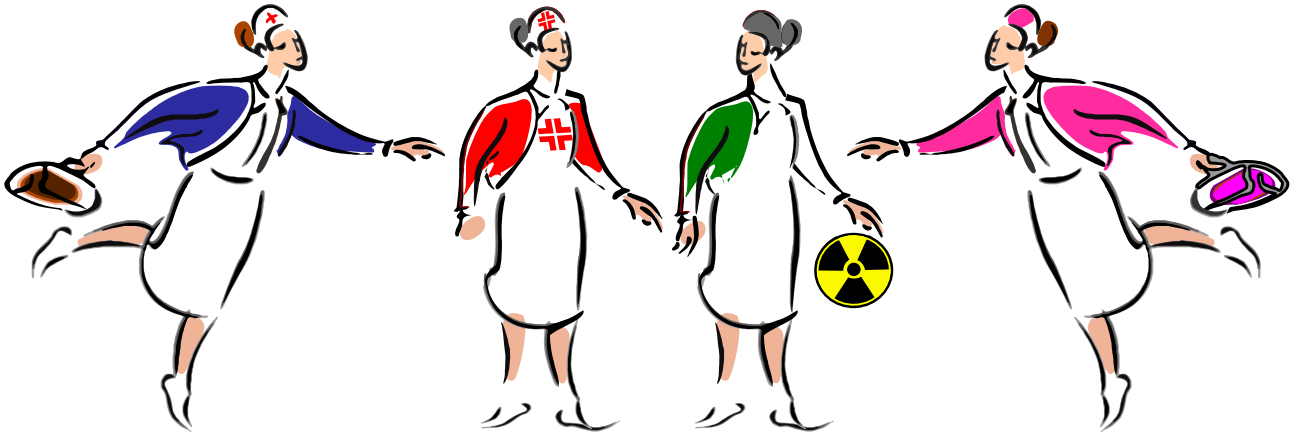
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE PER LA QUALITÀ DELLA VITA
DIPARTIMENTO DI MEDICINA SPECIALISTICA,
DIAGNOSTICA E SPERIMENTALE

Gianandrea Pasquinelli
Luigi Barbieri

Lezioni di Medicina di Laboratorio



I EDIZIONE
2014

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri
Lezioni di Medicina di Laboratorio, I edizione digitale
Rimini, Campus di Rimini, 2014
pubblicata in: <http://amsacta.unibo.it>
ISBN 9788897617082



Licenza Creative Commons <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>
Lezioni di Medicina di Laboratorio I edizione by Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri
<http://amsacta.unibo.it/0000/>
is licensed under a Creative Commons Attribuzione - Non commerciale 3.0 Unported License
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>

Dedicato a Eugenia, Lorenzo e Alessandra

Avvertenze

La medicina è una scienza in continuo cambiamento. Gli autori hanno controllato il contenuto presso le fonti ritenute più attendibili con la massima cura, tuttavia, tenendo conto della possibilità sempre presente di errori od incomprensioni, e delle novità che in medicina si susseguono ogni giorno, non possono affermare che quanto contenuto sia esente da affermazioni che possano risultare ora od in futuro non corrette. Gli studenti che intendono utilizzare questo ausilio didattico sono perciò invitati a controllare presso i loro docenti e presso le fonti autorevoli ufficialmente riconosciute ogni volta che insorga loro un dubbio

Il materiale didattico contenuto in quest'opera va utilizzato in congiunzione con le lezioni e non rappresenta una esauriente descrizione degli argomenti oggetto della trattazione, e non può essere considerato in alcun modo sostituto di un trattato

I simboli indicano indicano a quali corsi i singoli capitoli primariamente appartengono:



Corsi di Patologia generale, Immunologia

corso di laurea in Infermieristica



Corsi di Patologia generale, Immunologia, Fisiopatologia generale

corso di laurea in Farmacia



Corsi di Patologia generale

corso di laurea in Podologia



Corsi di Patologia generale, Immunologia, Fisiopatologia generale

corso di laurea in Ostetricia



Corsi di Fisiopatologia generale

corso di laurea in Infermieristica



Corsi di Patologia generale

corso di laurea in Logopedia



Argomento opzionale

La connotazione utilizzata per i numeri segue il modello internazionale: il punto per i decimali, la virgola per le migliaia

La bibliografia riportata alla fine di ogni capitolo rispecchia unicamente le più importanti fonti utilizzate e non ha carattere di completezza

I siti riportati sono quelli da cui è stato attinto materiale e non rappresentano i siti di riferimento dell'argomento trattato. Un controllo della utilizzabilità dei *link* è stato effettuato nelle date riportate: *link* non più funzionanti sono stati resi “non cliccabili”

Autori

Gianandrea Pasquinelli

Nato a Portoferraio il 16 novembre 1958. Laureato in Medicina e Chirurgia. Specialista in Anatomia patologica. Professore associato in Patologia clinica. Presidente del corso di studi in Infermieristica Alma Mater Università di Bologna, Campus di Ravenna. È autore di oltre 170 pubblicazioni che affrontano tematiche di diagnostica oncologica, medicina rigenerativa e riproduttiva ed ingegneria tissutale. H *index* 24, H *index* contemporaneo 15

Luigi Barbieri

Nato a Bologna il 27 gennaio 1954. Laureato in Medicina e Chirurgia. Professore ordinario di Patologia generale nell'Alma Mater Università di Bologna. Già presidente del corso di studi in Infermieristica nell'Alma Mater Università di Bologna sede di Rimini. Le ricerche scientifiche a cui ha partecipato sono state svolte in collaborazione con numerosi Istituti italiani ed esteri ed hanno portato a più di 90 pubblicazioni su riviste internazionali (citate oltre 3,000 volte) nel campo delle tossine vegetali

Altri collaboratori

Giuliana Bacchi. Nata il 21 settembre 1965. Laureata in Scienze naturali, ed in Infermieristica; Ph.D. in Scienze Nefrologiche. Attualmente in servizio presso l'Unità operativa di Nefrologia e dialisi, Alma Mater Università di Bologna. È autore di pubblicazioni su riviste internazionali nel campo di trapianti di organo

Pier Camillo Pavesi. Nato il 26 gennaio 1953. Laureato in Medicina e Chirurgia, specialista in Malattie dell'Apparato Cardiovascolare, Medicina dello Sport, Medicina Nucleare. Responsabile dal 1998 della Unità Terapia Intensiva Cardiologica, Ospedale Maggiore, Bologna. È autore di numerose pubblicazioni su riviste nazionali e internazionali

Riconoscimenti

Gli autori si scusano per le eventuali mancate citazioni della provenienza di alcuni materiali utilizzati, della cui origine si è persa traccia

Questo lavoro è stato preparato in massima parte con programmi *open source* ed in particolare con: fontforge®, gchempaint®, gimp®, inkscape®, libreoffice®, Jmol®, molscript®, PovRay®, raster3D®, ed inoltre Xcode® (Apple®), Acrobat® (Adobe®) su sistemi operativi kubuntu®, (Canonical®) Mac osX® (Apple®) e Virtualbox® (Oracle®). Sono stati utilizzati *font* della famiglia DejaVu®. Alcune figure provengono da precedenti versioni realizzate in Corel Draw®

Le strutture chimiche sono state per la maggior parte ottenute da chemspider.com, trasformate in Gchempaint® ed elaborate come figure in inkscape®

Indice generale

1. Generalia laboratoristica medica....1
1.1. Medicina di Laboratorio....3
1.2. Unità di misura....4
1.3. Il campione....5
1.4. Principi di interpretazione dei dati di laboratorio....6
1.5. Valori di riferimento....9
1.6. Valore diagnostico e predittivo di un test....11
1.7. Test di screening....16
1.8. Errore ed esame di laboratorio....17
1.9. Come intervenire sugli errori?....21
1.10. Prelievo del campione di sangue venoso....22
1.11. Modalità di raccolta o prelievo delle urine....26
1.12. Testi generali di riferimento....30
1.13. Principali fonti utilizzate....31
2. Esame emocromo-citometrico....33
2.1. Il sangue....35
2.2. Plasma e siero....36
2.3. La componente corpuscolata: esame emocromo-citometrico....40
2.4. Emocromo: significato diagnostico....42
2.5. Piastrine....45
2.6. Leucociti....46
2.7. Principali fonti utilizzate....50
3. Il laboratorio nella valutazione diagnostica delle anemie....53
3.1. Inquadramento nosologico delle anemie....55
3.2. Anemie microcitiche....59
3.3. Fisiopatologia del ricambio del ferro....60
3.4. Talassemie....73
3.5. Anemia associata a malattie infiammatorie croniche....77
3.6. Anemie normo-macrocitiche....78
3.7. Anemie emolitiche....80
3.8. Anemie emolitiche autoimmuni....84
3.9. Anemie megaloblastiche....86
3.10. Principali fonti utilizzate....90
4. Esami di laboratorio di primo livello per lo studio della funzionalità epatica....93
4.1. Anatomia funzionale del fegato....95
4.2. Principali funzioni svolte dal fegato....96
4.3. Prove di funzionalità epatica....97
4.4. Bilirubina ed ittero....98
4.5. Itteri....101
4.6. Principali forme di ittero da iper-bilirubinemia prevalentemente non coniugata....102
4.7. Principali forme di ittero da iper-bilirubinemia combinata....107
4.8. Proteine sieriche indicatrici di danno epatico....109
4.9. Dati di laboratorio dell'insufficienza epatica....114
4.10. Principali fonti utilizzate....115
5. Le proteine sieriche....117
5.1. Le proteine del sangue....119
5.2. Elettroforesi delle proteine sieriche....120
5.3. Albumine....122
5.4. α1-Globuline....124
5.5. α2-Globuline....126
5.6. β1-globuline....128
5.7. β2-globuline....129
5.8. γ-globuline....130
5.9. Condizioni associate ad alterazioni specifiche del tracciato elettroforetico delle proteine sieriche....131
5.10. Determinazione di proteine sieriche specifiche....132
5.11. La risposta di fase acuta....133
5.12. Proteine di fase acuta....134
5.13. Principali fonti utilizzate....142
6. Il laboratorio nella valutazione della funzione emostatica....145
6.1. Emostasi....147
6.2. Sostanze ad azione anticoagulante....149
6.3. Diatesi trombotica e diatesi emorragica....150
6.4. Patologia dell'emostasi con diatesi emorragica....151
6.5. Manifestazioni cliniche associate a deficit dell'emostasi....158
6.6. Malattie emorragiche: anamnesi ed esame obiettivo....159
6.7. Trombofilia....160

