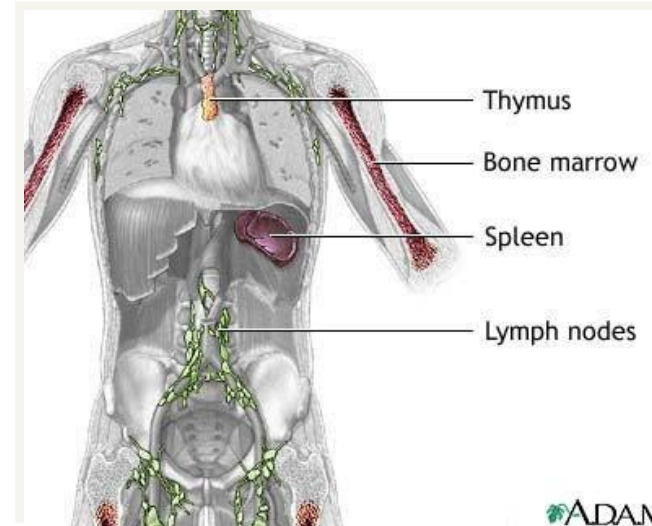
Sono facilmente analizzabili e consentono di ottenere informazioni sul metabolismo proteico dell'intero organismo:



del fegato, che produce la maggior parte delle proteine

dei reni, perché in condizioni patologiche le proteine possono essere perse con le urine

del sistema immunitario (le gamma globuline possono diminuire nelle immunodeficienze o aumentare nel mieloma multiplo)



LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio

Proteine totali

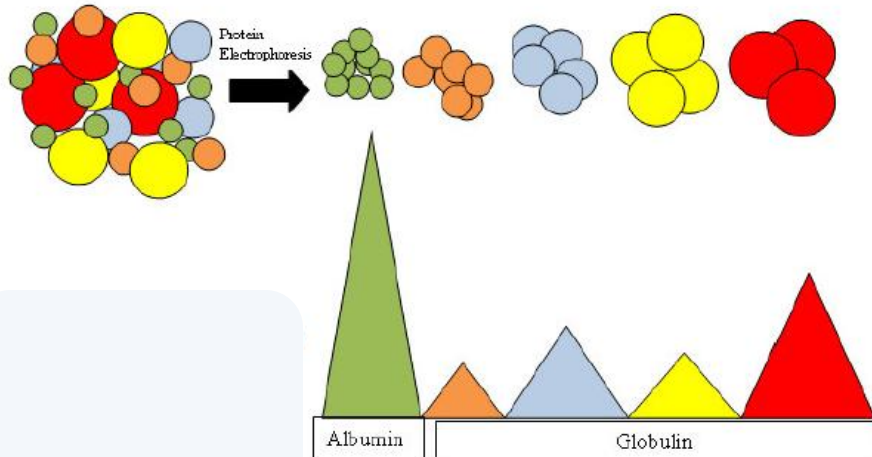
Albumina

PROTEINE PLASMATICHE

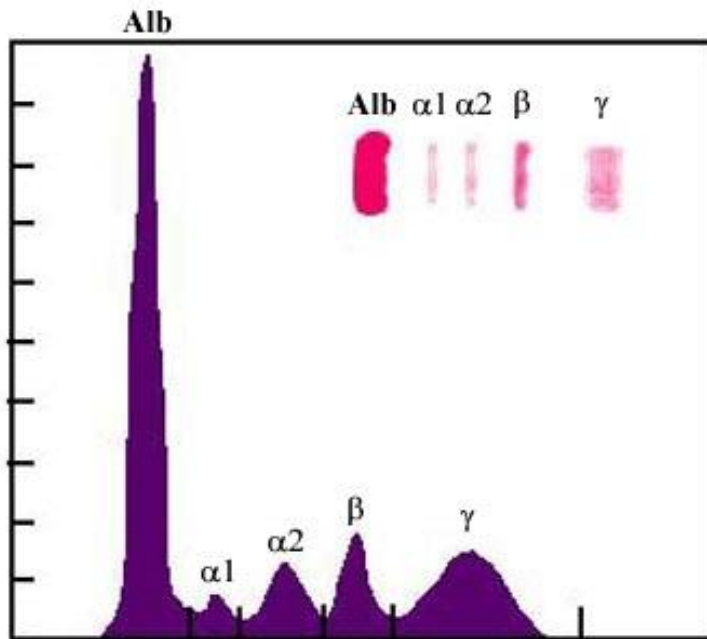
V.N. = 6-8 gr/dL (60-80 g/L)

Elettroforesi + quantificazione proteinemia:

Albumina	3.6-4.9 gr/dL	55-65%
α_1-globuline	0.2-0.4 gr/dL	2-5%
α_2-globuline	0.4-0.8 gr/dL	7-11%
β-globuline	0.6-1.0 gr/dL	9-13%
γ-globuline	0.9-1.4 gr/dL	14-20%
A/G	1.2-1.7	



LE PROTEINE PLASMATICHE: classificazione elettroforetica



Siero normale:

albumina	55-65%
$\alpha 1$	2-5%
$\alpha 2$	7-11%
β	9-13%
γ	14-20%

Zona albumina

albumina
prealbumina

Zona $\alpha 1$

$\alpha 1$ antitripsina

Zona $\alpha 2$

$\alpha 2$ macroglobulina
aptoglobina
ceruloplasmina

Zona β

tranferrina
 $\beta 2$ microglobulina
C3
 β lipoproteine

Zona γ

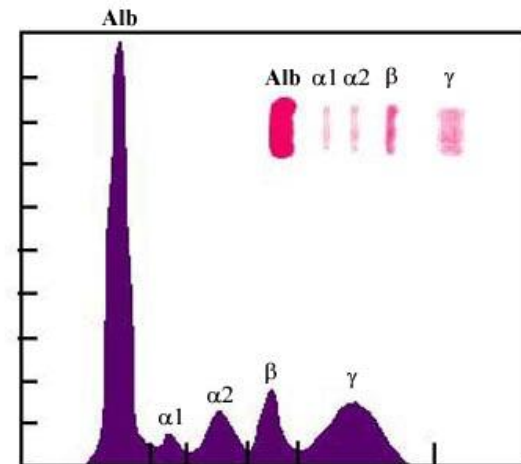
immunoglobuline
PCR

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio

Variabilità pre-analitica:

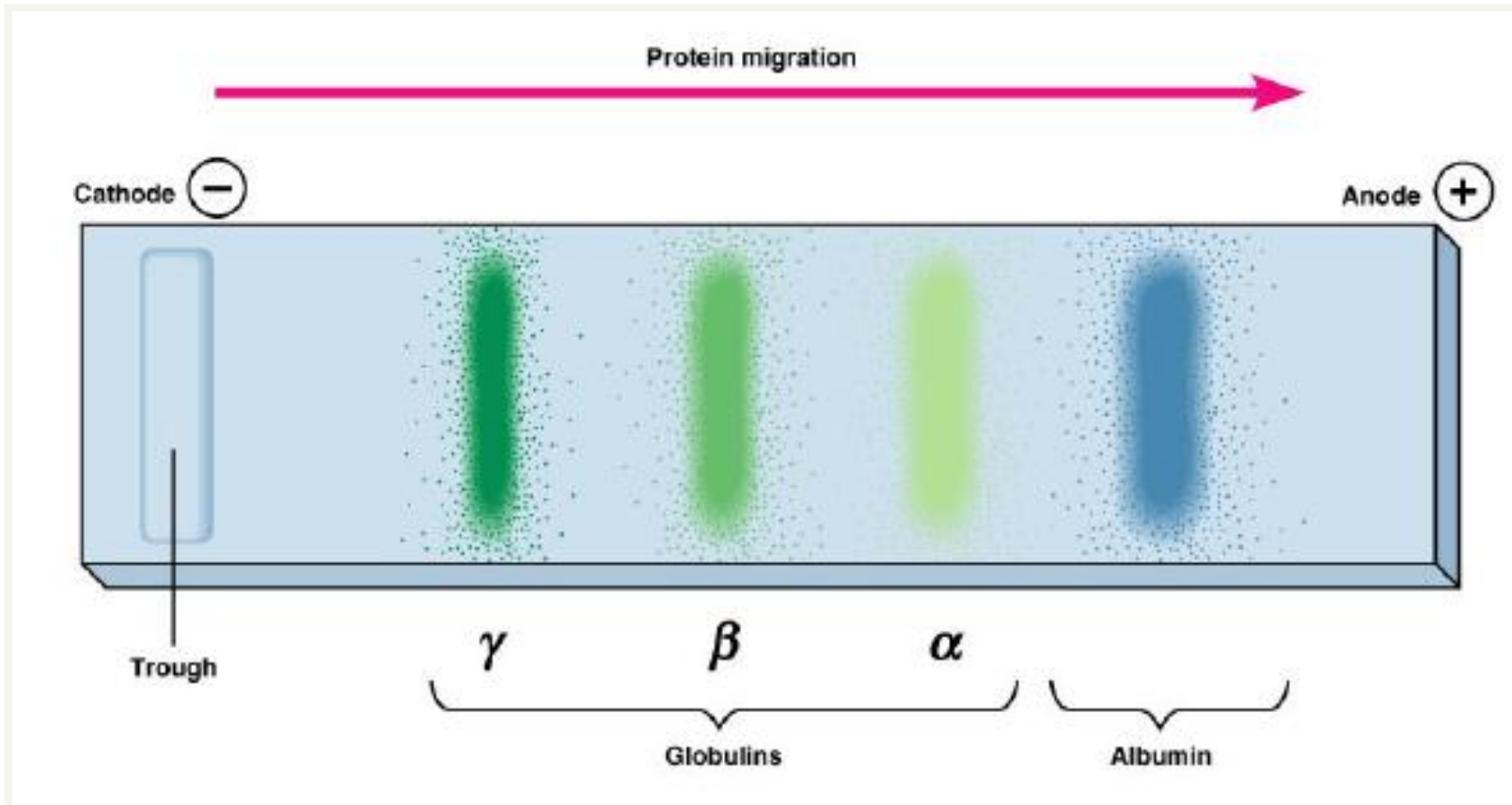
1. Non utilizzare campioni di siero emolizzati
2. L'emolisi causa un aumento delle zone alfa-2 e beta
3. Evitare campioni di plasma
4. Evitare campioni vecchi o mal conservati o lipemici

Si possono verificare falsi aumenti di β globuline per migrazione di plasma, anziché di siero: il fibrinogeno migra tutto in zona β_2 causando un aumento proporzionalmente rilevante, ma non patologico, di queste proteine.



La migrazione di campioni sierici emolizzati o lipemici causano un aumento più o meno importante della banda β : sia l'emoglobina, sia le lipoproteine vanno infatti a posizionarsi in tale zona.

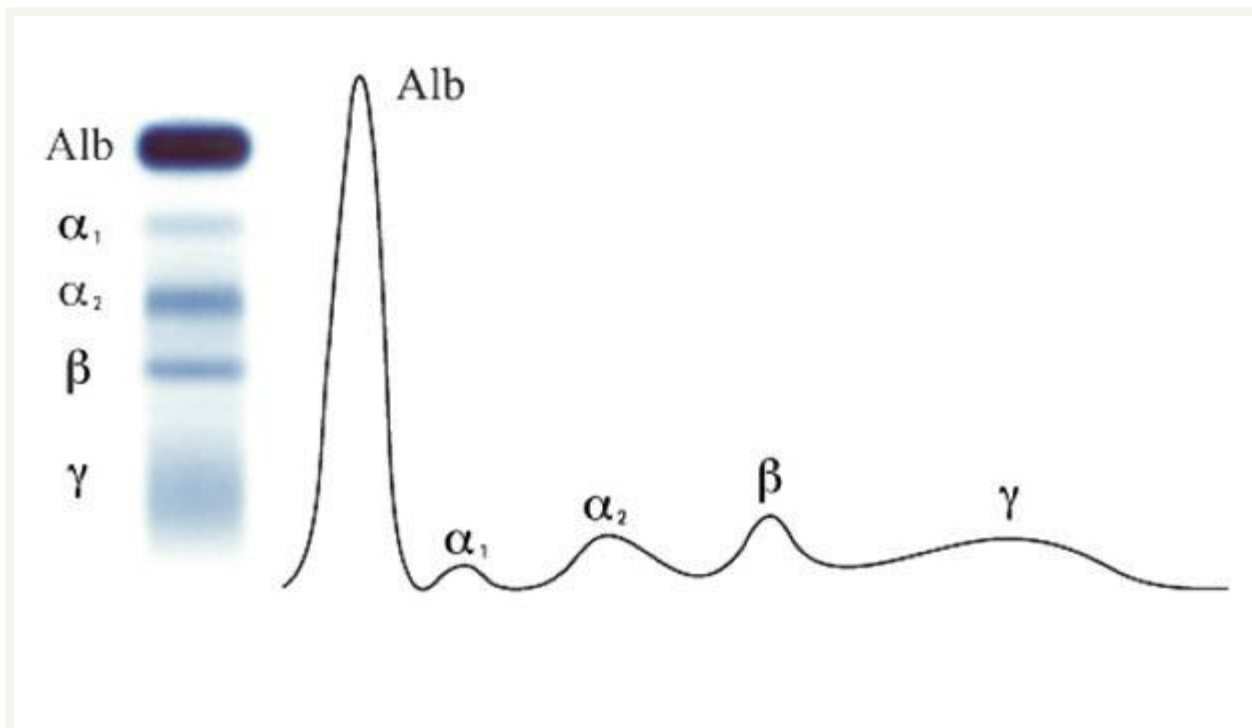
LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio - elettroforesi



**ELETTROFORESI SU ACETATO DI CELLULOSA IN TAMPONE
BASICO Ph 6.8**

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio - elettroforesi

I tracciati elettroforetici, una volta colorati, sono letti mediante il **densitometro**: le bande proteiche vengono trasformate in picchi di diversa altezza, a base larga o stretta a seconda della loro intensità di colorazione e della loro larghezza, che rispecchiano la quantità proporzionale delle diverse proteine contenute nel siero.



LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio – elettroforesi (pre-albumina)

E' la banda più anodica

La sintesi avviene principalmente nel fegato

Ha un peso molecolare di 54-61 kDa e struttura tetrameric

Ha un'emivita di 2 giorni e varia con l'età.

VALORI di RIFERIMENTO:

0.2-0.4 g/L

FUNZIONI:

Marker degli stati nutrizionali

Ha siti di legame per la tiroxina e per il retinolo

ALTERAZIONI:

➤ Diminuisce: denutrizione (marcatore più precoce dell'albumina e transferrina perché emivita breve e piccolo pool circolante), stati infiammatori e nelle lesioni epatiche.

➤ Aumenta: patologie renali acute

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio – elettroforesi (albumina)

Viene sintetizzata e secreta dal fegato.

Ha un peso molecolare di 66 kDa ed una struttura a singola catena polipeptidica

Ha un tempo di vita biologico nel plasma di circa 20 giorni.

VALORI DI RIFERIMENTO:

3,5- 5,0 g/dl

FUNZIONI:

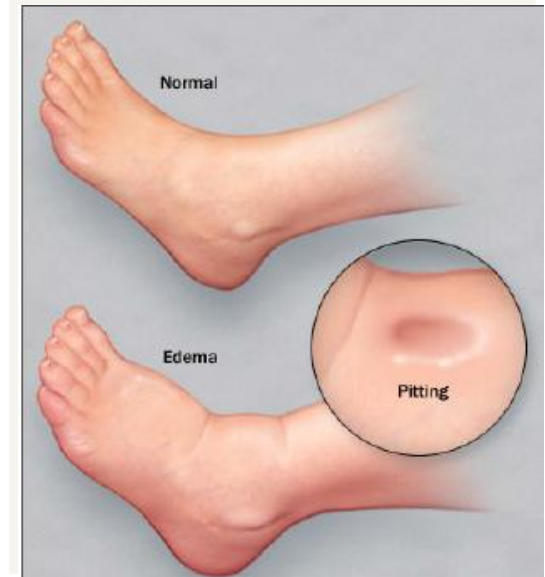
- Mantenimento pressione oncotica plasmatica
- Trasporto di acidi grassi, bilirubina, ormoni e farmaci

ALTERAZIONI:

➤ Diminuisce:

- Distribuzione anomala: si distribuisce nello spazio interstiziale, nella risposta acuta, in seguito ad una aumentata permeabilità capillare
- Sintesi diminuita: malnutrizione, malassorbimento, malattia epatica avanzata
- Diluizione: per effetto di una sovraidratazione;
- Escrezione anomala o degradazione: sindrome nefrotica, ferite, emorragia

➤ Aumenta: emoconcentrazione, disidratazione



LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio – elettroforesi (α -1globuline)

α 1-ANTITRIPSINA:

Glicoproteina sintetizzata soprattutto dal fegato, ma anche dai macrofagi e dalle cellule epiteliali respiratorie

FUNZIONI:

➤ Inibitore delle proteasi (sistema di difesa delle vie respiratorie inferiori contro i danni causati da queste proteasi sulle pareti degli alveoli evitando che la elastasi neutrofila danneggi gli alveoli polmonari). Costituisce il 90% dell'attività anti-proteasica del sangue.

VALORI DI RIFERIMENTO:

0,2- 0,4 g/dl

ALTERAZIONI:

- Diminuisce: Deficienza congenita (associata ad enfisema polmonare e cirrosi epatica) e malattie epatiche gravi (epatiti e cirrosi)
- Aumento: malattie infiammatorie croniche, malattie infettive, infarto cardiaco, assunzione pillola contraccettiva, gravidanza

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio – elettroforesi (α -1 globuline)

α –FETOPROTEINA:

Sintetizzata dal fegato

Trasporta soprattutto acidi grassi ed è per questo strettamente associata alla proliferazione cellulare: tutti gli eventi che comportano rigenerazione epatica (necrosi chimica, epatiti virali, cirrosi, neoplasie) determinano un innalzamento delle concentrazioni di AFP

FUNZIONI:

- Presente nel plasma e nei tessuti del feto
- La sua concentrazione cala dopo la nascita

VALORI DI RIFERIMENTO:

<5 mg/L

ALTERAZIONI:

- Diminuisce: successo terapeutico antineoplastico, trisomia del cromosoma 21
- Aumento: epatocarcinoma, teratoma testicolare; nel liquido amniotico e nel siero materno in presenza di spina bifida

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio – elettroforesi (α 2-globuline)

Tale frazione elettroforetica esprime principalmente il comportamento dell' α 2-macroglobulina, dell'aptoglobina, dell'antitrombina III, protrombina, ceruloplasmina, colinesterasi, pre- β -lipoproteine.

VALORI DI RIFERIMENTO:

0,4- 0,8 g/dl

ALTERAZIONI:

- Aumento: malattie renali, malattie infiammatorie croniche e acute, infezioni, infarto cardiaco, sindrome di Down, diabete, alcuni tumori maligni
- Diminuzione: malattie epatiche gravi, diabete, ipertiroidismo, rottura dei globuli rossi (emolisi), artrite reumatoide

α2-MACROGLOBULINA:

È sintetizzata dal fegato e dai macrofagi, e costituisce circa 1/3 delle alfa2 globuline.

Inibitore di proteasi endogene ed esogene aspecifico.

VALORI DI RIFERIMENTO: 1,5-4 g/L

AUMENTA:

nella sindrome nefrosica, sia in termini relativi per la ritenzione selettiva legata alle dimensioni molecolari, sia in termini assoluti per aumento della sintesi; in gravidanza (circa del 20% in più) e in età senile.

DIMINUISCE:

per attivazione del plasminogeno; nella fase acuta dell'infiammazione; nelle pancreatiti e nel carcinoma della prostata, perché si lega al PSA

APTOGLOBINA:

Lega l'emoglobina libera rilasciata dalla distruzione intravascolare dei globuli rossi (turnover o processo emolitico).

Viene poi rimossa dal sistema reticolo endoteliale.

Valori di riferimento: 0,7-2,2 g/l

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio - elettroforesi

CERULOPLASMINA:

La ceruloplasmina trasporta il rame, normalmente conservato nel fegato, ai tessuti periferici, dove viene utilizzato per la sintesi di numerosi enzimi.

Viene poi eliminato per via biliare (e renale)

VALORI DI RIFERIMENTO: 0,2-0,4 g/l

DIMINUZIONE: si osservano nel morbo di Wilson (caratterizzata da accumulo tossico di rame nel fegato, cervello e cuore per mancata escrezione biliare del rame)

AUMENTI: nella gravidanza, uso di contraccettivi orali , infezioni acute, leucemie.

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio –elettroforesi (β -globuline)

TRANSFERRINA:

Glicoproteina che costituisce la maggior componente della frazione β_1

Proteina plasmatica deputata al trasporto del ferro. Normalmente circa il 30% dei siti di legame della transferrina sono occupati (% di saturazione della transferrina). La saturazione è inversamente proporzionale alla quantità di ferro.

Valori di riferimento: 2-3,5 g/L

AUMENTA: nelle anemie sideropeniche, gravidanza.

DIMINUISCE: negli accumuli di ferro, epatopatie.

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio –elettroforesi (β -globuline)

COMPLEMENTO C3

Si comprendono un insieme di proteine, alcune delle quali con attività enzimatica che, insieme agli anticorpi, svolgono un ruolo di primaria importanza nei meccanismi di difesa dell'immunità umorale. Una

diminuzione del C3 si ha inoltre in caso di deficit genetico, anemie autoimmuni, epatite.

AUMENTA :blocco del suo catabolismo; reazioni della fase acuta; ostruzione biliare;

DIMINUISCE: deficit genetico. Anemie autoimmuni, epatite

l'elettroforesi fornisce solo valutazioni approssimative e non può sostituire i dosaggi quantitativi di c3 e transferrina.

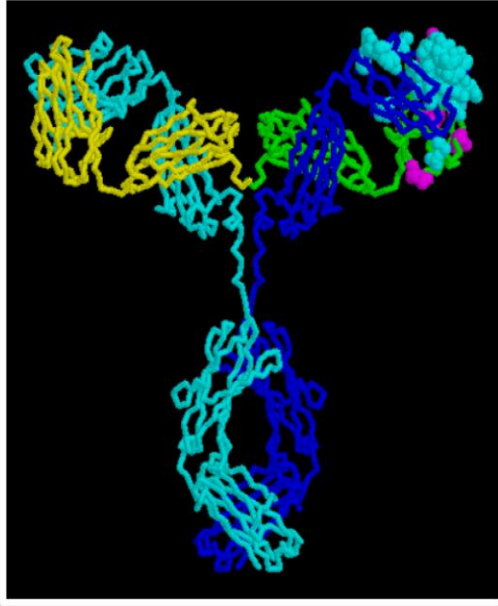
LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio –elettroforesi (β -globuline)

β -2-MICROGLOBULINA (B2M)

E' una proteina di basso peso molecolare (12 kDa) che appartiene al sistema maggiore di istocompatibilita di classe I (MHC I), costituito da glicoproteine espresse sulla superficie di gran parte delle cellule nucleate. La concentrazione plasmatica di B2M dipende sia dal turnover dei linfociti B che dalla velocit  di filtrazione glomerulare, poich  il catabolismo della proteina   quasi interamente renale. La B2M passa il filtro glomerulare ed   riassorbita per oltre il 99% dal tubulo contorto prossimale. Aumenta in caso di insufficienza renale, infiammazione o neoplasia.

VALORI DI RIFERIMENTO: 0.8-2,8 pg/ml

LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio –elettroforesi (γ -globuline)



E' un gruppo di proteine eterogenee che comprende le immunoglobuline (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE). Costituiscono gli anticorpi in grado di facilitare la distruzione degli antigeni estranei all'organismo da parte del sistema immunitario. Sono sintetizzate e secrete dalle plasmacellule (derivanti dai linfociti B). In condizioni normali, la frazione IgG è prevalente sulle altre e la banda delle γ -globuline è rappresentata soprattutto dalle IgG.

ALTERAZIONI:

Aumento: alcune malattie del sistema immunitario dette gammopatie, mieloma multiplo , malattie epatiche croniche (epatite, cirrosi), infezioni, alcuni tumori, artrite reumatoide, lupus

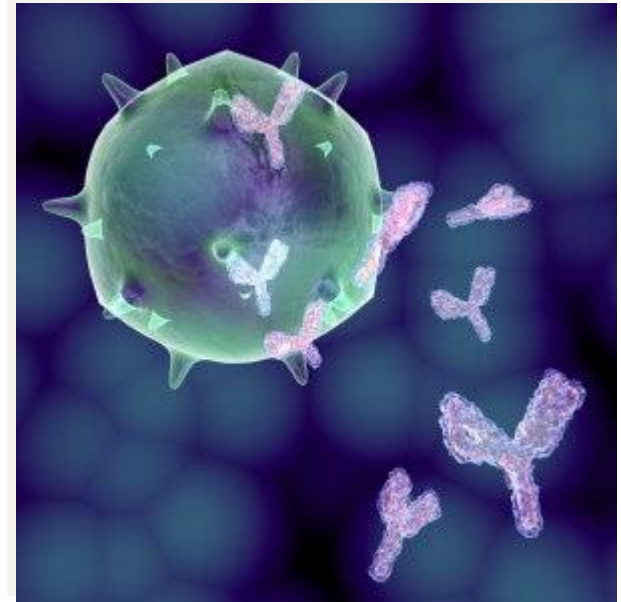
Diminuzione: malattie ereditarie del sistema immunitario

VALORI DI RIFERIMENTO:

0.9-1.4 g/dL

RISPOSTA IMMUNITARIA

Il sistema immunitario è storicamente separato in due rami: **immunità cellulare** e **immunità umorale**. L'immunità umorale è mediata da molecole in soluzione (anticorpi e complemento). L'immunità cellulare è quella mediata da cellule, come i neutrofili e i macrofagi che sono in grado di fagocitare e distruggere materiale estraneo.



RISPOSTA IMMUNITARIA umorale

Le immunoglobuline (Ig), o gamma globuline sono delle proteine sintetizzate dalle plasmacellule come risposta a stimoli antigenici; hanno funzione anticorpale e sono costituite da strutture molecolari che presentano una certa omogeneità di base.

Classe	Catena pesante	Catena leggera	Composizione in subunità	Massa molecolare (kD)
IgA	α	κ oppure λ	$(\alpha_2\kappa_2)_n J^a$ oppure $(\alpha_2\lambda_2)_n J^a$	180-720
IgD	δ	κ oppure λ	$\delta_2\kappa_2$ oppure $\delta_2\lambda_2$	160
IgE	ϵ	κ oppure λ	$\epsilon_2\kappa_2$ oppure $\epsilon_2\lambda_2$	190
IgG ^b	γ	κ oppure λ	$\gamma_2\kappa_2$ oppure $\gamma_2\lambda_2$	150
IgM	μ	κ oppure λ	$(\mu_2\kappa_2)_5 J$ oppure $(\mu_2\lambda_2)_5 J$	950

^a $n = 1, 2, 3$ o 4 .

^b La IgG ha quattro sottoclassi, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, che differiscono in base alla loro catena γ .

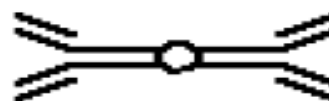
IgG: maggior classe presente nel siero (80%)– sono le uniche Ig che passano dalla madre al feto attraverso la placenta

Valori: 600 – 1800 mg/dl



IgA: concentrazione bassa nel siero, alta nelle secrezioni (saliva, latte, secrezioni intestinali)

Valori: 90-400 mg/dl



IgM: PM circa 970.000Da – molecole complesse – risposta immunitaria primaria – sono presenti oltre che nel siero anche sulla membrana dei linfociti B (Ig di membrana)

Valori: 80-190 mg/dl



IgD: Ig di membrana. Concentrazione bassa nel siero. Funzione: segnale per la proliferazione del clone B e il suo differenziamento in plasmacellule.

Valori: 3 mg/dl



IgE: estremamente bassa nel siero. Responsabili dei fenomeni di ipersensibilità di tipo immediato (es. reazioni allergiche). IgE + allergene → liberazione di istamina.

Valori: 30 µg/dl



LE PROTEINE PLASMATICHE: dosaggio – elettroforesi (γ -globuline)

Studio della zona γ

Alterazioni in difetto
ipogammaglobulinemie



Alterazioni in eccesso
gammopatie policlonali
e monoclonali

GAMMAPATIE POLICLONALE

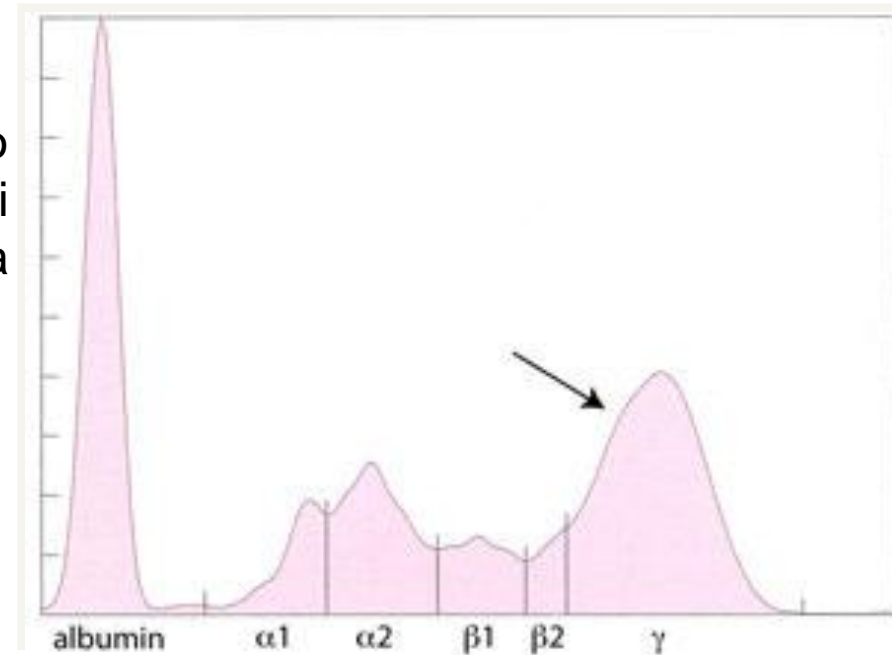
La stimolazione di numerosi cloni di plasmacellule induce l'incremento di diverse classi di Immunoglobuline che si manifesta come un incremento diffuso ed eterogeneo in zona γ .

In alcuni casi, nelle malattie infettive si può avere aumento isolato di una classe di immunoglobuline, che non è diagnostico ma può contribuire alla diagnosi differenziale:

IgM: fase precoce di infezione

IgG: contatto con un antigene già noto

IgA: danno epatico (alcool, contraccettivi orali)

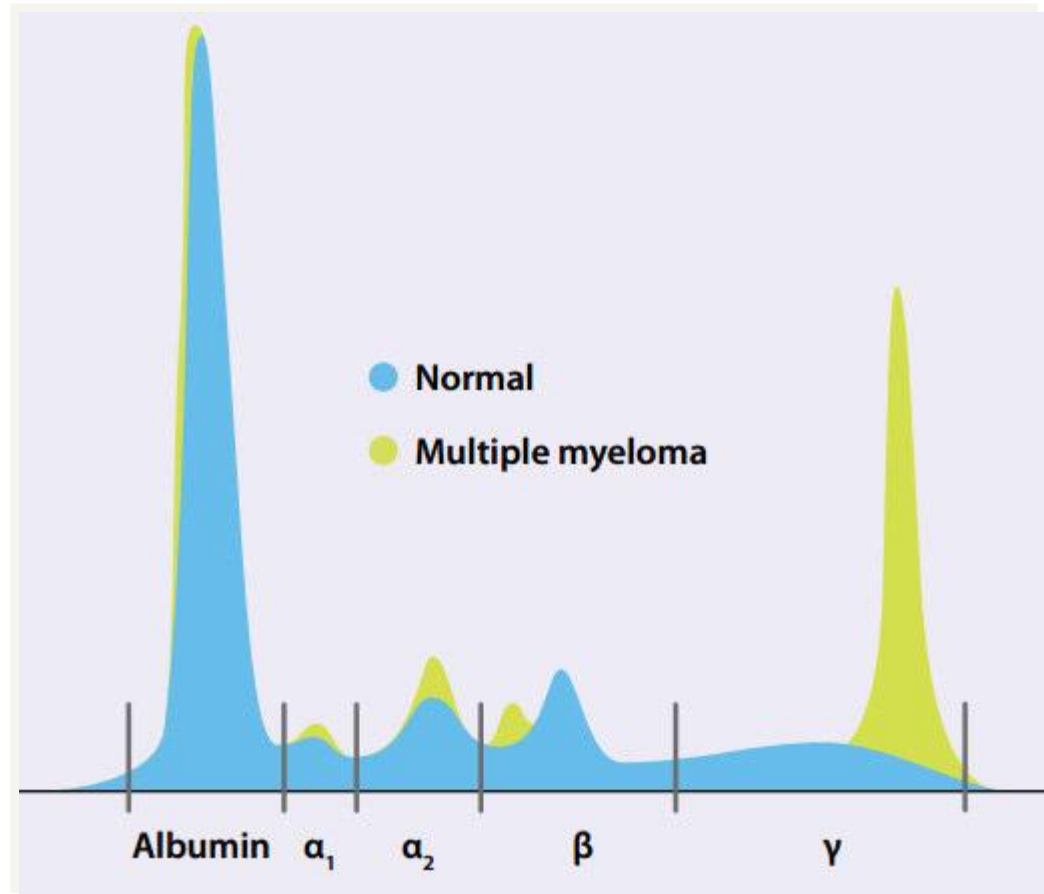


GAMMAPATIE MONOCLONALE

Derivano da proliferazione clonale maligna o potenzialmente maligna (mentre i policlonali da processi infiammatori). All'elettroforesi le gammopatie monoclonali sono caratterizzate da un incremento di un picco monoclonale a banda stretta.

Sono caratterizzate da:

1. Iperproliferazione di un clone di cellule della linea linfocitaria B, in assenza di uno stimolo antigenico dimostrabile
2. Sintesi di immunoglobuline omogenee per struttura e caratteristiche antigeniche
3. Deficit a carico delle immunoglobuline normali



GAMMAPATIE MONOCLONALE: immunofissazione

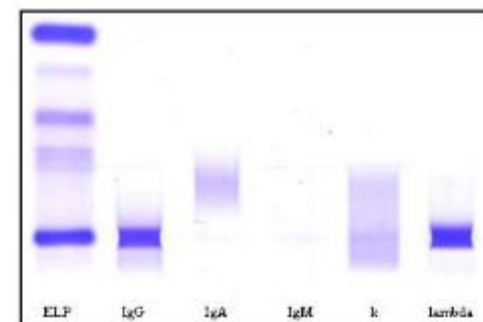
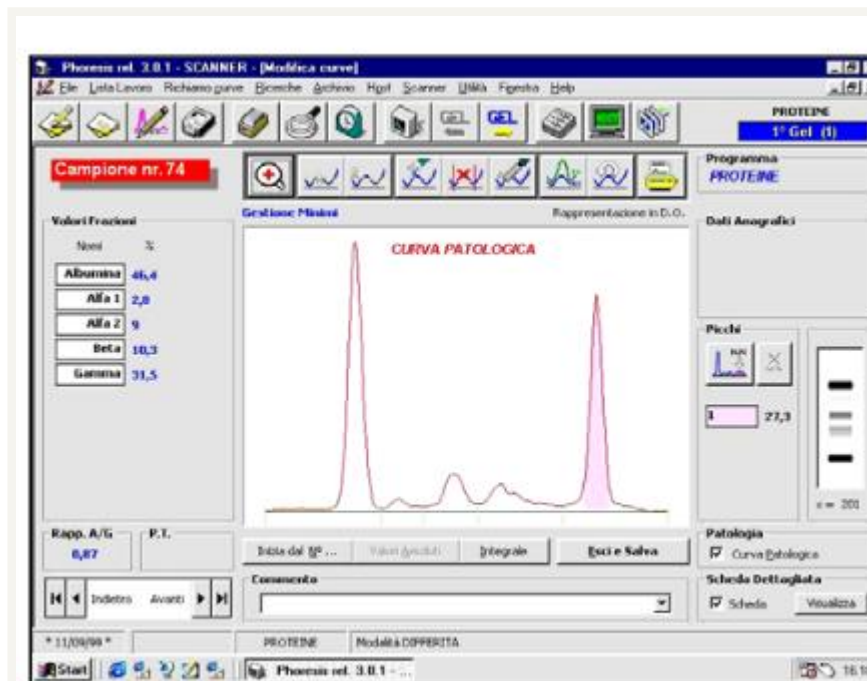
Viene impiegata per definire la classe di immunoglobuline (IgA, IgM, IgG, IgE, IgD) ed il tipo di catena leggera k o l , che caratterizzano la gammopatia stessa.

Sfrutta la combinazione tra elettroforesi proteica su agarosio con successiva reazione delle proteine separate con anticorpi monospecifici.

Campioni di siero vengono seminati in più solchi lineari su supporti di agarosio e sottoposti ad elettroforesi.

Per ogni solco viene seminato un antisiero specifico per le catene pesanti e leggere ($\gamma, \alpha, \mu, \kappa, \lambda$)

Quando l'antisiero incontra l'antigene specifico determina un immunoprecipitato che rimane nel supporto di gel dopo lavaggio effettuato per allontanare le proteine non precipitate



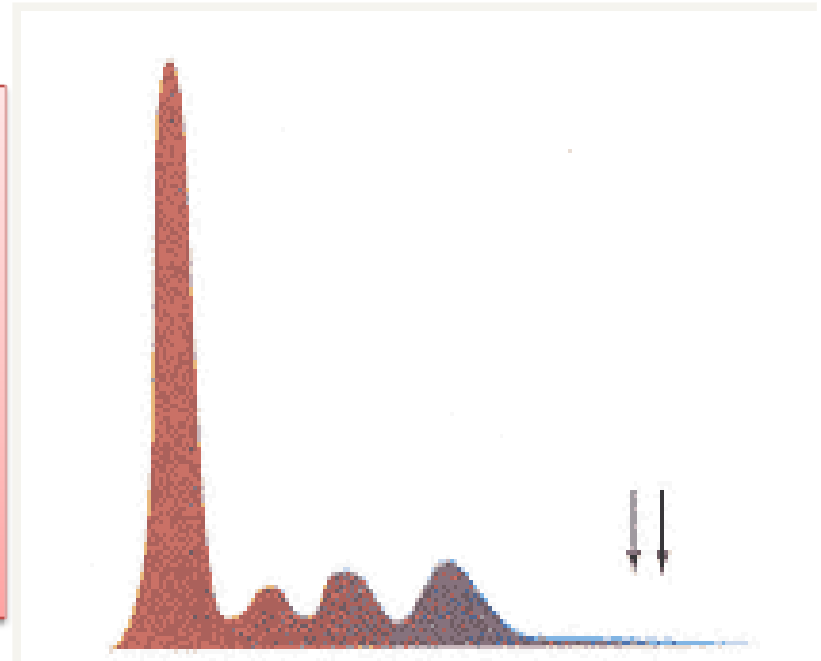
IPOGAMMAGLOBULINEMIA

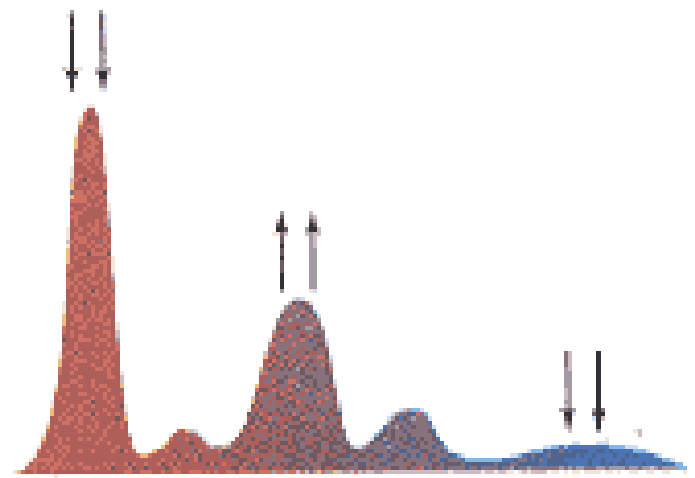
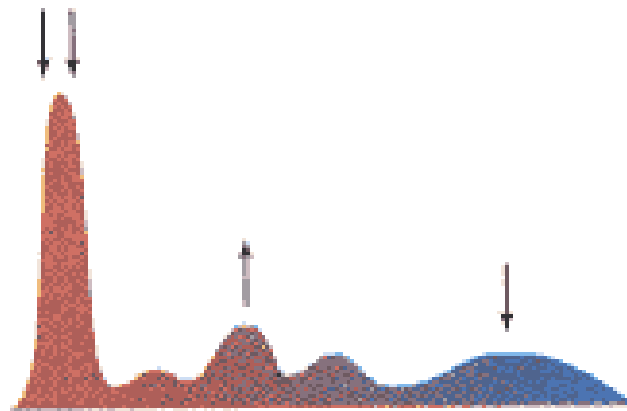
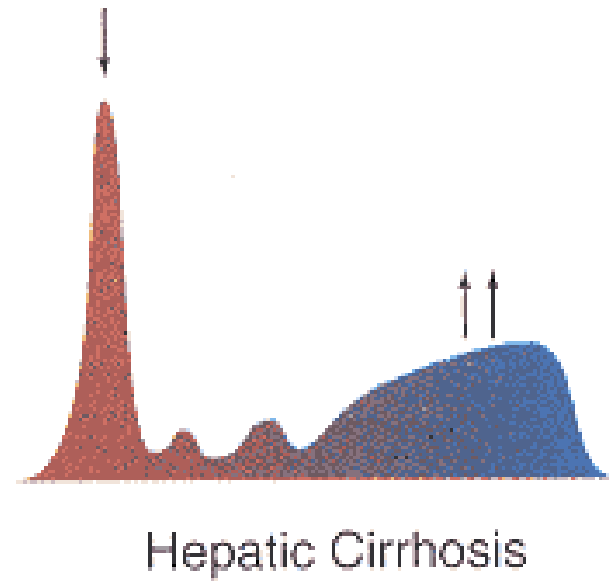
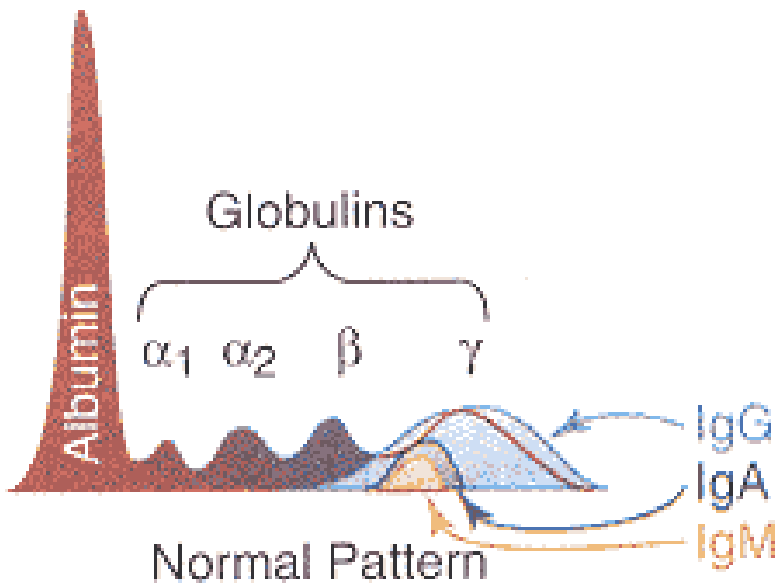
La concentrazione delle immunoglobuline aumenta progressivamente fin dalla nascita. La diminuzione della sintesi di immunoglobuline è clinicamente associata ad una ridotta resistenza alle infezioni.