6.8. Valutazione della emostasi primaria e relativi valori di riferimento ... 167
6.9. Indagini di laboratorio per la valutazione dell'emostasi secondaria ... 171
6.10. Valutazione della formazione/degradazione della fibrina ... 175
6.11. Valutazione degli stati di iper-coagulabilità ... 178
6.12. Farmaci trombolitici ... 179
6.13. CID (coagulazione intra-vasale disseminata) ... 180
6.14. Principali fonti utilizzate ... 186
7. Esami di laboratorio per lo studio della funzionalità renale ... 190
7.1. Indagini di laboratorio per lo studio della funzionalità renale ... 192
7.2. Analisi dell'urina: caratteristiche fisiche ... 193
7.3. Analisi delle urine: caratteristiche chimiche ... 198
7.4. Esame microscopico del sedimento urinario ... 209
7.5. Refertazione di esami di urine ... 217
7.6. Valutazione della funzionalità renale ... 222
7.7. Insufficienza renale ... 223
7.8. La velocità di filtrazione glomerulare: misura della clearance ... 226
7.9. Determinazione della concentrazione ematica di composti azotati non proteici ... 227
7.10. Clearance renali ... 233
7.11. Valutazione della funzione glomerulare ... 234
7.12. Valutazione della funzione tubulare ... 239
7.13. Analisi di farmaci e droghe ricreazionali ... 240
7.14. Principali fonti utilizzate ... 241
8. Il laboratorio nel diabete mellito ... 242
8.1. Diabete mellito ... 244
8.2. Criteri per la diagnosi di diabete ... 251
8.3. Classificazione del diabete ... 254
8.4. Diabete di tipo 1 ... 255
8.5. Diabete di tipo 2 ... 258
8.6. LADA: Latent Autoimmune Diabetes in Adults ... 261
8.7. Criteri per la diagnosi di diabete in gravidanza ... 262
8.8. Complicanze “a distanza” del diabete ... 263
8.9. Indagini di laboratorio per la diagnosi di diabete ... 264
8.10. Indagini di laboratorio per il monitoraggio del paziente diabetico ... 265
8.11. Screening per il diabete di tipo 2 in soggetti asintomatici ... 268
8.12. Principali fonti utilizzate ... 269
9. Il laboratorio nelle malattie cardiovascolari ... 270
9.1. Ischemia del miocardio ... 272
9.2. Aterosclerosi ... 273
9.3. Iper-lipidemie ... 277
9.4. Lipo-proteine ... 281
9.5. Diagnosi di laboratorio delle iper-lipo-proteinemie ... 292
9.6. Terapia delle iper-lipidemie ... 295
9.7. Patologie cardio-vascolari oggetto di indagini di laboratorio ... 297
9.8. Il cuore ... 301
9.9. Il marcatore unico: il paradigma della troponina ... 306
9.10. Cause non ischemiche di innalzamento dei bio-marcatori cardiaci ... 315
9.11. Altre patologie vascolari per cui è essenziale l'intervento del laboratorio: le vasculiti ... 318
9.12. Principali fonti utilizzate ... 320
10. Medicina trasfusionale ... 322
10.1. Medicina trasfusionale ... 324
10.2. Raccolta del sangue intero ... 329
10.3. Separazione ed utilizzo delle componenti del sangue intero ... 330
10.4. Separazione ed utilizzo delle componenti del sangue intero ... 332
10.5. Test microbiologici/virologici ... 335
10.6. Test di compatibilità ... 336
10.7. Sistema AB0 ... 337
10.8. Sistema Rh ... 340
10.9. Altri gruppi sanguigni ... 342
10.10. Prove pre-trasfusionali ... 344
10.11. Complicanze delle trasfusioni di sangue ... 347
10.12. Principali fonti utilizzate ... 358
11. Il laboratorio nelle malattie respiratorie ... 362
11.1. Anatomia funzionale del polmone ... 364
11.2. Emogasanalisi - EGA ... 368
11.3. pH ematico ... 370
11.4. Analisi di fluidi respiratori ... 380
11.5. Sindrome da distress respiratorio neonatale ... 381
11.6. Principali fonti utilizzate ... 382
12. Analisi del liquido cefalo-rachidiano ... 386
12.1. Il liquido cerebro-spinale ... 388
12.2. Valutazione del liquor ... 393
12.3. Principali fonti utilizzate ... 400
13. I marcatori tumorali ... 402
13.1. Marcatori tumorali ... 404
13.2. Marcatori prodotti dalle neoplasie ... 407
13.3. Marcatori prodotti dall’ospite ... 413
13.4. Sensibilità e specificità dei marcatori tumorali ... 414
13.5. Associazioni di marcatori con provata validità diagnostica ... 415
13.6. Marcatori citogenetici ... 418
13.7. Principali fonti utilizzate ... 420
14. Appendice 1: emostasi fisiologica ... 422
14.1. Il processo emostatico fisiologico ... 424

14.2. Emostasi primaria 429
14.3. Emostasi secondaria 436
14.4. Inibitori della coagulazione 446
14.5. Fibrinolisi 448
14.6. Principali fonti utilizzate 451



1. Generalia laboratoristica medica

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sottocapitoli)

1. Generalia laboratoristica medica....1
1.1. Medicina di Laboratorio....3
1.2. Unità di misura....4
1.3. Il campione....5
1.3.1. Esempi di campione analizzabile....5
1.4. Principi di interpretazione dei dati di laboratorio....6
1.4.1. Il concetto di normalità e la medicina di genere....7
1.4.2. Curva della distribuzione normale....8
1.5. Valori di riferimento....9
1.5.1. I valori critici....10
1.6. Valore diagnostico e predittivo di un test....11
1.6.1. Falsi positivi e falsi negativi....11
1.6.2. Specificità e sensibilità diagnostica....12
1.6.3. Efficacia diagnostica....13
1.6.4. Valori predittivi....13
1.6.5. Valori predittivi ed accuratezza....15
1.7. Test di screening....16
1.8. Errore ed esame di laboratorio....17
1.8.1. Cause di errore....17
1.8.2. Trattamento e conservazione dei campioni....17
1.8.3. Gli errori si possono verificare in tre fasi....17
1.8.4. Cause di variabilità pre-analitica....18
1.8.5. Fonti di errore nella fase del prelievo....19
1.8.6. Fonti di errore dopo la fase del prelievo....19
1.8.7. Metanalisi della letteratura sugli errori di laboratorio....20
1.9. Come intervenire sugli errori?....21
1.10. Prelievo del campione di sangue venoso....22

1.10.1. Le provette per la raccolta ematica: il codice colore.....23
1.11. Modalità di raccolta o prelievo delle urine.....26
1.11.1. Raccolta delle urine con campionamento semplice.....27
1.11.2. Raccolta delle urine delle 24 h.....29
1.12. Testi generali di riferimento.....30
1.13. Principali fonti utilizzate.....31



1.1. Medicina di Laboratorio

Definizione di Medicina di Laboratorio

La Medicina di Laboratorio è una scienza clinica applicata che studia con metodi chimici, fisici e biologici le alterazioni dell'organismo nello stato di malattia, ricavando da campioni biologici provenienti dal paziente dati, qualitativi o quantitativi numerici, che consentano al medico di ottenere informazioni utili a scopo diagnostico, terapeutico, preventivo, prognostico e riabilitativo

Sinonimi

☞ Patologia clinica, Medicina di Laboratorio e Biologia medica o Biologia clinica sono termini disciplinari equivalenti il cui utilizzo riflette il dibattito culturale-scientifico specifico di singoli paesi

- Infatti il termine "Patologia clinica" viene utilizzato nel mondo anglosassone (USA, Inghilterra e Irlanda) e in Italia per descrivere le attività e competenze del Medico di Laboratorio, mentre in Germania è preferito il termine "Medicina di Laboratorio" e in Francia e nei paesi francofoni si preferisce il termine "Biologia medica o clinica"

Ulteriori specializzazioni

☞

- Negli USA l'*American Board of Pathology (ABP)* certifica i medici specialisti all'esercizio della professione. Sono rilasciati certificati all'esercizio congiunto della Anatomia patologica e della Patologia clinica o certificati all'esercizio della singola specialità
- L'ABP certifica inoltre l'esercizio di sotto-specialità; a titolo esemplificativo vengono rilasciati certificati per Medico legale, Neuropatologo, Medico trasfusionista e Biochimico clinico

☞ La Biochimica clinica è quell'area della Medicina di Laboratorio che studia con metodi chimici / biochimici i liquidi corporei

Suddivisione organizzazione teorica della Medicina di Laboratorio

- *Anatomia patologica*
- *Biochimica clinica*
- *Microbiologia clinica*
- *Patologia clinica*

1.2. Unità di misura 

Tabella 1.1. Prefissi SI (standard internazionale) e loro simboli

fattore di moltiplicazione		prefisso	simbolo del prefisso
10^{12}	1,000,000,000,000	tera	T
10^{9}	1,000,000,000	giga	G
10^{6}	1,000,000	mega	M
10^{3}	1,000	chilo	k
10^{2}	100	etto	h
10^{1}	10	deca	da
100	1	unità di misura	
10^{-1}	0.1	deci	d
10^{-2}	0.01	centi	c
10^{-3}	0.001	milli	m
10^{-6}	0.000001	micro	µ
10^{-9}	0.000000001	nano	n
10^{-12}	0.000000000001	pico	p
10^{-15}	0.000000000000001	femto	f
10^{-18}	0.0000000000000000001	atto	a

1.3. Il campione 

Definizione di campione biologico da esaminare

*Sono oggetto degli esami di laboratorio (*test*, indagini, analisi) i liquidi o i tessuti biologici che costituiscono i sistemi dai quali ricavare informazioni*