Si distinguono deficit immunitari:

- primitivi (globali o parziali)
- secondari (a infezioni, neoplasie, trattamento con farmaci)

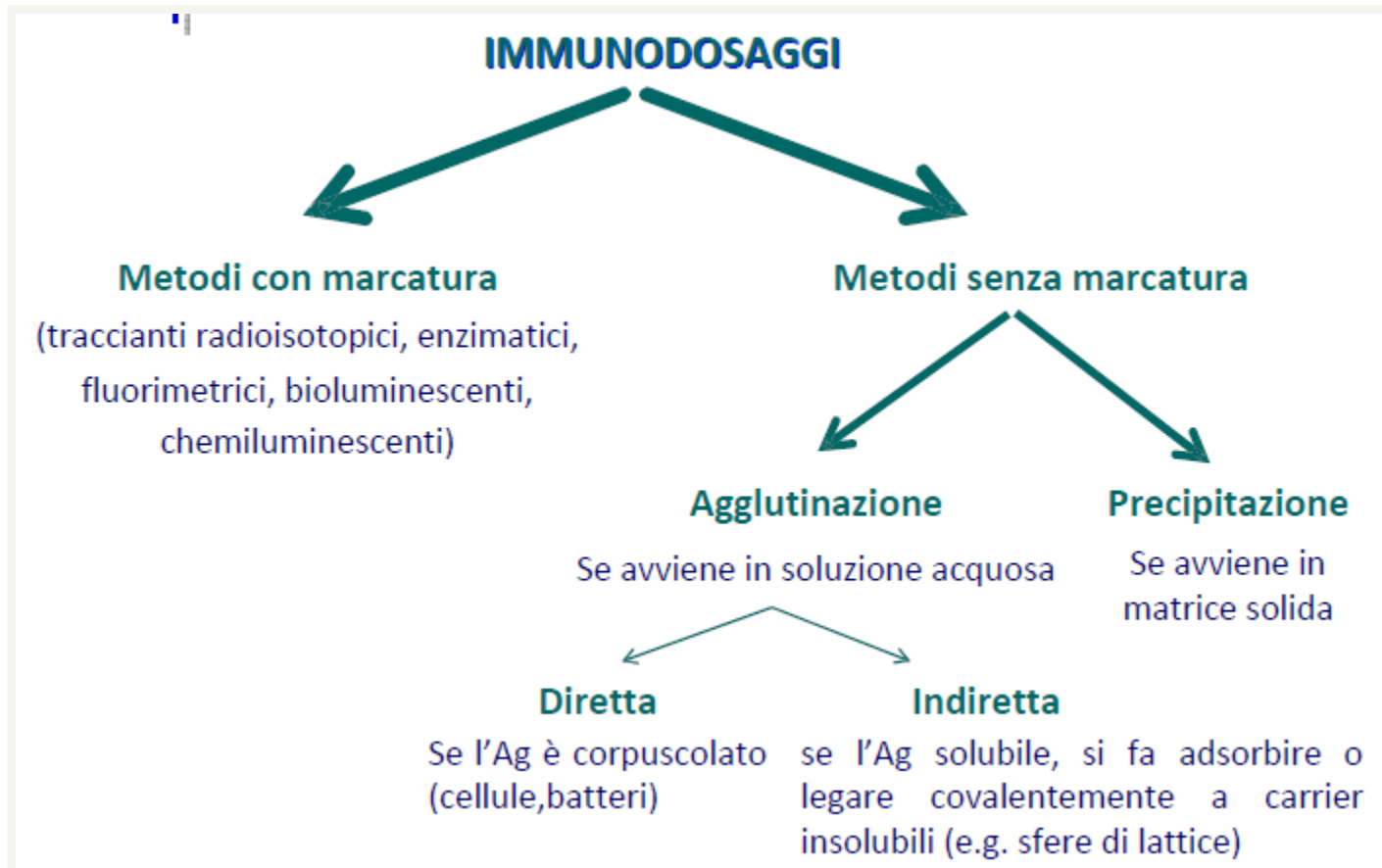
L'immunodeficienza può essere selettiva per una sola classe di immunoglobuline e non riconoscibile all'elettroforesi, pertanto il dosaggio delle immunoglobuline è essenziale in pazienti con sospetto di immunodeficienza.





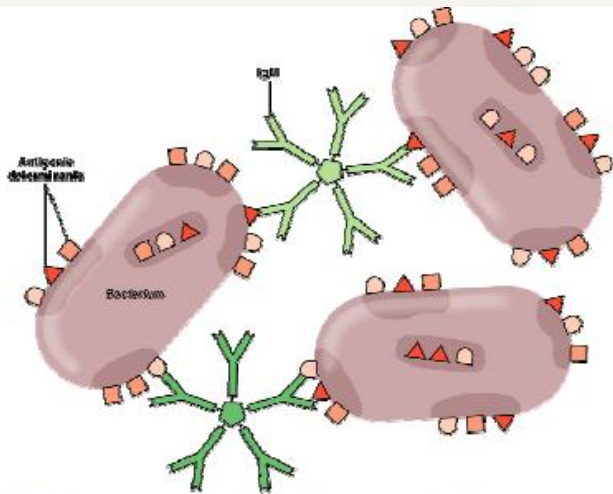
TECNICHE IMMUNOCHEMICHE

La specificità delle reazioni antigene-anticorpo e la sensibilità di “marcatori” (enzimi, isotopi, sostanze fluorescenti, radicali liberi) possono essere combinate insieme per compiere un “dosaggio immunologico”, ossia quantificare con precisione una sostanza antigenica, presente nei fluidi biologici.

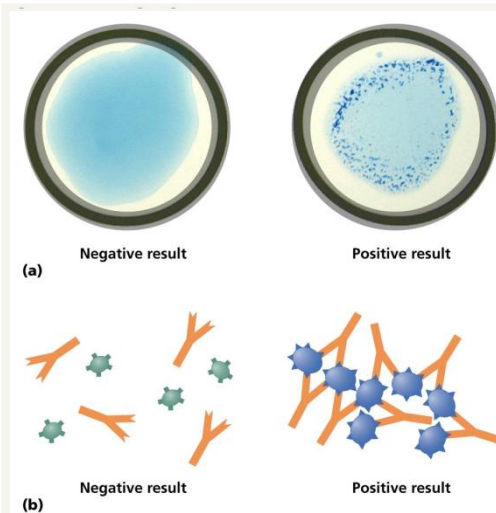


TECNICHE IMMUNOCHEMICHE:

Agglutinazione diretta



L'agglutinazione è un fenomeno dovuto all'aggregazione e alla sedimentazione di un antigene dopo reazione con l'anticorpo. Si eseguono quando si vuole ricercare la presenza di anticorpi nel siero di un paziente per diagnosticare una malattia infettiva oppure quando si vuole identificare un microrganismo in base agli antigeni che possiede

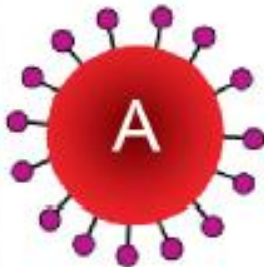
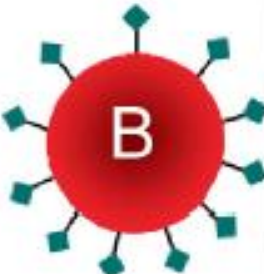
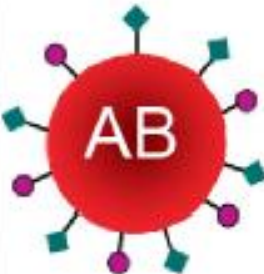
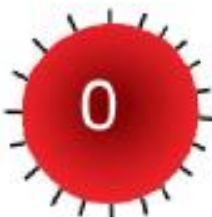








Si cercano le IgM: hanno una durata limitata e la loro presenza è indice di risposta immune contro una malattia in corso

TECNICHE IMMUNOCHEMICHE:

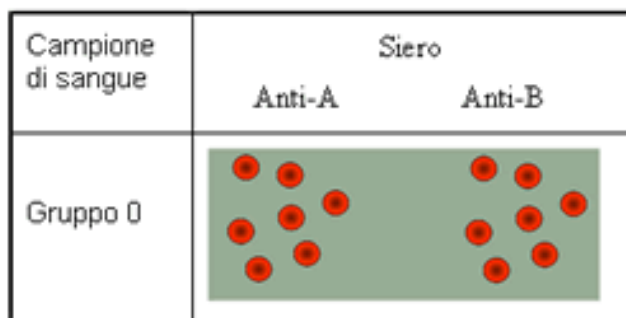
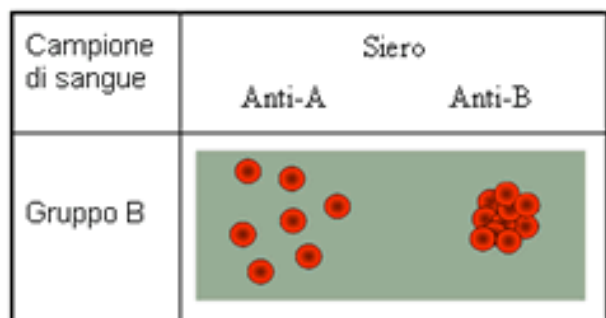
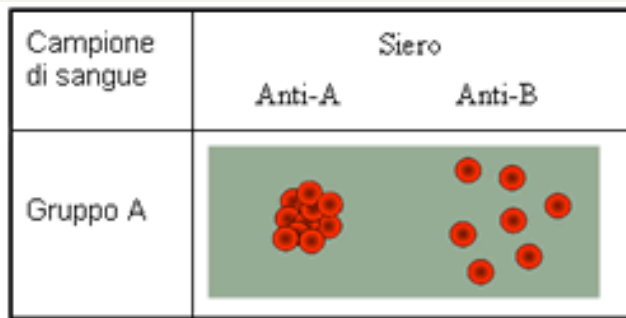
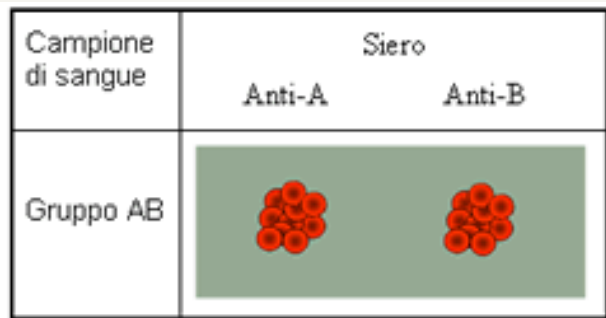
Agglutinazione diretta:

determinazione del gruppo sanguigno

	Gruppo A	Gruppo B	Gruppo AB	Gruppo 0
Tipo di globuli rossi				
Anticorpi presenti	 Anti-B	 Anti-A	Nessuno	 Anti-A e Anti-B
Antigeni presenti	 Antigene A	 Antigene B	 Antigeni A e B	Nessuno

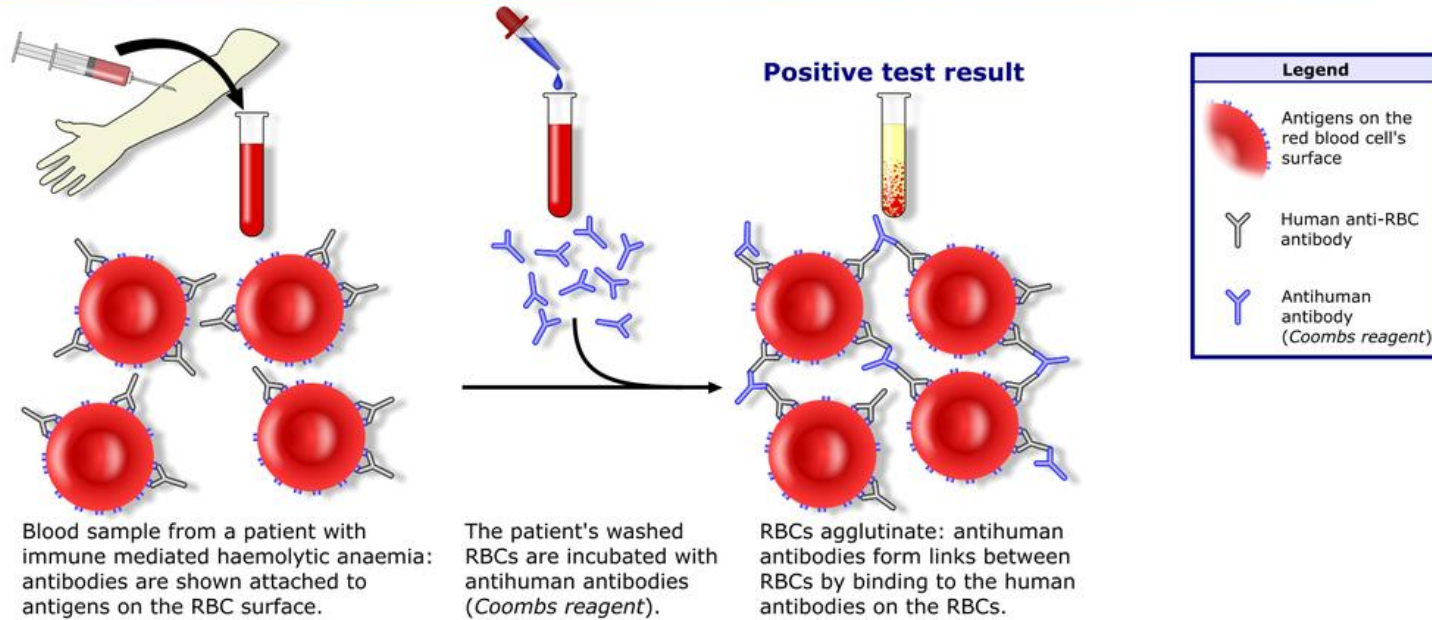
La procedura consiste nel verificare la reazione del sangue di una persona con due diversi tipi di siero immune contenente anticorpi anti-A o anti-B.

Su un vetrino vengono poste due gocce di sangue, ad una di esse viene aggiunta una goccia del siero "ANTI-A" e sull'altra una goccia del siero "ANTI-B".

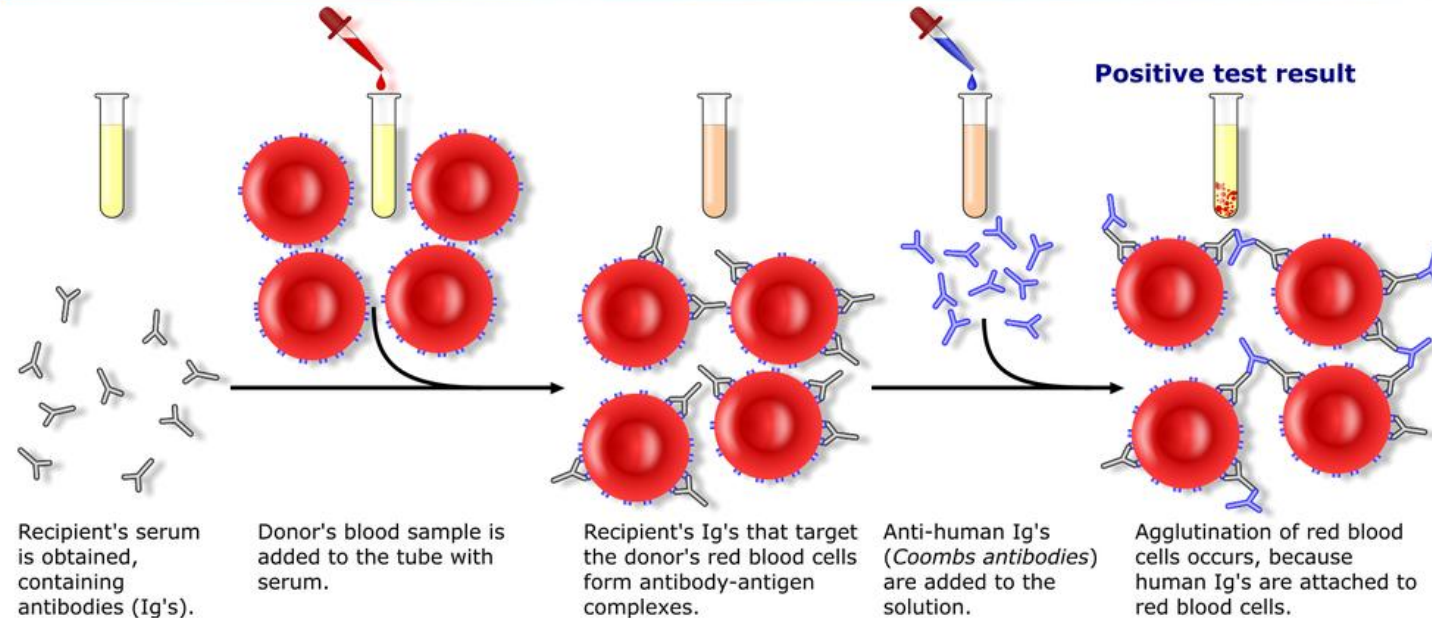


Se non si verifica alcuna reazione il sangue in esame appartiene al gruppo 0 (zero), se invece si ha agglutinazione solo con l'anti-A è del gruppo A, se reagisce con l'anti-B è del gruppo B, e se osserviamo la reazione di agglutinazione con l'anti-B e con l'anti-A il sangue appartiene al gruppo AB.

Direct Coombs test / Direct antiglobulin test



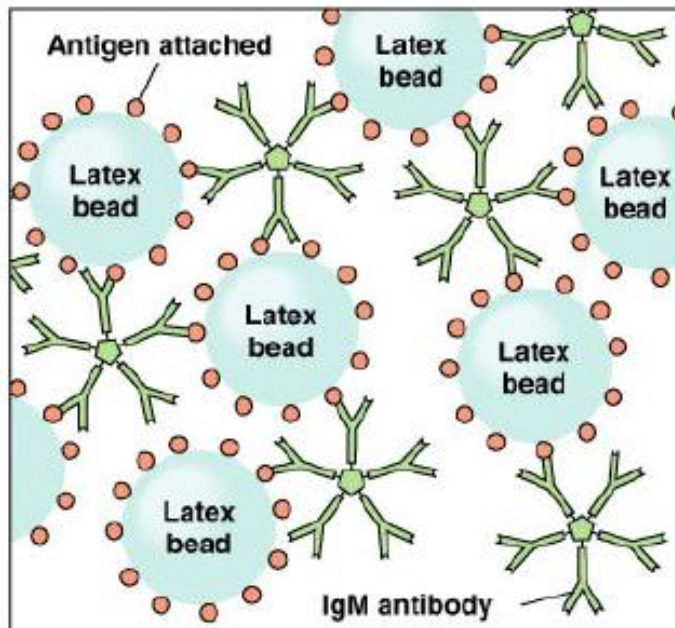
Indirect Coombs test / Indirect antiglobulin test



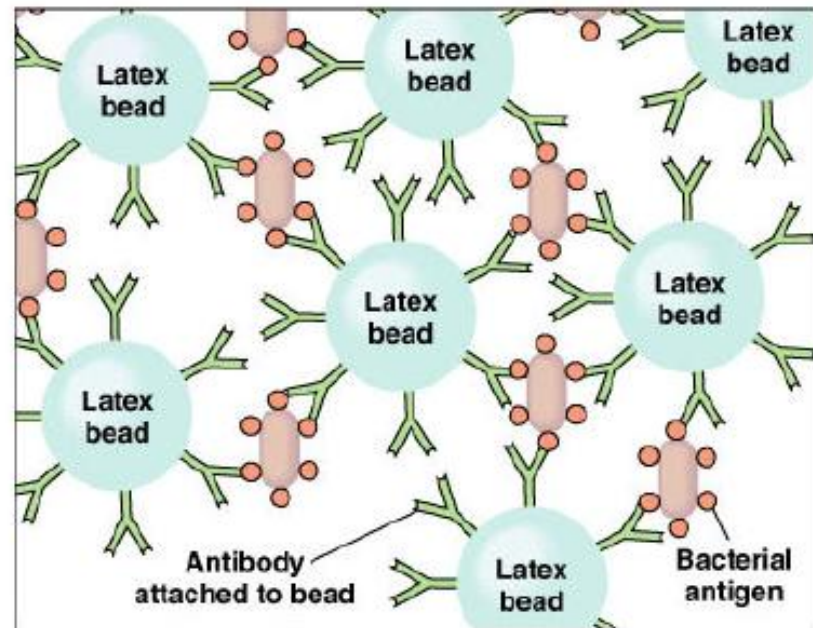
TECNICHE IMMUNOCHEMICHE:

Agglutinazione indiretta

Nei test di agglutinazione indiretta l'antigene solubile si fa assorbire o legare covalentemente a carrier insolubili (es. sfere di lattice)



(a) Reaction in a positive indirect test for antibodies. When particles are coated with antigens, agglutination indicates the presence of antibodies, such as the IgM shown here.



(b) Reaction in a positive indirect test for antigens. When particles are coated with monoclonal antibodies, agglutination indicates the presence of antigens.

TECNICHE IMMUNOCHEMICHE:

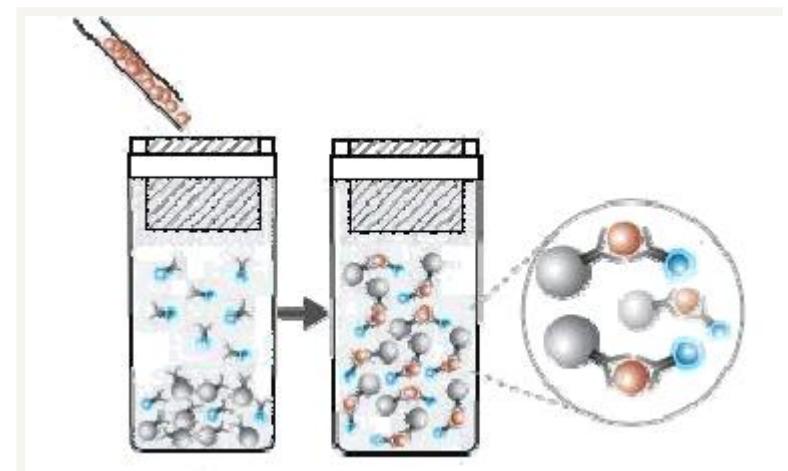
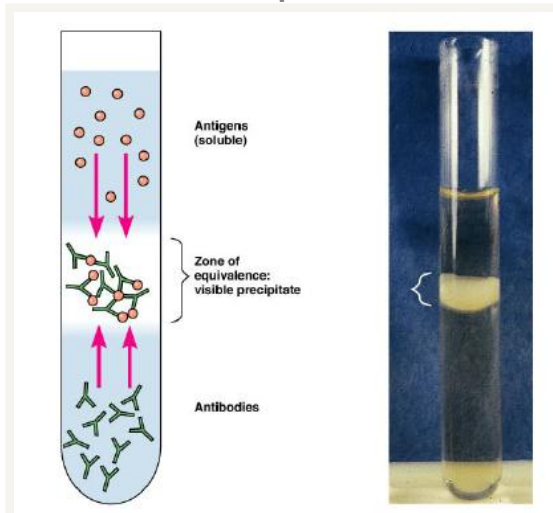
Agglutinazione indiretta: Proteina C reattiva (PCR)

INFEZIONE BATTERICA: ricerca della Proteina C reattiva (CRP), prodotta dal fegato

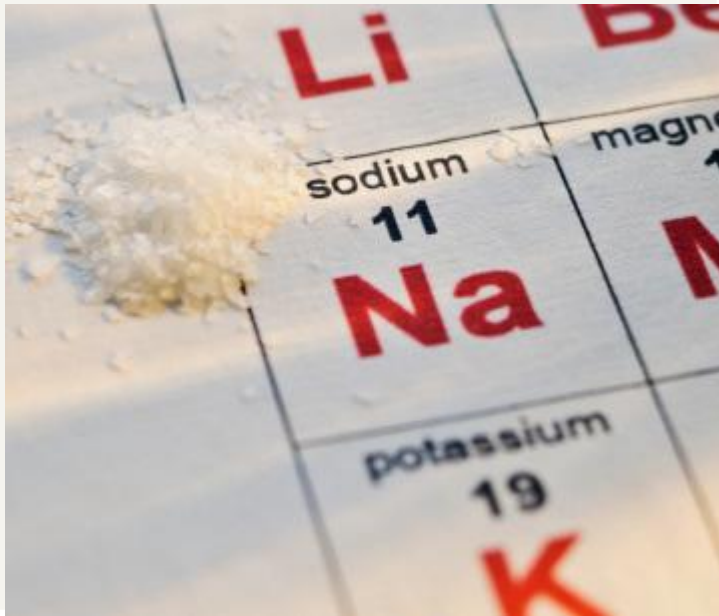
- In vitro lega il polisaccaride C dello Pneumococco
- In vivo può legare: polisaccaridi batterici, funghi, parassiti unicellulari
- Aumenta nelle malattie reumatiche di natura infiammatoria, alcuni tumori e in numerose condizioni patologiche

Test di agglutinazione con un Ab anti-PCR

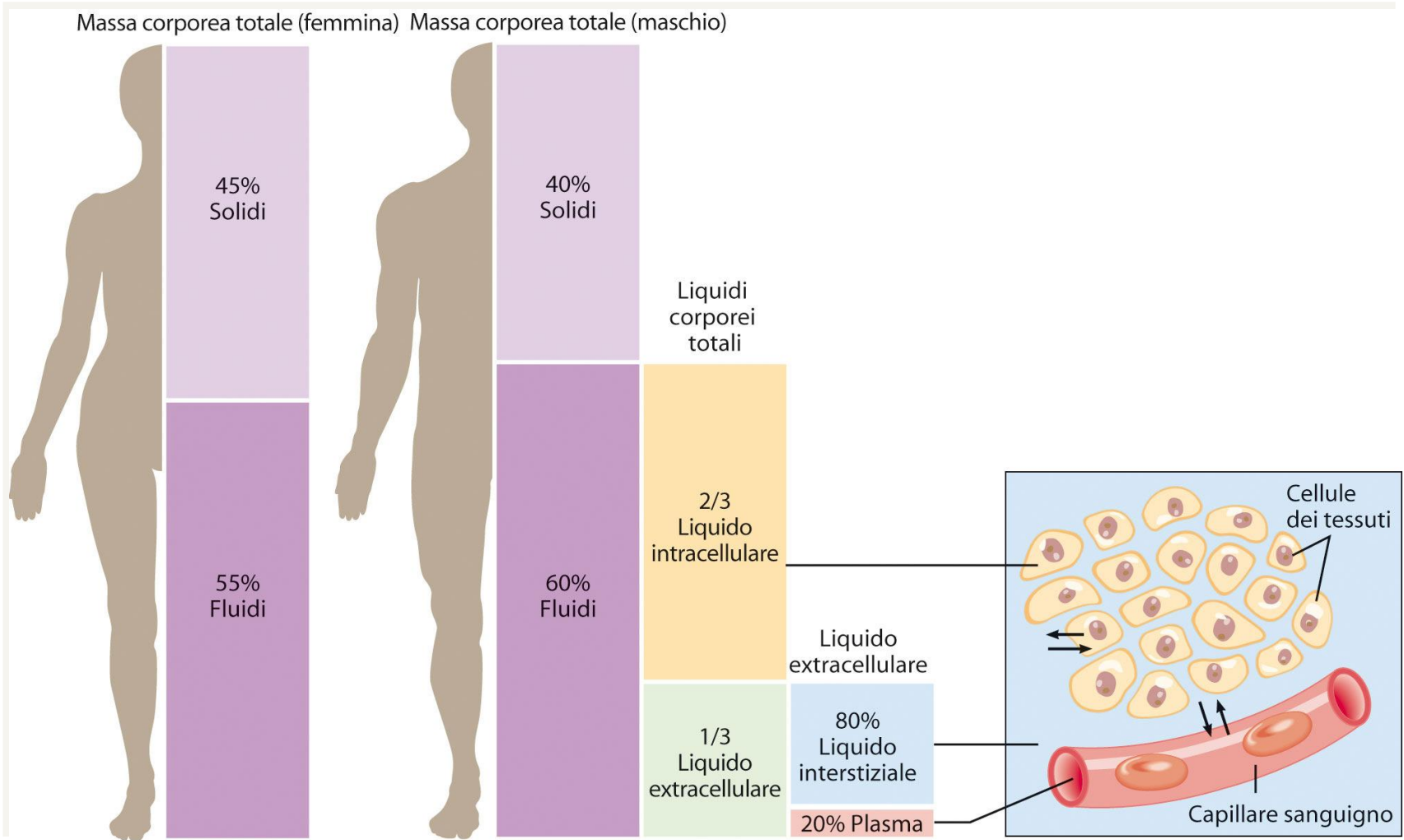
La Proteina C reattiva, contenuta nel siero, causa l'agglutinazione di particelle di lattice ricoperte di anticorpo anti-PCR.



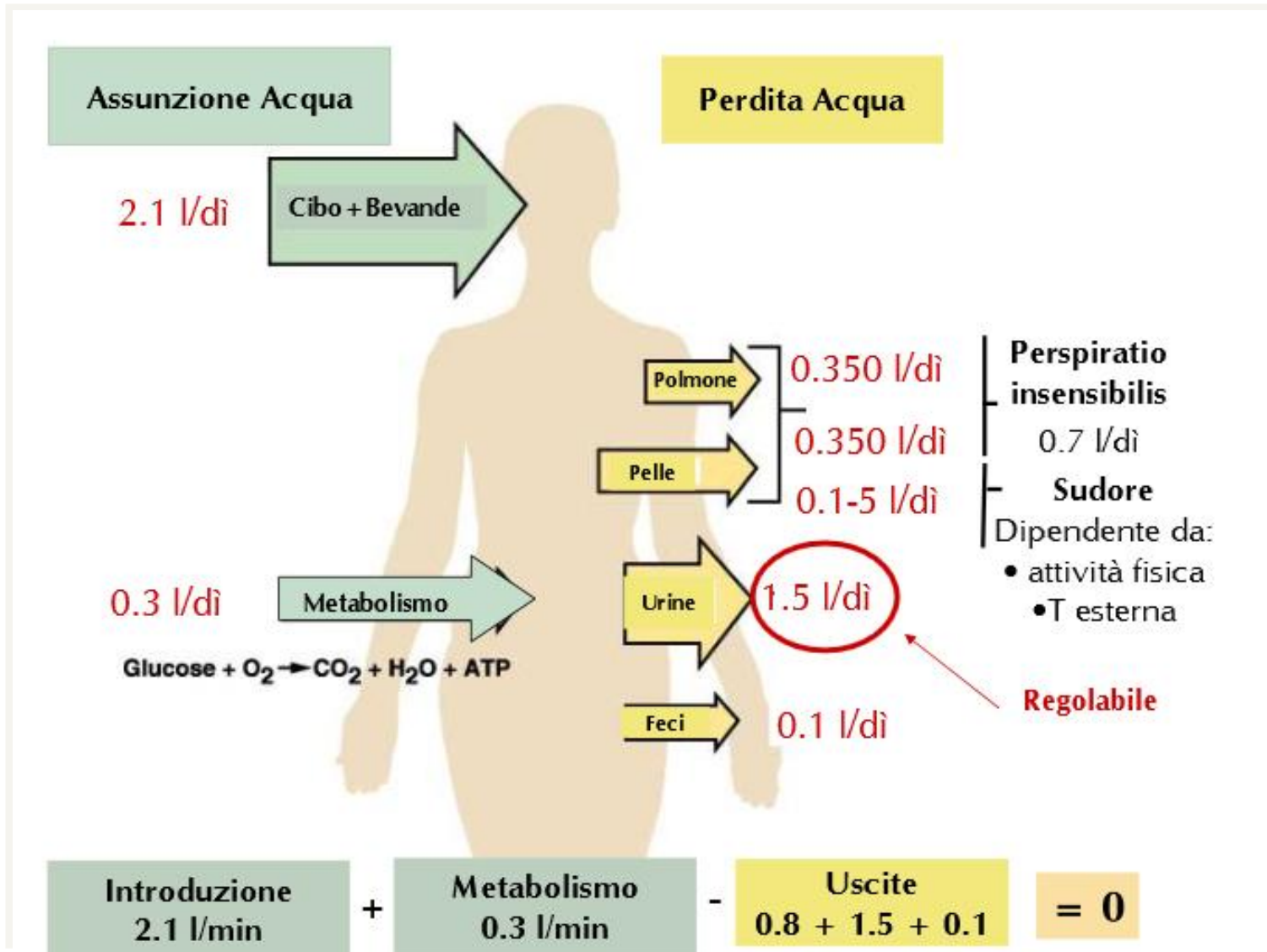
EQUILIBRIO IDRO-ELETTROLITICO ED ACIDO-BASE



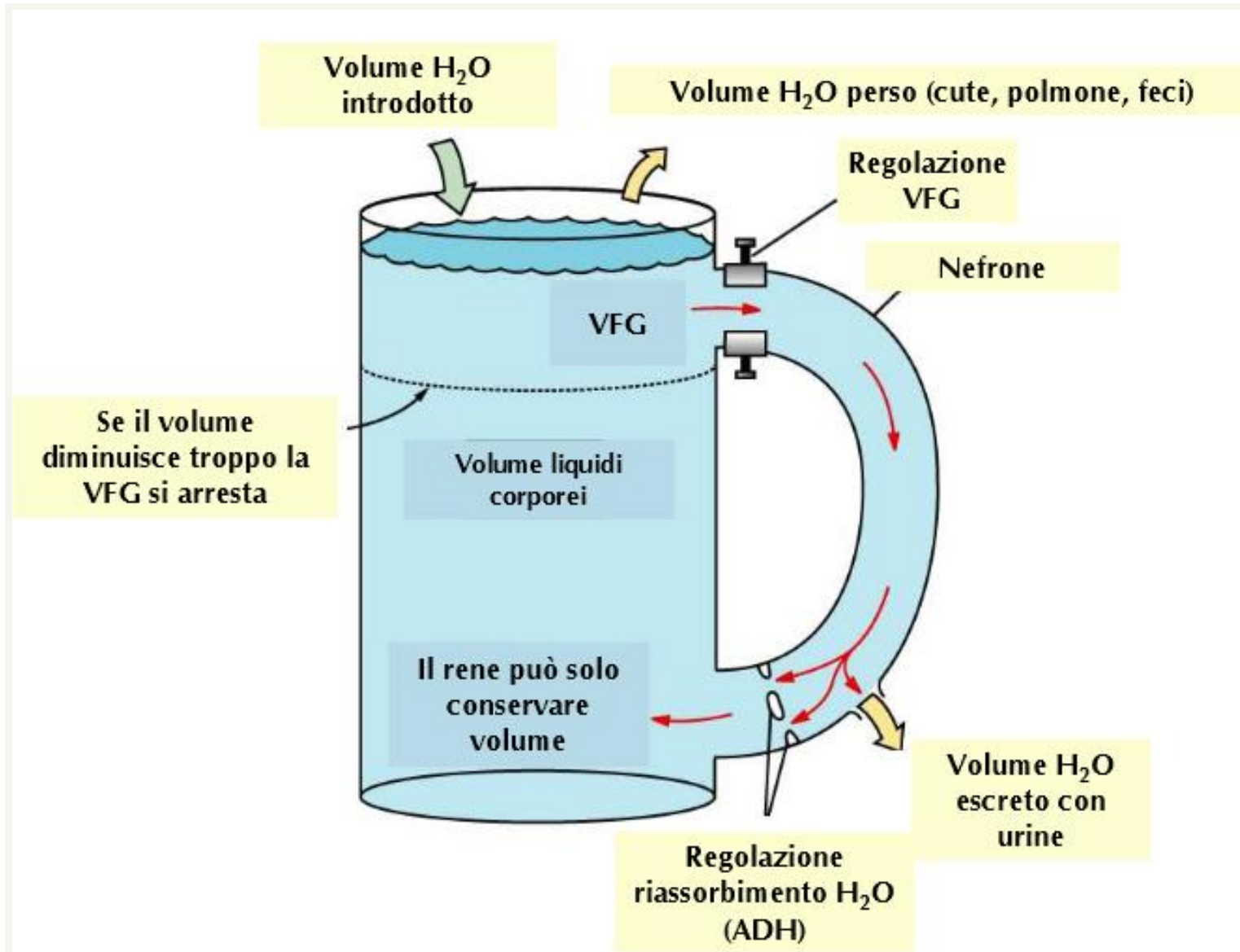
DISTRIBUZIONE LIQUIDI CORPOREI



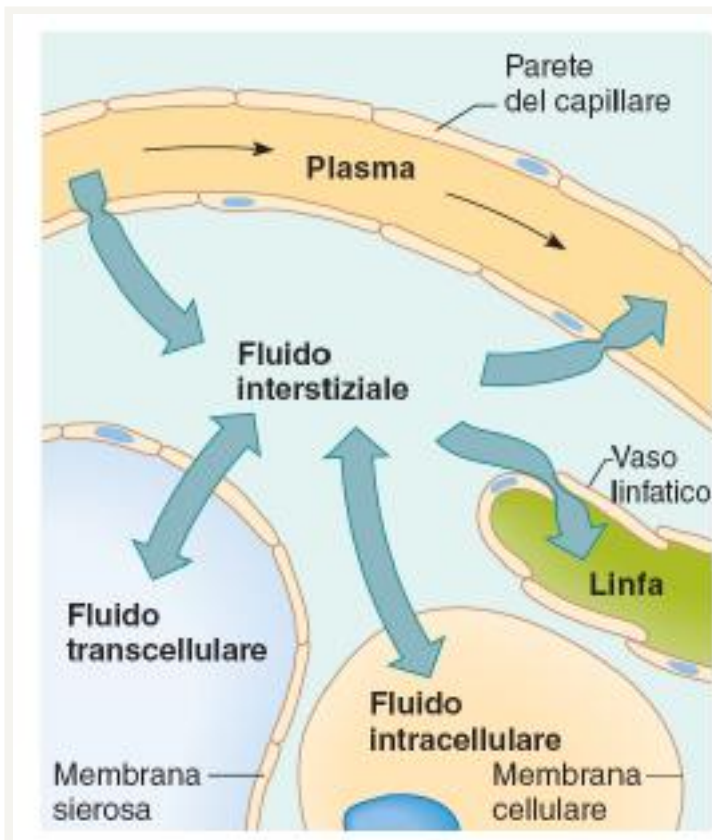
BILANCIO IDRICO



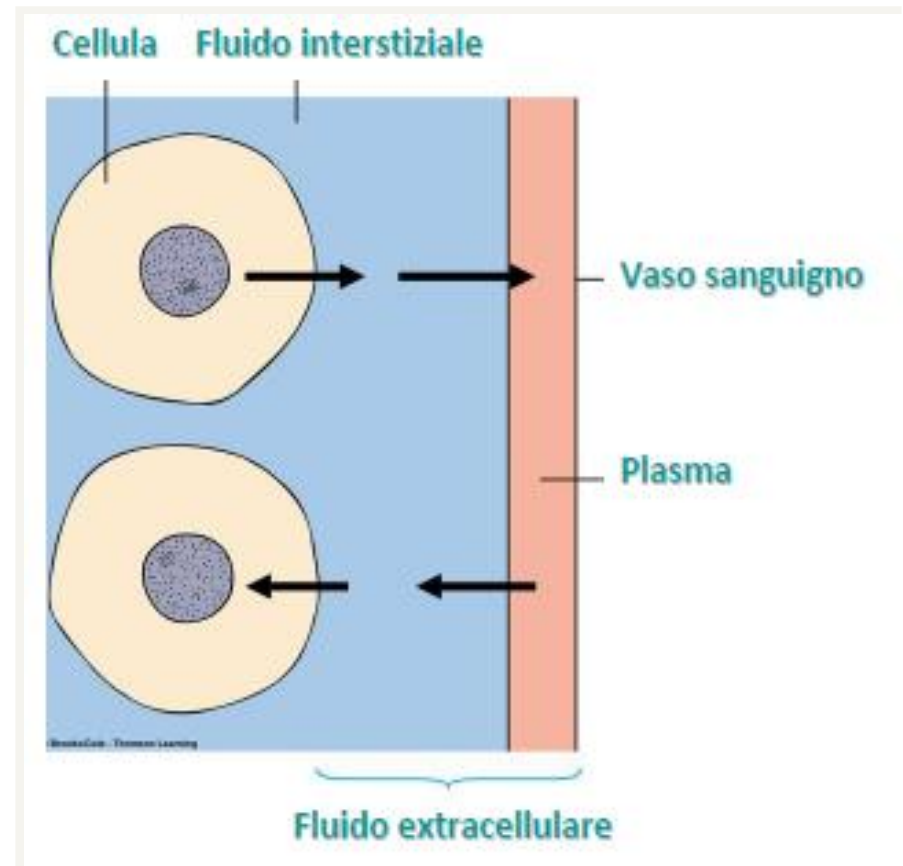
BILANCIO DEI FLUIDI E DEGLI ELETTROLITI



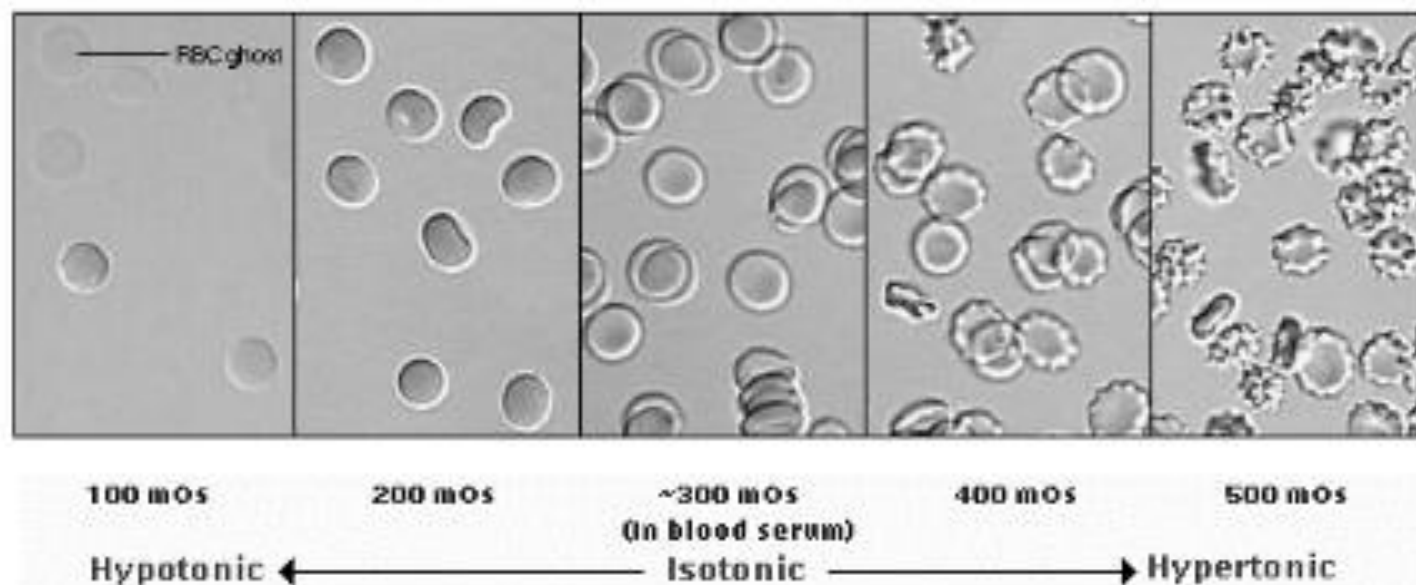
EQUILIBRIO DEI FLUIDI CORPOREI: Pressione osmotica



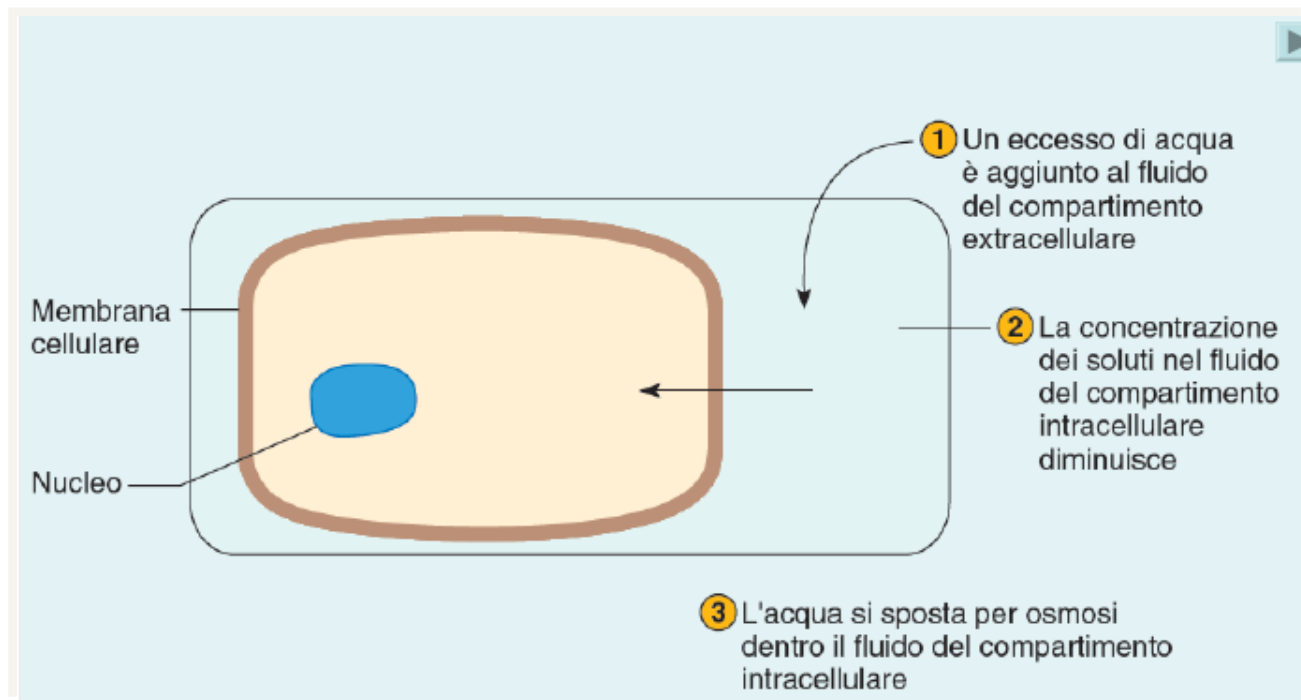
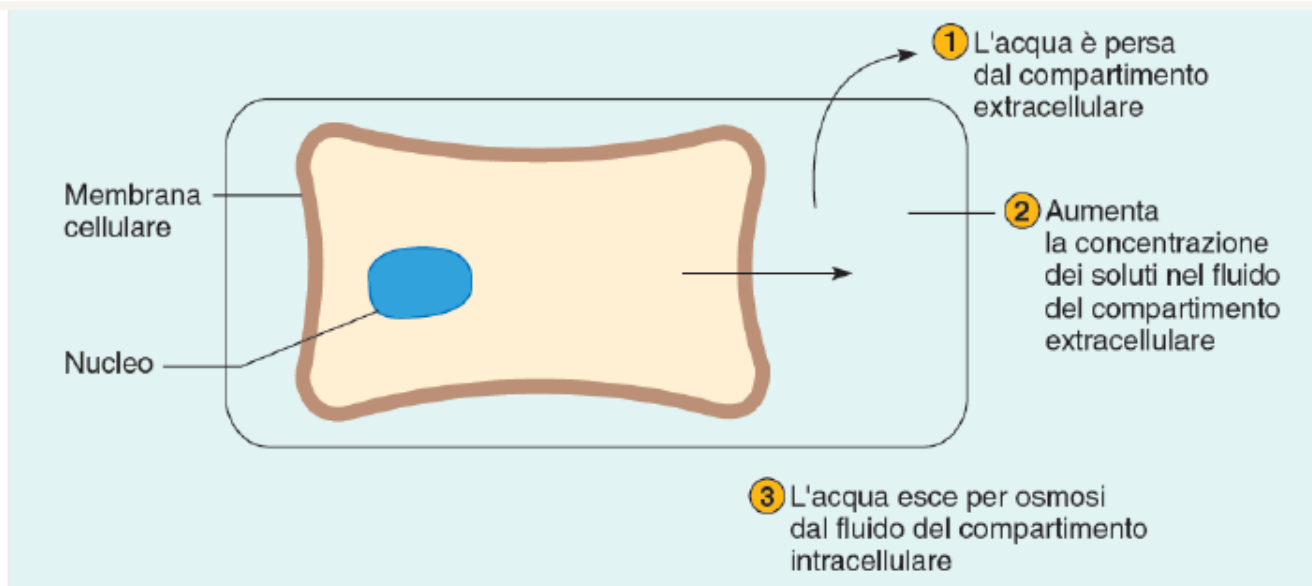
Pressione osmotica e osmolalità uguale



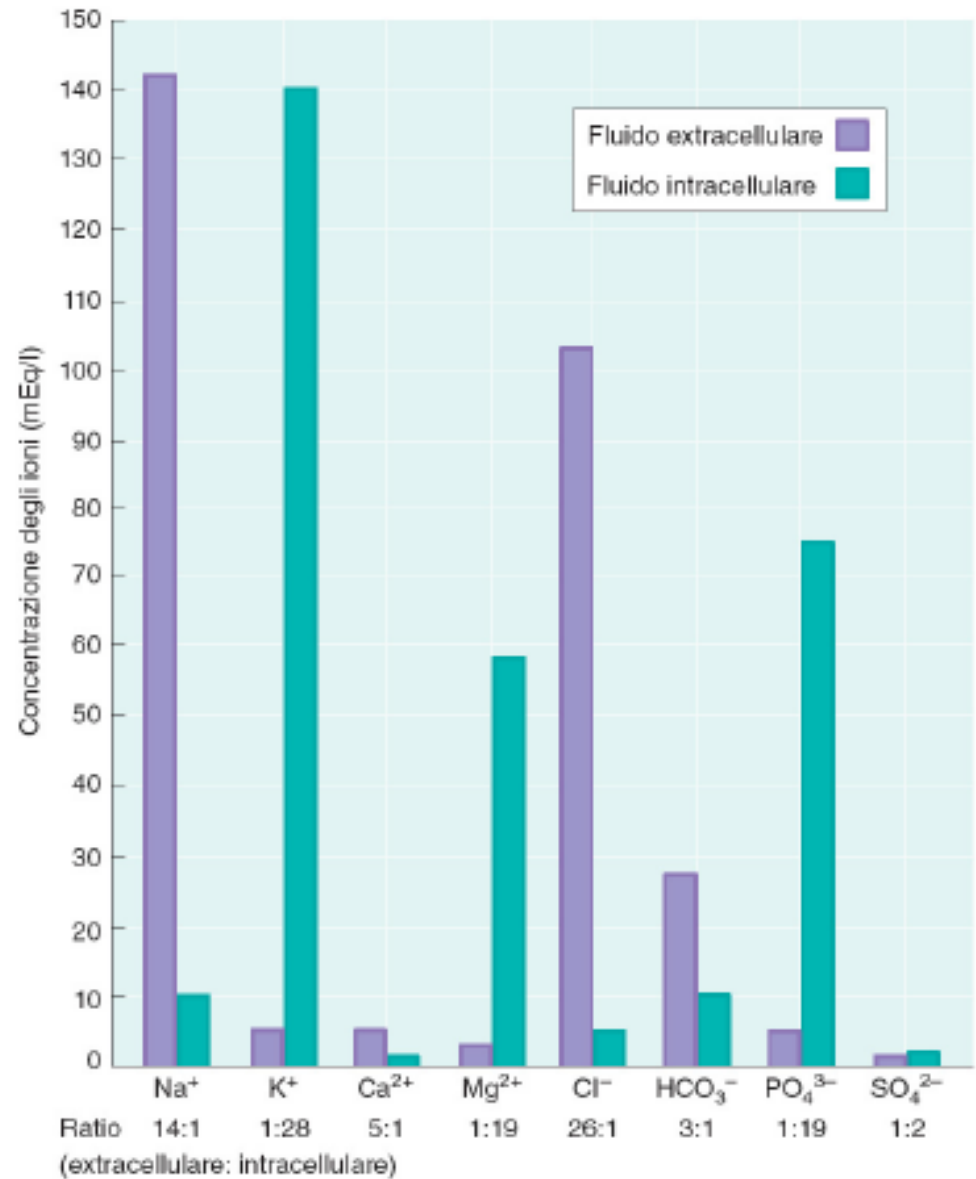
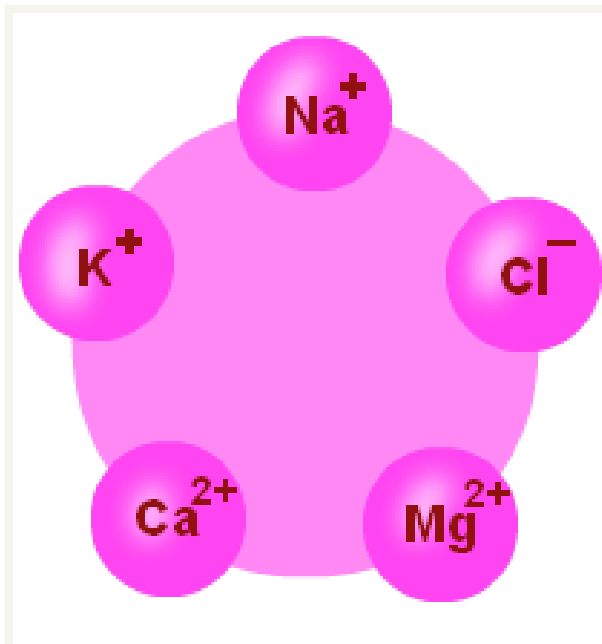
La dimostrazione classica della pressione osmotica e dell'osmosi: eritrociti posti in soluzioni a osmolarità variabile



BILANCIO DEI FLUIDI E DEGLI ELETTROLITI

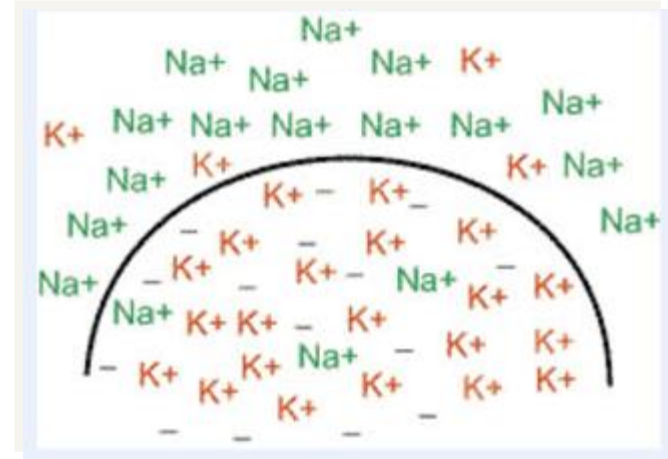


ELETTROLITI



BILANCIO DEGLI ELETTROLITI: sodio

Il sodio rappresenta l'elettrolita principale del liquido extracellulare: il 90% del sodio totale corporeo è contenuto nel compartimento extracellulare



La sua principale funzione è quella di mantenere il volume e la pressione sanguigna, regolando osmoticamente il movimento passivo dell'acqua.

Si usa la fotometria di emissione:

il campione viene eccitato → eccitazione degli elettroni → passaggio sugli orbitali esterni → rilascio di energia nel tornare allo stato fondamentale → emissione colore giallo

INTERVALLI DI RIFERIMENTO:

Siero: 135-145 mmol/L

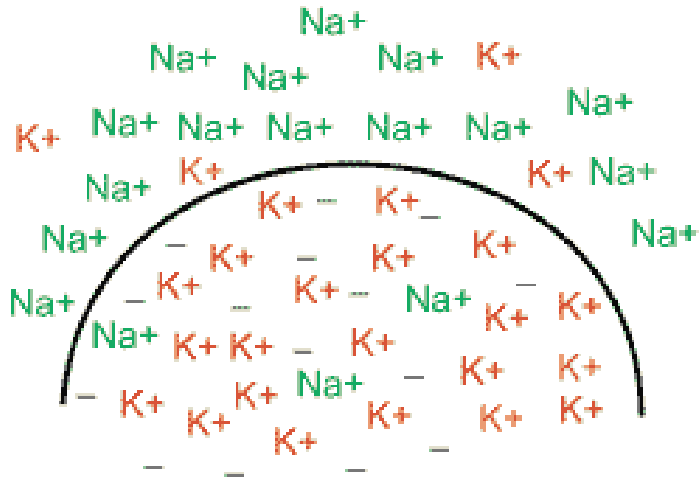
BILANCIO DEGLI ELETTROLITI: dosaggio del sodio

1. I pazienti con iponatremia, dovuta a deplezione di sodio, mostrano segni clinici di perdita di fluidi, per es. ipotensione. Non hanno edema.
2. La terapia dell'iponatremia, dovuta a deplezione di sodio, si deve basare sulla sostituzione di sodio ed acqua, preferibilmente per via orale.
3. I pazienti iponatremici, senza edema, che possiedono valori normali di urea, creatinina, pressione sanguigna, hanno un sovraccarico di acqua. Curati mediante riduzione dell'apporto di fluidi.
4. I pazienti iponatremici, con edema, hanno probabilmente sovraccarico di acqua che sodio. Possono essere curati con diuretici e limitato apporto di fluidi.

1. L'ipernatremia è dovuta, nella maggior parte dei casi, a perdita di acqua (Paziente incapace di bere)
2. L'ipernatremia può essere causata da una perdita sia di acqua sia di sodio, in conseguenza di una diuresi osmotica.
3. Assunzione eccessiva di sodio, particolarmente con l'uso di soluzioni endovenose, può causare ipernatremia

BILANCIO DEGLI ELETTROLITI: potassio

Il potassio è il principale catione intracellulare
(per il 99% è contenuto nelle cellule)



Determina il potenziale di membrana a riposo delle cellule

VALORI di RIFERIMENTO:

Siero: 3,5 - 5 mmol/L

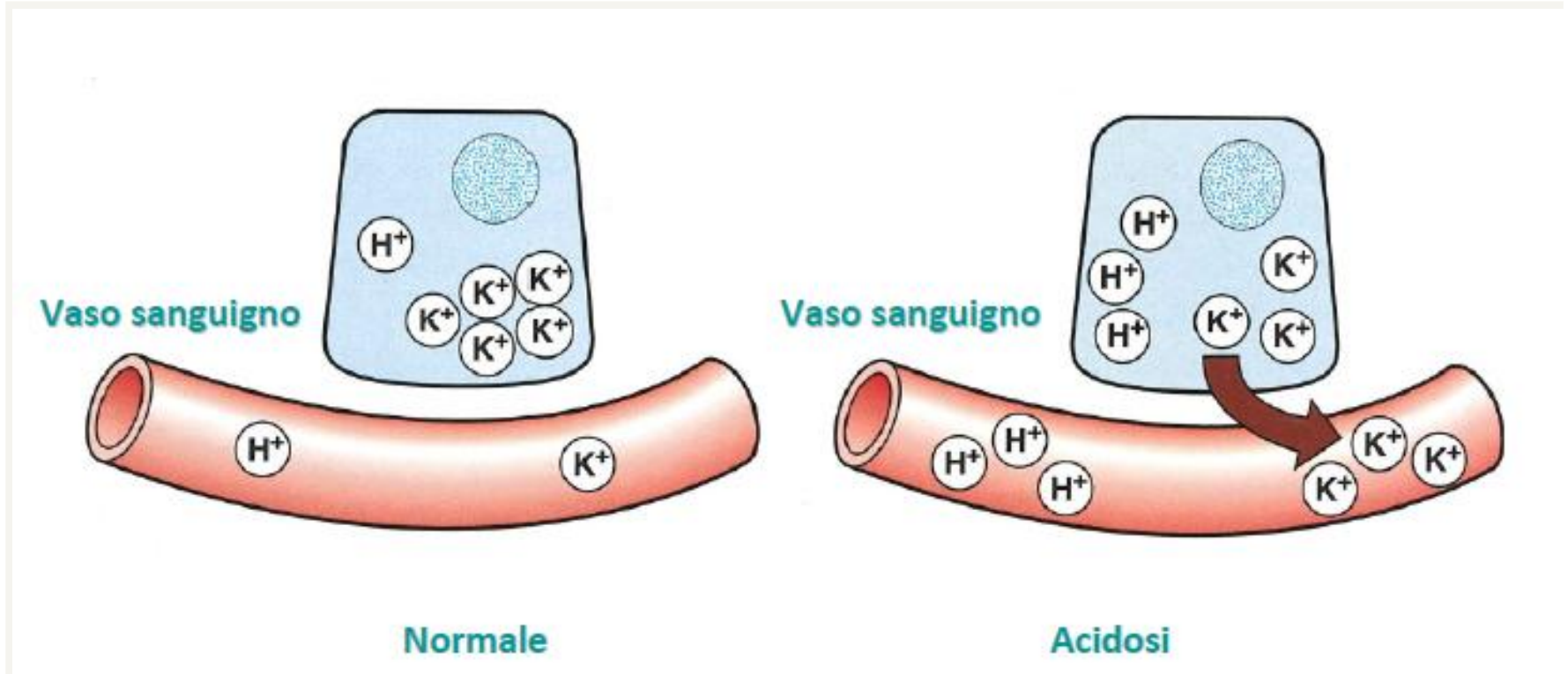
Le piastrine possono rilasciare potassio durante la formazione del coagulo, per cui il plasma è il campione di scelta per il dosaggio.

Si usa la fotometria di emissione:

il campione viene eccitato → eccitazione degli elettroni → passaggio sugli orbitali esterni → rilascio di energia nel tornare allo stato fondamentale → emissione colore rosso

EQUILIBRIO ACIDO-BASE

Di particolare importanza è la relazione tra ioni potassio e idrogeno, tamponati all'interno della cellula. Se la loro [] aumenta con lo sviluppo di acidosi, un certo numero di ioni K^+ viene escreto dalla cellula per mantenere la neutralità causando iperkalemia. L'opposto avviene in presenza di alcalosi metabolica.



BILANCIO DEGLI ELETTROLITI:

dosaggio del potassio

Valori più bassi possono essere causati da eccessiva perdita che può avvenire per via gastrointestinale (vomito, diarrea) o renale (uso di diuretici), farmaci,

SINTOMI

- Debolezza muscolare, mancanza di riflessi, alterazioni neuromuscolari fino alla paralisi
- Compromissione della funzione del tubulo renale
- Aritmie cardiache, arresto cardiaco

TRATTAMENTO

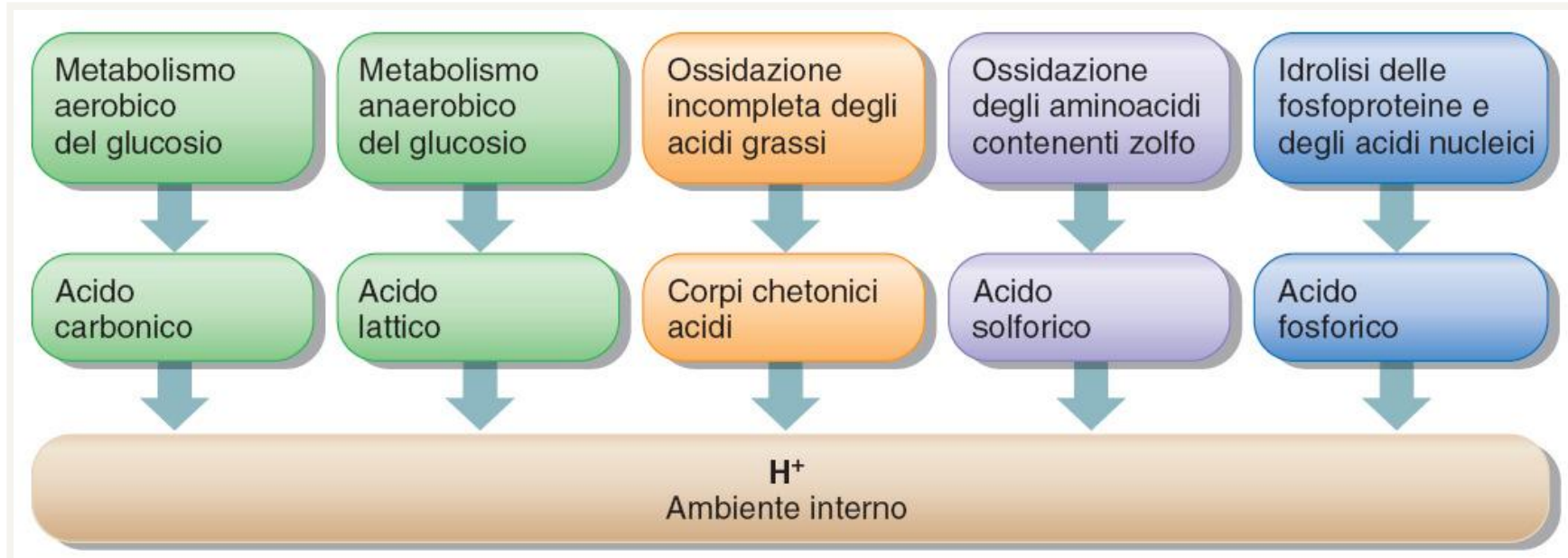
Somministrazione di sali di potassio per via endovenosa sotto monitoraggio ECG

L'iperpotassiemia causa debolezza muscolare; è associata ad insufficienza renale; si possono riscontrare anche in tutte quelle circostanze associate a danno cellulare, acidosi.

Gli effetti tossici più importanti dell'iperkaliemia sono le aritmie cardiache: nelle fasi finali si può avere fibrillazione atriale e successivo arresto cardiaco.

EQUILIBRIO ACIDO-BASE

E' l'insieme dei processi fisiologici che l'organismo mette in atto per mantenere al suo interno un livello di acidità compatibile con lo svolgimento delle principali funzioni metaboliche.



$$\text{pH} = \log 1/[\text{H}^+] = - \log [\text{H}^+]$$

Sangue arterioso pH = 7.4

Sangue venoso pH = 7.35

pH inferiori = acidosi (limite pH = inizio 7,36- max 6.8)

pH superiori = alcalosi (limite pH inizio 7,44- max 7.8)

pH intracellulare = 6 - 7.4

pH urina 4.5 - 8

EQUILIBRIO ACIDO-BASE: sistemi tampone

I tamponi sono sostanze che agiscono in modo rapido per legare temporaneamente gli ioni H^+ , rimuovendone l'eccesso da una soluzione corporea.

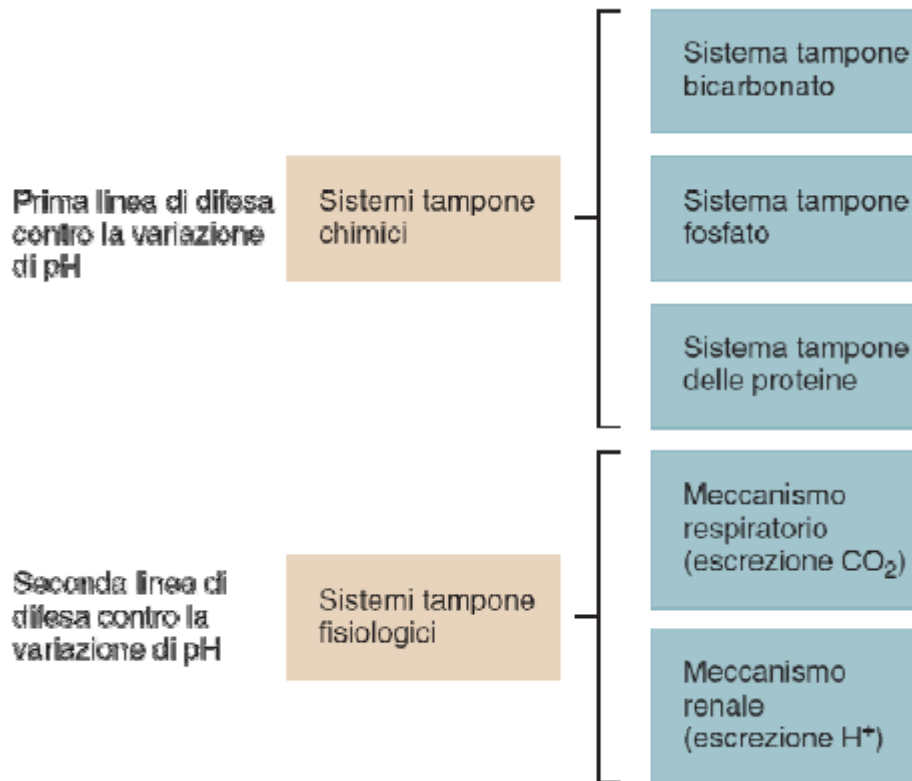
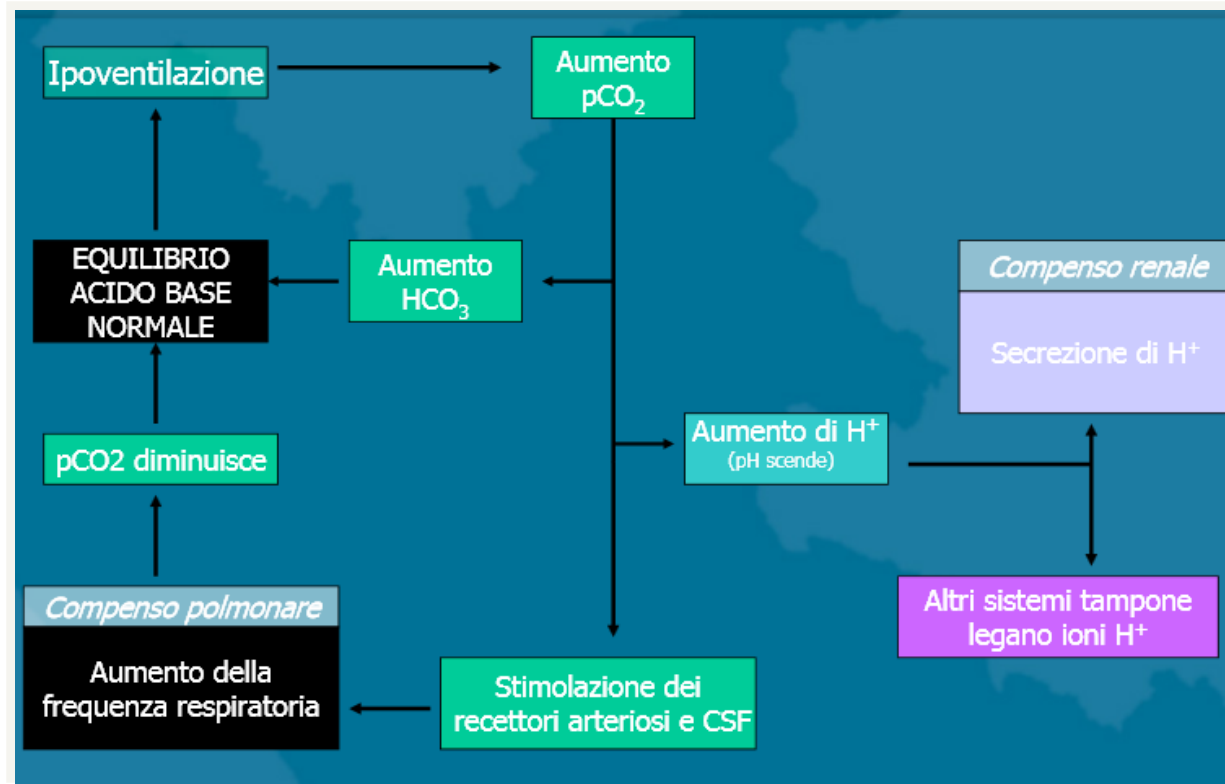


TABELLA 21.3 | Sistemi tampone acido-base chimici

Sistema tampone	Costituenti	Azioni
Bicarbonato	Ione bicarbonato (HCO_3^-)	Converte un acido forte in un acido debole
	Acido carbonico (H_2CO_3)	Converte una base forte in una base debole
Fosfato	Ione monoidrogeno-fosfato (HPO_4^{2-})	Converte un acido forte in un acido debole
	Diidrogenofosfato ($H_2PO_4^-$)	Converte una base forte in una base debole
Proteine (e aminoacidi)	Gruppo $-NH_3^+$ di un aminoacido o proteina	Rilascia ioni idrogeno in presenza di eccesso di base
	Gruppo $-COO^-$ di un aminoacido o proteina	Accetta ioni idrogeno in presenza di eccesso di acido

EQUILIBRIO ACIDO-BASE: acidosi respiratoria

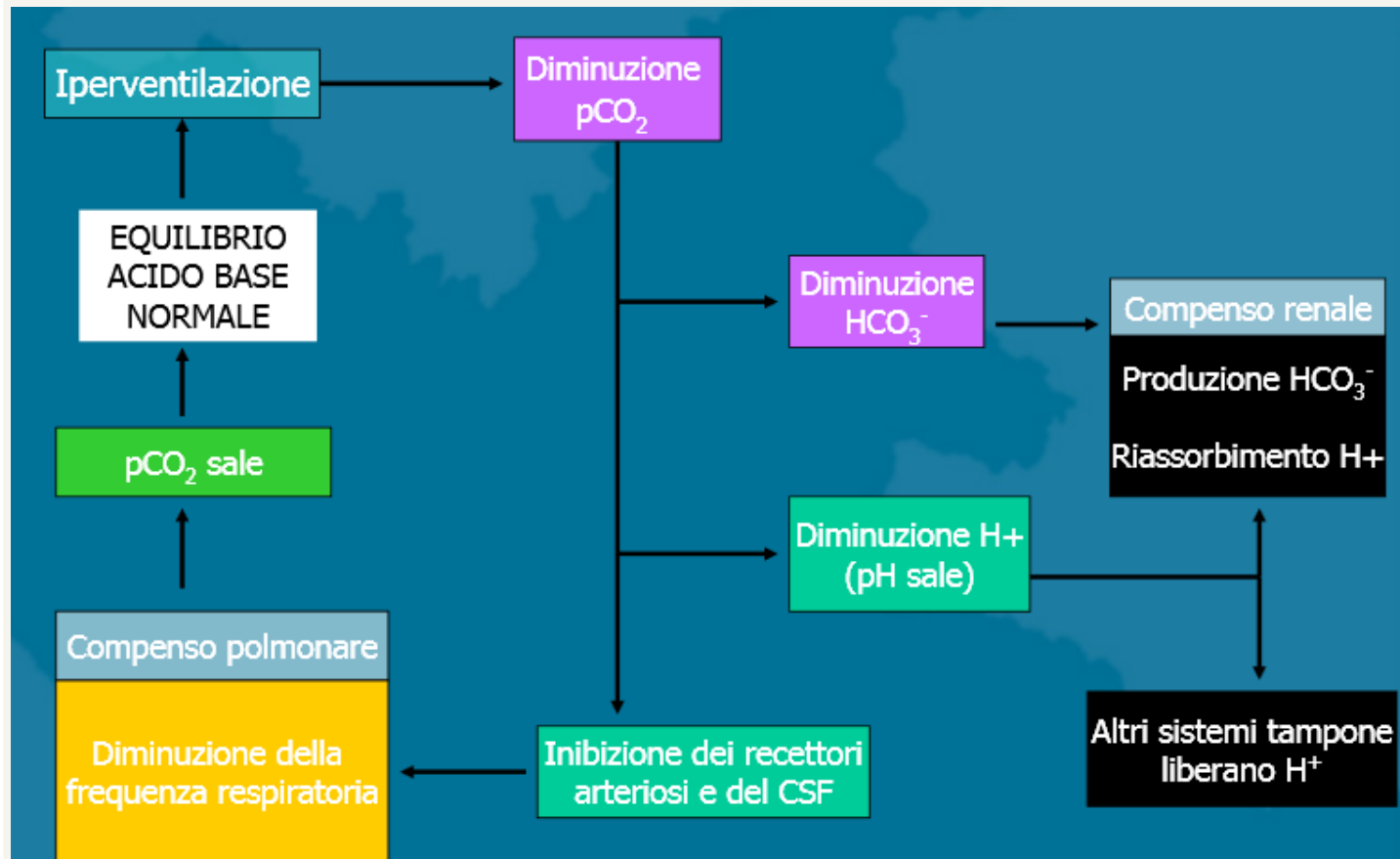
- E' l'alterazione più frequente
- Si realizza quando l'apparato respiratorio è incapace di eliminare la CO_2 prodotta dai tessuti ($\uparrow \text{pCO}_2$ e $[\text{H}^+]$)
- La CO_2 viene idratata e si dissocia poi in H^+ e HCO_3^-
- Una volta saturati i tamponi il pH inizia a scendere



EQUILIBRIO ACIDO-BASE: alcalosi respiratoria

Si sviluppa quando la respirazione è forzata e non più sottoposta a controllo feedback.

Durante iperventilazione il pH sale e alcune funzioni del SNC vengono alterate; compaiono parestesie alle mani, ai piedi, alle labbra, sensazione di testa vuota, talvolta perdita di coscienza



EQUILIBRIO ACIDO-BASE: acidosi metabolica

Riconosce tre cause principali:

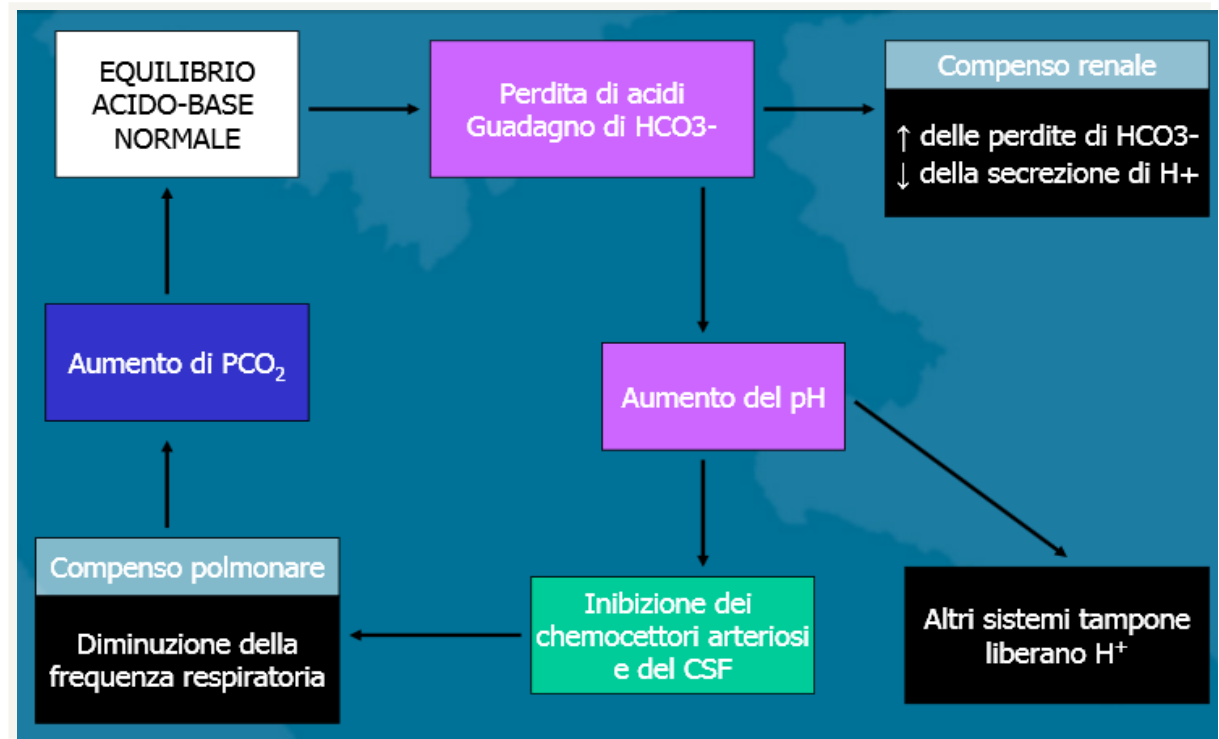
- Ridotta capacità renale di escrezioni di ioni H^+ → tutte le condizioni di grave danno renale
- Produzione di una gran quantità di acidi → acidosi lattica, chetoacidosi
- Gravi perdite di bicarbonato → diarrea cronica

Il compenso implica meccanismi respiratori e renali → gli H^+ in eccesso si legano agli ioni bicarbonato formando CO_2 e acqua; la CO_2 viene poi eliminata dai polmoni mentre i reni operano un'eliminazione supplementare di H^+ nell'urina e producono ioni bicarbonato.