I liquidi o tessuti prelevati dal paziente sono definiti campioni e su questi il laboratorio esegue il dosaggio dei vari costituenti, o analiti, secondo la richiesta che perviene dal clinico

1.3.1. Esempi di campione analizzabile

- sangue
- urine
- feci
- liquido sinoviale
- liquor cefalo-rachidiano
- liquido amniotico
- latte
- liquidi biologici speciali (ascitico, pleurico, bronchiale, intestinale, peritoneale)
- lacrime
- sudore
- succo gastrico
- saliva
- succo duodenale
- liquido seminale
- villi coriali
- biopsie

1.4. Principi di interpretazione dei dati di laboratorio 

☞

- accuratezza: quanto il valore fornito dall'analisi è prossimo al valore reale del parametro analizzato
- precisione: riproducibilità di un *test*. quanto vicini fra loro sono valori ottenuti in ripetute determinazioni.
- specificità: capacità di individuare i soggetti portatori della malattia senza definire ammalati individui sani

$$\text{veri negativi} / (\text{veri negativi} + \text{falsi positivi})$$

- sensibilità: capacità di un *test* di individuare tutti i soggetti malati senza definire sani soggetti malati

$$\text{veri positivi} / (\text{veri positivi} + \text{falsi negativi})$$

1.4.1. Il concetto di normalità e la medicina di genere

☞ Tutti i valori riscontrati con una analisi clinica o chimico-clinica devono essere paragonati a valori di riferimento considerati normali che sono distribuiti nella popolazione secondo una curva gaussiana

Il concetto di normalità in medicina è ancora ancorato troppo spesso a generalizzazioni che indicano nel soggetto normale di riferimento il maschio di 20-25 anni, anglosassone



Figura 1.1. Carl Friedrich Gauss. Immagine di public domain *da un dipinto di Christian Albrecht Jensen*

La curva gaussiana ha forma a campana con un massimo attorno alla media dei valori misurati e può essere più o meno stretta a seconda della dispersione dei valori attorno alla media; la dispersione si misura con la deviazione standard: e il 95% delle misurazioni differisce dalla media meno di due deviazioni standard: quindi maggiore è la deviazione standard, più la gaussiana è "aperta" e più c'è la possibilità che la media (il punto più alto) non sia rappresentativo di tanti casi

☞ La moderna medicina di genere indica invece una serie diversa di soggetti normali oltre a quelli ovvii dovuti agli estremi delle età:

- maschio
- femmina pre-pubere
- femmina fertile
- femmina in gravidanza
- femmina in allattamento
- femmina in menopausa

☞ Benché scientificamente esista una sola razza umana, sottogruppi geneticamente affini possono avere caratteristiche a volte significativamente diverse: la normalità dovrebbe quindi anche essere correlata all'appartenenza etnica

1.4.2. Curva della distribuzione normale

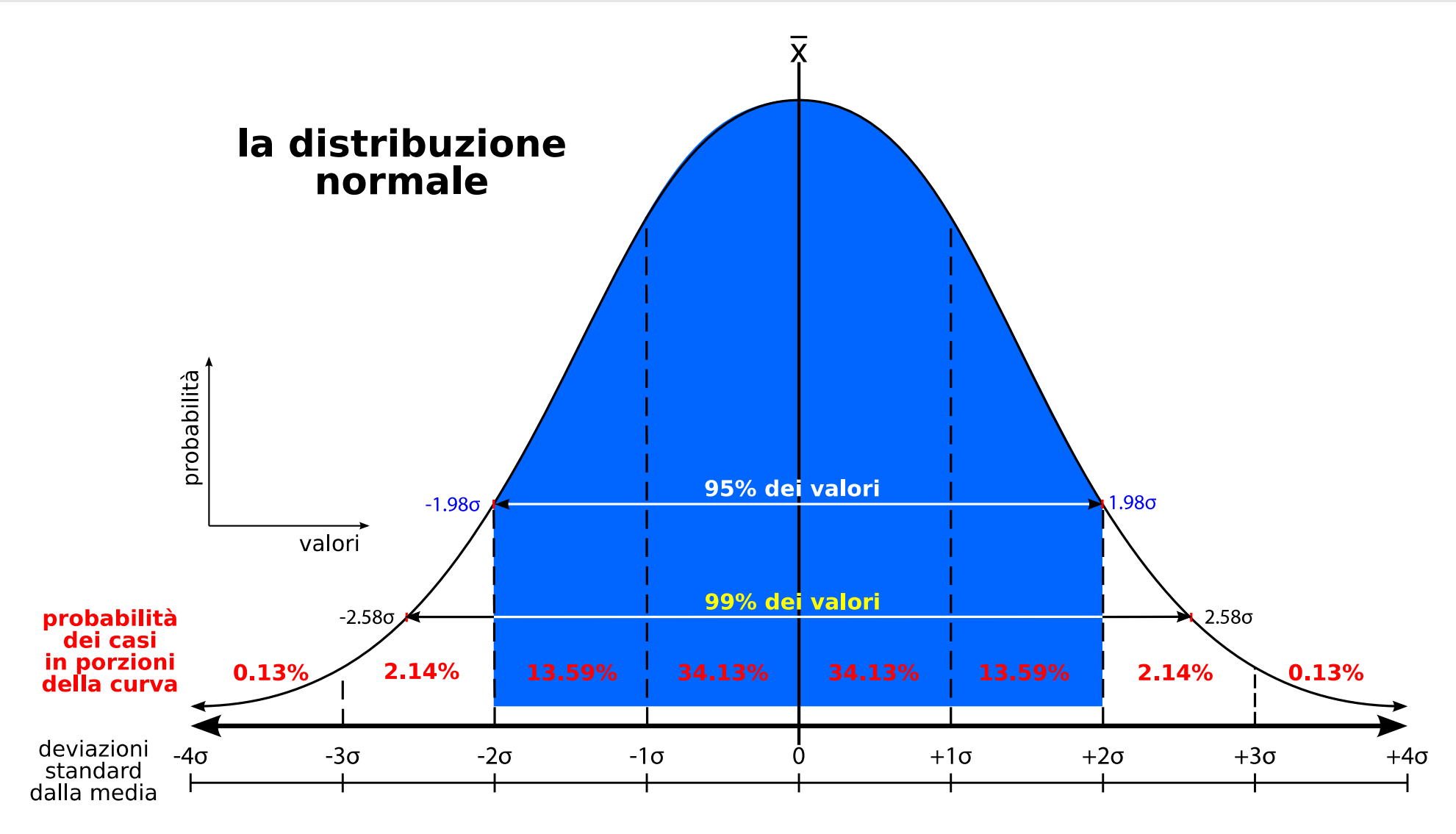


Figura 1.2. Curva della distribuzione normale. In blu i valori normali (95%). Da Barbieri (2012)

1.5. Valori di riferimento



☞ Il referto di un test di laboratorio è sempre accompagnato dall'indicazione dell'intervallo entro il quale ci si aspetta sia compreso il valore del parametro analizzato

- questo intervallo comprende i valori che si osservano normalmente negli individui sani
- la maggior parte delle volte i valori normali si distribuiscono in una curva gaussiana
- solitamente si considerano normali i valori corrispondenti alla media dei valori ottenuti × 2 deviazioni standard, tale intervallo comprende il 95% dei valori che si ottengono in una popolazione di individui sani
- i valori che si trovano al di fuori di questi valori vengono considerati anomali (anche se accade per il 5% delle persone sane)

☞ Questo fa sì che se si eseguono contemporaneamente più indagini per un individuo sano:

- *la probabilità che tutti i valori rientrino nella norma diminuisce con l'aumentare del numero degli esami*

☞ Ovviamente, l'intervallo di normalità (o di riferimento) dipende dal gruppo scelto come riferimento

Quando possibile, è preferibile rapportarsi a intervalli di riferimento specifici per sesso ed età

1.5.1. I VALORI CRITICI

☞ In determinate condizioni la comparsa valori fortemente anomali impone la immediata comunicazione al medico curante

Devono essere definiti i valori al di là dei quali è necessario attivare questa procedura (cosiddetti valori critici o valori di emergenza)

Tabella 1.2. Esempi di valori critici. I valori normali sono quelli indicati dal laboratorio centralizzato dell'Area Vasta Romagna (2013). Si ricorda che la connotazione 10^9 è equivalente a 10^9

saggio	unità di misura	range normale	limite inferiore
piastrine	10^9/L	140-400	<20,000
globuli bianchi	10^9/L	3.6-11.0	<0.500
emoglobina	g/dL	(F) 12.0-16.0	<6
		(M) 13.5-17.0	<6
ematocrito	%	(F) 36-46	<18
		(M) 40-52	<18