EQUILIBRIO ACIDO-BASE: alcalosi metabolica

E' solitamente dovuta a perdita di ioni idrogeno nel fluido gastrico durante il vomito, deficit di potassio o assunzione di bicarbonato di sodio.



Equilibrio acido-base: definizioni

Acidemia	pH < 7.36
Alcalemia	pH > 7.44
Acidosi	Processo fisiopatologico che tende ad aumentare [H+] e a ridurre il pH
Alcalosi	Processo fisiopatologico che tende a ridurre [H+] e ad aumentare il pH
Acidosi metabolica	processo che primitivamente riduce HCO₃
Alcalosi metabolica	processo che primitivamente aumenta HCO₃
Acidosi respiratoria	processo che primitivamente aumenta la PaCo₂
Alcalosi respiratoria	processo che primitivamente riduce la PaCO₂
Disordine misto	Condizione nella quale è presente più di un disturbo acido-base primitivo
Compenso	Risposta fisiologica all'acidosi o all'alcalosi, che determina un parziale ritorno del pH verso i livelli normali

EMOGAS ANALISI

Il sangue (in genere arterioso) prelevato con anticoagulanti (litio eparina)

Il prelievo non deve avere scambi gassosi con l'esterno.



Valori di riferimento:

pH: 7.35-7.45

PaO₂: > 80 mmHg

PaCO₂: 35- 45 mmHg

HCO₃⁻: 23-25 mmol/L

EMOGAS ANALISI

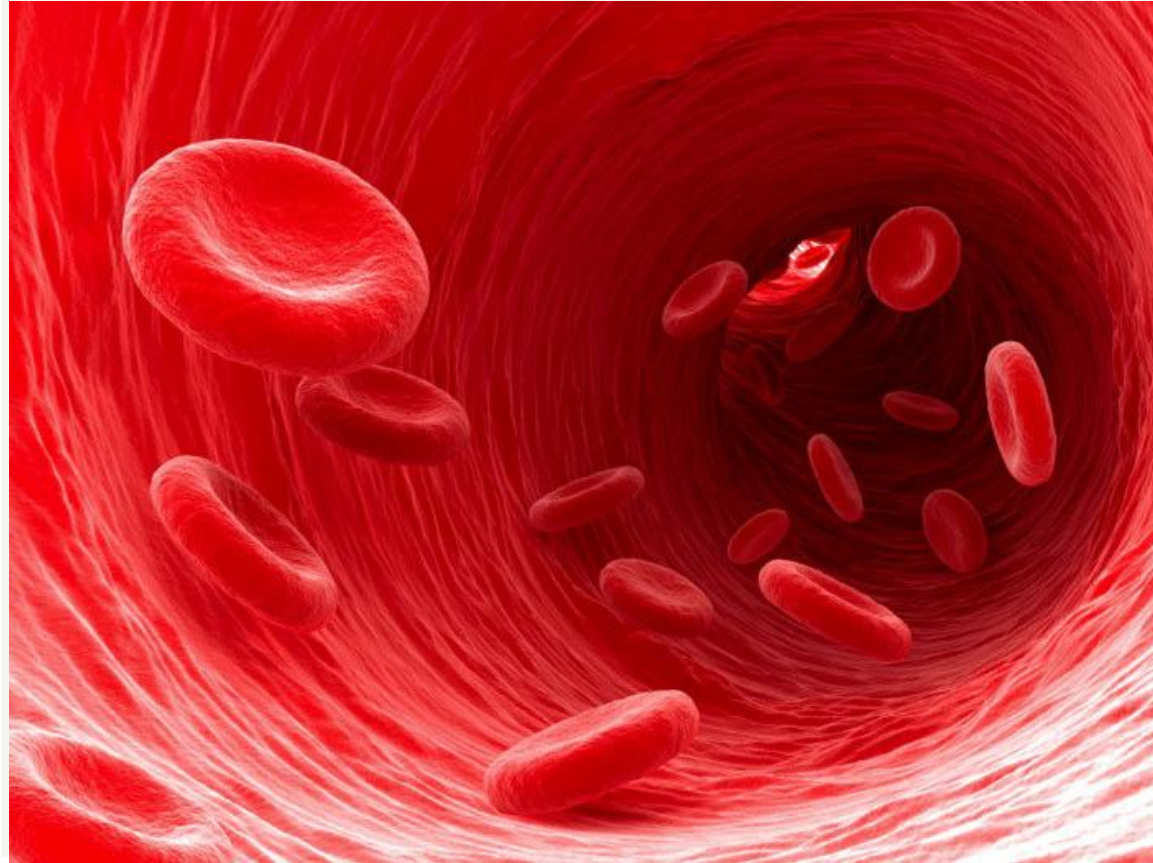
Processato (5-10') dal prelievo:

1. pO_2 diminuisce
2. pCO_2 aumenta
3. pH varia per la produzione di CO_2 e per la glicolisi
4. Glucosio diminuisce
5. Lattato aumenta

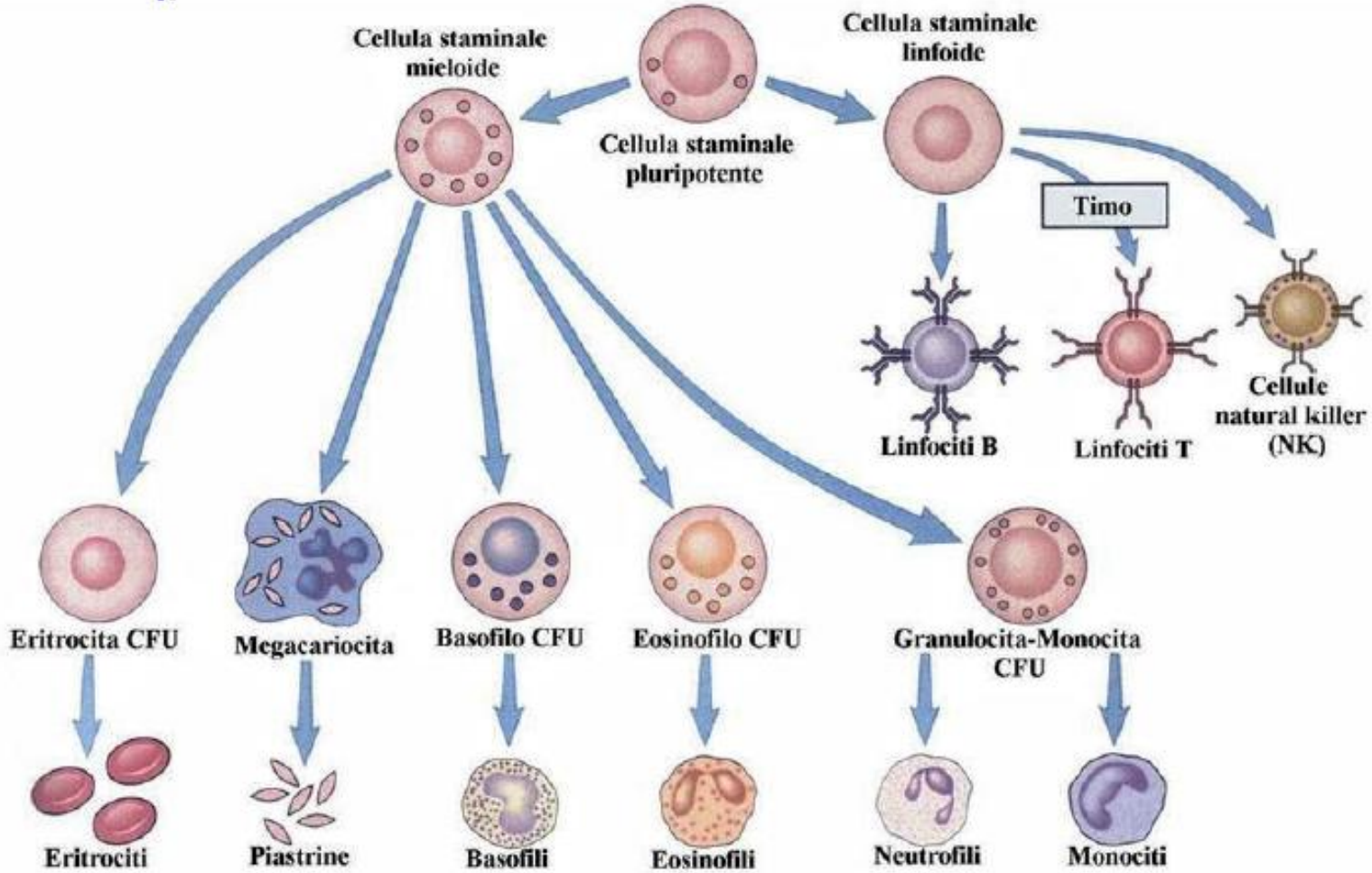
EMOGAS ANALISI









<i>Disordine</i>	pH	[HCO ₃]	pCO ₂	<i>Caratteristiche</i>	<i>Terapia</i>
<u><i>Acidosi Respirat.</i></u>	↓	↑	↑	Causata da ipoventilazione e aumento di CO ₂ nei tessuti e nel sangue	Migliorare ventilazione, anche con VM
<u><i>Acidosi Metabol.</i></u>	↓	↓	↓	Da aumento degli acidi organici o non volatili; da ridotta escrezione di H ⁺ o perdita di HCO ₃ ⁻ con feci o urine	Somministrazione graduale di bicarbonato; correggere la causa iniziale
<u><i>Alcalosi Respirat.</i></u>	↑	↓	↓	Da iperventilazione con riduzione livelli plasmatici di CO ₂	Ridurre frequenza respiratoria (o utilizzare sacchetto di carta)
<u><i>Alcalosi Metabol.</i></u>	↑	↑	↑	Da vomito prolungato	Correggere il vomito; se pH > 7.55 utilizzare cloruro d'ammonio

DIAGNOSTICA IN EMATOLOGIA



EMOPOIESI



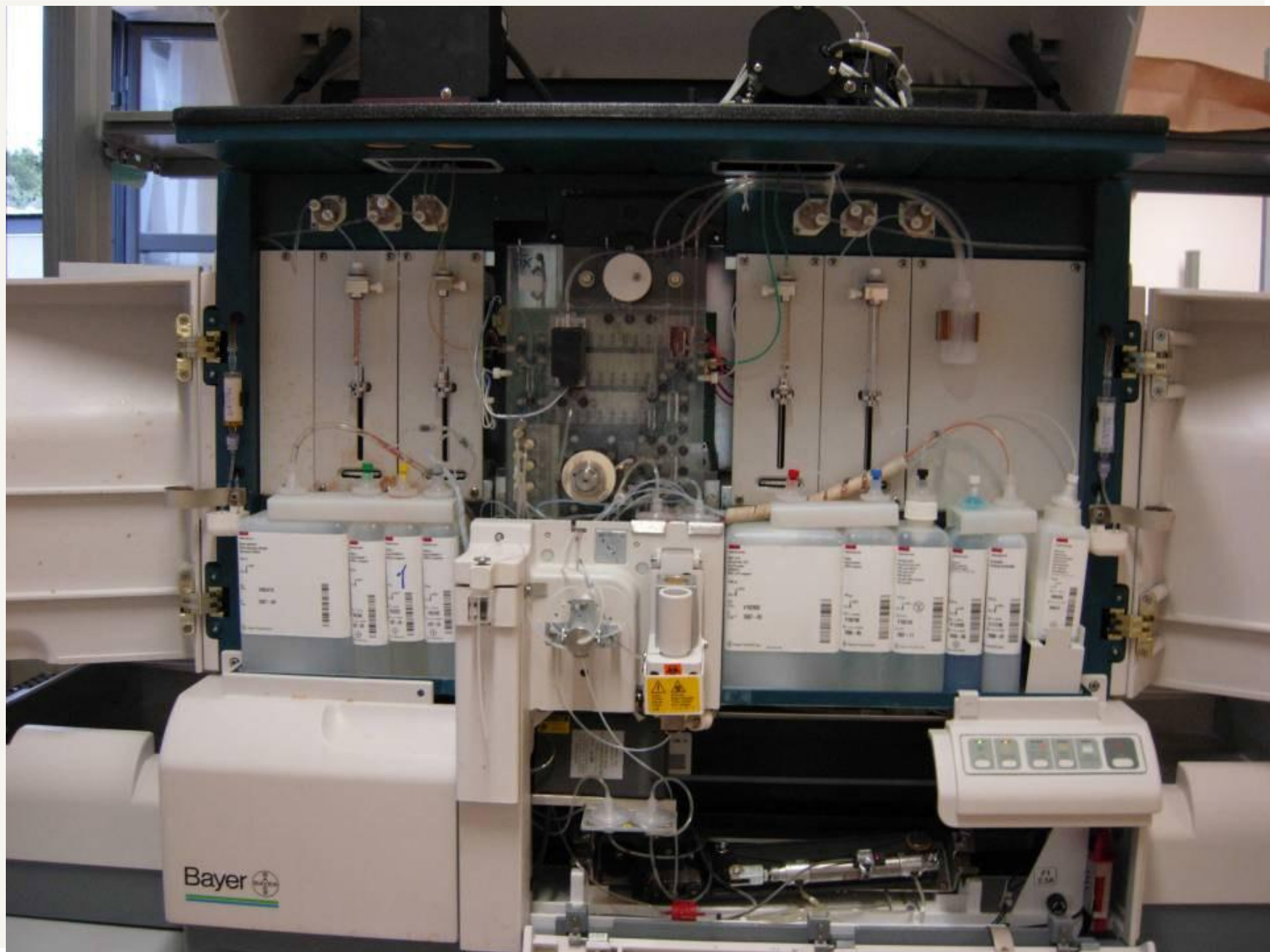
CELLULE EMATICHE	DURATA IN CIRCOLO	FUNZIONE
 eritrocita	120 giorni	trasporto di ossigeno
 monocita	3 giorni	difesa dell'organismo, sorveglianza immunitaria (precursore dei macrofagi dei tessuti)
 neutrofilo	7 ore	difesa dell'organismo
 eosinofilo	?	difesa dell'organismo, contro i parassiti, allergie
 basofilo	?	infiammazione e allergia
 piastrine	7-8 giorni	coagulazione del sangue
 linfocita T	forse qualche anno	immunità cellulare
 linfocita B	?	difese anticorpali (precursore delle plasmacellule)

GRANULOCITI

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO

- ❖ Conta globuli rossi (RBC)
- ❖ Conta globuli bianchi (WBC)
- ❖ Conta piastrine (PLTS)
- ❖ Dosaggio Emoglobina (Hb)
- ❖ Ematocrito (Ht o PCV)
- ❖ Formula leucocitaria (Neutrofili, Eosinofili, Basofili, Linfociti, Monociti)

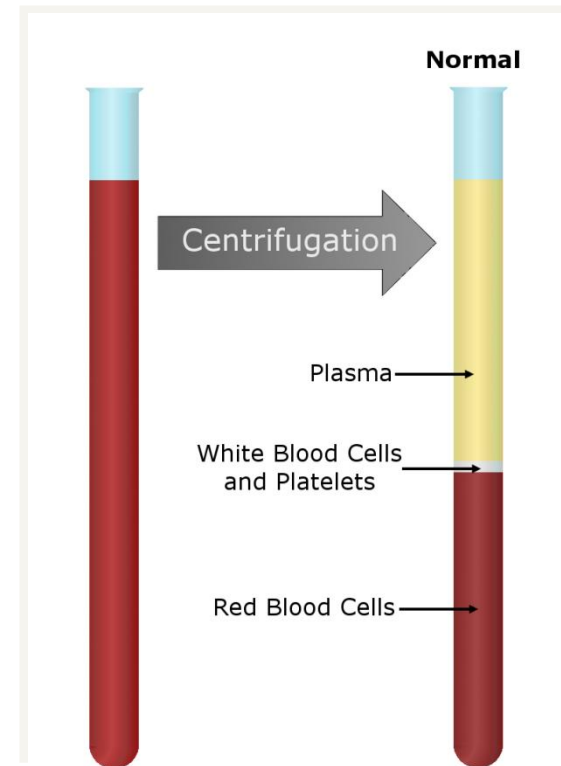
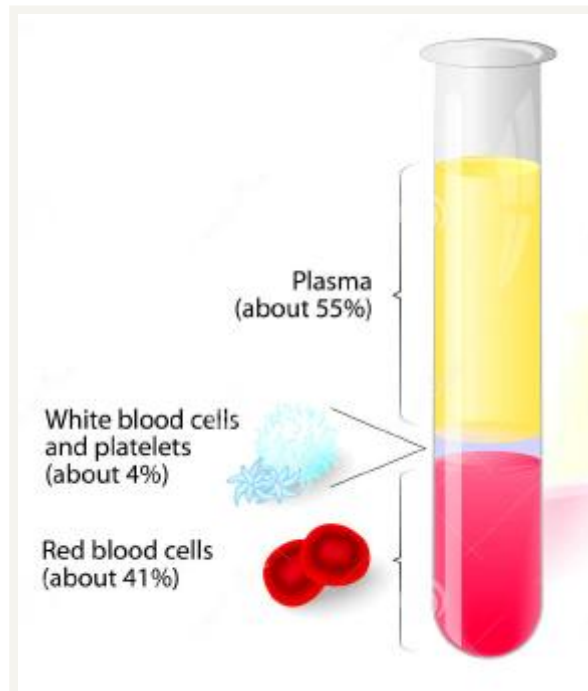




EMATOCRITO (Ht%)

Esprime la % del volume degli elementi corpuscolati sul volume totale di sangue

- Uomini 0.37 – 0.54 L/L
- Donne 0.33 – 0.47 L/L

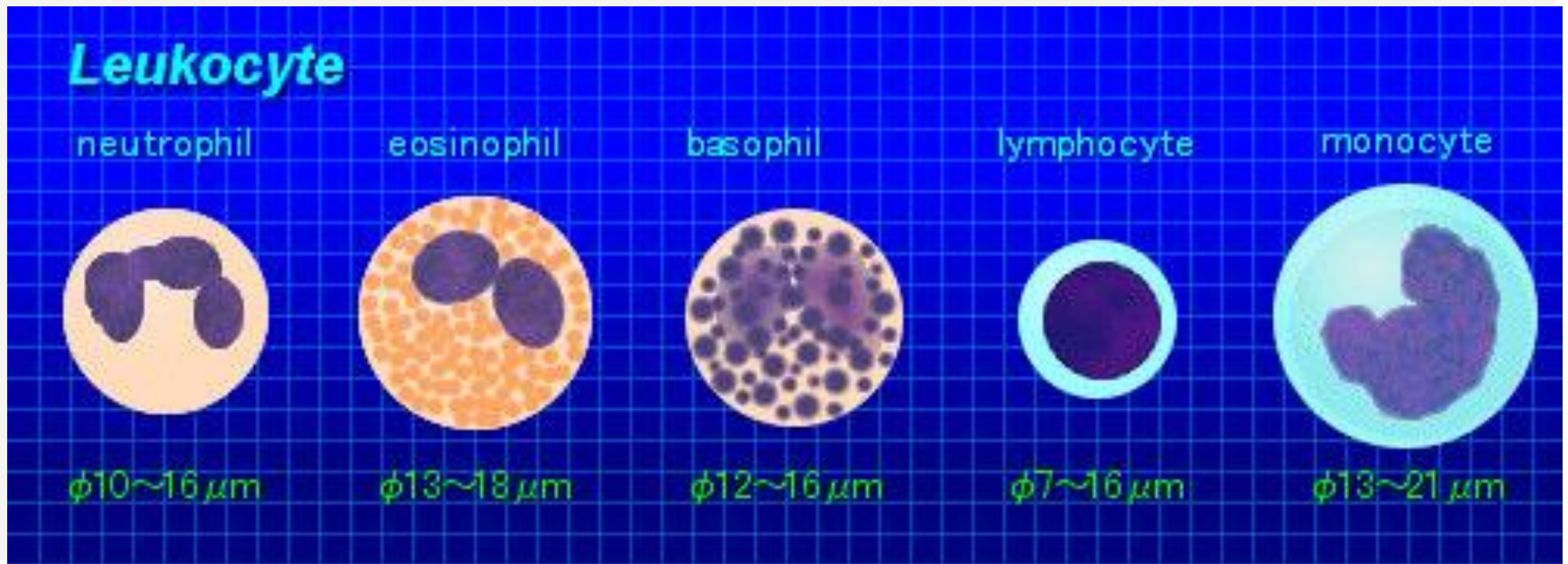


Anticoagulanti

EDTA tripotassico (1.5 mg/mL)

Eparina

GLOBULI BIANCHI



Valori normali

$4.3 - 10 \times 10^9 / \text{L}$ adulti

$18 \pm 8 \times 10^9 / \text{L}$ neonati

Neutrofili 35-71%

Linfociti 20-53%

Monociti 1-9%

Eosinofili 0.5-8%

Basofili 0-2%

EMOGLOBINA (Hb)

Metodo misura:

cianuro di K e ferricianuro di K (reagente di Drabkin) cianmetaemoglobina (ABS 540 nm)

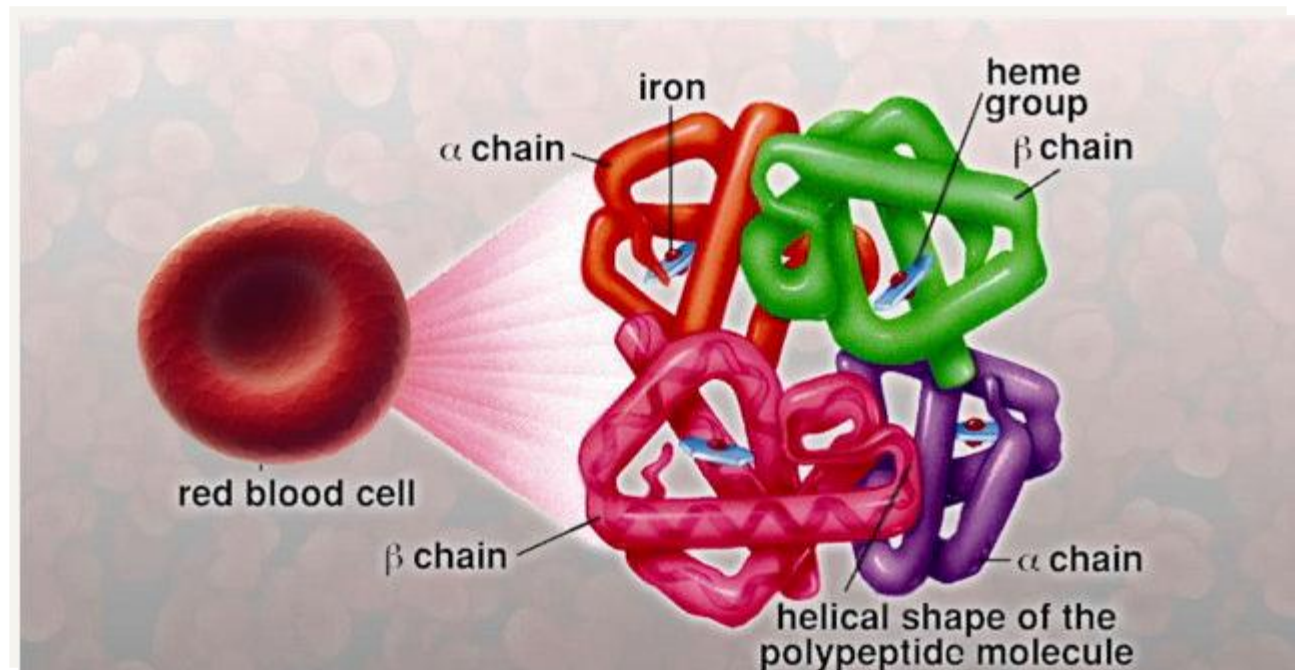
Valori di riferimento

110 g/L bambini

120-160 g/L donne

110 g/L donne in gravidanza

130-170 g/L uomini



GLOBALI ROSSI

Reticolociti (0.5 – 1.5%): Globuli rossi immaturi, i cui ribosomi reagiscono con alcuni coloranti (Blu di cresile/Blu di metilene) precipitando a formare granuli o filamenti

Valori di riferimento

4.6 – 5.8 x 10¹² /L uomini
4.2 – 5 x 10¹² /L donne

In condizioni fisiologiche in vitro:

Diametro : 7 - 8 µm
Area superficiale : 130 - 140 µm²
Volume : 90 - 100 µm³

Indici ematici

MCV: Volume Corpuscolare Medio (Ht/N°GR)

Valori di riferimento

83-97 fl

MCH: Quantità media Hb nei GR (Hb/N° GR)

27-31 pg

MCHC: [Hb] eritrocitaria media (Hb/Ht% X 100)

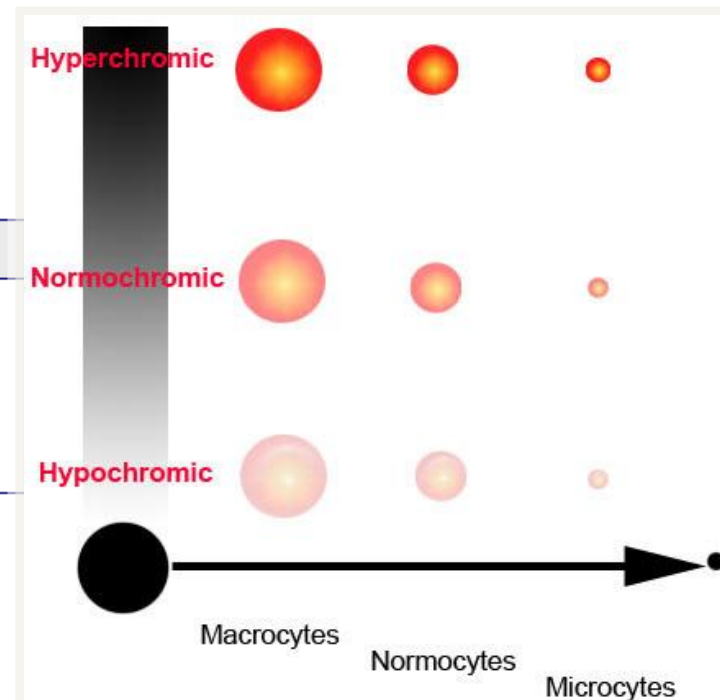
~33%

MPV: Volume Medio Piastrine

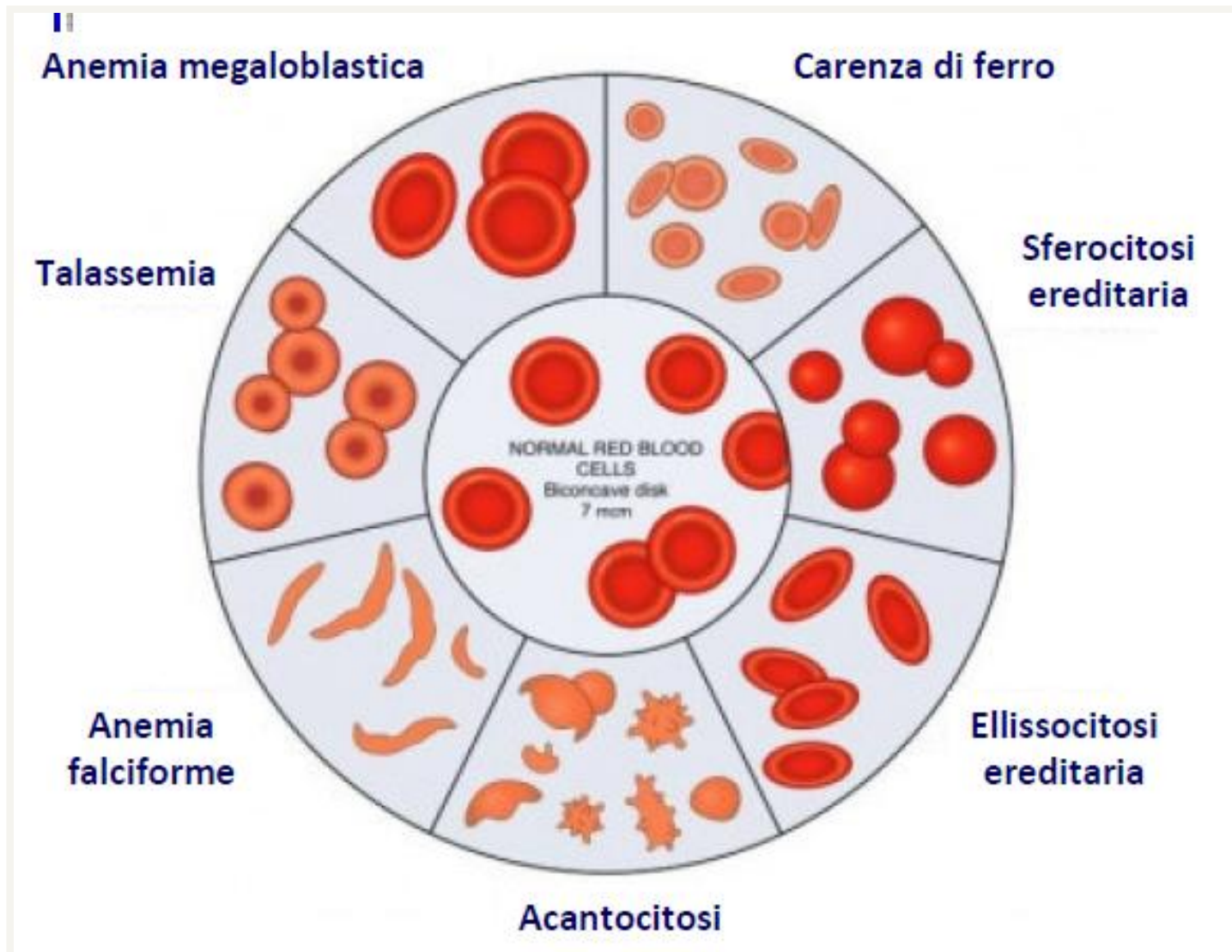
MCV	MCH	MCHC
Anemie Microcitiche	Anemie Ipocromiche	Inutile ai fini diagnostici
Normocitiche	Ipercromiche	
Macrocitiche		

Macroцитosi: MCV > 102 fl

Microцитosi: MCV < 80 fl



ALTERAZIONI dei GLOBULI ROSSI



ANEMIE

Riduzione della quantità totale di emoglobina circolante negli eritrociti del sangue periferico.

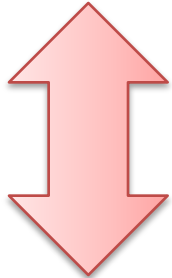
Valori di emoglobina inferiori a:

11 g/dL Bambini

12 g/dL Donne

11 g/dL Donne in gravidanza

13 g/dL Maschi



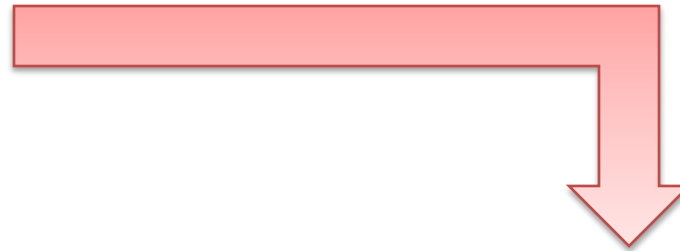
Anemie da carenza di Ferro:

↓ Ferritina sierica <12 ng/mL

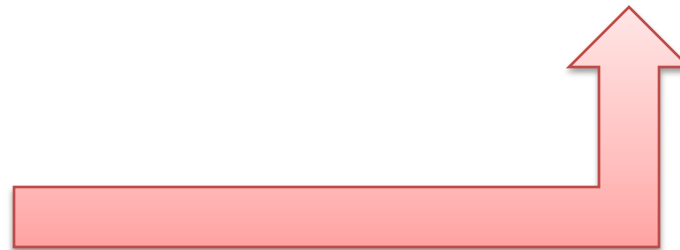
↑ Transferrina

↓ Sideremia

Emoglobinopenia



Emorragia acuta
Gravidanza (> volume plasmatico)



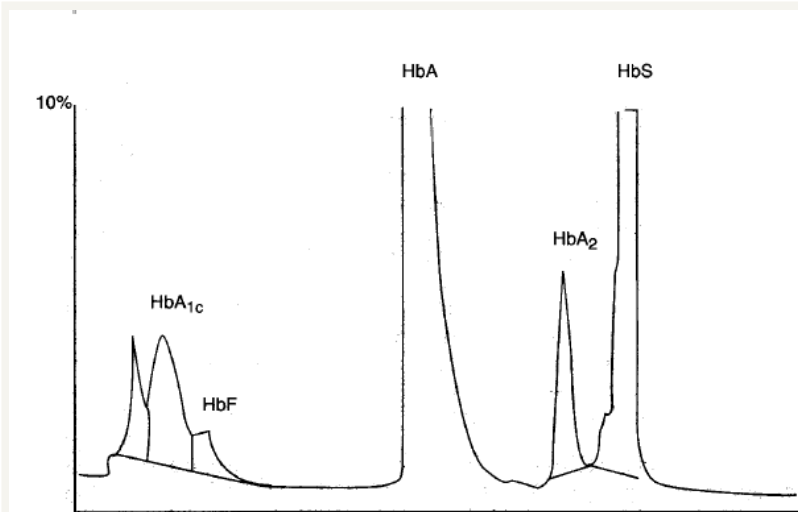
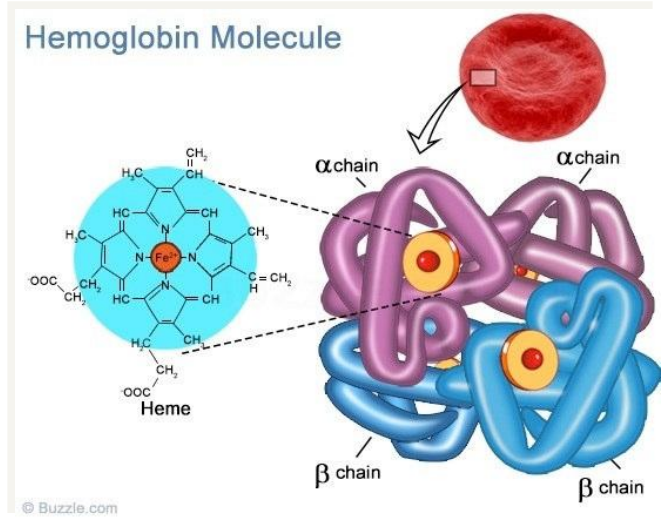
TALASSEMIE

Alterazioni di tipo quantitativo: sintesi alterata o soppressa di catene globiniche normali

EMOGLOBINOPATIE

Alterazioni di tipo qualitativo della composizione per sostituzione, perdita o aggiunta di aminoacidi in una delle catene globiniche

FETALE	α ϵ γ		
	HbF	$\alpha_2 \gamma_2$	
NEONATO	α β γ δ		
	HbA	$\alpha_2 \beta_2$	20%
	HbA2	$\alpha_2 \delta_2$	0,5%
	HbF	$\alpha_2 \gamma_2$	80%
ADULTA	α β γ δ		
	HbA	$\alpha_2 \beta_2$	96-98%
	HbA2	$\alpha_2 \delta_2$	1,8-3,5%
	HbF	$\alpha_2 \gamma_2$	0,2-2%



METABOLISMO DEL FERRO ED ANEMIE SIDEROPENICHE

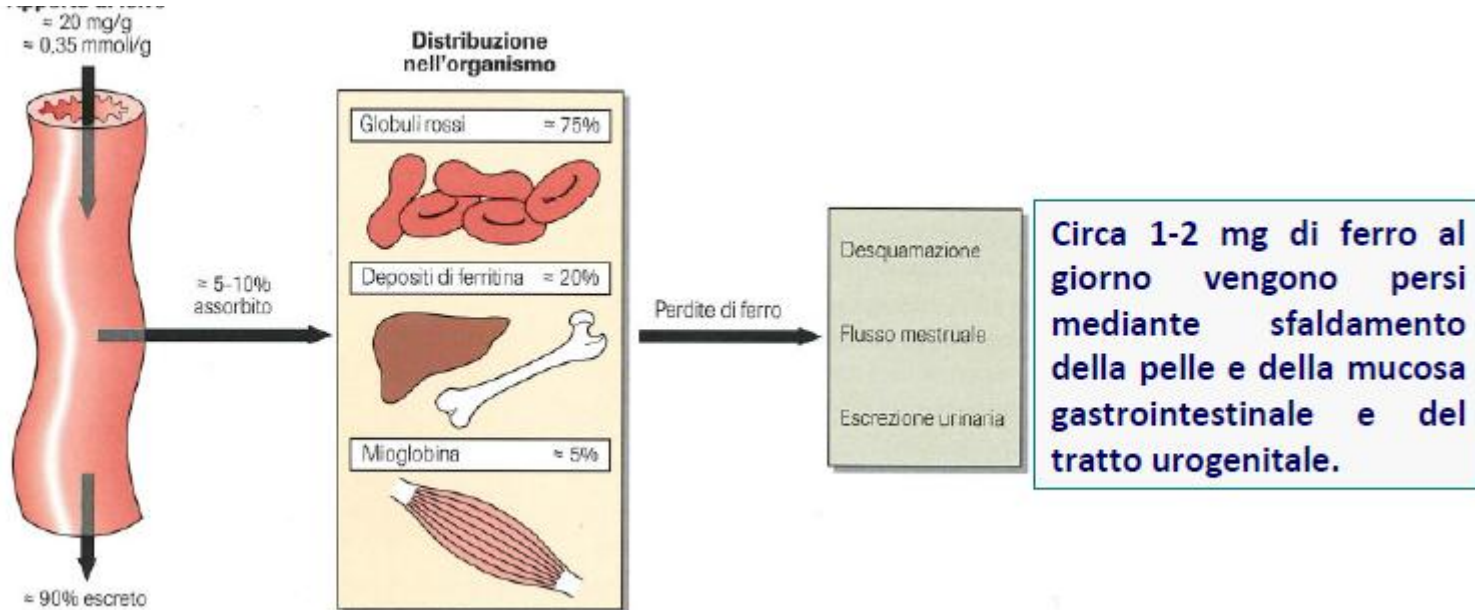
In condizioni fisiologiche, il Fe è assorbito nel duodeno.
Del ferro introdotto con la dieta, solo il 5-10% viene assorbito.

La maggior parte si lega alla apoferritina formando **ferritina** (solubile)



È la principale forma di deposito del ferro nei tessuti. Si trova nelle cellule della mucosa intestinale, negli epatociti e nelle cellule reticoloendoteliali del fegato, della milza e del midollo osseo

Un'altra forma di deposito, se l'apoferritina non è sufficiente, è rappresentata dai granuli di **emosiderina** (insolubile)



ALTERAZIONE del METABOLISMO DEL FERRO

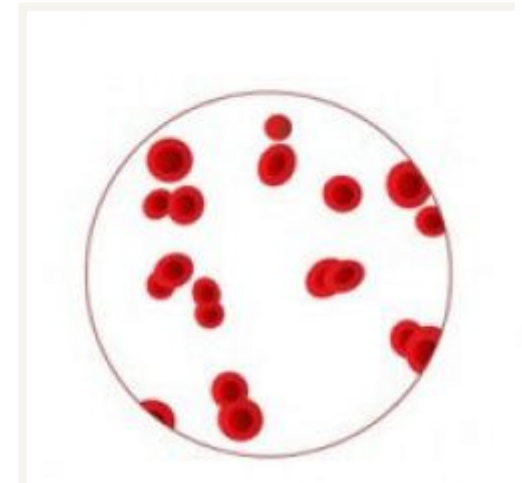
Le alterazioni del metabolismo marziale si manifestano sia come malattie da carenza (**anemie sideropeniche**) sia come malattie da eccessivo accumulo (**emocromatosi**: ereditarie, trasfusioni ripetute, terapia marziale).