1.6. Valore diagnostico e predittivo di un test

1.6.1. Falsi positivi e falsi negativi

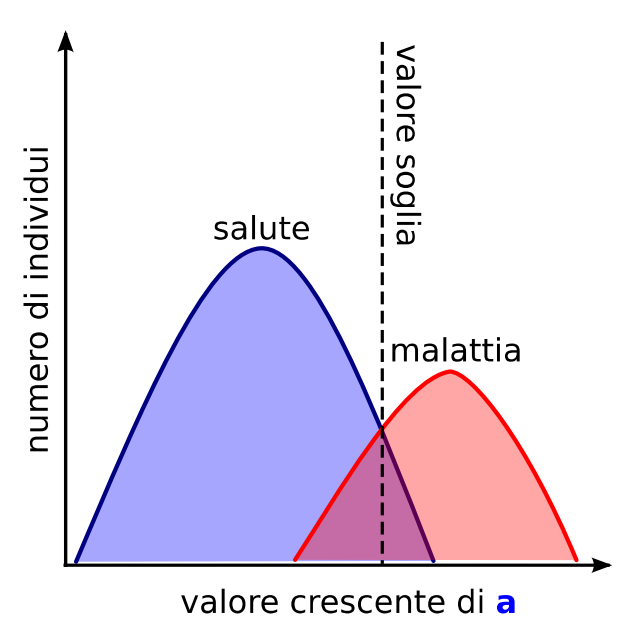


Figura 1.3. Livelli di un parametro emato-chimico teorico a

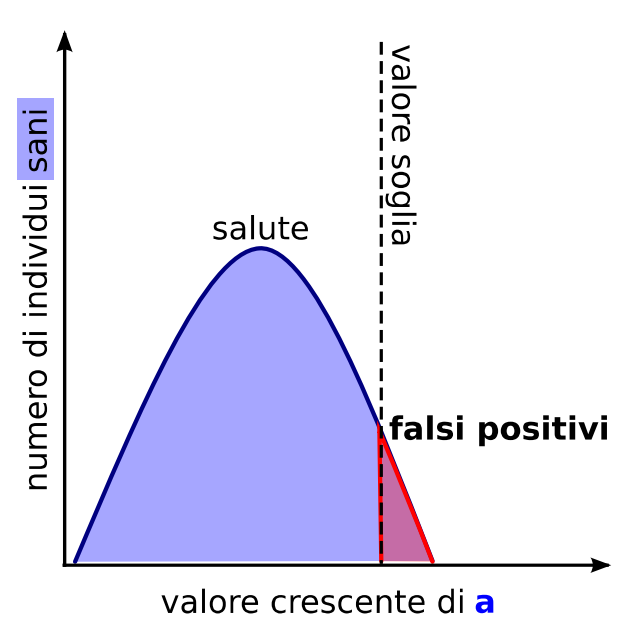


Figura 1.4. Falsi positivi nell'analisi di un parametro emato-chimico teorico a

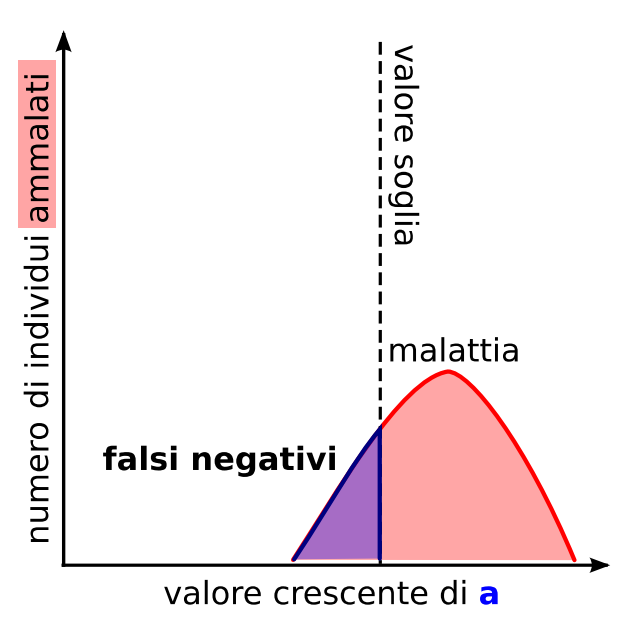


Figura 1.5. Falsi negativi nell'analisi di un parametro emato-chimico teorico a

1.6.2. Specificità e sensibilità diagnostica

Definizione di sensibilità diagnostica

Si definisce sensibilità diagnostica la % di individui affetti dallaaaaaa patologia in esame che risultano positivi al test *(veri positivi, VP) rispetto a tutti gli individui affetti da quel tumore, siano essi positivi (veri positivi, VP) o negativi (falsi negativi, FN) al* test

☞

$$\text{sensibilità} = VP/(VP+FN) \times 100$$

- In pratica la sensibilità di un marcatore dipende dalla sua capacità di identificare i soggetti malati

specificità diagnostica

Definizione di specificità diagnostica

Si definisce specificità diagnostica la % di individui non affetti dallllllllla patologia in esame che risultano negative al test *(veri negativi, VN) rispetto a tutti gli individui non affetti da quella patologia, siano essi negativi (veri negativi, VN) o positivi (falsi positivi, FP) al* test

☞

$$\text{specificità} = VN/(VN+FP) \times 100$$

- In pratica la specificità di un marcatore dipende dalla sua capacità di identificare i soggetti sani

1.6.3. Efficacia diagnostica



efficacia diagnostica

=

(VP+VN)/(VP+FP+VN+FN)

ovvero

risultati veri/tutti i risultati

1.6.4. Valori predittivi



- Il valore predittivo di un *test* positivo indica la probabilità che l'individuo abbia la malattia
- il valore predittivo di un *test* negativo indica la probabilità che l'individuo non sia affetto da quella malattia.
- Il valore predittivo di un esame di laboratorio tiene conto della presenza della malattia (prevalenza) nella popolazione
- In generale maggiore è la prevalenza dalla malattia nella popolazione maggiore è il valore predittivo di un risultato positivo del *test*

Risultati possibili di un test in una popolazione rispetto a una determinata prevalenza



Test esempio. Test con:
sensibilità 95% (95% VP + 5% FN) negli affetti
specificità 95% (5% FP + 95% VN) nei non affetti

1) Prevalenza del'1% (0,01)
VP = 0,01 x 0,95 = 0,0095 (0,95%)
FN = 0,01 x 0,05 = 0,0005
FP = 0,99 x 0,05 = 0,0495
VN = 0,99 x 0,95 = 0,9405
Valore predittivo = 0,0095/(0,0095 + 0,0495) = 0,161 (solo il 16,1% dei test positivi sarà ottenuto in individui affetti dalla malattia)

2) Prevalenza del 5%
VP = 0,05 x 0,95 = 0,0475
FN = 0,05 x 0,05 = 0,0025
FP = 0,95 x 0,05 = 0,0475
VN = 0,95 x 0,95 = 0,9025
Valore predittivo = 0,0475/(0,0475 + 0,0475) = 0,5

3) Prevalenza del 20%
VP = 0,2 x 0,95 = 0,19
FN = 0,2 x 0,05 = 0,01
FP = 0,8 x 0,05 = 0,04
VN = 0,8 x 0,95 = 0,76
Valore predittivo =0,19/(0,19 + 0,04)=0,826

EVENTO	PROBABILITÀ
VP	prevalenza x sensibilità
FN	prevalenza x (1-sensibilità)
FP	(1-prevalenza) x (1-specificità)
VN	(1-prevalenza) x specificità

1.6.5. Valori predittivi ed accuratezza

☞

	casi positivi		casi negativi
test positivi	A (veri+)		C (falsi+)
test negativi	B (falsi–)		D (veri–)

sensibilità = A/(A+B)

specificità = D/(C+D)

valore predittivo negativo = D/(B+D)

valore predittivo positivo = A/(A+C)

accuratezza = A+B/(A+B+C+D)

1.7. Test *di* screening 

☞ Fatte tutte le considerazioni descritte nei quadri precedenti un *test* di *screening* deve avere le seguenti caratteristiche:

- costare poco (conditio sine qua non): vi deve essere sottoposta una popolazione numerosa e quindi una procedura costosa, anche se efficace, non potrebbe essere adottata
- non essere nociva per il paziente: la maggior parte dei soggetti sottoposti al *test* sarà presumibilmente sana ed un danno da test non è giustificabile
- non presentare falsi negativi: i falsi positivi sono tollerabili in quanto i soggetti positivi al test di screening verranno sottoposti ad altre indagini prima della diagnosi e dell'intervento terapeutico

1.8. Errore ed esame di laboratorio

1.8.1. Cause di errore

☞ Oltre alla variabilità fisiologica e alle caratteristiche della popolazione la variabilità può essere introdotta dagli errori

Gli errori in una procedura diagnostica di laboratorio possono essere relativi alla:

- preparazione del paziente
- raccolta del campione
- manipolazione del campione
- analisi
- refertazione

1.8.2. Trattamento e conservazione dei campioni

☞ I campioni devono essere raccolti e trattati in modo corretto e differenziato a seconda dell'analisi da eseguire

Una delle fasi più delicate e importanti è il trattamento pre-analitico del campione, che spesso coinvolge diversi operatori, talvolta esterni alle strutture sanitarie

1.8.3. Gli errori si possono verificare in tre fasi

☞
- fase pre-analitica
- fase analitica
- fase post-analitica

1.8.4. Cause di variabilità pre-analitica

- variazioni fisiologiche individuali
- variazioni che si verificano durante la raccolta del campione
- variazioni che si verificano tra la raccolta del campione e la fase analitica

Variazioni fisiologiche

- età
- gravidanza
- variazioni cicliche
- circadiane (ormoni)
- mensili (ciclo mestruale)

Fattori patologici che possono interferire con alcuni esami di laboratorio

Tra i fattori patologici che possono interferire con le analisi ci sono quelli legati al colore ed alla limpidezza del campione es.:

- emolisi (plasma o siero rossi)
- iper-bilirubinemia (plasma o siero aranciato – marrone)
- iper-lipidemia (plasma o siero lattiginoso)

Infatti alcuni esami si basano su metodi spettrofotometrici: la lettura è alterata da variazioni cromatiche del campione

1.8.5. Fonti di errore nella fase del prelievo

- mancato controllo del rispetto della dieta da parte del paziente
- applicazione prolungata del laccio
- contaminazione da infusione venosa
- emolisi
- incompleto riempimento della provetta
- uso di provette con anticoagulanti e conservanti non idonei
- errata identificazione del paziente
- errata etichettatura delle provette
- mancata indicazione del tipo di prelievo (arterioso, venoso, ecc.)
- mancata indicazione di data e ora del prelievo

Fattori patologici che possono interferire con alcuni esami di laboratorio

Tra i fattori patologici che possono interferire con le analisi ci sono quelli legati al colore ed alla limpidezza del campione es.:

- emolisi (plasma o siero rossi)
- iper-bilirubinemia (plasma o siero aranciato – marrone)
- iper-lipidemia (plasma o siero lattiginoso)

Infatti alcuni esami si basano su metodi spettrofotometrici: la lettura è alterata da variazioni cromatiche del campione

1.8.6. Fonti di errore dopo la fase del prelievo

- ritardi nel trasferire i campioni al laboratorio
- non osservanza delle istruzioni per la corretta conservazione del campione

1.8.7. Metanalisi della letteratura sugli errori di laboratorio

Tabella 1.3. Metanalisi sugli errori di laboratorio. Dati da Bonini (2002). n.d.: non determinato; paz.: pazienti

	Lapworth (1994)	Goldschmidt (1995)	Nuttling (1996)	Plebani (1997)	Stahl (1998)	Hofgärtner (1999)	Hofgärtner (1999)
durata raccolta dati	1 anno	6 anni	0.5 anni	0.25 anni	3 anni	10 anni	1 anno
no. di *test*	997,000	n.d.	n.d.	40,490	676,564	4,234	88,394
no. di pazienti	249,000	n.d.	160,714	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
no. di errori	120	133	180	189	4,135	16	293
Frequenza	0.05% paz.		0.11% paz.	0.47% test	0.61% test	0.38% test	0.33% test
fase pre-analitica	31.6%	53%	55.6	68.2%	75%	44%	60%
fase analitica	31.6%	23%	13.3	13.3%	16%	31%	19%
fase post-analitica	30.8%	24%	30	18.5	9%	12.5%	15%
fasi multiple	6%					12,5%	6%
Identificazione errori	41 (34%)	77 (58%)	n.d.	5 (2.6%)	n.d.	n.d.	n.d.
Impatto sul paziente	n.d.						
nessuno		43%		74%	74%		63.4%
lieve		23%	13%	19.6%	19.6%	25%	20%
moderato		26%	13%	6.4%	6.4%	50%	10.2
severo		8%				25%	6.4%
molto severo		none					

1.9. Come intervenire sugli errori? 

- Categorizzare gli errori:
  - errore involontario nell'ambito di procedure codificate
  - errore involontario nell'ambito di procedure non codificate
  - errore deliberato
- *Solo dopo aver identificato l'errore è possibile introdurre gli adeguati correttivi*

1.10. Prelievo del campione di sangue venoso

Tabella 1.4. Le raccomandazioni per il prelievo di sangue venoso valide ad oggi (novembre 2013) si trovano nella Linea guida SIBioC (Società italiana di Biochimica clinica) (Lippi, 2008) e sono qui di seguito descritte

- *al mattino a digiuno (almeno 8 ore) per una migliore standardizzazione e per ridurre la variabilità biologica*
- *si utilizza generalmente sangue prelevato da una vena dell'avambraccio o, per esami specifici, il sangue arterioso (emogasanalisi) o il sangue capillare (digito-puntura) specialmente nei bambini e neonati*
- *accertare l'identità del paziente (braccialetto, tessera sanitaria, lettura ottica, etc.)*
- *ove nelle stanze di degenza siano ricoverati più pazienti, il prelevatore entra in stanza con solo le provette destinate ad un paziente e preleva sempre e solo un paziente alla volta*
- *preferire le vene centrali dell'avambraccio (cubitale e cefalica); in alternativa, possono essere utilizzate anche la vena basilica e quelle del dorso del braccio*
- *posizionare il laccio circa 10 cm al di sopra del sito prescelto, utilizzare una pressione sufficiente a generare stasi venosa ma non a causare dolore, fastidio o ostacolare la circolazione arteriosa (il polso arterioso deve essere ancora palpabile), non mantenere il laccio in sede per più di un minuto (quando è necessario più tempo per identificare una vena idonea o terminare il prelievo, il laccio può essere rilasciato e riapplicato)*
- *prima di procedere al prelievo, è necessario detergere accuratamente la cute utilizzando preferibilmente un batuffolo di ovatta imbevuto di alcool isopropilico al 70% o qualsiasi altro prodotto idoneo allo scopo, procedendo sempre nello stesso verso (onde evitare di rendere vana la detersione), asciugando poi accuratamente la cute con un batuffolo di ovatta asciutto (onde evitare contatto tra sangue ed alcool ...)*
- *prima dell'esecuzione del prelievo è necessario indossare guanti monouso, evitando contaminazione ematica*
- *le provette devono essere etichettate prima del prelievo, mai successivamente preferibilmente mediante sistemi di produzione automatica delle etichette ed etichettatura automatica delle provette*

1.10.1. Le provette per la raccolta ematica: il codice colore

☞ Per ogni determinazione ematica specifica vanno usate provette idonee

Le provette si distinguono per il colore del tappo: codice colore

Il colore è assegnato in base alla assenza o presenza di uno specifico anticoagulante o conservante

Specifica sequenza delle provette durante il prelievo per evitare la contaminazione dei campioni da anticoagulante contenuto nel tubo primario

☞ Il *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) suggerisce la sequenza:

- provette destinate all'emocoltura (tappo giallo o giallo-nero)
- provette contenenti sodio-citrato destinate ad esami di coagulazione (tappo azzurro)
- provette di siero senza attivatore della coagulazione (tappo rosso)
- provette contenenti litio-eparina (tappo verde scuro)
- provette contenenti EDTA (acido etilendiamminotetracetico) (tappo lavanda)
- provette contenenti citrato e destrosio (tappo giallo pallido)
- provette contenenti ossalato e/o fluoruro (tappo grigio chiaro)

Durante la raccolta

☞ Durante la raccolta dei campioni, il prelevatore verificherà che la quantità di sangue aspirato sia idonea ad eseguire le analisi richieste ed, in particolare, che il rapporto quantitativo con l'anticoagulante sia rispettato

Immediatamente dopo la raccolta

☞ Immediatamente dopo la raccolta, le provette contenenti un anticoagulante (soprattutto sodio-citrato ed EDTA, sia in soluzione che in polvere) devono essere invertite gentilmente da 4 a 6 volte, al fine di garantire la corretta miscelazione tra sangue ed anticoagulante

Terminata la raccolta

☞ Terminata la raccolta dei campioni:

- il prelevatore rilascia il laccio (se non l'ha fatto prima), estrae l'ago dalla vena e posiziona immediatamente un batuffolo di ovatta sul sito di prelievo, chiedendo al paziente di operare una pressione moderata sullo stesso, mantenendo il braccio disteso, mai piegato
- il prelevatore elimina tutto il materiale contaminato dal sangue del paziente, trasferendolo in appositi contenitori di sicurezza idonei per il riconoscimento del tipo di materiale contaminato
- per nessun motivo l'ago utilizzato per il prelievo deve essere reincappucciato, spezzato o frantumato direttamente dall'operatore
- il prelevatore deve anche verificare lo stato di salute del paziente (segni di malessere o collasso) e l'insorgenza di eventuali complicazioni (soprattutto ematomi)

Precauzioni ulteriori

☞ Per evitare contaminazioni o la rottura dei globuli rossi (emolisi) sono necessarie alcune precauzioni nel prelievo e nel trattamento del campione ematico:

- l'ago utilizzato deve essere di diametro non troppo ridotto (le dimensioni dell'ago vengono misurate in *gauge* i cui valori numerici sono inversamente proporzionali alle dimensioni dell'ago stesso (16 *gauge* è maggiore di 23 *gauge*))
- tutti gli strumenti e contenitori devono essere puliti, sterili, asciutti e non devono contenere tracce di detergenti
- si preferisce l'utilizzo di dispositivi mono-uso

☞ Sempre più frequentemente, per ragioni di sicurezza dell'operatore, si utilizza una modalità di prelievo sottovuoto che risulta costituito da:

- un ago a farfallina (21, 23 o 25 *gauge*)
- un adattatore
- una provetta sottovuoto in polietilene (PET)

☞ Il sangue prelevato può essere conservato sotto forma di:

- sangue intero, con l'aggiunta di anticoagulanti
- plasma, ottenuto rimuovendo le cellule del sangue mediante centrifugazione da sangue non coagulante
- siero, ottenuto lasciando coagulare e rimuovendo poi il coagulo

1.11. Modalità di raccolta o prelievo delle urine

- *Raccolta delle urine con campionamento semplice*
  - raccolta mediante mitto intermedio (sesso femminile)
  - raccolta mediante mitto intermedio (sesso maschile)
  - raccolta da catetere a permanenza
  - sacchetto in plastica sterile adesivo

Se non diversamente specificato, si raccomanda di raccogliere le urine della minzione del mattino (più concentrata e di pH più acido)

In mancanza di richiesta specifica viene effettuato l'esame colturale quantitativo per miceti e batteri aerobi (enterobatteri, enterococco, stafilococco)

I contenitori per la raccolta sono sterili monouso

- *Raccolta delle urine delle 24 h*

1.11.1. Raccolta delle urine con campionamento semplice

Raccolta mediante mitto intermedio (sesso femminile)

☞
- lavarsi le mani con acqua e sapone ed asciugarsi
- lavare accuratamente con acqua e sapone l'orifizio dell'uretra e la zona circostante
- sciacquarsi con acqua ed asciugarsi
- tenere divaricate le grandi labbra durante la minzione
- emettere la prima parte delle urine senza raccoglierla
- raccogliere direttamente nel recipiente sterile la seconda parte
- richiudere accuratamente il contenitore in modo che l'urina non fuoriesca durante il trasporto

Raccolta mediante mitto intermedio (sesso maschile)

☞
- lavarsi le mani con acqua e sapone ed asciugarsi
- retrarre il prepuzio, lavare accuratamente con acqua e sapone l'orifizio dell'uretra e la zona circostante, sciacquarsi con acqua ed asciugarsi
- tenendo retratto il prepuzio emettere la prima parte delle urine senza raccoglierla
- raccogliere direttamente nel recipiente sterile la seconda parte

Raccolta da catetere a permanenza

☞
- pulire esternamente il catetere con alcool
- sterilmente aspirare le urine presenti nel lume del catetere
- inserire le urine nel contenitore sterile

n.b.: non prelevare le urine dal sacchetto di raccolta

Raccolta in sacchetto in plastica sterile adesivo

☞ Tale metodica è utilizzata nei bambini più piccoli quando non è possibile ottenere il mitto

- detergere con acqua e sapone la regione sovra-pubica, perineale e i genitali esterni
- sciacquare bene con acqua ed asciugare
- applicare il sacchetto facendolo aderire al perineo ed alla regione sovra-pubica
- se dopo circa 60 min non si è verificata la minzione, rimuovere il sacchetto e provvedere alla sostituzione ripetendo il lavaggio
- appena avvenuta la minzione rimuovere il sacchetto e richiuderlo bene

Modalità di conservazione

☞ Inviare al laboratorio le urine entro 2 h dalla minzione. Se passano più di 2 h e fino ad un massimo di 24 h prima della consegna al laboratorio, tenere il contenitore in frigorifero a 4°C

1.11.2. Raccolta delle urine delle 24 h

☞ Condizioni preliminari

È preferibile cominciare la raccolta al risveglio, richiede la cooperazione del paziente.