✓ Diminuito apporto alimentare
(carenza dietetica, anoressia)

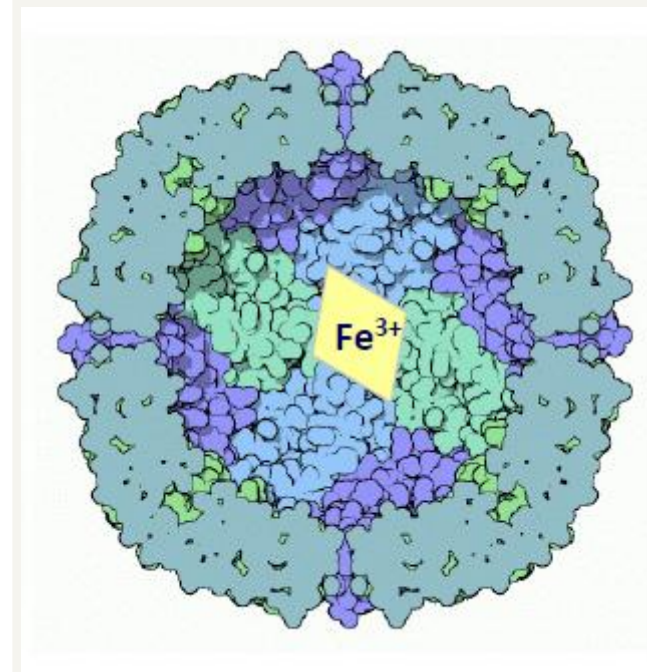
✓ Alterato assorbimento
(malassorbimento, gastrectomia, alterazione mucosa intestinale)

✓ Aumentato fabbisogno
(gravidenza, allattamento, prima infanzia, adolescenza)

✓ Accentuata eliminazione
(perdite di sangue palesi od occulte, emorragie intestinali, donazioni di sangue)

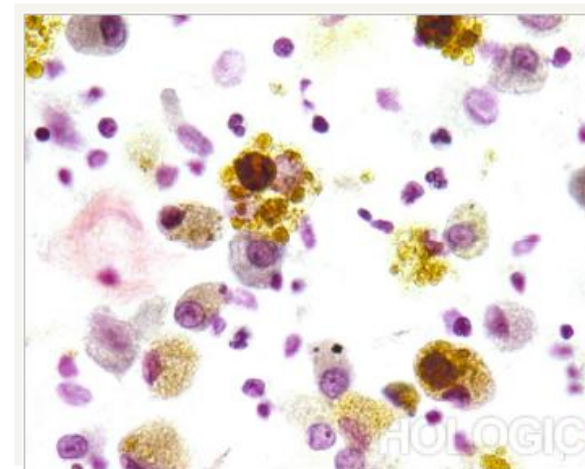


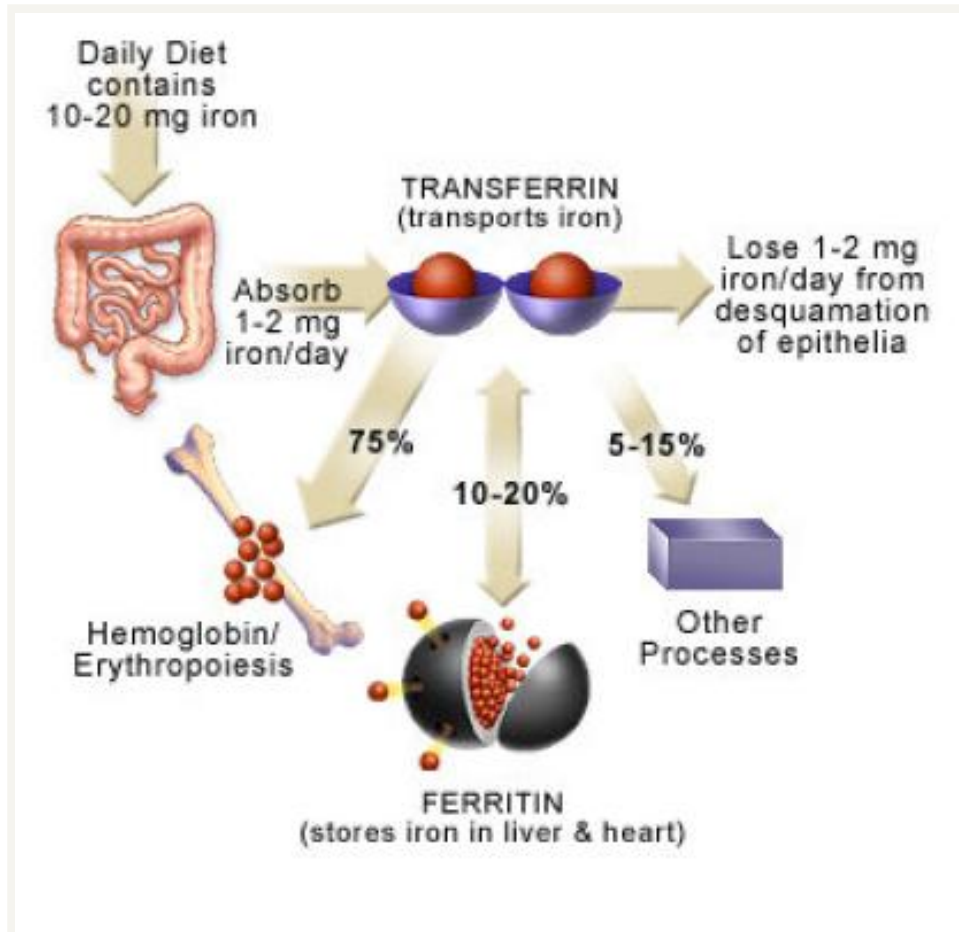
Il ferro viene legato alla apoferritina, che capta il Fe^{2+} (ferroso) e lo ossida affinché venga depositato come Fe^{3+} (ferrico), trasformandosi quindi in **ferritina**, una proteina globulare che si trova principalmente nel fegato, nella milza, nel midollo osseo e nei tessuti scheletrici dove svolge una **funzione di riserva organica di ferro**.



L'**emosiderina** è una **proteina di deposito del ferro** presente nei macrofagi, nel fegato e nel midollo osseo. Nei tessuti, si presenta come un pigmento giallo o rossastro, amorfo o leggermente granulare.

Il ferro dell'emosiderina è più difficile da metabolizzare rispetto a quello contenuto nella ferritina, poiché l'emosiderina (costituita dal prodotto della condensazione di molecole di ferritina, proteine, lipidi, acido sialico, e porfirine) è poco solubile.





La **transferrina** è una β -globulina con funzione di trasporto del ferro ai compartimenti di deposito e al midollo. E' sintetizzata nel fegato e in piccole quantità nel tessuto linfoide, nella ghiandola mammaria, nelle ovaie e nei testicoli.

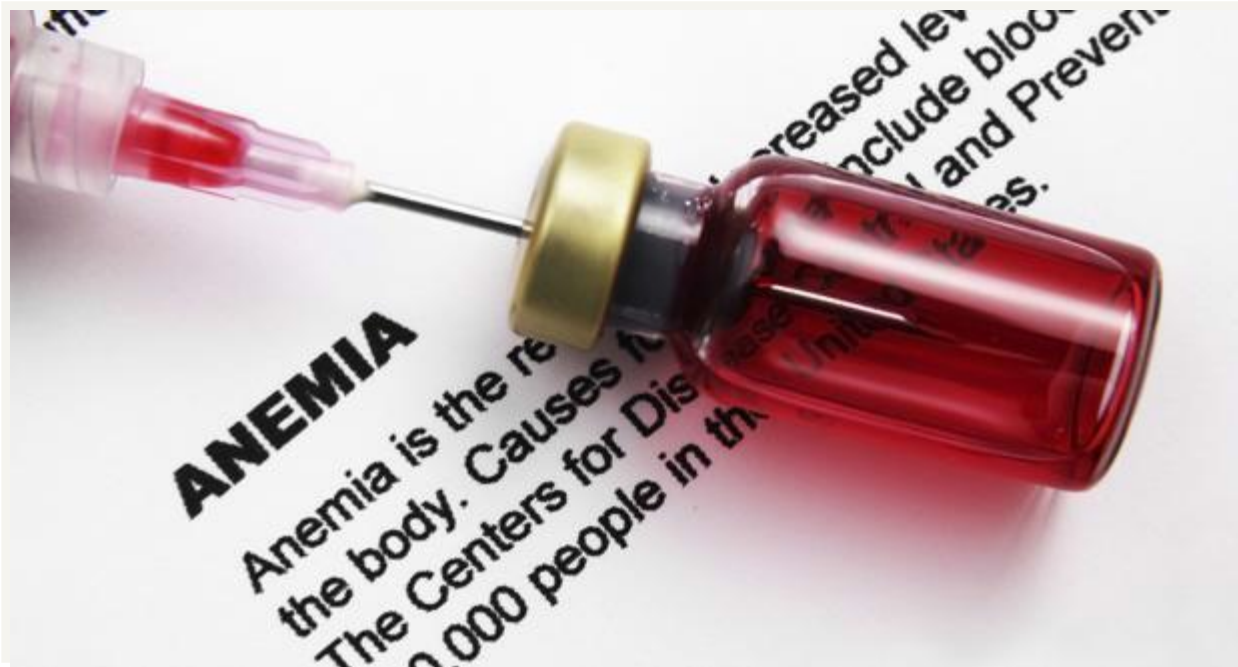
Previene l'effetto tossico

Facilita l'internalizzazione del ferro nelle cellule

DIAGNOSTICA DELLE ALTERAZIONI DEL METABOLISMO DEL FERRO

FERRO

La diagnostica di laboratorio nelle alterazioni del metabolismo del ferro si avvale essenzialmente del dosaggio di **ferritina, sideremia, e transferrina.**



DOSAGGIO della TRANSFERRINA

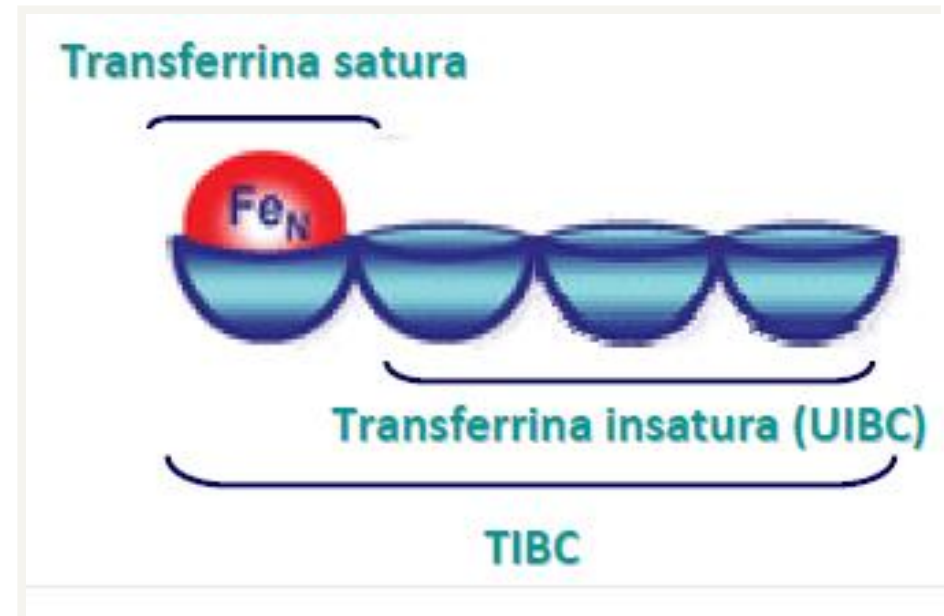
La transferrina sierica è presente nel plasma in forma libera (*transferrina insatura*, 2/3 del totale) e in forma legata al ferro (*transferrina satura*, 1/3 del totale).

La quota satura coincide con il valore della sideremia.

La transferrina (**v.n. 300 - 360 mg/dL**) si può esprimere anche come capacità totale di legame del ferro (TIBC: Total Iron Binding Protein Capacity) ovvero la quantità di ferro che si troverebbe nel plasma se tutta la transferrina fosse saturata con il ferro.

↑ sovraccarico di ferro

↓ malnutrizione



DOSAGGIO della FERRITINA

E' il miglior indicatore delle riserve corporee di ferro

Ferritina 20-120 ng/mL (donne)

20-250 ng/mL (uomini)

Aumenta anche in seguito a:

1. Infezioni croniche
2. Accumulo di ferro (emocromatosi)
3. Neoplasie
4. Citolisi epatica (liberazione dai depositi intracellulari)
5. Emolisi (liberazione dai globuli rossi)

SIDEREMIA

Si intende il dosaggio del Ferro circolante, dopo essere separato chimicamente dalla transferrina.

Si libera così ione ferrico che viene dosato dopo essere stato ridotto nella forma ferrosa.

Valori di riferimento

Neonato: 170-190 $\mu\text{g/dL}$ alla nascita e 50-70 $\mu\text{g/dL}$ dopo 2-3 mesi

Infanzia: <100 $\mu\text{g/dL}$

Uomo: 80-170 $\mu\text{g/dL}$

Donna: 60-140 $\mu\text{g/dL}$

Anziani: 40-80 $\mu\text{g/dL}$

Variabilità biologica

Aumento: Processi di necrosi cellulare, Sindromi emolitiche, Etilismo cronico, Epatite acuta, Terapia con ferro

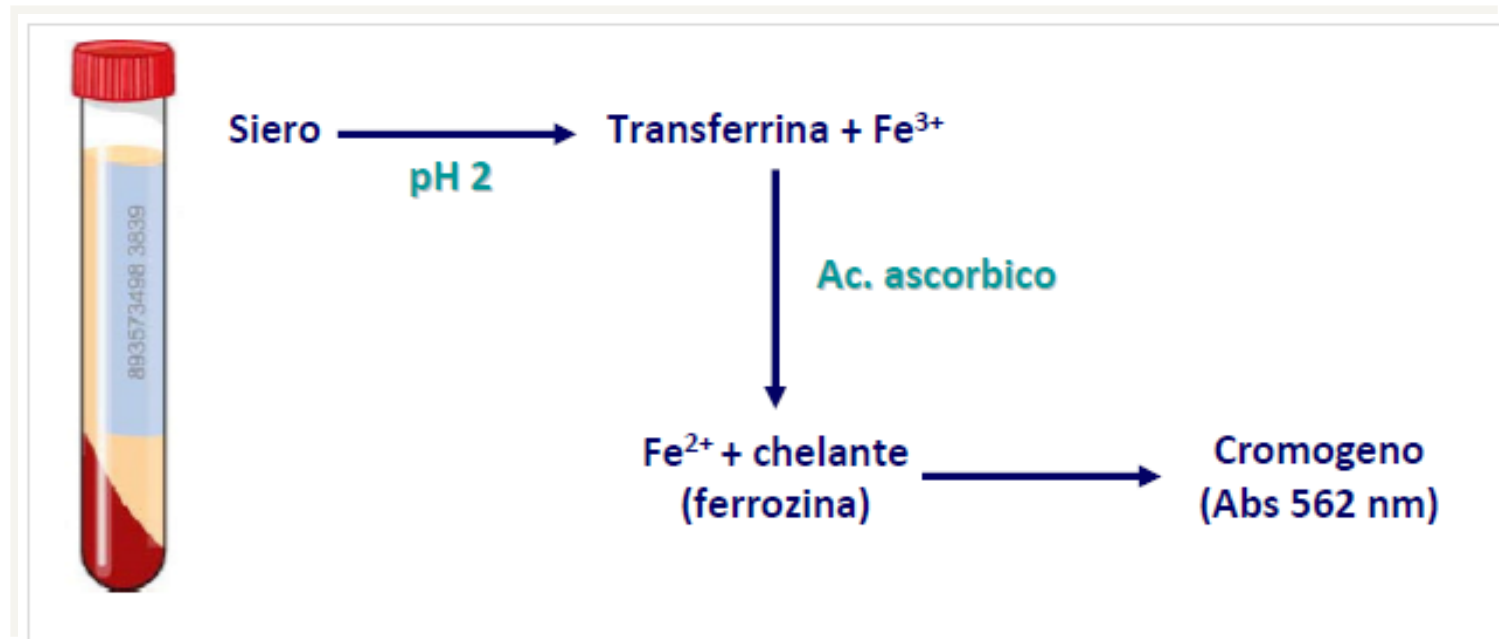
Diminuzione: Infiammazione, Insufficiente apporto, Ridotto assorbimento, Perdita, Gravidanza

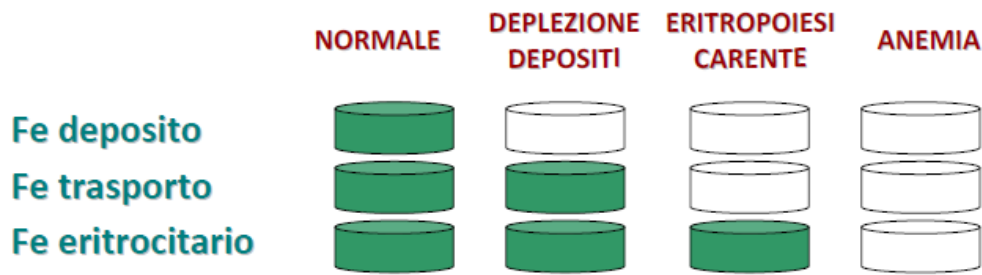
SIDEREMIA: determinazione

Metodo colorimetrico

Separazione del Ferro dalle proteine e sviluppo di colore facendo reagire il Ferro con un substrato cromogeno.

Il dosaggio è soggetto ad interferenze con Cu^{2+} , Hb, bilirubina, EDTA.





	NORMALE	DEPLEZIONE DEPOSITI	ERITROPOIESI CARENTE	ANEMIA
Ferritina (µg/L)	N	↓	↓	↓
Sideremia (µg/dL)	N	N	↓	↓
Transferrina (mg/dL)	N	N	↑	↑
Saturazione Transferrina (%)	>20	>20	<15	<10
Eritrociti	N	N	N	Ipocr. Micro.

Stadio I (deplezione dei depositi)

Bilancio del ferro negativo, ma senza effetti sulle funzioni essenziali del ferro

Stadio II (eritropoiesi ferrocarente)

Esaurimento dei depositi, compromissione della sintesi di Hb

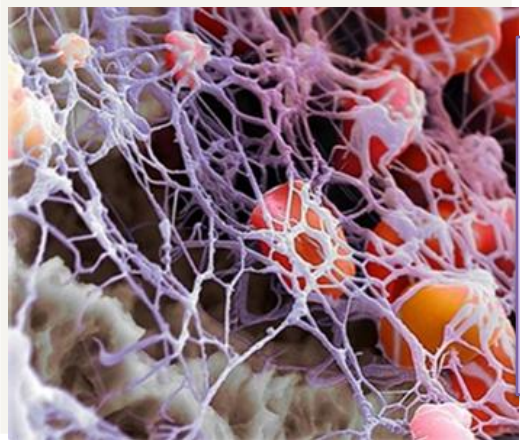
- Riduzione sideremia e saturazione della transferrina
- Aumento della transferrina e del recettore solubile della transferrina
- Riduzione Hb e MCV ma ancora nell'ambito di normalità

Stadio III (anemia sideropenica)

Apporto di ferro insufficiente a mantenere un'adeguata concentrazione di Hb

- Anemia ipocromica microcitica

FATTORI della COAGULAZIONE



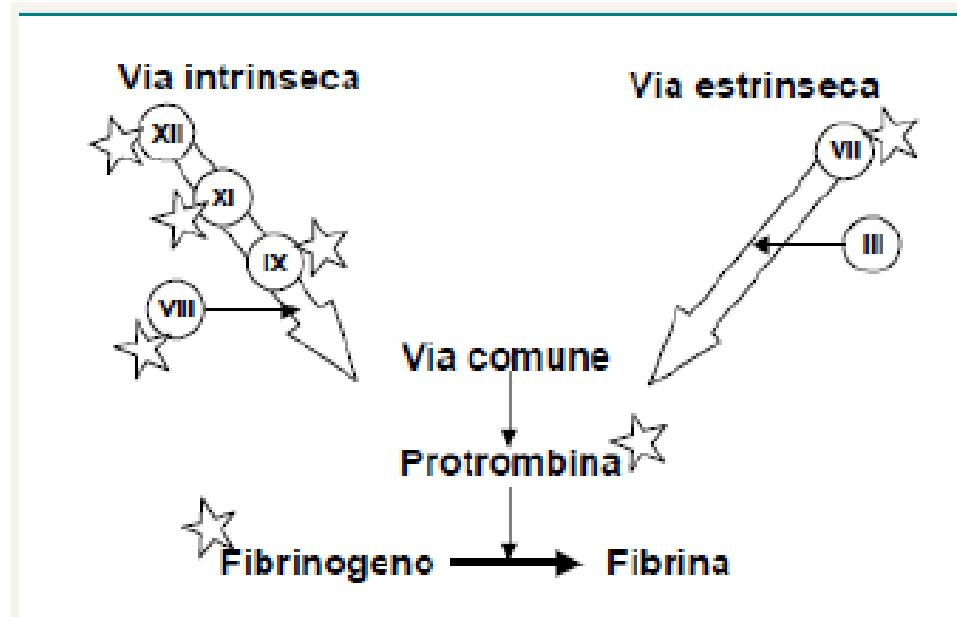
L'emostasi consiste in una serie di reazioni biochimiche e cellulari, sequenziali e sinergiche, che hanno lo scopo di riparare le lesioni vasali e arrestare la perdita di sangue dai vasi (emorragia).

Quindi serve per:

- Mantenere il sangue allo stato liquido, non coagulato nei vasi normali
- Indurre la veloce e localizzata formazione del coagulo emostatico in seguito all'induzione di danno vascolare



FATTORI della COAGULAZIONE



Anti-trombina
Plasmina

La via intrinseca è più lenta. Questa via è innescata quando il sangue entra a contatto con la matrice extracellulare, in particolare con le macromolecole di collagene.

La via estrinseca è più rapida per il minor numero di fattori coinvolti. Essa viene attivata quando una lesione di un vaso sanguigno produce la liberazione, dalle cellule danneggiate, di fosfolipidi e di un complesso proteico detto Fattore tissutale o Tromboplastina tissutale.

La fase finale della coagulazione è l'attivazione della protrombina a trombina che converte il fibrinogeno in fibrina che si organizza in strutture fibrose.

STUDIO della COAGULAZIONE

- Quando il soggetto deve sottoporsi ad un intervento chirurgico
- Controllare la terapia anticoagulante:
 - cumarinici → PT
 - eparinici → PTT
- Per diagnosticare malattie riconducibili ad un'alterata coagulazione del sangue come infarto del miocardio o ictus cerebrale
- Per diagnosticare malattie legate alle piastrine o ai fattori della coagulazione (presenza di evidenti ematomi)

STUDIO della COAGULAZIONE

Il fegato produce la maggior parte dei fattori della coagulazione.

Per svolgere la loro funzione biologica alcuni fattori hanno bisogno della vitamina K e del Ca^{2+}

Test di Screening

Emocromo (Conta Piastrinica)

Aggregazione Piastrinica

Tempo di Protrombina (PT)

Tempo di Tromboplastina Parziale Attivato (aPTT)

Test di Approfondimento

Tempo di Trombina (TT)

Dosaggio del Fibrinogeno (Fib)

Dosaggio del D-dimero (DD)

Dosaggio Fattori della coagulazione

Aggregazione piastrinica

Si esegue utilizzando sostanze che stimolano o inducono l'aggregazione delle piastrine. La variazione della densità ottica nel tempo consente la determinazione degli indici di aggregazione:

1. Tempo di reazione
2. Massima variazione della densità ottica
3. Tempo di latenza (tra l'aggiunta dell'aggregante e l'inizio della variazione della densità ottica)
4. Ampiezza o variazione della densità ottica iniziale

Tempo di protrombina (PT)

Il tempo, in secondi, necessario alla formazione del coagulo quando al plasma si aggiunge tromboplastina (estratto tissutale di origine umana o animale) e ioni calcio a 37°C.

Valuta la **via estrinseca** della coagulazione del sangue

Il test viene eseguito su plasma citrato.

VALORI DI RIFERIMENTO:

12-15''

I.N.R. 2.0 -3.0

ALTERAZIONI

PT >1.0 I.N.R.: il sangue è troppo fluido

PT <1.0 I.N.R.: carenza o alterazione congenita dei Fattori II, VII, IX e X; epatopatie (deficit produzione di protrombina); deficit o malassorbimento di vitamina K; terapia con farmaci anticoagulanti

Tempo di tromboplastina parziale (PTT)

Il tempo, in secondi, necessario alla formazione del coagulo di fibrina quando al plasma citrato si aggiungono ioni calcio e un attivatore (come fosfolipidi anionici o silice) per attivare la **via intrinseca**. Il calcio ha lo scopo di annullare l'effetto anticoagulante dell'ossalato o del citrato, mentre l'attivatore agisce come sostituto delle piastrine.

VALORI DI RIFERIMENTO:

27-35''

ALTERAZIONI:

PTT breve: privo di significato patologico

PTT lungo: carenza dei Fattori VIII (emofilia A) e IX (emofilia B); epatopatie; deficit di vitamina K, terapia con anticoagulanti (eparina)

Principali condizioni nelle quali è **alterato PT**

Terapia anticoagulante orale

Epatopatia

Deficit nutrizionale di vitamina K

Malassorbimento

Deficit/Inibitori del fattore VII

Principali condizioni nelle quali è alterato **aPTT**

Terapia eparinica

Deficit di fattore VIII (Emofilia A)

Deficit di fattore IX (Emofilia B)

Deficit di fattore XI

Deficit di fattore XII

Inibitori del fattore VIII, IX, XI, XII

Principali condizioni nelle quali sono **alterati PT e aPTT**

Epatopatia grave

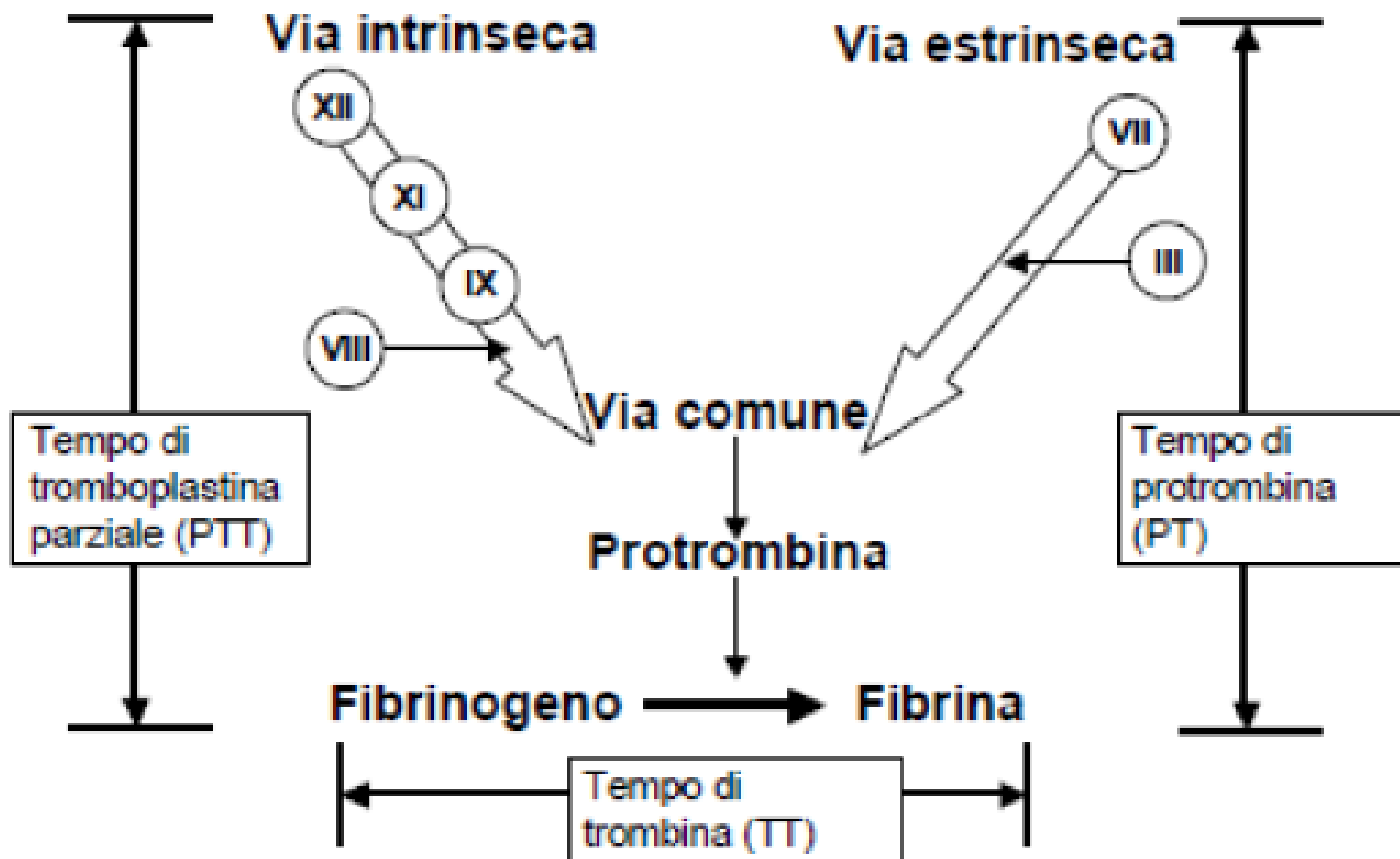
Deficit di fattore X

Deficit di fattore II

Deficit di fattore V

Deficit di fibrinogeno

Inibitori dei fattori della via comune



Tempo di trombina

Il tempo necessario alla formazione del coagulo quando al plasma citrato si aggiunge trombina, enzima responsabile della **conversione del fibrinogeno in fibrina**. La trombina circola nel plasma come protrombina. E' sintetizzata dal fegato e la sua formazione è condizionata dall'apporto di vitamina K. La trombina catalizza la scissione proteolitica dei fibrino-peptidi del fibrinogeno in polipeptidi, che a loro volta polimerizzano e infine vengono stabilizzati dal fattore XIII in presenza di ioni calcio.

VALORI DI RIFERIMENTO

Fino a 22''

ALTERAZIONI:

Il test serve a riconoscere specificatamente le anomalie che riguardano la reazione trombina-fibrinogeno ed infine per monitorizzare la terapia fibrinolitica.

Aumento: Ipofibrinogenemia e disfibrinogenemia (congenita o acquisita); epatopatie; eccesso di eparina.

Dosaggio del fibrinogeno e del D-Dimero

FIBRINOGENO

Glicoproteina sintetizzata dal fegato, che svolge un ruolo essenziale nel processo coagulativo.

E' una proteina solubile che si trasforma in un prodotto insolubile e fibroso, la fibrina.

E' il substrato fisiologico della trombina.

180 -350 mg/dl

Aumenta nelle malattie infiammatorie.

La diminuzione indica che "coagulazione intravascolare disseminata" (spesso causata da leucemia)

D-dimero

Prodotto di degradazione della fibrina, un frammento proteico rilevabile nel sangue in caso di fibrinolisi. Il nome della sostanza deriva dal fatto che è costituito da due frammenti D di fibrina, stabilizzati da legami crociati covalenti.

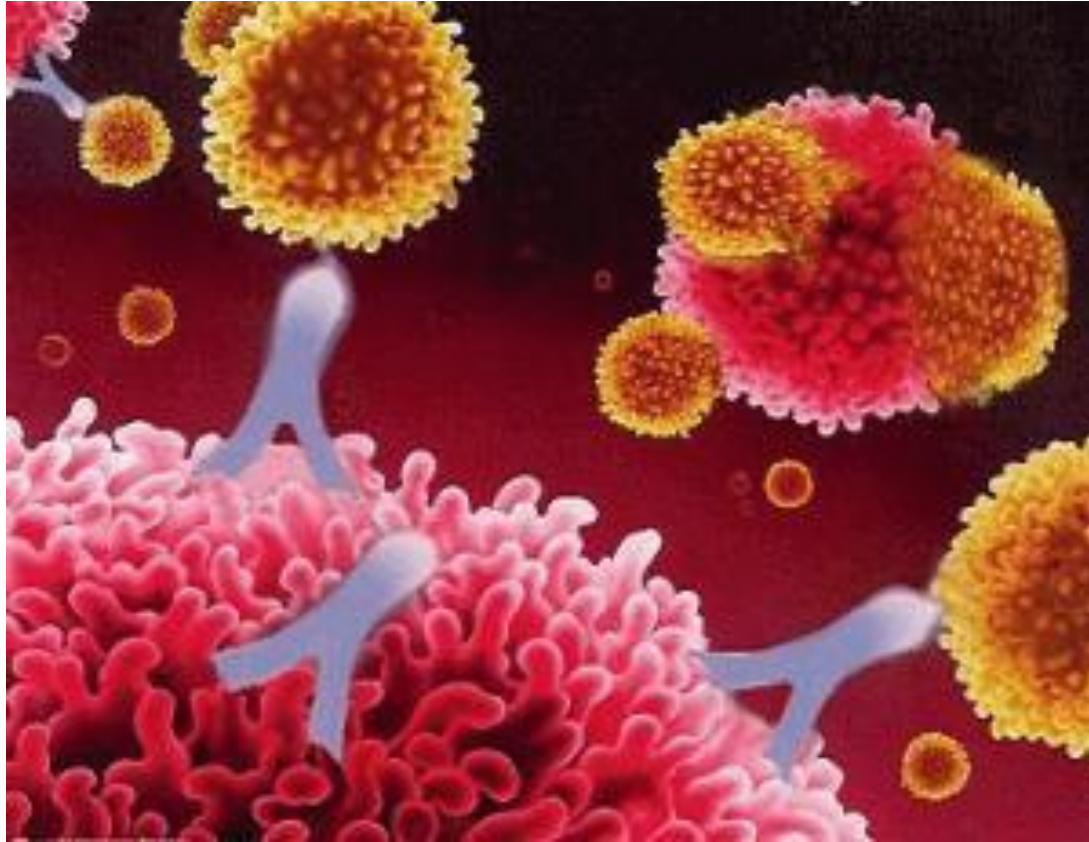
La sua determinazione trova indicazione clinica nella diagnosi di:

embolia polmonare

trombosi venosa profonda

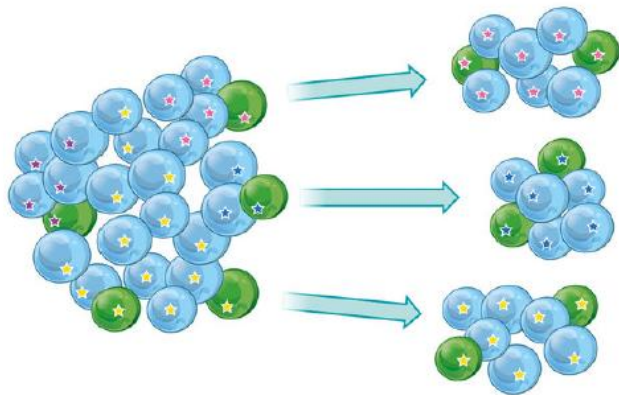
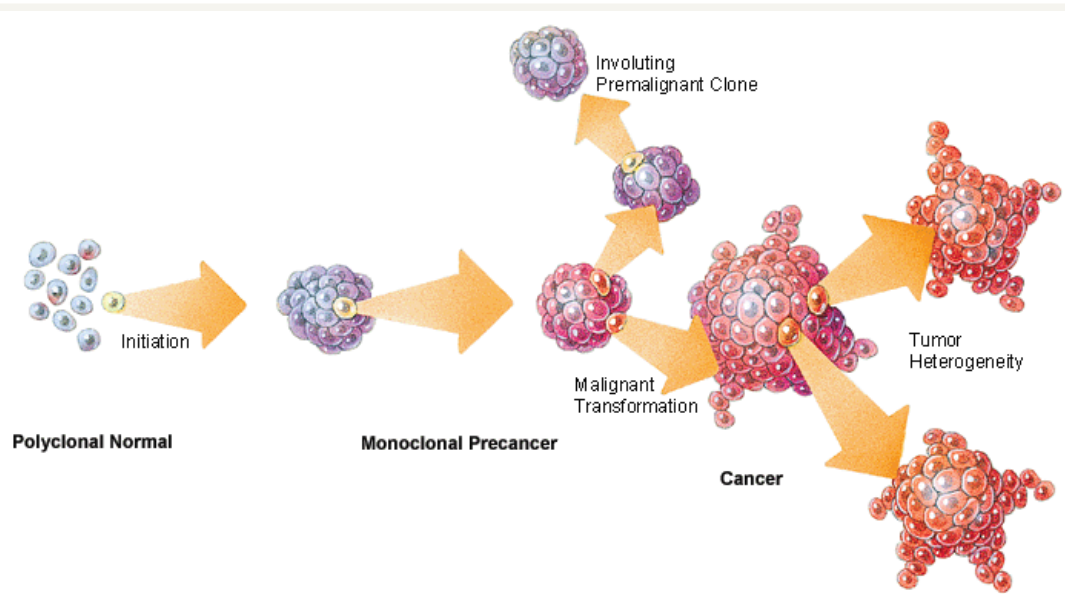
CID (coagulazione intravascolare disseminata)

MARCATORI TUMORALI



MARCATORI TUMORALI

Mutazioni multiple possono portare allo sviluppo di eterogeneità cellulare nei tumori, con sottopopolazioni di cellule con fenotipi differenti, le cui caratteristiche biologiche sono molto dipendenti dalle interazioni con il tessuto circostante e con il sistema immunitario, tanto da rendere ciascuna neoplasia una malattia “**individuo-specifica**”

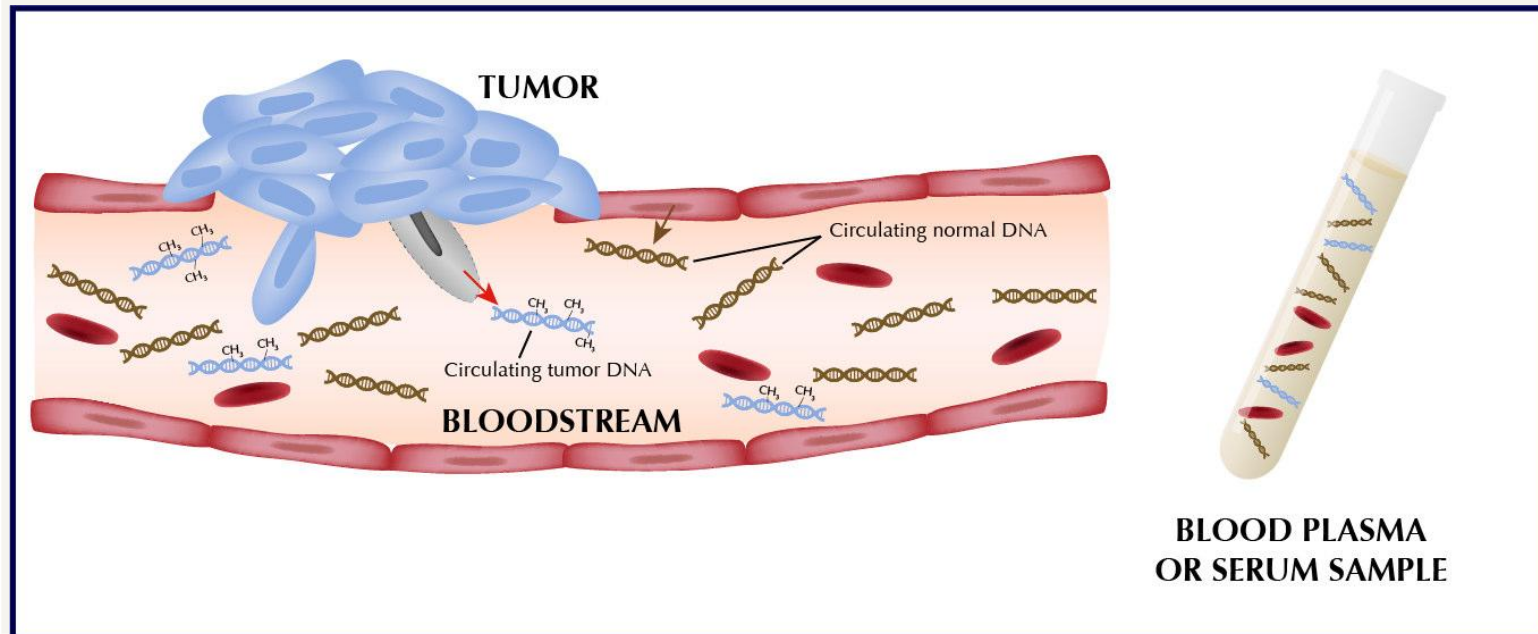


Quindi, cellule isolate da un tumore possono essere diverse per vari fattori:

1. velocità di crescita,
2. recettori della membrana cellulare,
3. immunogenicità,
4. espressione di marcatori tumorali,
5. capacità invasive e metastatiche
6. risposta a sostanze (farmaci) citotossiche.

MARCATORI TUMORALI

Molti studi hanno dimostrato che la
DIAGNOSI PRECOCE di tumore
determina un tempo di
sopravvivenza più lungo.



*Un marcatore tumorale è una sostanza (e.g. proteine, ormoni, enzimi), evidenziabile quantitativamente o qualitativamente nei tessuti e/o nei fluidi biologici, che può essere messa in relazione alla **presenza** e/o alla **progressione** di un tumore.*

MARCATORI TUMORALI: dosaggio

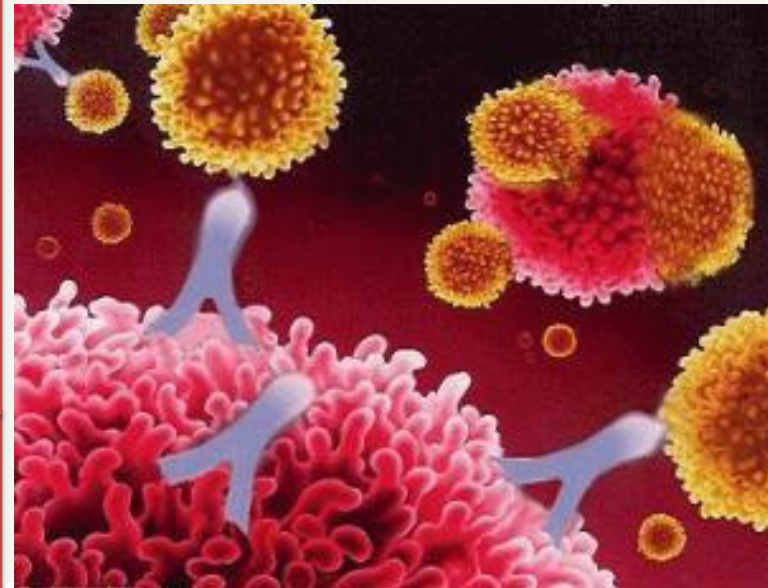
In genere si usano metodi immunometrici, basati sull'elevata affinità della reazione antigene-anticorpo, che garantiscono elevata sensibilità analitica. Si utilizzano anticorpi che riconoscono in modo specifico un dato analita (anticorpi monoclonali). La rivelazione varia a seconda del tracciante (radioattivo, luminescente, enzimatico, fluorescente, ecc).