☞ Modalità di esecuzione

Scartare la prima urina del mattino (altrimenti si tende a raccogliere un campione di urine sovra-dimensionato) e partendo dalla successiva raccogliere, in un idoneo contenitore, tutte le successive e fino alla prima del mattino seguente

Utilizzare un contenitore a bocca larga con tappo a vite della capacità di circa 2.5 L

Conservare il contenitore in un luogo fresco durante la raccolta

☞ Modalità di conservazione e consegna

Cercare di consegnare le urine in un tempo massimo di 2 h dalla raccolta

1.12. Testi generali di riferimento

McPherson, R.A., Pincus, M.R. (2011) Henry's Clinical diagnosis and management by laboratory methods. XXII ed. Saunders, Philadelphia

Testo di riferimento e consultazione

Federici, G. (2008) Medicina di laboratorio. III ed. McGraw-Hill, Milano

Testo di riferimento per la realtà italiana

Laposata, M. (2010) Lavoratory medicine. I ed. McGraw-Hill Lange, New York

Testo di riferimento molto sintetico ed orientato alla diagnostica di laboratorio

1.13. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Boari, C., Macori, L. (2001) Emocromo: guida rapida all'interpretazione ragionata. Piccin, Padova

Bonini, P., Plebani, M., Ceriotti, F., Rubboli, F. (2002) Errors in laboratory medicine. Clin. Chem. 48, 691–698

Goldschmidt, H.M.J., Lent, R.W. (1995) Gross errors and work flow analysis in the clinical laboratory. Klin Biochem Metab 3, 131–140

Hofgärtner, W.T,. Tait, J.F. (1999) Frequency of problems during clinical molecular-genetic testing. Am. J. Clin. Pathol. 112, 14–21

Lapworth, R., Teal, T.K. (1994) Laboratory blunders revisited. Ann Clin Biochem 31, 78–84

Lippi, G. , Marco Caputo, M., Banfi, G., Buttarello, M., Ceriotti, F., Daves, M., Dolci, A., Montagnana, M., Miconi, V., Milanesi, B., Morandini, M., Piva, E., Salvagno, G.L., Giavarina, D. per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL-CISMEL sulla Variabilità Extra-Analitica del Dato di Laboratorio (2008). Raccomandazioni per il prelievo di sangue venoso. Biochimica Clinica 32, 569-577

Nutting, P.A., Main, D.S., Fischer, P.M., Stull, T.M., Pontious, M., Seifert, M., Boone, D.J., Holocomb, S.S. (1996). Problems in laboratory testing in primary care. JAMA 275, 635–639

Plebani, M., Carraro, P. (1997) Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. Clin. Chem. 43, 1348–1351

Stahl, M., Lund, E.D., Brandslund, I. (1998) Reasons for a laboratory's inability to report results for requested analytical tests. Clin. Chem. 44, 2195–2197

Siti web

albanesi.it_curva_di_gauss	*visitato il 29/10/2012*	*accessibile il 29/01/2014*
chemspider.com	*visitato il 05/06/2012*	*accessibile il 29/01/2014*
sibioc.it/_lippi.pdf	*visitato il 25/09/2012*	*accessibile il 29/01/2014*
barbieri_strocchi_lezioni_di_Patologia_generale_2014	*visitato il 25/09/2012*	*accessibile il 29/01/2014*





2. Esame emocromo-citometrico

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

(vedi singoli sotto-capitoli)

2. Esame emocromo-citometrico....1
2.1. Il sangue....3
2.2. Plasma e siero....4
2.2.1. Il contenuto del plasma....5
2.2.2. Componenti organici principali del plasma non proteici....5
2.3. La componente corpuscolata: esame emocromo-citometrico....8
2.4. Emocromo: significato diagnostico....10
2.4.1. Ematocrito....11
2.4.2. Gli indici eritrocitari MCH e MCHC....11
2.4.3. Gli indici eritrocitari MCV e RDW....12
2.5. Piastrine....13
2.6. Leucociti....14
2.6.1. Indici RBC e WBC in rapporto all'età ed al sesso....15
2.6.2. Variazioni nel numero di eritrociti, piastrine e leucociti....16
2.6.3. Variazioni nel numero delle sotto-popolazioni leucocitarie....17
2.7. Principali fonti utilizzate....18





2.1. Il sangue

☞ Il sangue è composto da una parte corpuscolata e da una parte liquida

Rappresenta il mezzo che tiene in movimento tutti i liquidi del corpo

Consente di portare molecole originate od entrate in una singola parte dell'organismo a tutte le altre parti dell'organismo

Componente liquida del sangue

☞ La componente liquida del sangue è rappresentata dal solvente biologico, l'acqua, e da tutto ciò che in essa è disciolto, sia micro- che macro-molecolare

La componente liquida porta in sospensione la componente corpuscolata

Componente corpuscolata del sangue

☞ Componente corpuscolata

(~ 45% del volume ematico totale)

- eritrociti: 4,000,000 – 6,000,000/µL
- leucociti: 4,000 – 10,000/µL
- piastrine: 150,000 – 400,000/µL

2.2. Plasma e siero

Definizioni di plasma e siero

Il plasma è la parte liquida del sangue

Il siero è il liquido che resta dopo la coagulazione del sangue

☞ Il plasma è un sistema dinamico anche dal punto di vista biochimico

Nel plasma sono presenti sistemi enzimatici a cascata che si attivano e si amplificano, mentre nel contempo attivano i propri inibitori

Le cascate enzimatiche *in vivo* sono attive in condizioni basali, anche se a bassa velocità. Questo fa si che molti fattori plasmatici abbiano una vita media relativamente breve, in alcuni casi solo di ore

Al bisogno l'equilibrio basale può essere rapidamente e sostanzialmente modificato variando la velocità delle reazioni implicate

☞ Il plasma può essere considerato alla stregua di un "vivente" di difficile conservazione, mentre il siero è "morto", stabile, avendo portato a compimento tutti i processi disponibili, e quindi di più facile conservazione

- il siero non esiste *in vivo*
- la sua composizione è diversa dal plasma: manca di fattori ed è ricco in prodotti secondari dell'attivazione delle proteasi
- molti fattori esistono solo nel plasma

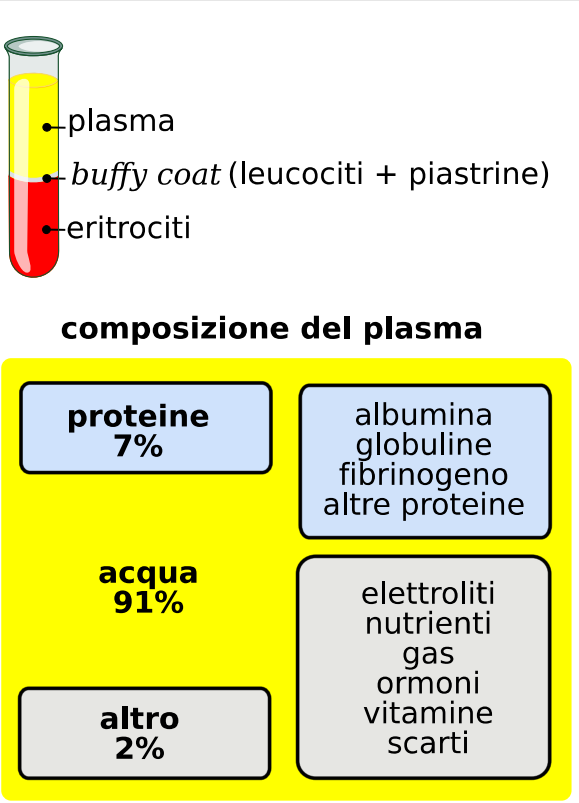


Figura 2.1. Plasma: composizione essenziale
Da Barbieri (2012)

2.2.1. Il contenuto del plasma

☞ Il solvente del plasma è l'acqua

Nell'acqua, oltre a numerosissime molecole di natura e funzioni disparate, sono disciolti:

- ioni che determinano il pH e la forza osmotica
- una grande varietà di proteine in transito tra un sistema cellulare ed un altro
- proteine che svolgono la loro funzione nel plasma stesso

2.2.2. Componenti organici principali del plasma non proteici

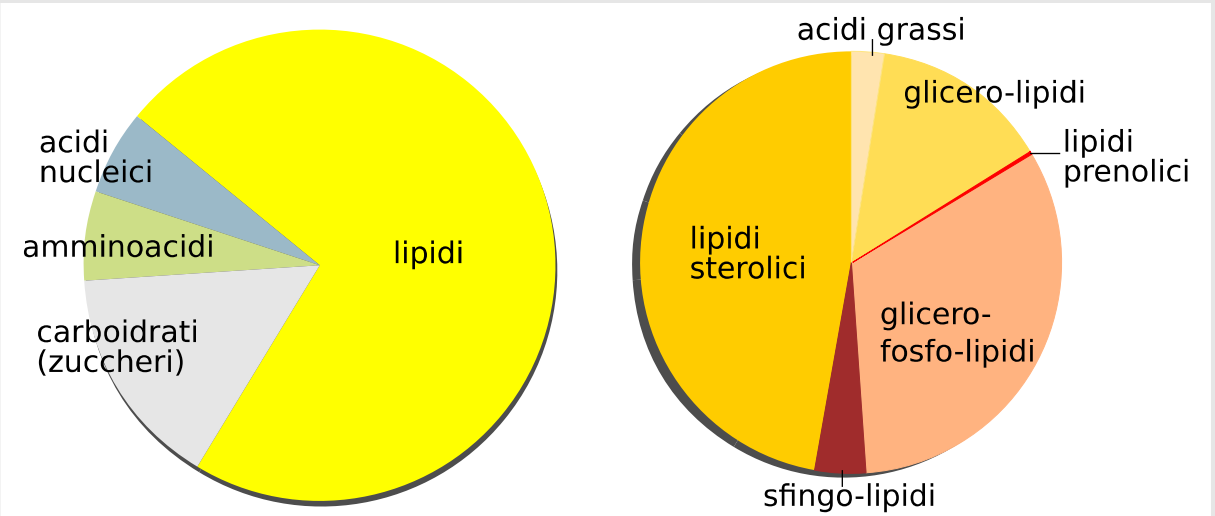


Figura 2.2. Plasma: composti organici, con particolare riguardo ai lipidi

Quadro sn. Amminoacidi e acidi nucleici sono indicati senza considerare il contributo di proteine e DNA o RNA. Da Barbieri (2012) liberamente tratto da Lenter (1981), Wishart (2009) e Quehenberger (2011)

Quadro a dx. Distribuzione relativa dei lipidi nel plasma umano. La lipidomica ha caratterizzato quasi 600 differenti molecole lipidiche nel plasma umano

La distribuzione relativa riportata è su base molare. La nomenclatura dei lipidi segue il sistema classificativo LIPID MAPS. Da Barbieri (2012) liberamente tratto da Fahy (2009) e Quehenberger (2011)

Ottenimento di plasma e siero

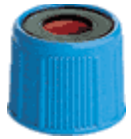
☞ Plasma: si ottiene dal sangue raccolto in provette contenenti opportuno anti-coagulante

Siero: si ottiene dal sangue raccolto in provette di vetro o plastica senza anti-coagulante; il campione viene fatto coagulare spontaneamente o il coagulo viene indotto mediante trombina o promotori dell'aggregazione piastrinica

Entro 1 h dal prelievo, plasma e siero devono essere centrifugati (3,000 rpm per 10 min) per separare la parte corpuscolata

- n.b. rpm sta per *revolutions per min* (giri per minuto) ed il valore può cambiare in funzione del diametro del rotore usato nella centrifuga

☞ Le provette per la raccolta di sangue intero hanno un codice colore che contraddistingue la presenza di sostanze che le rendono adatte alle diverse misurazioni

Tabella 2.1. Esempi di additivi comunemente usati (con tappo codice colore relativo in vigore presso l'Area Vasta Romagna nel 2013). Esistono altri tipi additivi con il rispettivo codice colore adatti a misurazioni diverse	**colore del tappo**	
EDTA: chela in modo irreversibile il Ca^{2+} • ideale per esame emocromocitometrico e analisi morfologica dello striscio	viola	
Sali di eparina: l'eparina attiva l'anti-trombina III: inibisce i fattori della coagulazione • adatti a esame emocromo e chimica clinica su plasma	verde	
Na citrato: chela in modo reversibile il Ca^{2+} • ideale per esami della coagulazione sul plasma	azzurro	
Provette vuote o con gel separatore: le provette per siero hanno adeso all'interno micro particelle di silice che attivano la coagulazione quando le provette vengono invertite delicatamente dopo il prelievo. 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 • adatto a chimica clinica e elettroforesi proteine	rosso	
Provette VES (o ERS): Le provette per VES (velocità di eritro-sedimentazione), alias ERS (eritrosedimentazione), contengono una soluzione tamponata 3.8% di tri-sodio citrato (0.129 mol/L). Rapporto diluizione: 1 parte di soluzione di citrato con 4 parti di sangue	nero	

2.3. La componente corpuscolata: esame emocromo-citometrico



☞ Con il termine esame emocromo-citometrico con formula leucocitaria, o con quello più noto di emocromo, si indica una serie di valutazioni qualitative e quantitative relative alle diverse popolazioni di elementi corpuscolati presenti nel sangue periferico

i principali parametri ematologici valutati dall'esame emocromocitometrico sono i seguenti:

- conta e dimensionamento dei globuli rossi e delle piastrine
- concentrazione di emoglobina
- conta differenziale dei leucociti

Tabella 2.2. Componente corpuscolata del sangue

tipo cellulare	morfologia	funzione principale	vita media
eritrociti	dischi biconcavi senza nucleo né organuli ⌀ 7-8 µm	trasporto di ossigeno e di anidride carbonica	120 d
piastrine	frammenti citoplasmatici contenenti granuli ⌀ 2-3 µm	emostasi	10 d
granulociti polimorfonucleati neutrofili	nucleo multilobato, granuli citoplasmatici di colore rosa ed azzurro ⌀ 12-14 µm	difesa dai batteri	<1d nel sangue 1-2 d nei tessuti
granulociti polimorfonucleati eosinofili	nucleo bilobato, granuli citoplasmatici di colore rosso ⌀ 12-17 µm	difesa dai parassiti	<1d nel sangue settimane nei tessuti
granulociti polimorfonucleati basofili	nucleo lobato, granuli citoplasmatici di colore blu ⌀ 14-16 µm	risposta infiammatoria (reazioni di ipersensibilità)	1 d nel sangue ore nei tessuti
linfociti	nucleo rotondo contornato da una sottile rima di citoplasma ⌀ 6-9 µm	effettori e regolatori della risposta infiammatoria	anni (y)
monociti	nucleo eccentrico, da ovale a reniforme (indentato) ⌀ 16-20 µm	migrano nei tessuti e diventano macrofagi	diversi giorni (d) nel sangue diversi anni nei tessuti

2.4. Emocromo: significato diagnostico

☞ L'emocromo rappresenta l'indagine di base per la diagnosi di laboratorio delle patologie ematologiche; è inoltre un esame che rientra nel "profilo d'ingresso" anche per la valutazione dello stato di salute generale

Parametri eritrocitari

Tabella 2.3. Parametri eritrocitari

acronimo	nome esteso	nome esteso italiano	unità di misura	intervalli di riferimento	
RBC	*red blood cells*	eritrociti, emazie, globuli rossi	$\times 10^6/\mu L$	M F	4.5-6.3 4.2-5.4
MCV	*mean corpuscular volume*	volume medio eritrocitario	fL	MF	80-94
RDW	*red distribution width*	indice di anisocitosi	%	MF	11.6-14.6
HCT	*haematocrit*	ematocrito	%	M F	41-50 36-46
HGB	*haemoglobin*	emoglobina	g/dL	M F	13.5-18.0 12-16
MCH	*mean corpuscular haemoglobin*	emoglobina corpuscolare media	pg	MF	26-32
MCHC	*mean corpuscular haemoglobin concentration*	concentrazione media dell'emoglobina corpuscolare	%	MF	32-36
reticolociti (forme immature di eritrociti)			%	MF	0.2-2.5

2.4.1. Ematocrito

☞ Per ematocrito si intende il volume occupato dai globuli rossi rispetto al volume totale di sangue (componente corpuscolata + plasma)

La sigla usata per rappresentare l'ematocrito è HCT e si esprime in percentuale (HCT %)

2.4.2. Gli indici eritrocitari MCH e MCHC

☞ L'MCH (mean corpuscolar haemoglobin) corrisponde al contenuto emoglobinico corpuscolare medio e si può calcolare dividendo la concentrazione di emoglobina totale per il numero di globuli rossi:

$$\text{MCH (pg)} = [\text{emoglobina (g/dL)} \times 10] \,/\, \text{no. eritrociti } (10^6/\mu\text{L})]$$

MCHC (*mean corpuscular haemoglobin concentration*) corrisponde alla concentrazione emoglobinica corpuscolare media (in una dato volume di globuli rossi) e si può calcolare dividendo la concentrazione di emoglobina totale per l'ematocrito:

$$\text{MCHC (\%)} = [\text{emoglobina (g/dL)} \times 100] \,/\, \text{ematocrito}$$

☞ Gli indici eritrocitari consentono di distinguere le anemie in:

- anemie ipo-cromiche (es.: anemia microcitica)
- anemie normo cromiche (es.: anemia macrocitica)
- anemie iper-cromiche (es.: sferocitosi ereditaria, anemia falciforme)

2.4.3. Gli indici eritrocitari MCV e RDW

☞ L'MCV (*mean corpuscular volume*) indica il volume medio dei globuli rossi sul totale dell'ematocrito

si esprime in fL

serve a distinguere le anemie in

- anemie normocitiche
- anemie microcitiche
- anemie macrocitiche

☞ L'RDW (*red cell distribution width*) o indice di anisocitosi: indica l'omogeneità del volume dei globuli rossi

Quanto più è alto, tanto maggiore è la disomogeneità

I valori normali oscillano tra 11 e 17%

Un aumento si verifica nel corso di

- anemie sideropeniche
- anemie megaloblastiche
- in seguito a trasfusione di sangue

Una diminuzione in seguito al

- trattamento delle anemie

2.5. Piastrine 

Parametri piastrinici

Tabella 2.4. Parametri piastrinici

acronimo	nome esteso	nome esteso italiano	unità di misura		intervalli di riferimento
PLT	*platelets*	piastrine, trombociti	$\times 10^3/\mu L$	MF	150-400
MPV	*mean platelet volume*	volume medio piastrinico	fL	MF	80-94
PDW	*platelet distribution width*	indice di anisocitosi	%	MF	11.6-14.6

2.6. Leucociti



Parametri leucocitari

Tabella 2.5. Parametri piastrinici

acronimo	nome esteso	nome esteso italiano	unità di misura	intervalli di riferimento	
WBC	*white blood cells*	leucociti, globuli bianchi	$\times 10^3/\mu L$	MF	4-10
formula leucocitaria					
NE	*neutrophils*	granulociti polimorfonucleati neutrofili, neutrofili	%		60-75
LY	*lymphocytes*	linfociti	%		25-35
MO	*monocytes*	monociti	%		4-8
EO	*eosinophils*	granulociti polimorfonucleati eosinofili, eosinofili	%		0-2
BA	*basophils*	granulociti polimorfonucleati basofili, basofili, cellule granulose basofile circolanti	%		0-1