SOSTANZE PRODOTTE DALL'INTERAZIONE TUMORE/OSPITE

Sono compresi in questa categoria numerosi parametri ematochimici classici (es. VES, enzimi epatici, proteine della fase acuta, indicatori di catabolismo osseo). Sono indicatori di danno del tessuto normale invaso dal tumore. Sono abitualmente indicatori efficaci di malattia neoplastica avanzata.

SOSTANZE PRODOTTE PREVALENTEMENTE DAL TUMORE

Si tratta di prodotti legati al fenotipo maligno. Sono indicatori biologicamente più precoci in quanto espressamente legati alla presenza del tumore.



MARCATORI TUMORALI: caratteristiche ideali

1. Produzione esclusiva e precoce da parte della cellula tumorale (specificità)
2. Non misurabile in soggetti con neoplasia assente (sensibilità)
3. Concentrazione correlata positivamente con lo stadio della neoplasia
4. Variazioni di concentrazione in relazione all'efficacia della terapia e all'andamento della malattia

Il marcatore tumorale ideale non esiste a causa della somiglianza strutturale metabolica tra cellula tumorale e cellula normale.

MARCATORI TUMORALI:

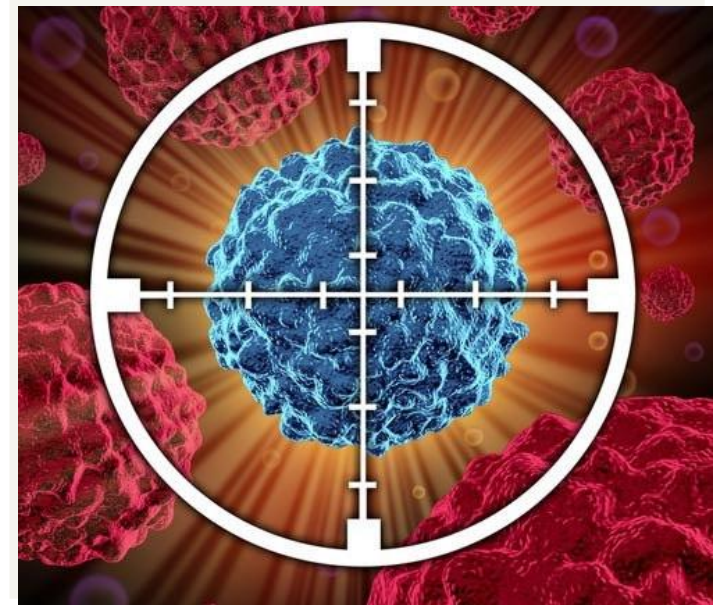
Principali condizioni NON NEOPLASTICHE correlati all'aumento di alcuni marcatori tumorali

Condizione	Marcatori
Abitudini voluttuarie	
fumo	CEA, TPA
Alcool	CEA, TPA
Condizioni fisiologiche	
Allattamento	MCA
ciclo mestruale	CA 125
gravidanza	AFP, TPA, CEA, CA 125, MCA, β -hCG
Patologie non neoplastiche	
ittero	CA 125, CA 19.9, TPA
pancreatite	CA 125, CA 19.9
nefropatia cronica	CEA, TPA, β_2 microglobulina
ipertrofia prostatica/prostatite	PSA, PAP
epatite cronica	CEA, TPA, AFP, CA 19.9, CA 125, CA 15.3
sierositi a varia eziologia	CA 125
polmonite/enfisema	CEA, TPA
malattie reumatiche	CA 19.9
endometriosi	CA 125
Manovre diagnostiche	
esplorazione rettale	PSA, PAP
broncoscopia	TPA
gastroscopia	TPA
immunoscintigrafia	CA 125, CA 19.9, CEA

MARCATORI TUMORALI: classificazione

I marcatori oncologici sono sostanze così eterogenee per struttura e funzione che è impossibile classificarli in modo ottimale ed univoco. Esistono, quindi, diverse classificazioni di queste sostanze, a seconda del parametro a cui si fa riferimento:

- Criterio topografico (marcatori nucleari, citoplasmatici, di membrana e circolanti)
- Criterio specificità tissutale (specificità d'organo, per tipo cellulare o per caratteristiche istologiche)
- Struttura chimica o funzione biologica



MARCATORI TUMORALI:

Classificazione –

struttura chimica o funzione biologica

Antigeni onco-fetali (es. CEA, AFP)

Enzimi/Isoenzimi (es. NSE, PSA, fosfatasi alcalina)

Ormoni (es. hCG, CT)

Proteine tessuto specifiche (es. TG, Cromogranina A)

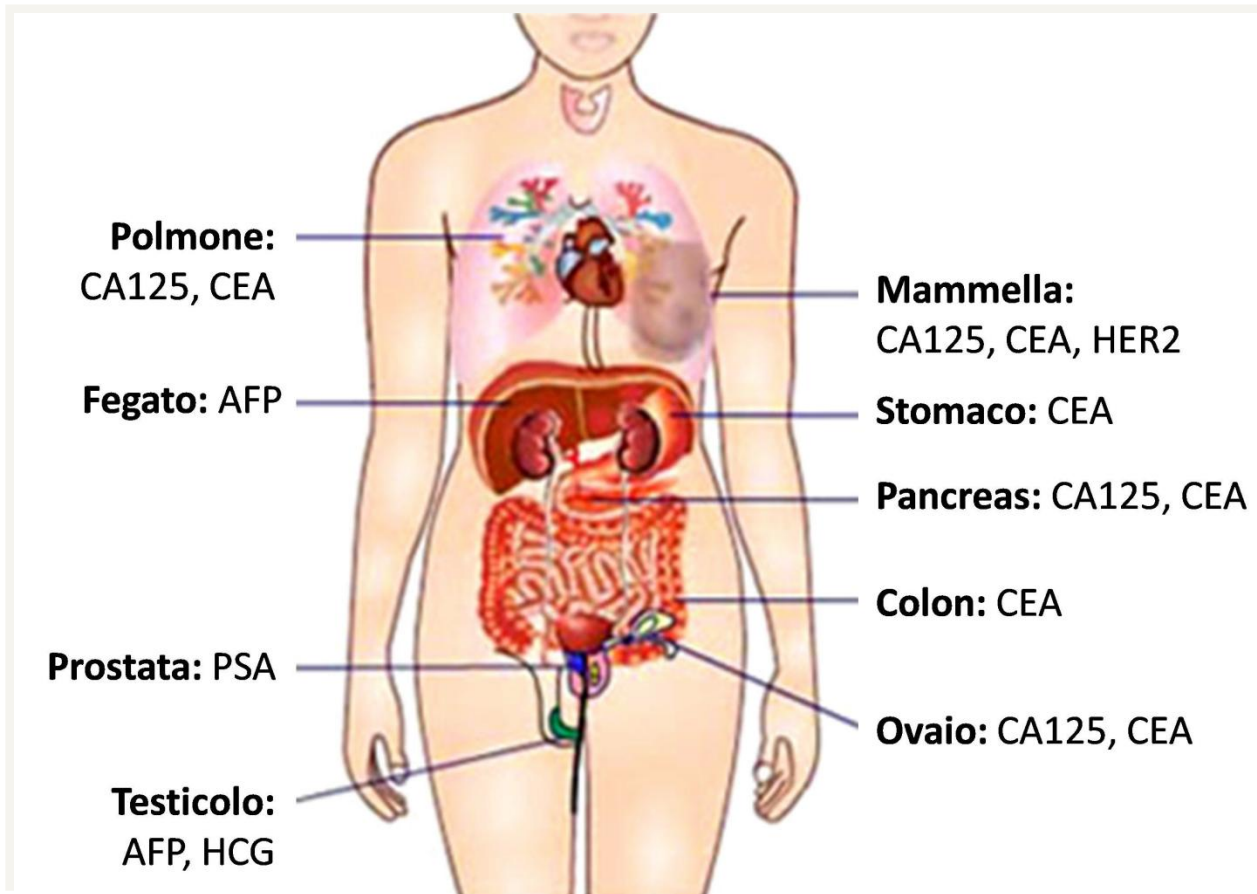
Citocheratine (es. TPA, Cyfra 21-1)

Mucine (antigeni tumore-associati, es. CA 19.9, CA 15.3)

MARCATORI TUMORALI:

Classificazione –

Criterio specificità d'organo



MARCATORI TUMORALI: PSA (antigene prostatico specifico)

Funzione:

Glicoproteina (serin-proteasi) prodotta esclusivamente dalle cellule epiteliali dell'acino e dei dotti della ghiandola prostatica, con la funzione di mantenere solubile il liquido seminale.

In circolo si trova prevalentemente complessato ad inibitori delle proteasi sieriche (α 1-antichimotripsina, α 2-macroglobulina), solo in piccola percentuale è in forma libera (PSA-free)

Limite:

Non è in grado di discriminare l'adenoma dal carcinoma

Concentrazioni Plasmatiche:

Valori di riferimento: 0-4 ng/ml

Cut-off (valore soglia): 20 ng/ml

MARCATORI TUMORALI: PSA (antigene prostatico specifico)

È uno dei tumori più diffusi nella popolazione maschile e solo il 30% è diagnosticato in uno stadio precoce.

Impiego:

- Screening in associazione all'ispezione manuale della ghiandola dopo i 50 anni di età
- Monitoraggio della terapia
- Follow-up

Caratteristiche:

- È un marker d'organo piuttosto che tumorale (può aumentare anche in altre malattie a carattere benigno della prostata).

Rischio di tumore prostatico in rapporto al PSA	<4ng/ml	5%
	>4 e <10 ng/ml	25%
	> 10ng/ml	55%

MARCATORI TUMORALI: PSA (antigene prostatico specifico)

Per aumentare l'utilità clinica del PSA sono state proposte diverse strategie:

- **Individuare valori di riferimento per fasce di età** (il PSA aumenta con l'aumento dell'età)
- **PSA velocity** (l'aumento del PSA nel tempo nei soggetti con neoplasia è maggiore rispetto ai soggetti con ipertrofia prostatica benigna)
- **PSA density** (rapporto tra la concentrazione del PSA ed il volume della ghiandola determinato ecograficamente)
- **Rapporto PSA free e PSA totale** (la frazione libera è più elevata nell'ipertrofia prostatica che nel carcinoma prostatico; in generale un rapporto inferiore al 10% esprime con buona probabilità una patologia maligna, mentre un rapporto superiore al 20% è associato, quasi sempre, ad una patologia benigna della prostata)

MARCATORI TUMORALI: CA-15.3 (antigene carboidratico 15.3)

Caratteristiche:

Glicoproteina presente sulle cellule alveolari e sulle cellule dei dotti ghiandolari normali e neoplastici
Si misura nel plasma impiegando due anticorpi monoclonali (115D8 e DF3) che si legano a due diversi epitopi della molecola

Limiti:

Aumenta anche in altre neoplasie, come quelle polmonari, epatiche, gastrointestinali, prostatiche
Aumenta anche in caso di malattie epatiche croniche e malattie infiammatorie dell'apparato respiratorio

Concentrazioni Plasmatiche:

Valori di riferimento: 20-45 U/ml

Cut-off: 35 U/ml

Impiego:

Livelli sierici elevati si associano più frequentemente al carcinoma mammario: sono presenti nel 20-25% dei tumori localizzati e nel 60-80% di quelli metastatici.

Recentemente è stato dimostrato che l'entità dei livelli sierici di CA15.3 dipende dallo stadio della malattia e dal numero e tipo di sedi metastatiche (livelli maggiormente aumentati si riscontrano in presenza di metastasi epatiche rispetto a quelle delle parti molli).

Il dosaggio ematico di CA 15.3 va sempre associato ad indagini strumentali (radiografia, scintigrafia, ecografia)

MARCATORI TUMORALI: MCA-15.3 (antigene carboidratico mucinoso)

Caratteristiche:

Glicoproteina prodotta a livello dell'epitelio dei dotti ghiandolari della mammella riconosciuta dall'anticorpo monoclonale b12.

Elevati livelli sierici sono presenti nel 20% delle pazienti affette da carcinoma mammario localizzato e nel 78% di quelle con malattia metastatica. Nelle pazienti affette da carcinoma mammario la sua concentrazione è correlata con l'estensione della malattia, il numero dei linfonodi coinvolti e le sedi delle metastasi

Impiego:

Monitoraggio dei pazienti dopo la terapia medica e/o chirurgica per la diagnosi precoce della malattia residua e delle recidive occulte

Limiti:

Aumenta anche in altre neoplasie, come i carcinomi al colon (20%), carcinomi ovarici (44%) e carcinomi polmonari (40%). Aumenta inoltre in caso di malattie polmonari croniche, cirrosi, insufficienza renale.

Valori Di Riferimento:

0-14 UI/ml

Cut-off: 12 UI/ml

MARCATORI TUMORALI: CEA (antigene carcinoembrionario)

Caratteristiche:

Glicoproteina appartenente alla famiglia delle immunoglobuline.

È una molecola di adesione coinvolta nei meccanismi di riconoscimento intercellulare, fondamentali nei processi di regolazione della crescita e del differenziamento. Per questo motivo è espressa in quantità elevate durante la vita intrauterina e in tutte le condizioni in cui vi è un'esaltata proliferazione cellulare.

Impiego:

È utilizzato in caso di neoplasie epiteliali del tratto gastrointestinale, in particolare del colon-retto, e più in generale con tutte le neoplasie di origine endodermica.

Limiti:

Aumenta anche in caso di situazioni non neoplastiche, quali malattie infiammatorie intestinali, pancreatiti, gastriti, bronchiti.

Nei fumatori i livelli possono salire fino a 10 ng/ml.

Concentrazioni plasmatiche:

Valori di riferimento: 0-3 ng/ml

Cut-off: 30 ng/ml

MARCATORI TUMORALI: TG (Tireoglobulina)

Caratteristiche:

Glicoproteina sintetizzata dall'epitelio follicolare della tiroide ed immagazzinata nel lume follicolare dove partecipa alla formazione degli ormoni tiroidei.

Impiego:

- Normalmente la TG è una proteina intracellulare e solo in piccole quantità può essere riscontrata in circolo. Viene utilizzato nelle neoplasie differenziate della tiroide (follicolari e papillari), per le quali la sua sensibilità diagnostica è risultata superiore al 90%.
- Importante nel follow-up dei pazienti tiroidectomizzati per carcinoma in associazione o in sostituzione dell'esame scintigrafico globale con radioiodio

Limiti:

- Scarsa sensibilità nelle neoplasie indifferenziate ed in quelle midollari.
- Aumento in corso di ipertiroidismo, gozzo multinodulare, tiroiditi acute e croniche, nonché in alcuni stati fisiologici come gravidanza o il periodo neonatale
- La presenza di anticorpi anti-tireoglobulina può creare interferenze nel dosaggio, quindi è consigliabile in contemporanea anche il loro dosaggio

Concentrazioni plasmatiche:

Valori di riferimento: 3-30 ng/ml

Cut-off: 60 ng/ml

MARCATORI TUMORALI: CALCITONINA

Caratteristiche:

Ormone polipeptidico prodotto dalle cellule parafollicolari della tiroide (cellule C).

E' uno dei più efficaci marcatori del carcinoma midollare della tiroide

La sua funzione principale è l'abbassamento della concentrazione di calcio nel sangue (Ca^{2+}), contrasta gli effetti dell'ormone paratiroideo paratormone (PTH)

Livelli elevati sono diagnostici non solo in presenza di metastasi, ma anche quando la neoplasia è limitata alla ghiandola

Impiego:

Diagnosi e monitoraggio di recidiva, anche precoce, di carcinoma midollare della tiroide.

Screening familiare per carcinoma midollare della tiroide

Concentrazioni plasmatiche:

Valori di riferimento: 0-50 pg/ml

Cut-off: 3-4 ng/ml

MARCATORI TUMORALI: CA 125

Caratteristiche:

Antigene glicoproteico liberato in grande quantità soprattutto nel carcinoma ovarico di tipo sieroso e non presente nell'ovaio normale.

Nel siero di pazienti affette da carcinoma ovarico si riscontrano alti livelli in oltre il 75% dei casi (elevata specificità).

Impiego:

La sua concentrazione è elevata anche in tumori non ovarici: nel 15% dei tumori della vulva, nel 30-40% dei carcinomi della cervice e dell'endometrio e nel 50% dei carcinomi tubarici

Monitoraggio dell'evoluzione delle neoplasie ovariche

Limiti:

Aumento durante il primo trimestre di gravidanza, in caso di endometriosi, neoplasie benigne dell'ovaio, tumori polmonari o gastrointestinali

Concentrazioni plasmatiche:

Valori di riferimento: 0-35 UI/ml

Cut-off > 35 UI/ml

MARCATORI TUMORALI: CA 19.9 (Antigene Carboidratico) o GICA (Antigene del tratto GastroIntestinale)

Caratteristiche:

È un ganglioside

Impiego:

- Valutazione della risposta a trattamenti e per evidenziare precocemente recidive nel paziente trattato
- Elevati livelli di CA 19.9 sono stati ritrovati nell'80% dei pazienti con tumori pancreatici, ne 50-70% con tumori gastrici, nel 45% con neoplasie del colon e nel 40% con carcinomi delle vie biliari.
- Ha valore predittivo per la diagnosi differenziale fra patologia benigna e maligna

Concentrazioni plasmatiche:

Valori di riferimento: 0-37 mU/ml

Cut-off > 40 UI/ml

MARCATORI TUMORALI: AFP (α -fetoproteina)

Caratteristiche:

Glicoproteina sintetizzata durante lo sviluppo embrionale e fetale dal sacco vitellino, dal fegato e dal tratto gastrointestinale. Dall'ottavo mese le concentrazioni sieriche diminuiscono e raggiungono le concentrazioni tipiche di un adulto ad un anno di età

La sua produzione nella vita adulta è legata alla proliferazione cellulare di epatociti normali o neoplastici o di altre cellule immature con caratteristiche simili a quelle che la sintetizzano durante la vita fetale.

Impiego:

- Le neoplasie in cui si ha un riscontro di un incremento delle concentrazioni di AFP sono i tumori epatici primitivi, i tumori che derivano dagli elementi del sacco vitellino, ed i teratomi.
- Nelle neoplasie epatiche, epatocarcinomi ed epatoblastomi, si riscontrano valori elevati di AFP nel 70-80% dei pazienti.
- Diagnosi, prognosi e monitoraggio della terapia dei tumori del testicolo e dell'ovaio

Limiti:

Tutti gli eventi che comportano rigenerazione epatica (epatectomia, epatiti virali, cirrosi) determinano un innalzamento delle concentrazioni di AFP

Concentrazioni plasmatiche:

Valori di riferimento: 15-20 ng/ml

Cut-off: 60 ng/ml

MARCATORI TUMORALI

hCG (Gonadotropina Corionica Umana)

Glicoproteina strettamente specifica del tessuto sinciziotrofoblastico e pertanto ha una elevata affidabilità nella diagnosi del corioncarcinoma: livelli sierici di beta hCG al di sopra di 5 mUI/ml al di fuori della gravidanza sono indice sicuro di presenza di corioncarcinoma.

È anche un buon marcatore dei tumori germinali del testicolo

Idrossiprolina

Amminoacido non essenziale incorporato nel collagene, che costituisce il 40% del tessuto osseo. Tutti i processi che stimolano il turnover del collagene comportano quindi un aumento dell'escrezione di questa molecola.

Il suo aumento nelle urine è correlato alla presenza di neoplasie localizzate a livello dello scheletro, soprattutto di tipo osteoblastico. È stato impiegato anche come indice di metastasi ossea in soggetti con carcinoma mammario

MARCATORI TUMORALI

Beta2-microglobulina

Proteina a basso peso molecolare presente in grandi quantità nel plasma di pazienti affetti da malattie linfoproliferative maligne (mieloma). Ha un importante valore prognostico: pazienti con basse quantità di questo marcatore hanno di solito una sopravvivenza migliore.

Enzimi:

L'aumento di alcuni enzimi in circolo, in caso di diverse neoplasie, potrebbe essere legato sia alla crescita del tumore stesso, sia alla lisi delle cellule neoplastiche, sia alla distruzione delle cellule o dei tessuti od organi infiltrati o, infine ad una diversa permeabilità di membrana delle cellule.

MARCATORI TUMORALI: nelle urine

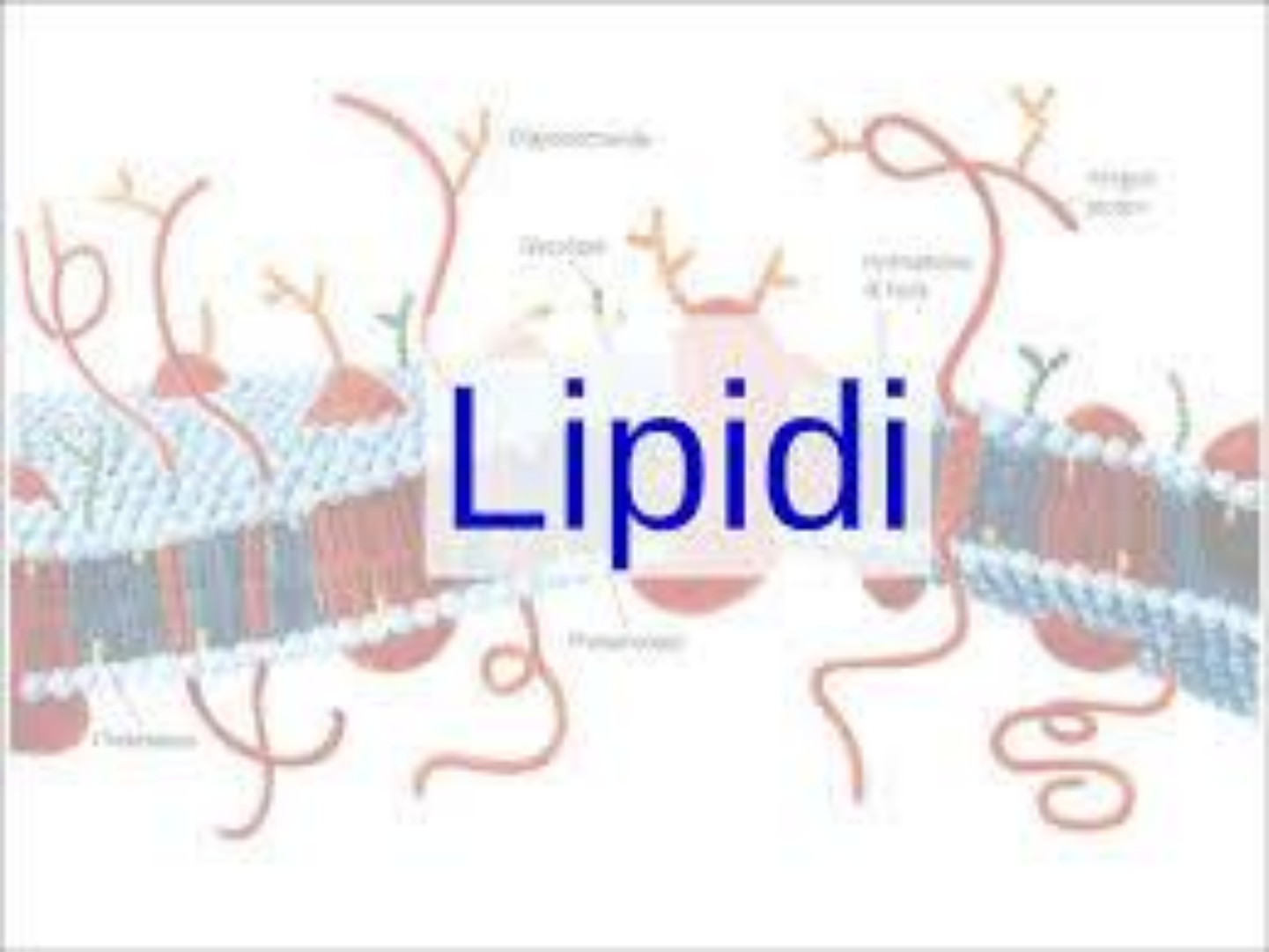
Idrossiprolina: deriva dal catabolismo del collagene. Aumenta in casi di metastasi scheletriche di carcinomi mammari o prostatici.

Poliammine: attività di regolazione sulla crescita cellulare e nella biosintesi degli acidi nucleici. Il loro aumento si ha in varie forme di neoplasie ma anche in processi infiammatori. E' poco specifico.

Acido idrossindolacetico (5-HIAA): sintetizzato da cellule dell'intestino. Aumenta nei tumori carcinoidi e nella terapia con alcuni farmaci o alimenti

Catecolamine: aumentano nel 90% dei pazienti affetti da feocromocitoma con manifestazione di ipertensione e nel 70% dei neuroblastomi.

Pseudouridina: è un prodotto terminale della degradazione enzimatica dell' RNA. Aumenta negli adenocarcinomi, nei carcinomi, nei linfomi, nelle leucemie

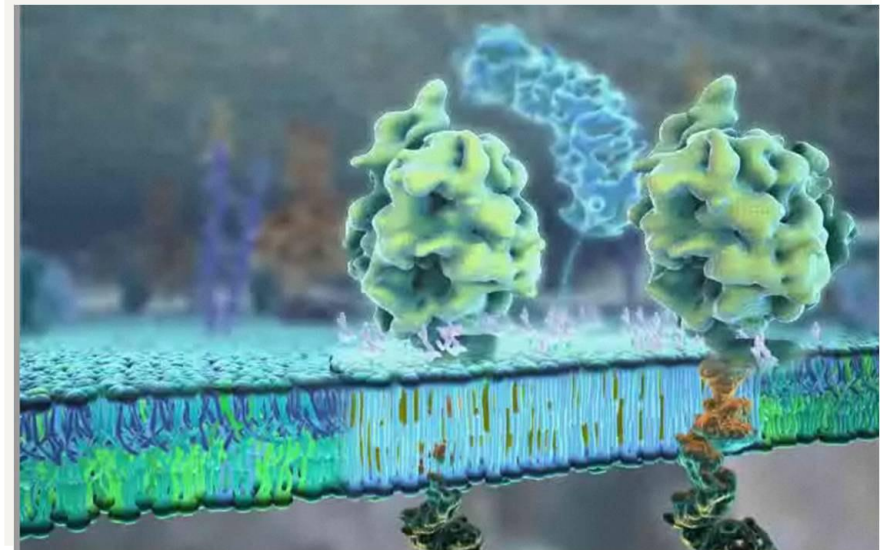


LIPIDI

Dal punto di vista fisiologico i lipidi, oltre ad essere componenti importanti delle membrane biologiche (fosfolipidi, glicolipidi e colesterolo), svolgono una funzione strutturale, di riserva di energia (sotto forma di trigliceridi e acidi grassi) e agiscono da messaggeri intracellulari (ormoni steroidei).

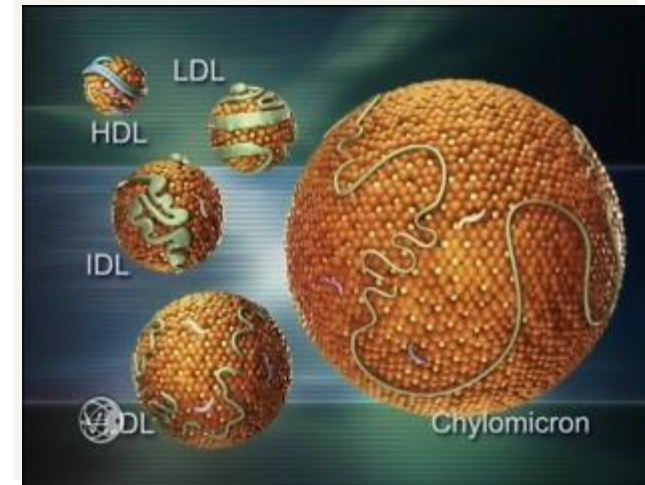
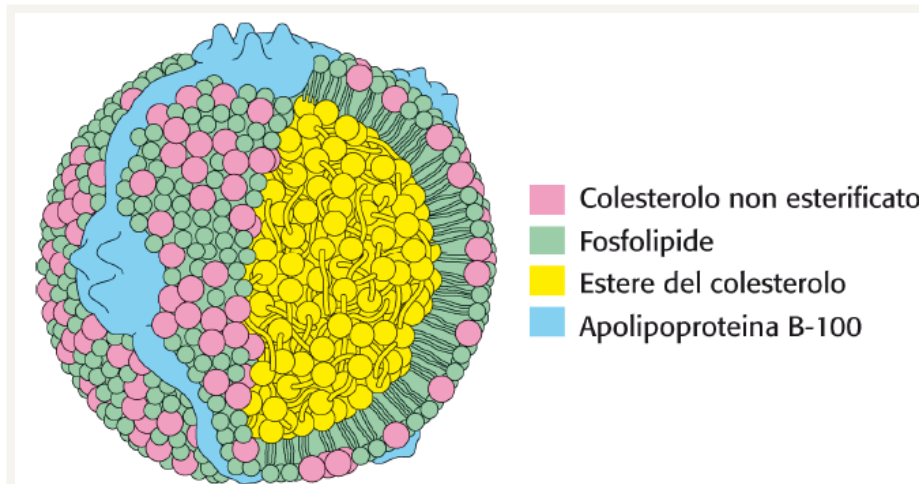
I principali lipidi sono:

1. Fosfolipidi
2. Trigliceridi
3. Colesterolo libero
4. Colesterolo esterificato
5. Acidi grassi
6. Carotenoidi
7. acetilfosfati



LIPIDI: trasporto

A causa della scarsa solubilità in un mezzo acquoso quale il plasma, i lipidi hanno bisogno di proteine per poter circolare nel sangue: si formano aggregati micellari lipoproteici (LIPOPROTEINE) capaci di formare sospensioni stabili.



Una **lipoproteina** è una complessa struttura sferica con un *core* idrofobico avvolto da un rivestimento idrofilico. Il *core* contiene trigliceridi ed esteri del colesterolo, mentre la superficie contiene fosfolipidi, colesterolo libero e proteine: le **apolipoproteine**.

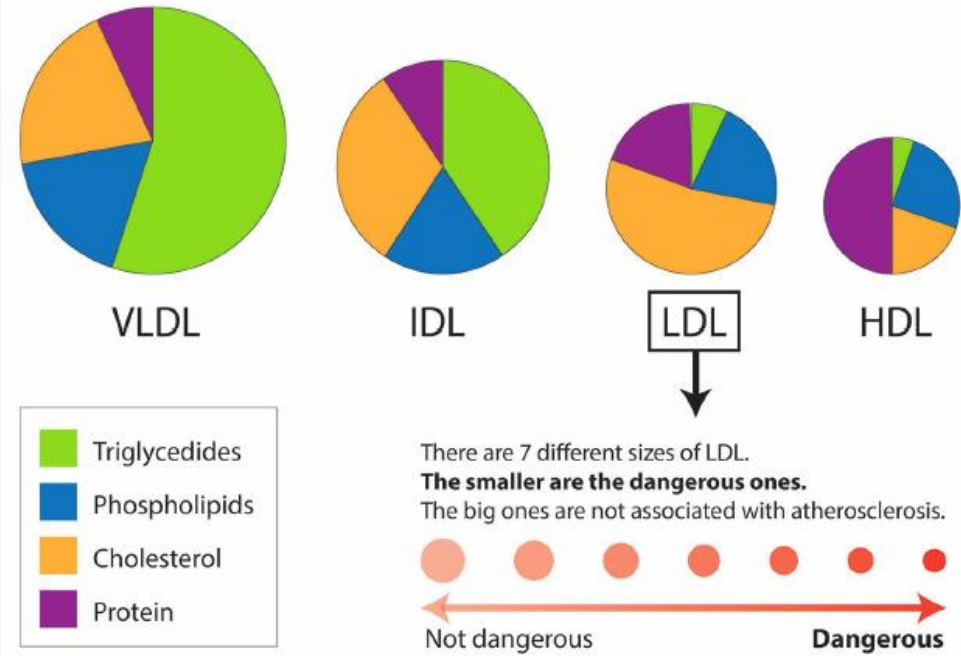
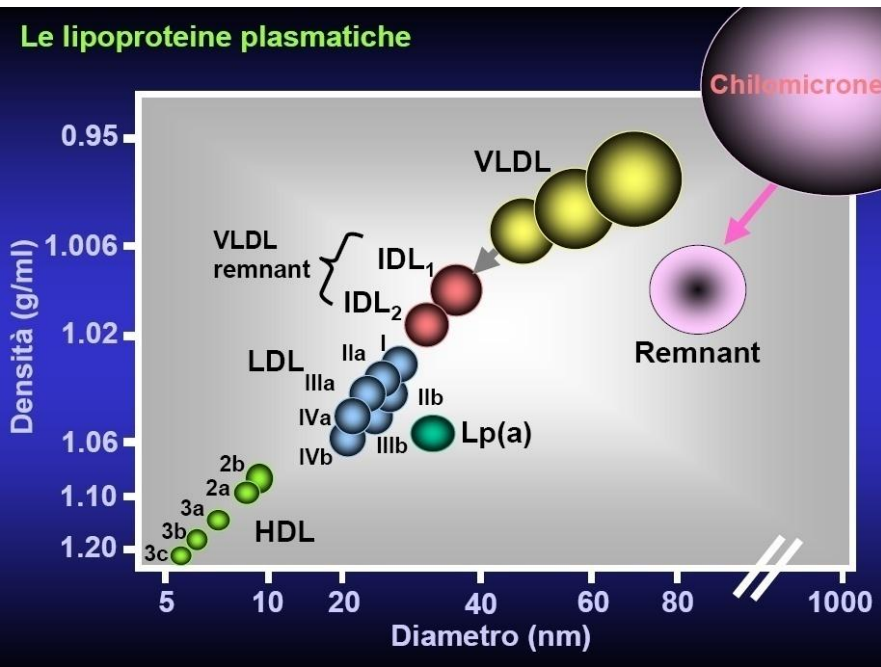
LIPIDI: apoproteine

Sono importanti per:

1. L'integrità strutturale delle lipoproteine
2. La regolazione di alcuni enzimi attivi sulle lipoproteine
3. Il riconoscimento dei recettori

Apoproteina	Plasma (mg/dl)	Peso molecolare	Produzione	Lipoproteina associata	Funzione
ApoA-I	100-120	28.331	Intestino Fegato	HDL	Attivazione LCAT Rimozione colesterolo
ApoA-II	30-50	17.380	Intestino Fegato	HDL	Proteina strutturale HDL
ApoA-IV	16	44.000	Intestino	Chilomicroni HDL	Proteina strutturale HDL
ApoB-48	3-5	240.000	Intestino	Chilomicroni	Produzione chilomicroni Ligando per recettore dei chilomicroni remnants
ApoB-100	70-100	513.000	Fegato	VLDL, LDL	Produzione LDL Ligando per recettore LDL
ApoC-I	4-6	7.000	Fegato Intestino	VLDL, HDL	Attivazione moderata LCAT
ApoC-II	3-5	8.837	Fegato Intestino	Chilomicroni, VLDL, HDL	Attivazione lipasi lipoproteica
ApoC-III	12-14	8.751	Fegato Intestino	Chilomicroni, VLDL, HDL	Inibizione lipasi lipoproteica
ApoD	6-7	32.500	Molti tessuti	HDL	Trasporto colesterolo
ApoE	3-5	34.145	Fegato Intestino e altri tessuti	Chilomicroni, VLDL, HDL	Ligando per chilomicroni remnants e LDL

LIPIDI: lipoproteine

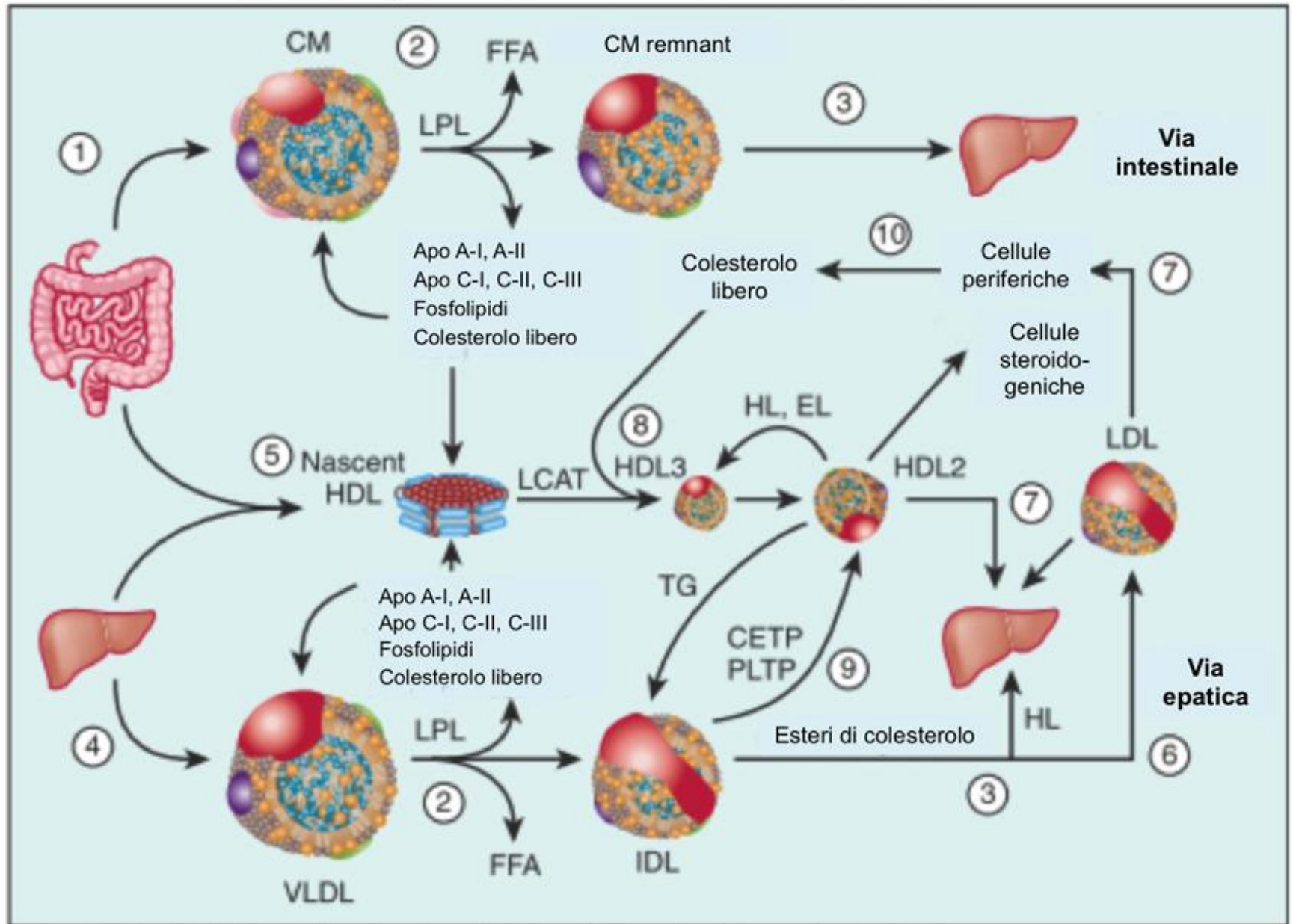


	Chilomicroni	VLDL	IDL	LDL	HDL
Densità (g · cm ⁻³)	<0,95	<1,006	1,006-1,019	1,019-1,063	1,063-1,210
Diametro delle particelle (Å)	750-12 000	300-800	250-350	180-250	50-120
Massa delle particelle (kD)	400 000	10 000-80 000	5000-10 000	2300	175-360
% Proteine ^a	1,5-2,5	5-10	15-20	20-25	40-55
% Fosfolipidi ^a	7-9	15-20	22	15-20	20-35
% Colesterolo libero ^a	1-3	5-10	8	7-10	3-4
% Triacilgliceroli ^b	84-89	50-65	22	7-10	3-5
% Esteri del colesterolo ^b	3-5	10-15	30	35-40	12
Principali apolipoproteine	A-I, A-II, B-48, C-I, C-II, C-III, E	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100	A-I, A-II, C-I, C-II, C-III, D, E

^a Componenti di superficie.

^b Lipidi della regione centrale.

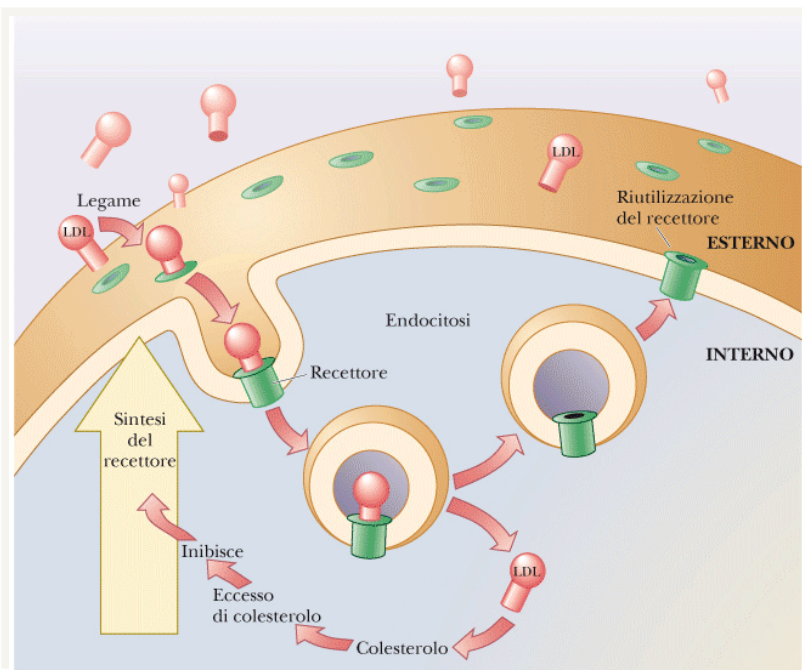
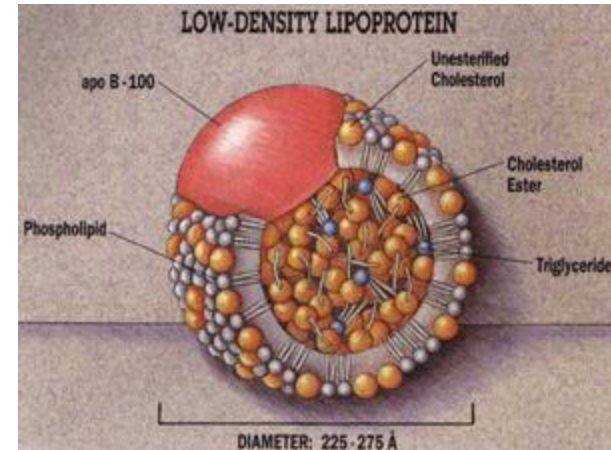
FIGURA 1. Diagramma schematico del sistema di trasporto lipidico



I numeri cerchiati si riferiscono alla spiegazione nel testo. EL = lipasi endoteliale; HL = lipasi epatica.

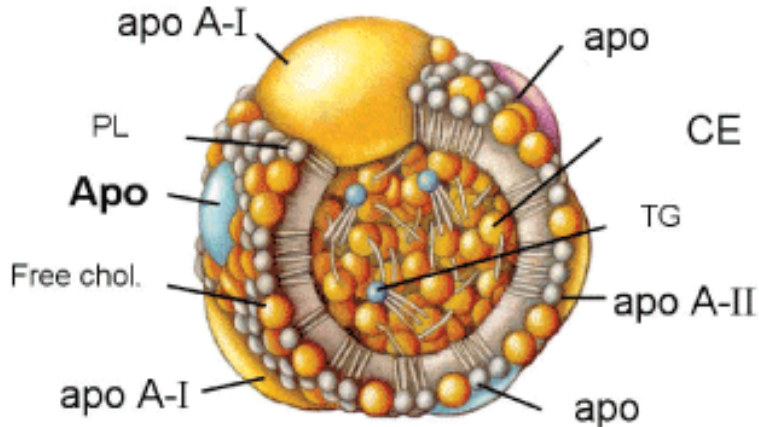
LIPIDI:LIPOPROTEINE - LDL

Le **LDL**, principali trasportatori di colesterolo nel sangue, contengono colesterolo libero ed esterificato e fosfolipidi. Modesto (5%) è il contenuto in trigliceridi. Esternamente vi è l'Apo B-100, che interagisce con specifici recettori localizzati sulle membrane di cellule extraepatiche ed epatiche.



Il colesterolo delle LDL captate dagli epatociti viene usato per la formazione di acidi biliari e per la secrezione di colesterolo libero nella bile.

LIPIDI:LIPOPROTEINE - HDL



Sono le lipoproteine che contengono la minor quota percentuale di lipidi rispetto alle proteine, e contengono principalmente fosfolipidi e colesterolo.

Le cellule periferiche non sono in grado di degradare il colesterolo in eccesso, ma per il mantenimento dell'omeostasi cellulare, è essenziale la presenza di un meccanismo dedicato alla rimozione del colesterolo dalle cellule.

Il fegato poi lo elimina attraverso i dotti biliari.

Il meccanismo di recupero è favorito dalla presenza dell'enzima LCAT (L-colesterolo aciltrasferasi), che aggiunge un gruppo acile al carbonio 3 del colesterolo, rendendo il colesterolo ancor più liposolubile, e favorendo quindi il suo ingresso nel core della HDL.

LIPIDI:LIPOPROTEINE - LDL ↔ HDL

Le HDL prelevano il colesterolo dalle pareti delle arterie, ostacolando la formazione delle placche aterosclerotiche.

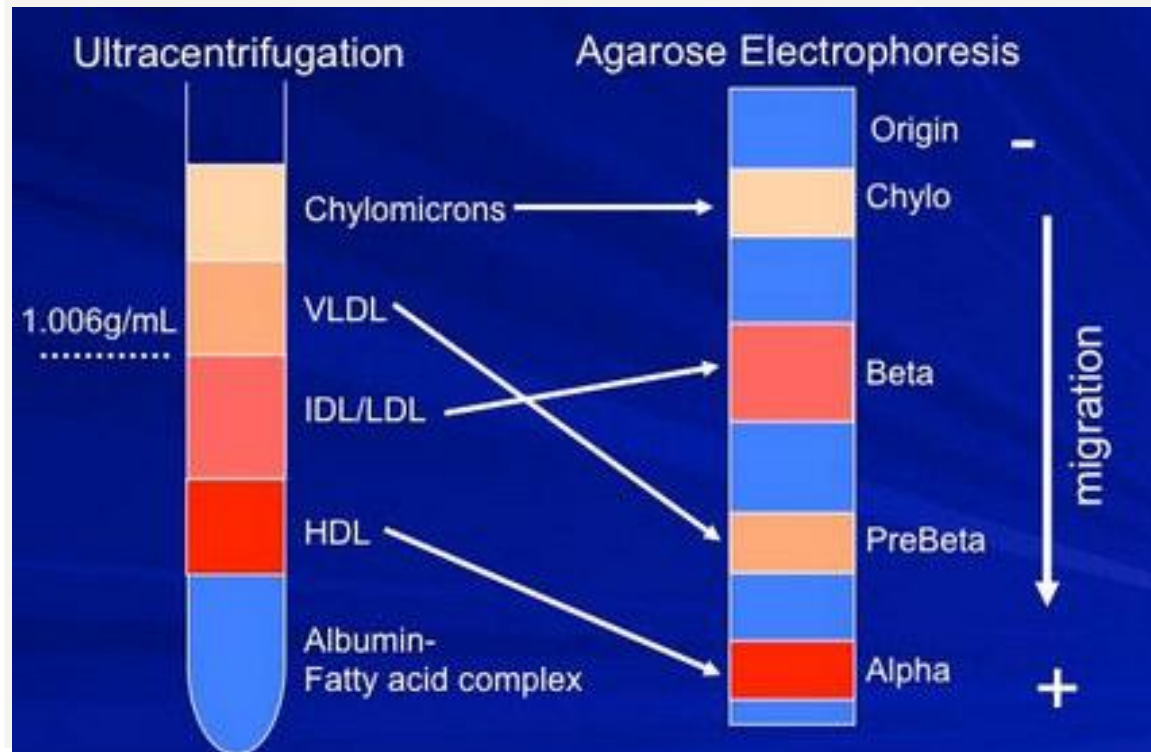
Ecco perchè il colesterolo **HDL è comunemente detto “buono”**.

Le LDL, al contrario, depositano il colesterolo in eccesso sulle pareti delle arterie, favorendo così la formazione delle placche.

Per questo, il colesterolo **LDL è definito “cattivo”**.



LIPIDI: lipoproteine - separazione



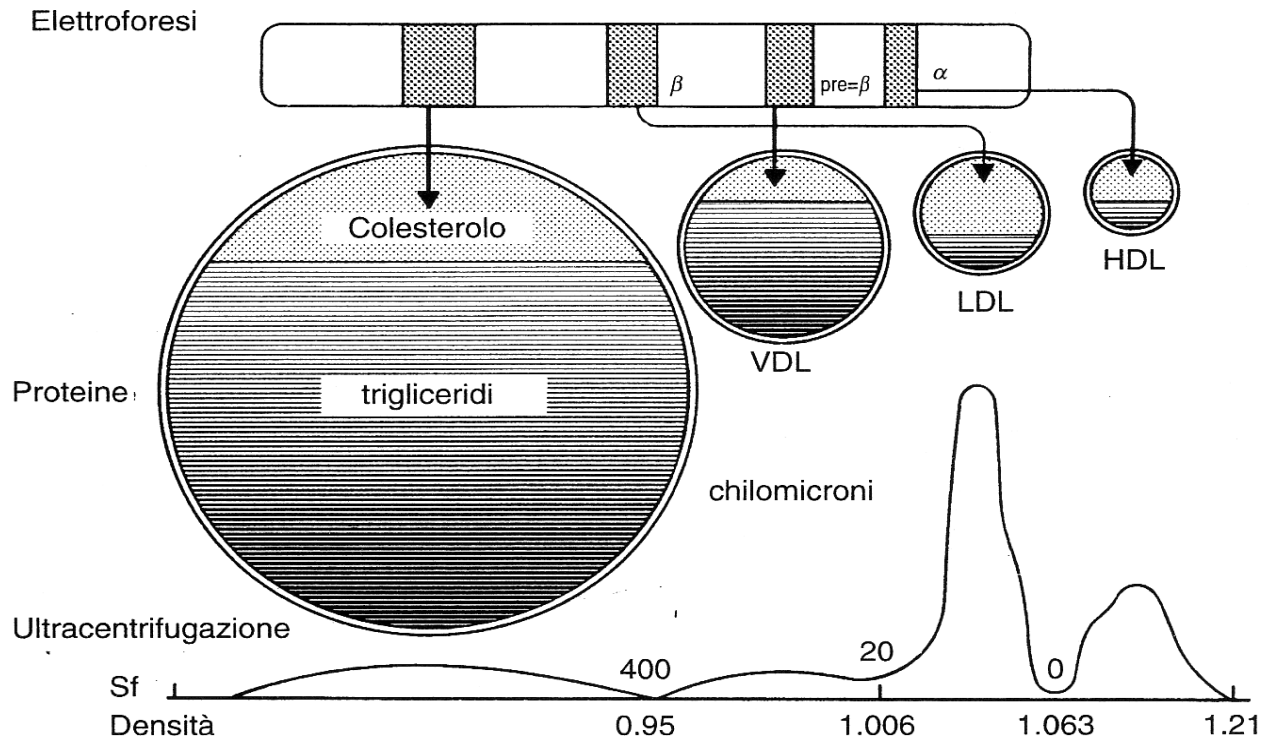
ULTRACENTRIFUGAZIONE

Consente di separare tra loro le lipoproteine in base alla densità.
Può essere preparativa o analitica.

ELETTROFORESI

Metodica di largo impiego clinico.
Sfrutta la diversa velocità di migrazione delle varie frazioni lipoproteiche sotto l'azione di un campo elettrico.

LIPIDI: lipoproteine – separazione (elettroforesi)



Si utilizza un supporto di acetato di cellulosa imbevuto di soluzione tampone elettrolitica con le estremità connesse a due elettrodi. Si deposita il campione di siero in vicinanza del polo negativo (catodo) e si fa passare la corrente. Si osserverà la migrazione delle lipoproteine verso il polo positivo (anodo). Al termine della migrazione, la colorazione si effettua con SUDAN NERO (colorante per i grassi). Infine un particolare dispositivo misurerà l'intensità di colore di ogni banda.

LIPIDI: diagnostica di laboratorio

Per il dosaggio dei lipidi viene utilizzato prevalentemente siero

Lipidi misurabili nel siero:

- Colesterolo totale
- Colesterolo LDL
- Colesterolo HDL
- Trigliceridi

Variazioni interindividuali:

Età

Sesso

Caratteristiche genetiche ed etniche

Abuso di alcool o tabacco

Gravidanza

Variazioni intraindividuali:

Variazioni stagionali

Cambiamenti di regimi alimentari

Stress

Colesterolo e trigliceridi

❖ A differenza di altri parametri di laboratorio, per il colesterolo e i trigliceridi sierici non vi sono intervalli di riferimento, ma piuttosto valori “desiderabili” oppure valori “decisionali” che corrispondono a 190 mg/dL per il colesterolo e 180 mg/dL per i trigliceridi; è fortemente consigliato che i valori di colesterolo e trigliceridi sierici siano inferiori.

❖ In presenza di valori più elevati, spesso non sono presenti malattie in atto, ma piuttosto inizia a crescere in maniera progressiva il rischio di sviluppare malattie cardiovascolari.

❖ Poiché il colesterolo è molto influenzato dalla variabilità biologica, è buona norma effettuare più controlli nel tempo, prima di definire il *range* di livelli di colesterolo propri di un individuo.

❖ Valori ripetuti di colesterolo e trigliceridi inferiori ai valori decisionali sono suggestivi di un normale metabolismo lipidico, non è richiesto in genere un approfondimento con esami di II scelta;

❖ Valori di colesterolo e/o trigliceridi >300 mg/dL (se il soggetto ha rispettato le norme di digiuno da 8 ore), sono fortemente suggestivi di un'alterazione metabolica o di patologie associate a ipercolesterolemia o ipertrigliceridemia (vedi le prossime diapositive), o infine di una iperlipoproteinemia familiare. In questi casi è opportuno suggerire al paziente una valutazione da parte di uno specialista;

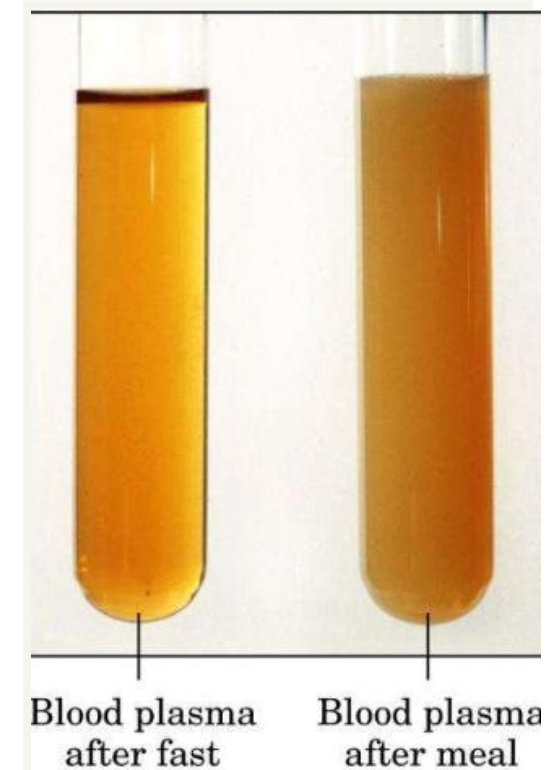
❖ Valori di colesterolo superiori ai valori decisionali, ma comunque non particolarmente elevati, possono essere associati a patologie, ma anche ad una dieta fortemente sbilanciata; in questi casi è opportuno effettuare una valutazione degli esami di II scelta.

LIPIDI:

diagnostica di laboratorio - aspetti preanalitici

Il prelievo deve essere effettuato nelle seguenti condizioni:

1. Paziente a digiuno da 12h;
2. Dieta abituale nelle due settimane precedenti, senza eccessi in più o in meno specie per quanto concerne la quota lipidica;
3. Assenza di farmaci che influenzano la lipemia;
4. Assenza di traumi di una certa gravità (es. interventi chirurgici, infarto del miocardio, dopo il quale sono stati osservati aumenti di trigliceridi e diminuzione del colesterolo);
5. Conservazione del campione anche a -20°C altera il quadro lipidico.



LIPIDI: diagnostica di laboratorio TRIGLICERIDI

Rappresentano una fonte di deposito energetico essendo costituiti da una molecola di glicerolo esterificata con tre acidi grassi (saturi o insaturi)

Oltre all'apporto dietetico i trigliceridi sono sintetizzati dal fegato e dagli adipociti e rappresentano una fonte prontamente utilizzabile di energia sottoposta a controllo ormonale

Per il dosaggio dei lipidi vengono utilizzati metodi enzimatico-colorimetrici

In genere si dosa il glicerolo liberato dopo idrolisi dei legami esterei con gli acidi grassi. Viene poi dosata l'acqua ossigenata che si forma tramite una perossidasi



**Valori "desiderabile":
compresi tra 40 e 200 mg/dl
(A digiuno per 12 ore)**

Aumentano alcolismo, diabete, epatopatie, insufficienza renale, ipotiroidismo, obesità, pancreatite.

Se un loro aumento si associa a forte diminuzione di colesterolo HDL rappresentano fattore di rischio per infarto e ictus.

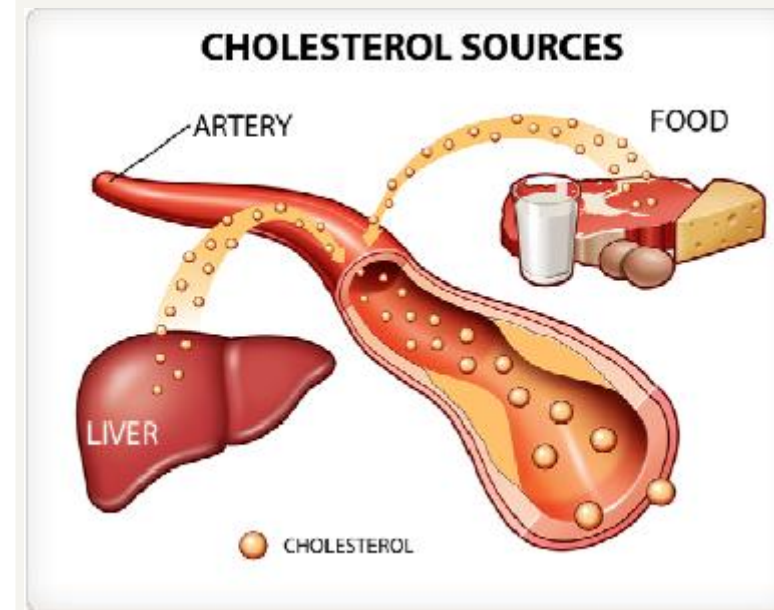
LIPIDI:

diagnostica di laboratorio

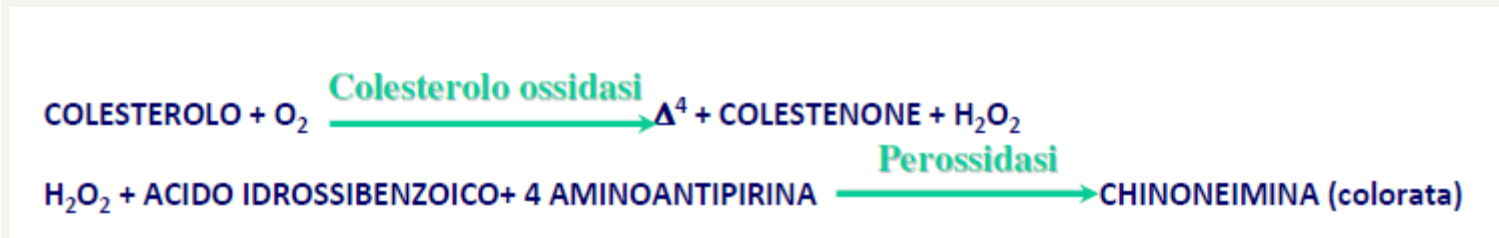
COLESTEROLO PLASMATICO TOTALE

Il colesterolo circolante è contenuto principalmente nelle LDL (che hanno tendenza a cedere colesterolo al tessuto endoteliale) e nelle HDL (che hanno la tendenza opposta, ossia quella di “recuperare” il colesterolo ceduto ai tessuti vascolari). Una minima parte di colesterolo è infine contenuto nelle VLDL.

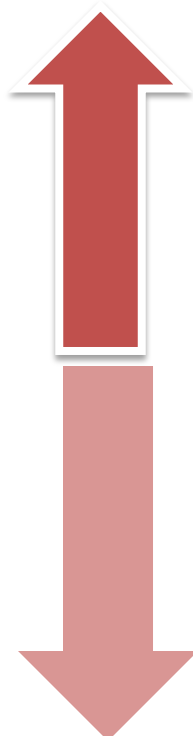
Quando si dosa il colesterolo sierico, esso rappresenta la somma di quello contenuto nelle diverse lipoproteine, per cui non abbiamo un'informazione completa sull'eventuale rischio di sviluppare malattie cardiovascolari dovute all'accumulo di colesterolo nei tessuti.



Gli esteri del colesterolo vengono scissi dalla colesterolo-esterasi in colesterolo libero. Quest'ultimo è ossidato da un enzima specifico (colesterolo-ossidasi):



COLESTEROLO TOTALE:
<190 mg/dl
(a digiuno per 12 ore)



- Iperlipemie familiari,
- Ipotiroidismo,
- Diabete mellito,
- Pancreatite cronica,
- Glomerulonefriti

- Ipertiroidismo
- Insufficienza epatica
- Anemia perniziosa emolitica e ipocromica
- Cachessia
- Malnutrizione
- Broncopneumopatia cronica ostruttiva

LIPIDI: diagnostica di laboratorio



COLESTEROLO HDL
Uomini > 40 mg/dl
Donne > 45 mg/dl
(a digiuno per 12 ore)

Viene considerato, dal punto di vista clinico, un parametro molto utile: deve essere <5 (<4.5 per le donne). Il rischio di malattia coronarica è tanto più elevato quanto più alto è tale rapporto (> 7).

COLESTEROLO LDL
Compreso tra 100 e 160 mg/dl
(a digiuno per 12 ore)

Avendo a disposizione i valori di colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi, la concentrazione delle LDL può essere dedotta usando la formula di Friedewald:
$$\text{Colesterolo LDL} = \text{Colesterolo Totale} - \text{Colesterolo HDL} - \text{Trigliceridi}/5$$

LIPIDI:

diagnostica di laboratorio

APOLIPOPROTEINE PLASMATICHE

VALORI DI RIFERIMENTO:

Apo A I 95-200mg/dl;

Apo B 60-135mg/dl

(a digiuno per 12 ore)

Apolipoproteina A I trasporta le HDL , mentre la B è utilizzata per il trasporto delle LDL.

Si ricorre al loro dosaggio per individuare i soggetti a rischio, così come avviene per il colesterolo totale e per il colesterolo HDL: più elevato è il rapporto Apo B/Apo A maggiore è il fattore di rischio di aterosclerosi.

Le apolipoproteine possono essere dosate con l'immunodiffusione radiale, con metodi nefelometrici o turbidimetrici

Classificazione di Fredrickson delle iperlipidemie

Gruppo eterogeneo di alterazioni del metabolismo lipidico ad eziologia primitiva o secondaria che si manifestano con alterate concentrazioni ematiche delle varie lipoproteine circolanti.

colesterolo plasmatico >180-200 mg/dl

trigliceridi > 200 mg/dl

Feno-tipo	Analisi delle lipoproteine				Lipidi		Aspetto del siero (dopo 16 ore a 4 °C)
	Chilo-microni	VLDL	IDL	LDL	Coleste-rololo	Trigli-ceridi	
I	++			-	+	+++	Siero limpido
IIa				++	++	N	Siero chiaro Colore giallo-arancio
IIb		++	N	++	++	++	Siero chiaro o lievemente torbido
III	+	+	++	-	++	++	Siero torbido o opaco,
IV		++		N/-	+	++	Siero torbido od opalescente
V	++	++		-	+	++	Siero torbido

Refrigerator test

Nelle iperlipidemie di tipo I e V il siero lasciato a riposo per 24 ore ad una temperatura di 4°C presenta uno strato cremoso superficiale dovuto all'affioramento dei chilomicroni.

DISLIPIDEMIE

1. **Forme ereditarie**, che si manifestano indipendentemente da fattori esterni
2. **Forme dipendenti da fattori esterni**, come l'eccessiva assunzione di grassi dalla dieta
3. **Dislipidemie secondarie** derivanti da complicanze di altre patologie

DISLIPIDEMIE ereditarie

Malattia	Difetto genetico	Fredrickson	Rischio
Ipercolesterolemia familiare	Bassi livelli di recettore dell'LDL attivo	Ila o I Ib	CHD
Ipertrigliceridemia familiare	Forse un singolo difetto genico	IV o V	
Iperlipidemia familiare combinata	Forse un singolo difetto genico	Ila, I Ib, IV o V	CHD
Deficienza di lipoproteina lipasi	Ridotti livelli di LPL attiva	I	Pancreatite
Deficienza di Apo C-II	Incapacità di sintesi di Apo C-II (cofattore della LPL)	I	Pancreatite
Abetalipoproteinemia	Incapacità di sintesi di ApoB	Normale	Deficienza di vitamine liposolubili, deficit neurologico
Analfalipoproteinemia (malattia di Tangier)	Incapacità di sintesi di ApoA	Normale	Deficit neurologici Accumuli di esteri del colesterolo in siti anomali

DISLIPIDEMIE secondarie

IPOTIROIDISMO

Dal tasso di ormoni tiroidei dipende il tono generale del metabolismo intermedio. Una lesione organica o funzionale della tiroide comporta dunque un rallentamento del metabolismo intermedio e un accumulo di metaboliti, fra cui colesterolo e altri lipidi, nei tessuti e nel sangue

DIABETE MELLITO

La difettosa utilizzazione del glucosio porta all'eccessiva mobilizzazione dei lipidi tissutali, ma gli acidi grassi liberi non possono essere completamente ossidati se non si ha un adeguato consumo di glucosio. Per cui i NEFA vengono avviati alla sintesi di nuovi trigliceridi e di nuovo colesterolo o alla produzione di corpi chetonici

MALATTIE DEL FEGATO

il disturbo dell'assetto lipidico appare ovvia conseguenza poiché il fegato è l'organo regolatore del metabolismo intermedio e, per quanto riguarda i grassi, elabora, distribuisce e accumula quelli provenienti dall'intestino, compie la sintesi delle lipoproteine, è l'organo chiave per il metabolismo del colesterolo...

NEFROSI

dovuta probabilmente all'alterazione del quadro sieroproteico conseguente alla perdita renale di proteine ed al compenso da parte di sieroproteine meno filtrabili fra cui quelle che veicolano i lipidi

DIAGNOSTICA DELLE ALTERAZIONI DEL METABOLISMO GLUCIDICO



I carboidrati, o saccaridi, sono le molecole biologiche più abbondanti.

Chimicamente sono costituiti da C, H e O combinati.

Le unità di base dei carboidrati sono i monosaccaridi che si uniscono poi a dare oligosaccaridi (fino a 12 monosaccaridi) e polisaccaridi (oltre 12 monosaccaridi).

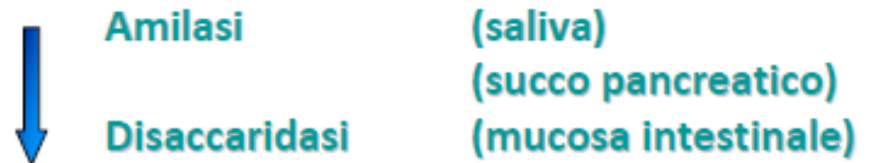
I carboidrati vengono introdotti nell'organismo con l'alimentazione o prodotti da altre sostanze nel corso di svariati processi metabolici (neoglicogenesi e glicogenolisi)

Funzioni:

1. Dalla loro degradazione si libera energia
2. Utilizzazione per la biosintesi di altri composti (acidi grassi, aa)
3. Coniugazione con proteine e lipidi

METABOLISMO GLUCIDICO: digestione e assorbimento

Disaccaridi (saccarosio, lattosio) e polisaccaridi, (amido, glicogeno) introdotti con la dieta



Monosaccaridi
(glucosio, fruttosio, galattosio)

Glucosio, fruttosio, galattosio, mannosio (deriva dalle glicoproteine), ribosio e deossiribosio (digestione degli acidi nucleici) vengono assorbiti nella **mucosa intestinale**

Assorbimento

1. Per diffusione facilitata (gradiente di concentrazione)
2. Per trasporto attivo

Fegato

METABOLISMO GLUCIDICO: destino dei carboidrati

Dopo l'assorbimento nel circolo portale, i carboidrati prima di pervenire nella circolazione sistemica, pervengono al FEGATO, ove si esplicano attività tese a :

- trasformazione del glucosio in glicogeno (glicogenosintesi) e suo deposito nel fegato;
- ossidazione del glucosio per produrre energia;
- biosintesi di altri composti (ac. grassi, aa...)

DIMINUIRE la quantità di glucosio immessa nella circolazione sistemica

AUMENTARE la quantità di glucosio immessa nella circolazione sistemica

- trasformazione in glucosio del fruttosio o del galattosio;
- trasformazione del glicogeno epatico in glucosio (glicogenolisi);
- sintesi di glucosio (gluconeogenesi) a partire da altri composti come aa, ac. Lattico e glicerolo

La quantità di glucosio in circolazione sistemica è la risultante di questi due opposti meccanismi

Dopo un digiuno di almeno 4 ore, il valore della glicemia è di 55-110 mg/dl.

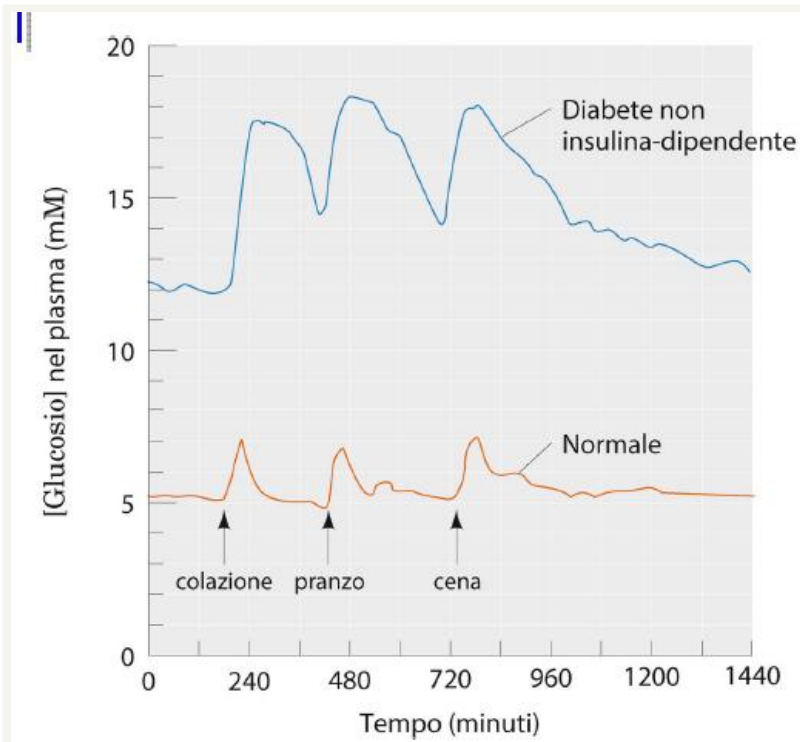
Durante le prime due ore dopo il pasto, o dopo assunzione di glucosio, c'è assorbimento intestinale di glucosio, con aumento della glicemia.

Conseguentemente aumenta 10-15 volte il tasso insulinemico e diminuisce quello di glucagone e GH del plasma.

La glicemia aumenta, al massimo, dopo circa un'ora dal pasto, fino a 160-180 mg/dl. In seguito la glicemia inizia a diminuire progressivamente, pur rimanendo lievemente superiori rispetto a quelli basali.

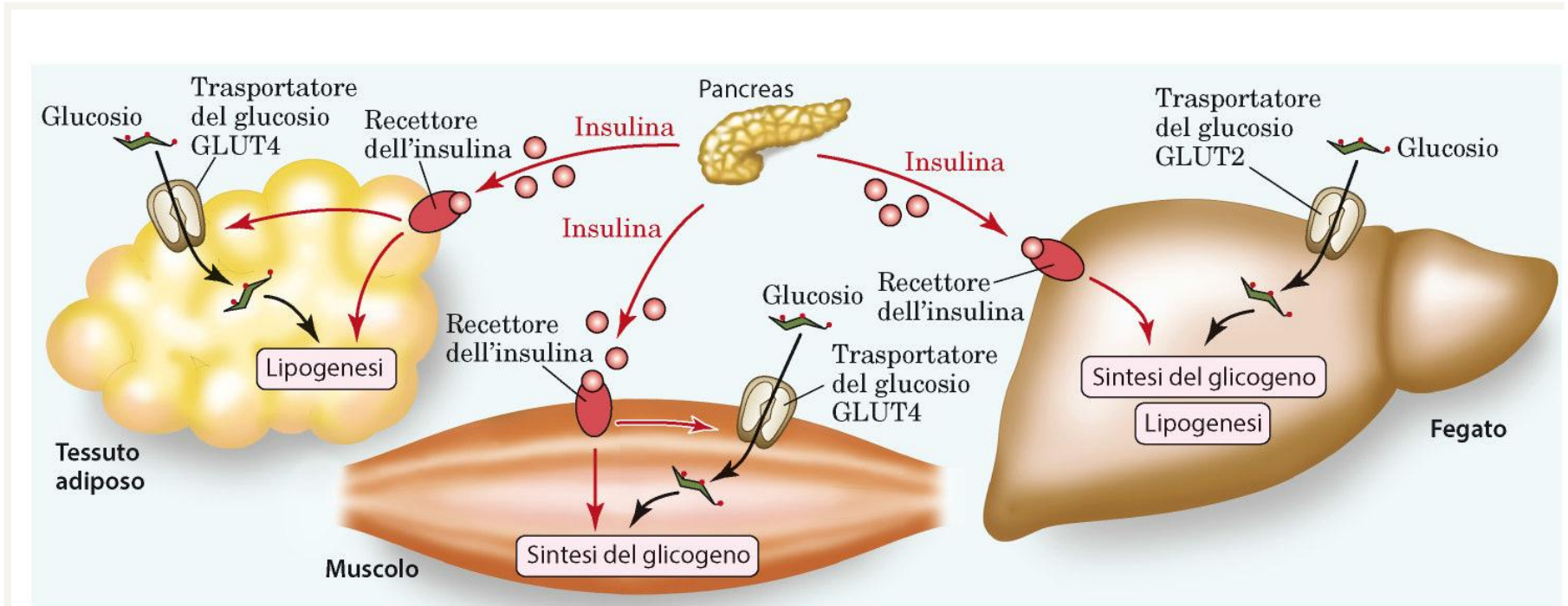
Quando il digiuno si protrae da più di 4 ore, il tasso insulinemico diminuisce notevolmente e diventano allora preminenti gli effetti degli ormoni antagonisti: stimolano la produzione di glucosio dal fegato attivando la gluconeogenesi e glicogenolisi.

Nella situazione di digiuno protratto, il 60% circa del glucosio prodotto dal fegato ed immesso in circolo serve al metabolismo cerebrale, mentre il rimanente viene utilizzato dagli eritrociti e dal muscolo. L'altro effetto degli ormoni antagonisti, glucocorticoidi e GH, è rappresentato dallo stimolo della lipolisi, con aumento in circolo degli FFA che vengono utilizzati a scopo energetico soprattutto dal tessuto muscolare, con risparmio di glucosio; si ha però un aumento nella concentrazione di acetil-CoA che, trovandosi in eccesso, tende a dar luogo alla formazione dei corpi chetonici.



<i>Organo</i>	<i>Ormone</i>	<i>Azione</i>	<i>Effetto su glicemia</i>
Pancreas	Insulina	↑ Ingresso glucosio (tranne fegato, cervello, RBC) ↑ glicolisi, glicogenosintesi epatica e sintesi ac. grassi ↓ Lipolisi e gluconeogenesi	↓
	Glucagone	↑ glicogenolisi e gluconeogenesi epatiche ↑ Lipolisi	↑
	Somatostatina	↓ rilascio di insulina, glucagone e ormoni ipofisari (impedisce oversecrezione)	
Surrene	Adrenalina	↑ Glicogenolisi muscolare e lipolisi	↑
	Cortisolo	↑ Gluconeogenesi da aa. Antagonista dell'insulina	↑
Ipofisi	ACTH	↑ Rilascio di cortisolo e lipolisi	↑
	GH	Antagonista dell'insulina	↑
Tiroide	Tiroxina	↑ Glicogenolisi e gluconeogenesi epatica ↑ Assorbimento intestinale di zuccheri	↑

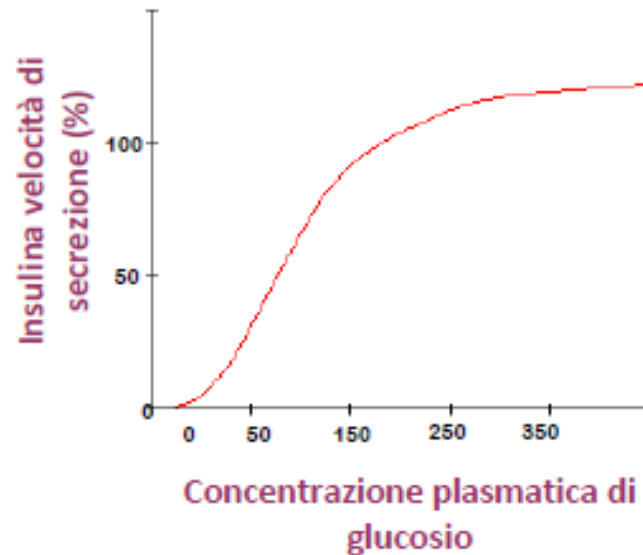
METABOLISMO GLUCIDICO: insulina



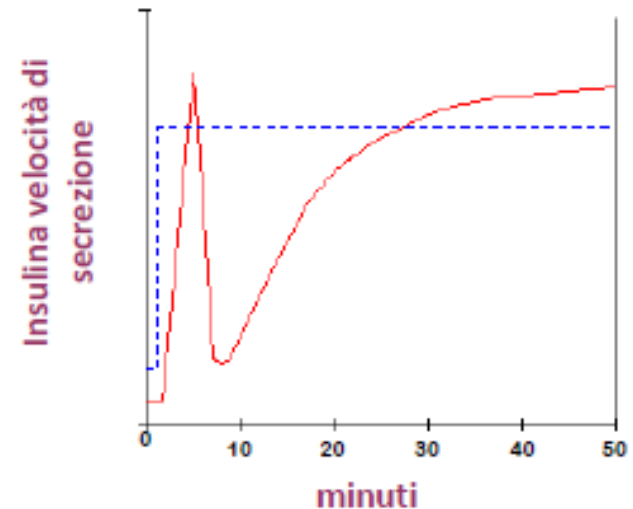
- ❑ Modifica i processi di permeabilità della membrana cellulare, favorendo l'ingresso del glucosio nella cellula.
- ❑ Modifica l'attività di alcuni enzimi cellulari, favorendo l'utilizzazione e inibendo la neosintesi di glucosio.
- ❑ Di conseguenza, previene l'accumulo di glucosio nel sangue, che invece si verifica in carenza o per ridotta funzionalità dell'insulina.

METABOLISMO GLUCIDICO: secrezione insulina

Notevole importanza funzionale assume la “prontezza” con cui le cellule β rispondono alle variazioni del tasso glicemico.

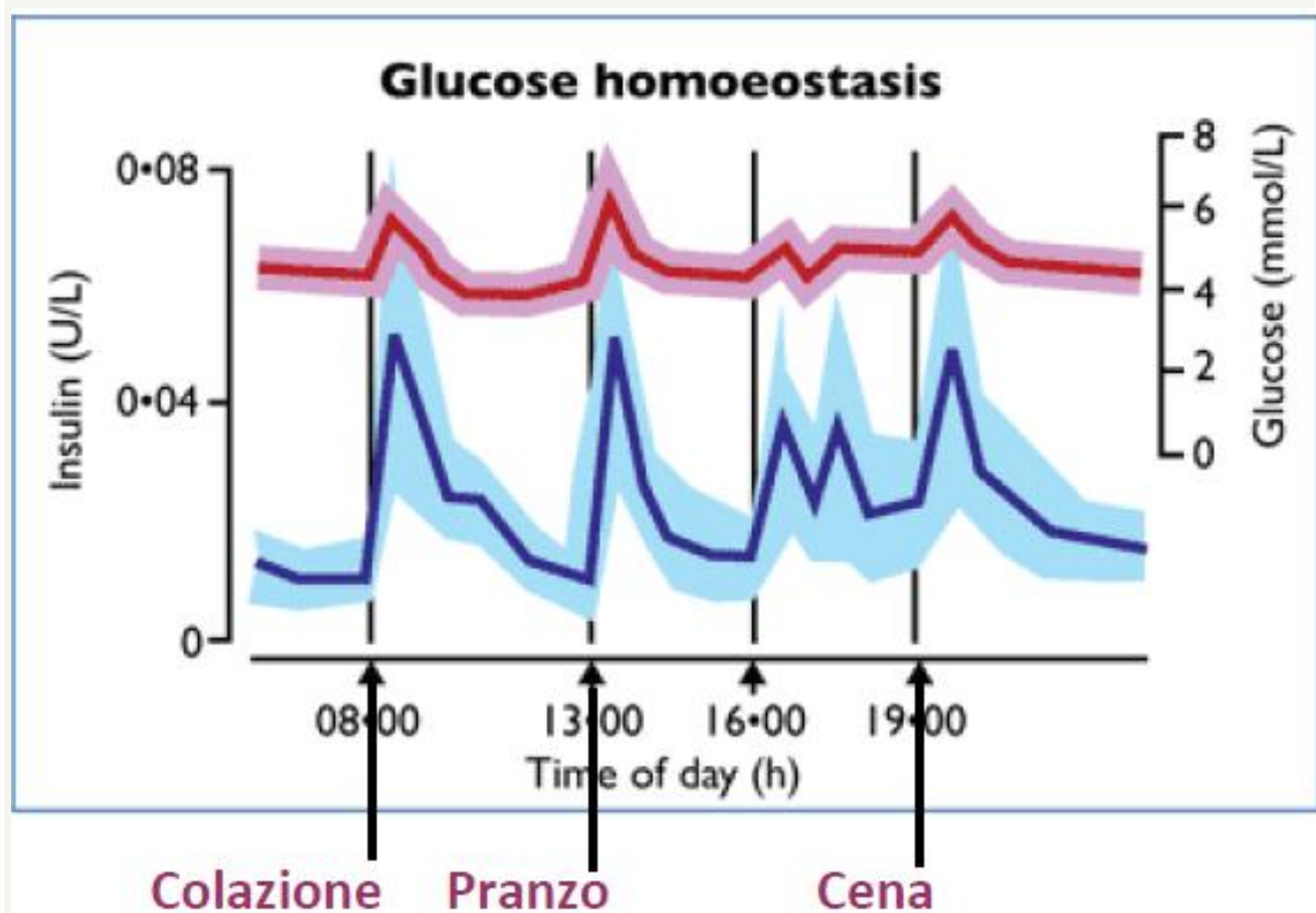


Risposta delle cellule β ad un improvviso innalzamento del livello glicemico (es. per infusione per via circolatoria di una soluzione glucosata).

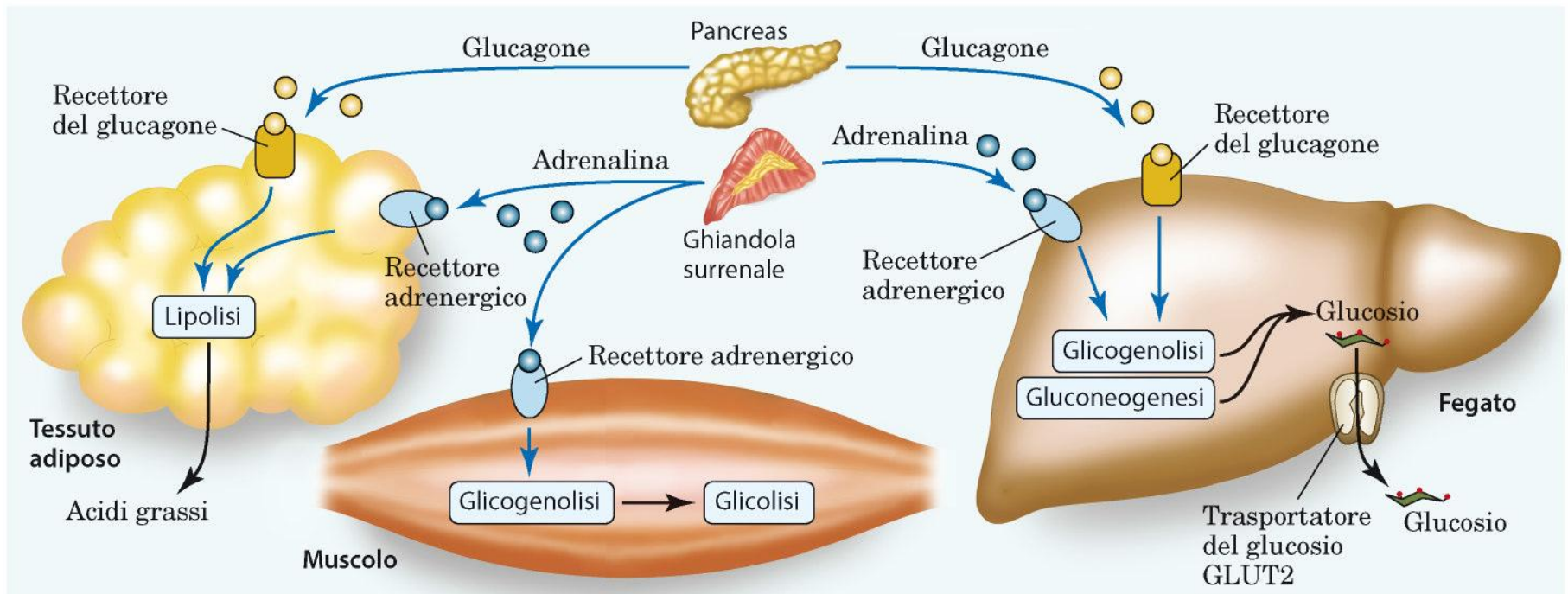


Andamento bifasico. Le cellule β posseggono due pool di insulina che vengono rilasciati con diverse velocità.

METABOLISMO GLUCIDICO: profilo insulemico/glicemico nelle 24h



METABOLISMO GLUCIDICO: rilascio cellulare glucosio



Quando non sono disponibili carburanti energetici provenienti dalla dieta, il glucagone induce il fegato a rilasciare glucosio e il tessuto adiposo a rilasciare grassi. In condizioni di stress, l'adrenalina induce risposte simili.

METABOLISMO GLUCIDICO:

Iperglicemia

ENDOCRINOPATIE

- Iperproduzione di cortisolo (Morbo di Cushing) o somministrazione di glucocorticoidi che inducono gluconeogenesi e inibiscono il metabolismo del glucosio.
- Tireotossicosi: la tiroxina ha azione glicogenolitica.
- Eccesso di aldosterone: l'ipopotassemia associata comporta una ridotta secrezione insulinica e non permette una normale assunzione del glucosio.

MALATTIE PANCREATICHE

- Provocano distruzione delle cellule insulari
- Pancreatiti acute e croniche, asportazione chirurgica del pancreas
- Calcoli e tumori

FARMACI CHE INIBISCONO LA SECREZIONE O PROVOCANO RESISTENZA INSULINICA

- Steroidi, salicilati, beta bloccanti, barbiturici, contraccettivi orali, estrogeni

INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

- Alterata utilizzazione del glucosio

EPATOPATIA CRONICA

- Ridotta glicogenosintesi

METABOLISMO GLUCIDICO:

Diabete mellito

Può essere definito come un disordine metabolico/endocrino caratterizzato da iperglicemia, dovuta a resistenza all'insulina e a mancanza assoluta o parziale di insulina.

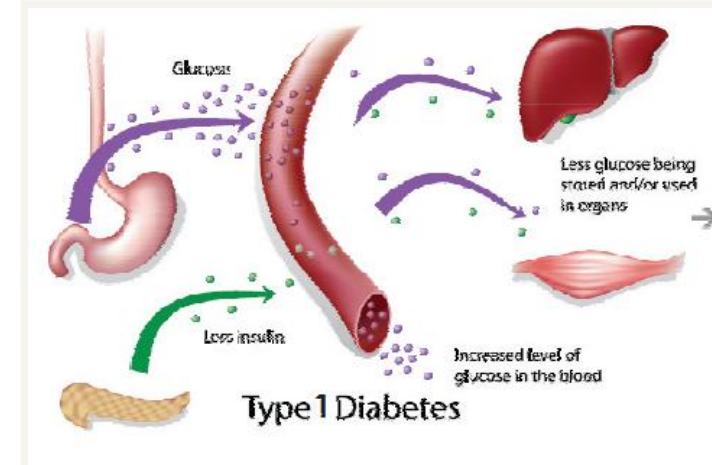
CLASSIFICAZIONE

1. Diabete di tipo I (15% dei diabetici)
(IDDM: insulin dependent diabetes mellitus)
2. Diabete di tipo II (85% dei diabetici)
(NIDDM: non insulin dependent diabetes mellitus)
3. Ridotta tolleranza al glucosio (IGT)
4. Forme di diabete dipendenti da altre varie cause
(sindrome di Cushing, terapia farmacologica)
5. Diabete mellito gestazionale (GDM)

<i>Malattia</i>	<i>Rischio rispetto ai non diabetici</i>
Cecità	20 volte
Insufficienza renale	25 volte
Ulcera	40 volte
Infarto miocardico	2 – 5 volte
Ictus	2 – 4 volte

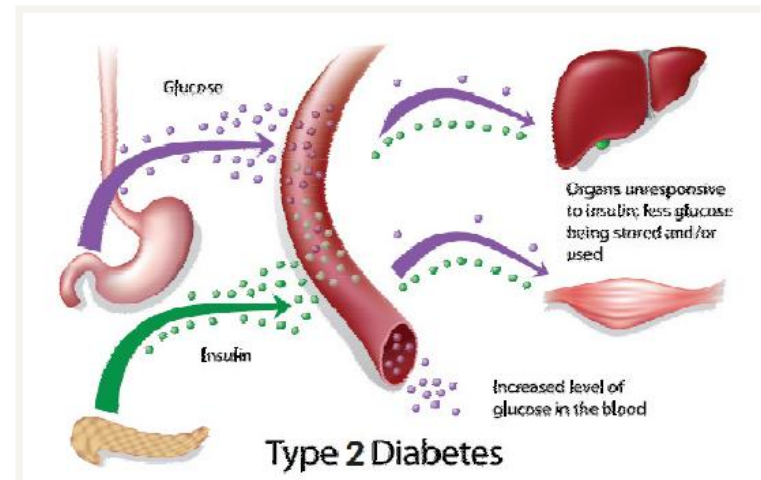
Deficit insulinico dovuto a inefficienza o distruzione delle cellule β (per predisposizione ereditaria o aggressione autoimmune). Il livello plasmatico di **insulina** si mantiene **costantemente basso**, sia in condizioni basali che in risposta ad aumenti della glicemia.

- Presenza di Ab contro le isole di Langerhans
- Necessità della terapia insulinica
- Insorgenza acuta e giovanile (9-14 anni)



L'insulina viene prodotta in quantità adeguata ma c'è una resistenza a livello tissutale.

Può manifestarsi a qualsiasi età (40-80 anni).
L'obesità è l'aspetto clinico più comunemente associato al diabete.

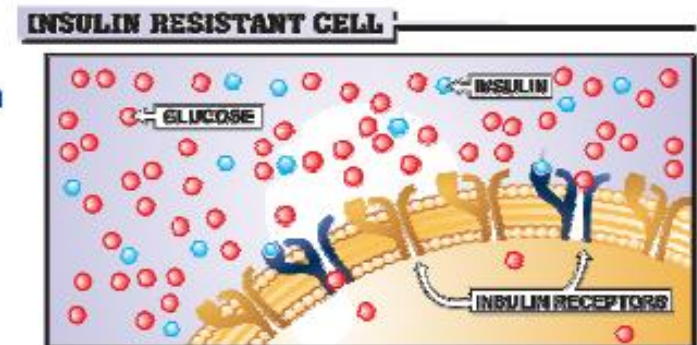
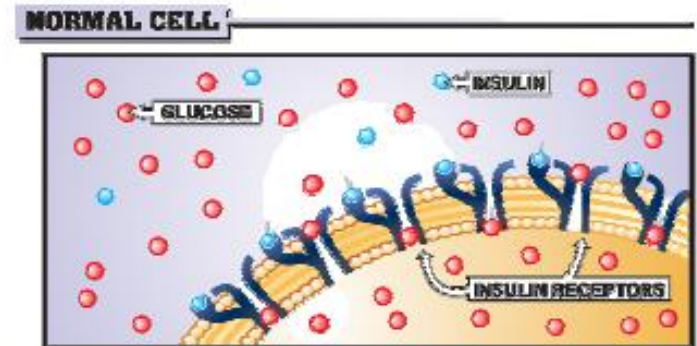


DIMINUITA TOLLERANZA AL GLUCOSIO

I pazienti sono caratterizzati da una curva di tolleranza al glucosio con caratteri patologici che generalmente si normalizza con la dieta.

Sindrome iperglicemica asintomatica.

Il 20% di soggetti IGT rischiano pero di trasformarsi in pazienti diabetici.



DIABETE IN GRAVIDANZA

Condizione transitoria che si ristabilizza subito dopo il parto. Si verifica in donne con ridotta tolleranza al glucosio. Se la glicemia a digiuno rimane superiore a 105 mg/dl per più giorni:

- non si effettua la curva da carico per i potenziali rischi per il feto
- si determina il profilo glicemico in più prelievi a distanza di 4 ore

Se il secondo valore della glicemia è inferiore a 105 mg/dl si può effettuare la curva da carico del glucosio in base ai risultati le donne gravide sono classificate in:

1. Normale o ridotta tolleranza al glucosio
2. Diabete mellito in gravidanza

L'importanza del corretto monitoraggio del diabete nella donna gravida è legata da una parte alle complicazioni a cui può andare incontro la donna stessa, dall'altra al fatto che il feto presenta una condizione di iper-insulinismo per la continua stimolazione alla quale sono soggette le sue cellule pancreatiche in conseguenza dell'iperglicemia materna.

Alla nascita l'iperinsulinismo, non più compensato dall'iperglicemia materna, può portare ad ipoglicemia anche molto grave con conseguenti disturbi neurologici.

METABOLISMO GLUCIDICO:

Criteri diagnostici (American Diabetes Association)

Negli adulti:

1. Sintomi classici del diabete (sete, poliuria, nocturia) e iperglicemia inequivocabile
2. Glicemia plasmatica a digiuno uguale o >126 mg/dl
3. Glicemia plasmatica a digiuno <126 mg/dl, ma con test di tolleranza orale al glucosio nettamente alterato (>200 mg/dl dopo 2h o in tempi intermedi)
4. Emoglobina glicata (A1c) $\geq 6,5\%$

Nei bambini:

Sintomatologia classica (poliuria, glicosuria) e valori di glicemia > 200 mg/dl

TEST di TOLLERANZA AL GLUCOSIO

Il test di tolleranza al glucosio (Oral glucose tolerance test, OGTT) o curva da carico orale di glucosio misura le variazioni nel tempo della glicemia dopo la somministrazione di glucosio per orale.

- ❖ Dieta normocalorica e senza restrizione di carboidrati nei 3 giorni precedenti
- ❖ Prelievo a digiuno (8 ore)
- ❖ Somministrazione di 75 g di glucosio in 250 ml di acqua (bevuta entro 5')
- ❖ Prelievo dopo 2 h e poi ad intervalli di 30 min fino a 2 ore.

**I valori di riferimento
dopo 2 ore da prova da
carico**

- NORMALITÀ → Glicemia < 140 mg/dL
- INTOLLERANZA AL GLUCOSIO → Glicemia = 140-199 mg/dL
- DIABETE → Glicemia ≥ 200 mg/dL

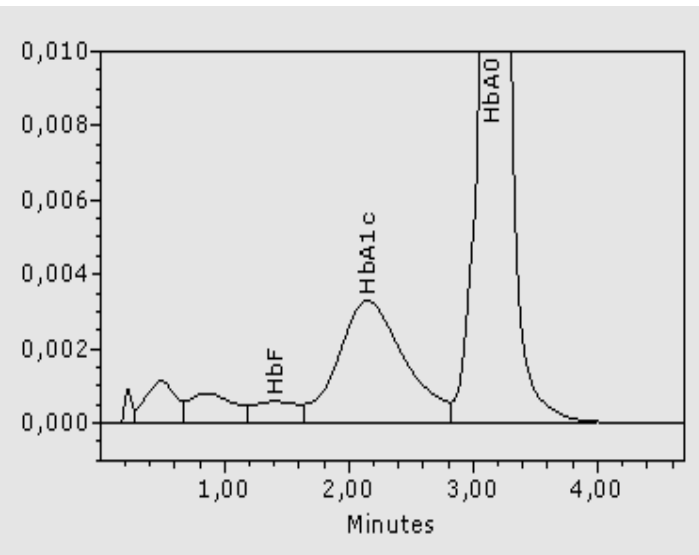
Emoglobina glicata (HbA1c)

SOMMARIO E DESCRIZIONE DEL TEST

Durante il periodo di vita dei globuli rossi, l'emoglobina glicata è continuamente formata dall'aggiunta di glucosio a N-terminale della catena beta di emoglobina. Questo processo, che non è enzimatico, riflette la media di esposizione dell'emoglobina al glucosio in un lungo periodo di tempo. In un classico studio, Trivelli et al. (1) mostrò che l'emoglobina glicosilata in soggetti diabetici era 2-3 volte più alta dei livelli riscontrati nei soggetti normali. Molti studiosi hanno suggerito che l'emoglobina glicata è un indicatore del controllo metabolico per il diabetico, poiché i livelli di emoglobina glicata si avvicinano ai valori normali per i diabetici in trattamento (2-4).

L'emoglobina glicata è stata definita tecnicamente come "frazione veloce" delle emoglobine (HbA1a, A1c), che viene eluita per prima durante la cromatografia su colonna con resina a scambio cationico.

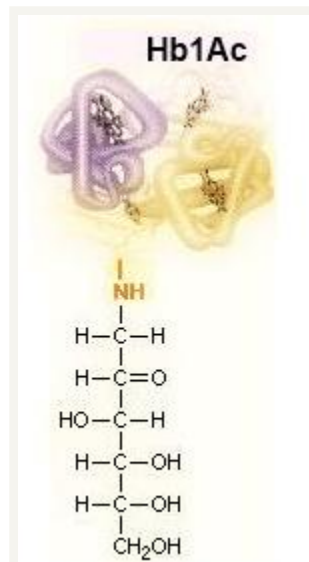
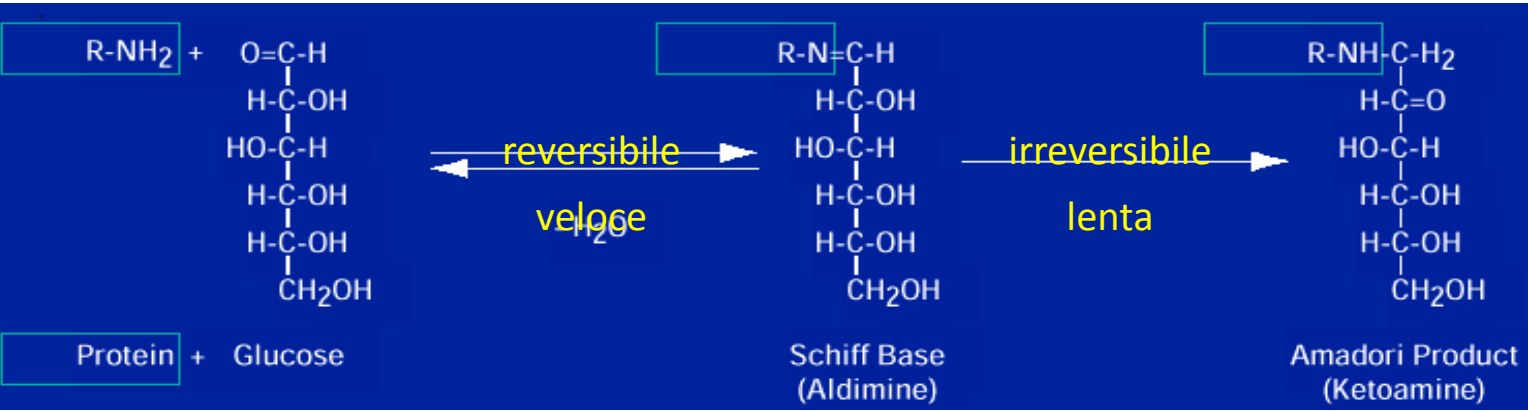
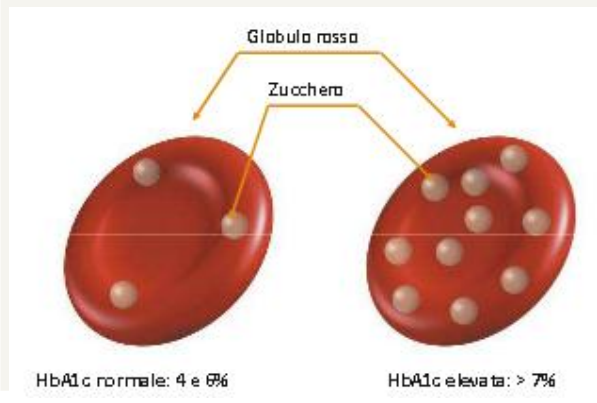
L'emoglobina non-glicata, che consiste nella maggior quantità dell'emoglobina, è stata denominata HbA0. Il procedimento per la determinazione della emoglobina glicata impiega una resina a scambio cationico per la separazione rapida dell'emoglobina glicata (frazione veloce) dall'emoglobina non-glicata.



- E' espressione della glicemia media di un lungo periodo e non solo di un singolo momento
- Importante per il monitoraggio dei diabetici di tipo 1 e 2
- Valida per monitorare la terapia
- Correlazione con il rischio di complicanze del diabete (retinopatia)
- Ha una minore variabilità biologica e instabilità pre-analitica
- Non soffre di alcuna influenza da parte di perturbazioni acute (es. stress da prelievo)

Aumenta se la terapia del diabete non è efficace (valori normali < 5%).

Ogni sua variazione dell'1% corrisponde ad una variazione della glicemia plasmatica di circa 35 mg/dl.



HbA_{1c} labile

HbA_{1c} stabile

La persistenza di iperglicemia, tuttavia, rende tale reazione irreversibile, per cui la molecola di emoglobina resterà "glicata" sino alla morte del globulo rosso (120 giorni).

Sieroproteine (albumina) glicate

L'emoglobina glicata non indica variazioni così recenti della glicemia in quanto l'emivita dei globuli rossi è 120 giorni: in situazioni in cui è opportuno ottenere indicazioni su variazioni di glicemia avvenute in tempi più brevi come per esempio in caso di diabete mellito tipo I in terapia intensiva o in gravidanza, è preferibile il dosaggio della fruttosamina. La fruttosamina deve sostituire il dosaggio dell'emoglobina glicata in caso di diabete in pazienti in cui, per ragioni biologiche (es. anemia emolitica) od analitiche (es. presenza di varianti emoglobiniche), è inaffidabile la misura della Hb glicata .

È stata dimostrata una buona correlazione tra il test della fruttosamina e dell'HbA1c, ma è necessario tenere in considerazione che:

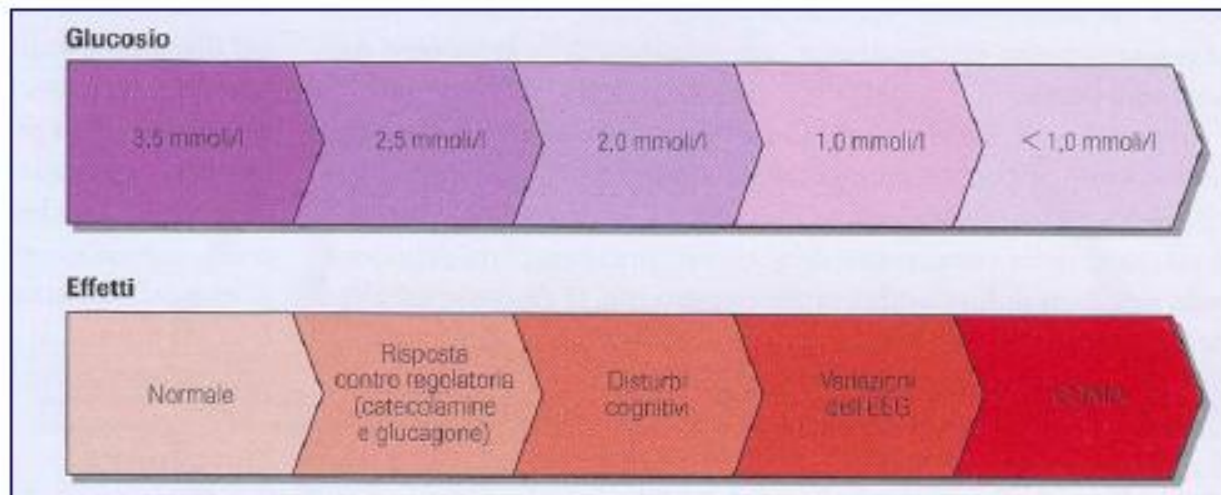
- 1) le variazioni biologiche soggettive della fruttosamina sono maggiori rispetto all'HbA1c;
- 2) il turnover dell'albumina rispetto all'emoglobina è più breve (circa 28 gg. vs 120 gg. rispettivamente) e per cui il test delle fruttosamina fornisce indicazioni sul controllo glicemico delle ultime 2 settimane;
- 3) il risultato deve essere corretto in base alla concentrazione ematica di albumina;
- 4) valori falsamente bassi possono essere riscontrati in condizioni di aumentato turnover proteico, quali le enteropatie proteino-disperdenti e la sindrome nefrosica.

METABOLISMO GLUCIDICO: Ipoglicemia

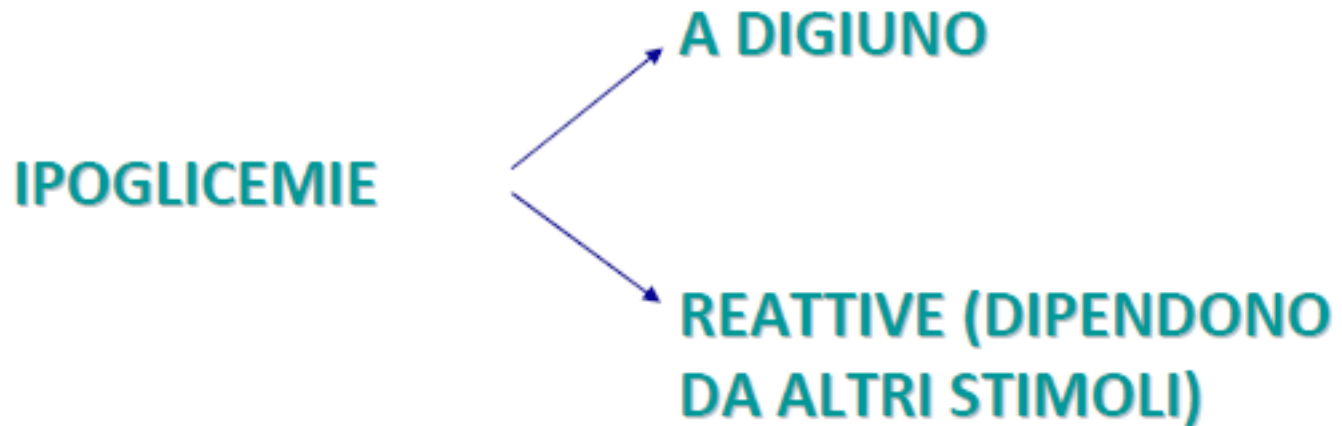
Quando il valore di concentrazione di glucosio nel sangue è più bassa rispetto ai valori normali (al di sotto di 55 mg/dl). Porta alla soppressione della secrezione di insulina, a un aumento nella secrezione delle catecolamine ed alla stimolazione di glucagone, cortisolo e ormone della crescita.

Valutazione:

1. Devono essere presenti i sintomi tipici dell'ipoglicemia
2. Ci deve essere una conferma di ipoglicemia dal laboratorio
3. I sintomi devono scomparire dopo somministrazione di glucosio



METABOLISMO GLUCIDICO: Ipoglicemia



A DIGIUNO

- Iperplasia delle cellule insulari
- Epatopatie

REATTIVA

- Farmaci (insulina o ipoglicemizzanti)
- Ingestione di alcool (↓ gluconeogenesi)
- Neonati di madre diabetica

Marcatori di danno miocardico



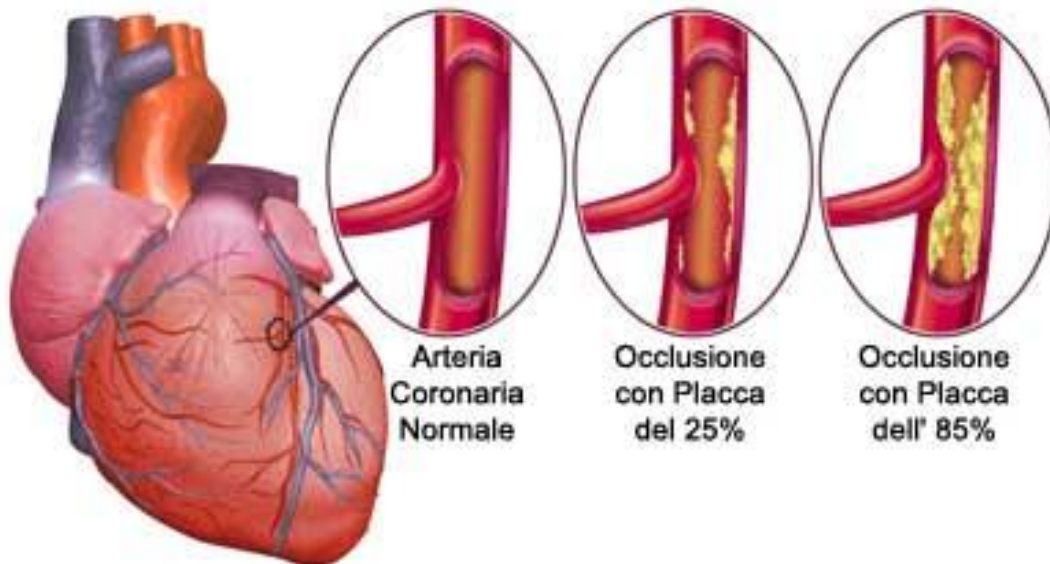
Quack

Infarto del miocardio

E' definito come il processo in cui si manifesta *necrosi* (morte cellulare o tissutale), a causa di *ischemia* (perdita di nutrienti col sangue).



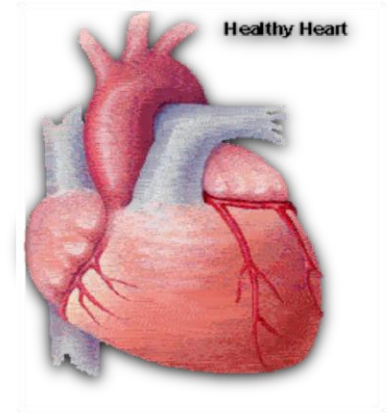
ATEROSCLEROSI



Se una placca instabile si rompe, il contenuto rilasciato può favorire la formazione di coagulo. Questo processo, conosciuto come trombosi, può dar luogo a un'improvvisa e completa occlusione dell'arteria interessata e all'infarto dell'aria del miocardio da essa irrorata.

Marcatori di danno miocardico

La fibrocellula miocardica è particolarmente ricca di alcuni enzimi, che dopo necrosi aumentano significativamente a livello sierico. Gli enzimi di utilità diagnostica per la diagnosi di infarto del miocardio si distinguono in **INDICATORI PRECOCI** (Creatina chinasi, Mioglobina e Troponine) e **INDICATORI TARDIVI** (Lattico deidrogenasi, Miosina e Aspartato amminotransferasi)



Mioglobina

CK-MB

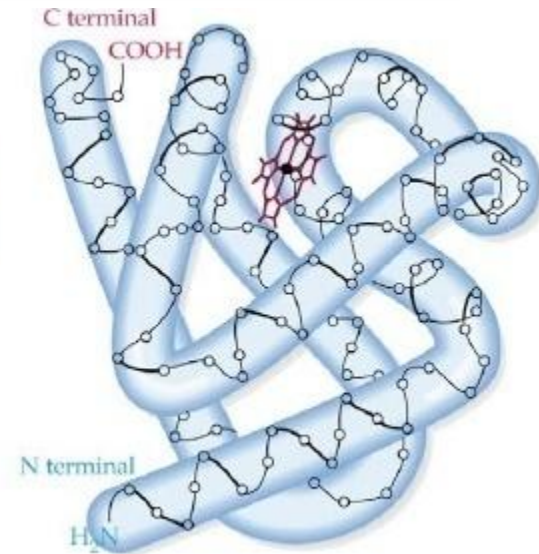
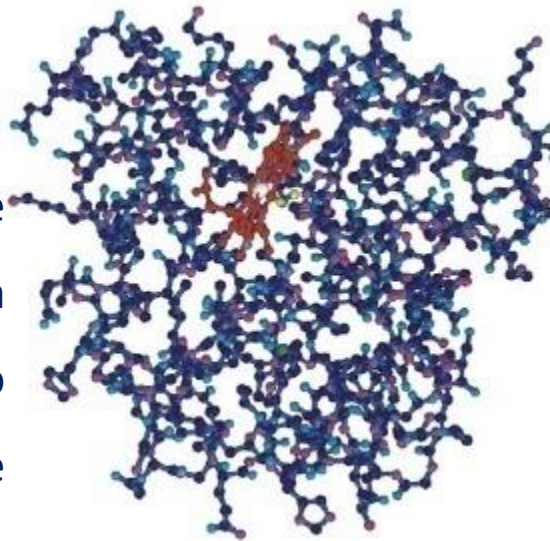
Troponine

Enzimi aspecifici di citolisi (LDH, GOT,AST)

Marcatori di danno miocardico

Mioglobina

Proteina trasportatrice di O₂ dalle membrane cellulari ai mitocondri. Essa rappresenta il primo marker di danno miocellulare liberato nel torrente circolatorio. Nel corso di infarto aumenta dopo la 1^a ora dall'insorgere dell'evento con un picco tra 16/18 ore ed un ripristino dei valori normali dopo 24/36 ore.



Purtroppo la mioglobina scheletrica prodotta in caso di intensa attività fisica non è distinguibile da quella cardiaca.

Marcatori di danno miocardico

Troponine

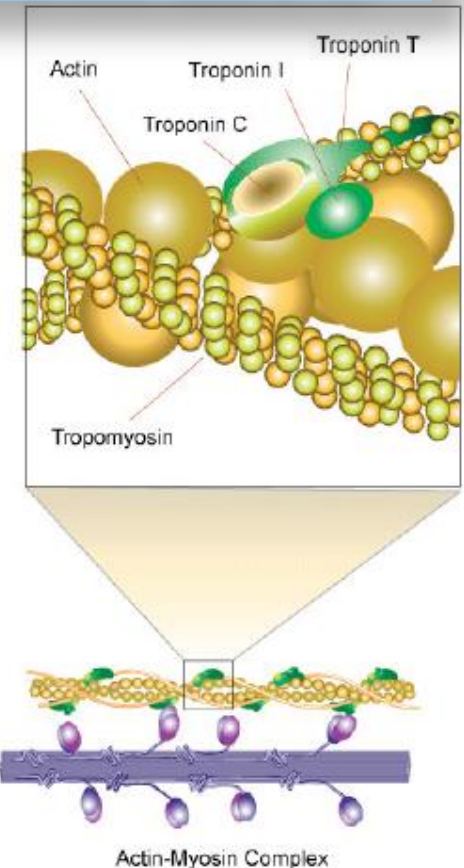
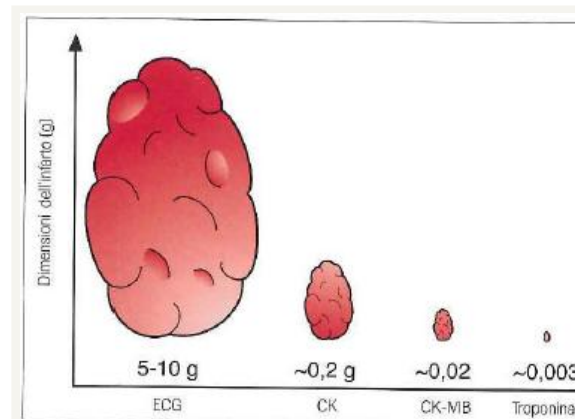
Proteine che regolano la contrazione muscolare.

I livelli di troponina I e T (isoforme specifiche per il miocardio) circolanti nel siero sono normalmente molto bassi, ma possono aumentare rapidamente dopo necrosi miocardica. Troponina I raggiunge oltre il 95% di sensibilità alla 6°-10°h con un picco tra le 15/25 ore ed un ripristino dei valori normali dopo circa 7 giorni

Troponina I: specificità più elevata, dosaggio in 10'

Troponina T: specificità meno elevata, dosaggio in 2 h

Il dosaggio delle troponine consente di riconoscere anche piccole aree di necrosi, asintomatiche ed spesso elettrocardiograficamente silenti



Livelli decisionali

- < 0,1 µg/L: esclude la presenza di sofferenza o danno miocardico
- 0,1 e 1,5 µg/L : danno miocardico minimo
- > 1,5 µg/L : IMA con **specificità del 100%**

Marcatori di danno miocardico

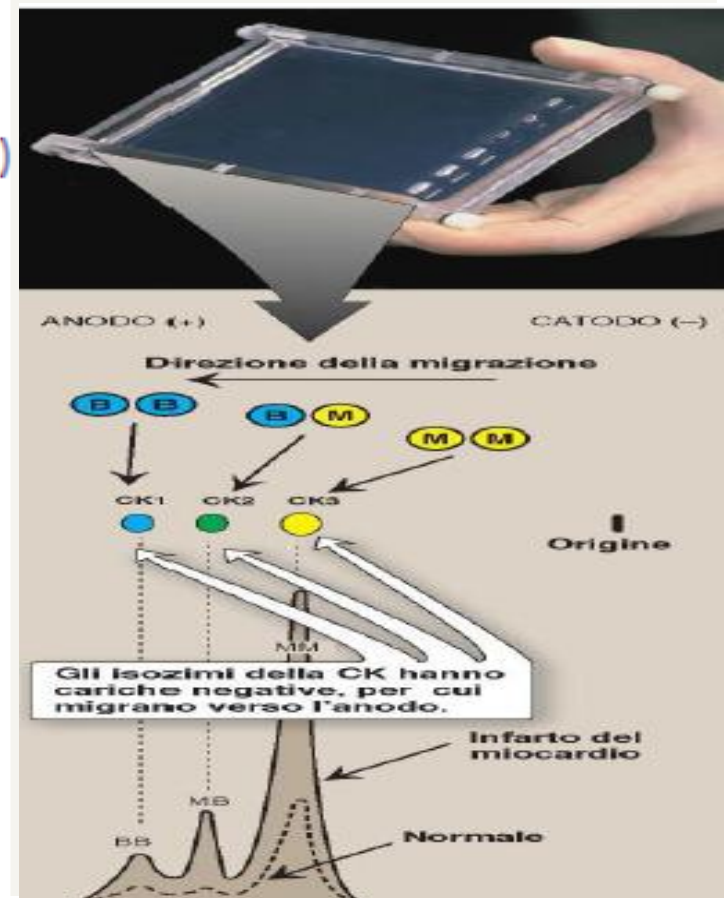
Creatinfosfochinasi (CK)

Dimero citosolico (subunità Muscle o Brain)

- ➔ CK1 (BB: cervello, mai nel sangue)
- ➔ CK2 (MB: 20% cuore, siero in caso di infarto)
- ➔ CK3 (MM: 90% muscolo scheletrico, 80% cuore e siero)

L'isoenzima MB (CK2) è presente nel miocardio. Aumenta quasi esclusivamente nell'infarto del miocardio (CK MB > 6% CK totale) e può essere considerato un enzima "infarto del miocardio specifico".

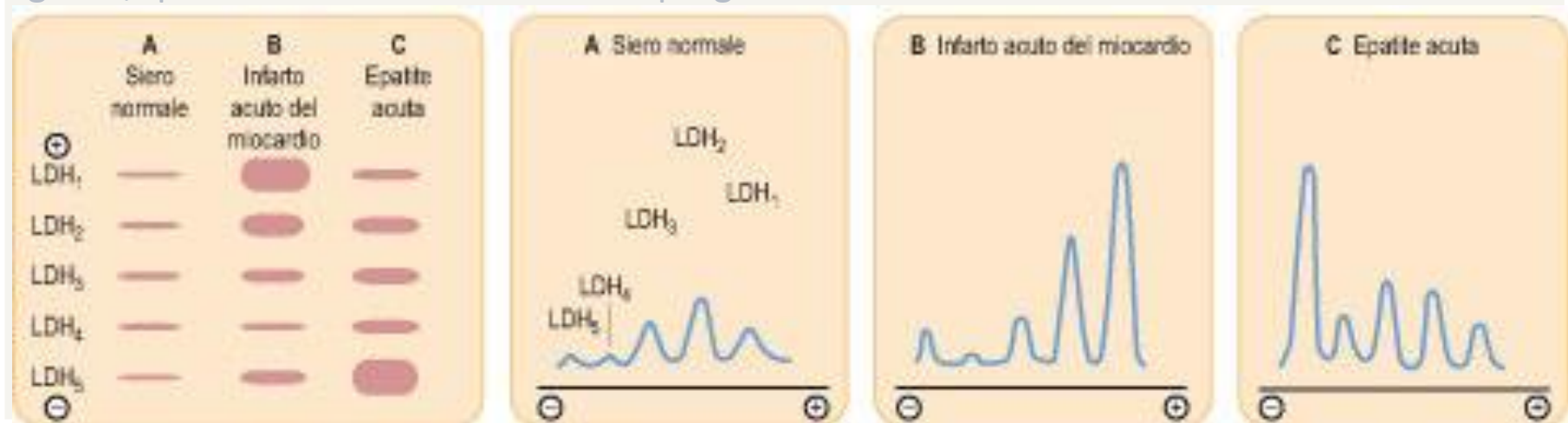
Nei casi di infarto del miocardio l'aumento dell'isoenzima MB è precoce; comincia ad aumentare nelle prime ore (1-3h) dall'infarto e raggiunge il massimo rapidamente (12-18 ore) e, più rapidamente della CPK totale, torna nei limiti normali. Il ritorno a valori normali avviene generalmente entro 48 ore e precede quindi di 24 ore quello della CPK totale.



Marcatori di danno miocardico

Lattico Deidrogenasi (LDH)

LDH1 e LDH2: valori elevati associati all'infarto del miocardio (in condizioni di normalità $LDH2 > LDH1$; nell'infarto $LDH1 > LDH2$). Aumenta dopo la 8/24 ore dall'esordio dell'evento con un picco dopo 3/6 giorni ed un ripristino dei valori normali entro 8/14 giorni, quindi un indicatore di infarto pregresso.



Aspartato amminotransferasi (AST)

Enzima prevalente nelle cellule miocardiche, i livelli sierici aumentano dopo 8/12 h dall'inizio della sintomatologia dolorosa, raggiungono il picco dopo 24/48 ore e rientrano nella norma dopo 3/4 giorni.

Marcatori di danno miocardico