2.6.1. Indici RBC e WBC in rapporto all'età ed al sesso

Tabella 2.6. Indici RBC e WBC in rapporto all'età ed al sesso

	RBC ($\times 10^6/\mu L$)	**HGB** (g/dL)	**reticolociti** (%)	**WBC** ($\times 10^3/\mu L$)
uomini adulti	4.5-6.3	14-18	0.5-2.0	4-10
donne adulte	4.2-5.4	12-16	0.5-2.0	4-10
neonati (sangue del cordone ombelicale)	4-6	13.5-19.5	2-6	12-26
bambini: 3 mesi	3.4-4.8	9.5-12.5	0.2-2.0	6-18
bambini 1 anno	3.6-5.2	11-13	0.5-2.0	6-15
bambini 3-6 anni	4.1-5.5	12-14	0.5-2.0	5-15
bambini 10-12 anni	4.0-5.4	12.5-14.5	0.5-2.0	4.5-13.5

2.6.2. Variazioni nel numero di eritrociti, piastrine e leucociti

Tabella 2.7. Variazioni nel numero delle sotto-popolazioni leucocitarie

variazione	denominazione	cause principali
aumento del numero degli eritrociti	policitemia	alta quota abuso di eritropoietina insufficienza respiratoria sindromi mielo-proliferative
diminuzione del numero degli eritrociti	eritropenia	numerose e varie (vedi capitolo sulle anemie)
aumento del numero delle piastrine	trombocitosi	emorragie emolisi malattie infettive malattie flogistiche splenectomia sindromi mielo-proliferative
diminuzione del numero delle piastrine	trombocitopenia, piastrinopenia	ridotta produzione aumentata distruzione aumentato consumo sequestro
aumento del numero dei leucociti	leucocitosi	vedi quadro successivo
diminuzione del numero dei leucociti	leucopenia	vedi quadro successivo

2.6.3. Variazioni nel numero delle sotto-popolazioni leucocitarie

Tabella 2.8. Variazioni nel numero delle sotto-popolazioni leucocitarie

variazione	denominazione	cause principali
aumento del numero dei polimorfonucleati neutrofili	neutrofilia	infezioni batteriche acute più raramente: infezioni micotiche acute infezioni virali parassitosi necrosi, traumi, infarti tumori maligni
aumento del numero dei polimorfonucleati eosinofili	eosinofilia	malattie allergiche infestazioni da parassiti (es.: verminosi intestinale)
aumento del numero dei polimorfonucleati basofili	basofilia	malattie allergiche
aumento del numero dei linfociti	linfocitosi	malattie virali (es.: mononucleosi, epatiti) infezioni batteriche (es.: pertosse, brucellosi) malattie esantematiche
aumento del numero dei monociti	monocitosi	Infezioni croniche
diminuzione del numero dei polimorfonucleati neutrofili	neutrocitopenia o neutropenia	farmaci anti-proliferativi malattie neoplastiche del tessuto emopoietico
diminuzione del numero dei linfociti	linfocitopenia o linfopenia	AIDS corticosteroidi chemioterapia

2.7. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Fahy, E., Subramaniam, S., Murphy, R.C., Nishijima, M., Raetz, C.R.H., Shimizu, T., Spener, F., van Meer, G., Wakelam, M.J.O., Dennis, E.A. (2009) Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. J. Lipid Res. 50 Suppl, S9-S14

Quehenberger, O., Dennis, E.A. (2011) The Human Plasma Lipidome. N. Engl. J. Med. 365, 1812-1823

Wishart, D.S., Knox, C., Guo, A.C., Eisner, R., Young, N., Gautam, B., Hau, D.D,. Psychogios, N., Dong, E., Bouatra, S., Mandal, R., Sinelnikov, I., Xia, J., Jia, L., Cruz, J.A., Lim, E., Sobsey, C.A., Shrivastava, S., Huang, P., Liu, P., Fang, L., Peng, J., Fradette, R., Cheng, D., Tzur, D., Clements, M., Lewis, A., De Souza, A., Zuniga, A., Dawe, M., Xiong, Y., Clive, D., Greiner, R., Nazyrova, A., Shaykhutdinov, R., Li, L., Vogel, H.J., Forsythe, I. (2009) HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. Nucleic Acids Res. 37: D603-D610

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_Patologia_generale_2014	*visitato il 29/01/2014*	*accessibile il 29/01/2014*
vacuette.it/le_provette.html	*visitato il 14/04/2013*	*accessibile il 29/01/2014*







3. Il laboratorio nella valutazione diagnostica delle anemie

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

3. Il laboratorio nella valutazione diagnostica delle anemie. 1
3.1. Inquadramento nosologico delle anemie....3
3.1.1. Sintomatologia....4
3.1.2. Classificazione fisiopatologica delle anemie....5
3.1.3. Classificazione di laboratorio (o morfologica) delle anemie....6
3.2. Anemie microcitiche....7
3.3. Fisiopatologia del ricambio del ferro....8
3.3.1. Bilancio del ferro....8
3.3.2. Eliminazione del ferro (perdita di ferro)....9
3.3.3. Riciclo del ferro....10
3.3.4. Assorbimento intestinale del ferro....11
3.3.5. Trasporto del ferro nel plasma....13
3.3.6. La saturazione della transferrina....13
3.3.7. Capacità plasmatica di legare il ferro e diagnosi....14
3.3.8. Total iron binding capacity e diagnosi differenziale....15
3.3.9. Depositi di ferro....16
3.3.10. Eccesso di ferro: emosiderosi....16
3.3.11. Emocromatosi....17
3.3.12. Principali cause di deficienza di ferro....18
3.3.13. Reperti di laboratorio diagnostici della anemia sideropenica....19
3.4. Talassemie....21
3.4.1. Varianti emoglobiniche....22
3.4.2. α-talassemia....23

3.4.3. β-talassemia....24
3.5. Anemia associata a malattie infiammatorie croniche....25
3.6. Anemie normo-macrocitiche....26
3.6.1. Reticolocitosi....26
3.6.2. Anemia da emorragia acuta....26
3.7. Anemie emolitiche....28
3.7.1. Sferocitosi ereditaria....28
3.7.2. Anemie emolitiche autoimmuni....29
3.7.3. Test di Coombs diretto e indiretto....30
3.8. Anemie emolitiche autoimmuni....32
3.8.1. Anemia emolitica autoimmune da anticorpi "caldi" (37°)....32
3.8.2. Anemia emolitica autoimmune da anticorpi "freddi"....33
3.9. Anemie megaloblastiche....34
3.9.1. Deficit di vitamina B12....35
3.9.2. Deficit di acido folico....36
3.9.3. Approccio diagnostico alle anemie con indicazione delle analisi di laboratorio 37
3.10. Principali fonti utilizzate....38



3.1. Inquadramento nosologico delle anemie

Definizione di anemia

Per anemia si intende una riduzione della quantità di emoglobina funzionante indipendentemente dal numero degli eritrociti, che può essere ridotto (anemie normocitiche e macrocitiche) ma pure aumentato (anemie microcitiche)

☞ Il parametro principale per la valutazione di uno stato anemico, se il volume di sangue totale (volemia) è normale e la molecola dell'emoglobina è funzionante, è la concentrazione di emoglobina (g/dL)

☞ Nella pratica clinica si fa diagnosi generica di anemia quando la concentrazione di emoglobina (*haemoglobin*, Hb) nel sangue periferico è inferiore a 13 g/dL nell'uomo e a 12 g/dL nella donna

☞ I valori di riferimento considerando le variazioni di genere e di età sono stabiliti dal WHO (1967) come riportato da Mais (2010):

- bambini (6 mesi–6 anni) < 11 g/dL
- donne in gravidanza < 11 g/dL
- bambini (6–14 anni) < 12 g/dL
- donne adulte < 12 g/dL
- uomo adulto < 13 g/dL

3.1.1. SINTOMATOLOGIA

☞ Le principali manifestazioni cliniche delle anemie sono legate al grado e alla rapidità di insorgenza dello stato anemico:

- *l'anemia che si instaura in breve tempo determina una sintomatologia più drammatica di una anemia dello stesso grado ma che si stabilisce in tempi lunghi*

☞ Qualunque sia la causa che determina uno stato anemico, la sintomatologia risulta simile e riflette

- la ridotta capacità di trasporto dell'ossigeno
- i meccanismi di compenso dell'ipossia tissutale

☞ In corso di anemia sono frequenti:

- cute e mucose pallide
- polipnea
- tachicardia da sforzo
- astenia (facile affaticabilità)

☞ In presenza di anemia severa e/o di condizioni favorenti si può avere:

- *angina pectoris* (ischemia miocardica da sforzo)
- scompenso cardiaco
- *claudicatio intermittens* (ischemia della muscolatura delle gambe, da sforzo)
- insufficienza cerebrovascolare (attacco ischemico transitorio, cefalea, vertigini, acufeni)

3.1.2. Classificazione fisiopatologica delle anemie

Tabella 3.1. Classificazione fisiopatologica delle anemie

da deficit proliferativo	anomalie staminali	anemia aplastica
	patologia midollare	radiazioni/tossine/farmaci fibrosi metastasi
	ridotta stimolazione della eritrogenesi	endocrinopatie patologie renali (deficit di eritropoietina) denutrizione flogosi cronica
da deficit maturativo	difetti della sintesi dell'emoglobina	carenza di ferro (anemia sideropenica) carenza di catene globiniche (talassemie) difetti dell'eme (anemia sideroblastica)
	carenze vitaminiche	deficit di vitamina B_{12} (anemia megaloblastica) deficit di folati
da deficit di sopravvivenza	cause intra-globulari	deficit enzimatici (glucoso-6-fosfato deidrogenasi) difetti di membrana (sferocitosi ereditaria) globine anomale (anemia falciforme)
	cause extra-globulari	da anticorpi meccaniche (valvulopatie, protesi) fisiche, chimiche, infettive iper-splenismo
	emorragie acute	

3.1.3. Classificazione di laboratorio (o morfologica) delle anemie

Classificazione dimensionale

Tabella 3.2. Classificazione di laboratorio (o morfologica) delle anemie. MCV: mean corpuscular volume *(volume medio eritrocitario)*

	MCV (fL)	**diametro (µm)**
anemie microcitiche	<80	<7.3
anemie normo-macrocitiche	80-110	7.3-8.3
anemie megaloblastiche	>115 fL	>8.5

Rapporto RDW/MCV

Tabella 3.3. Rapporto RDW/MCV. RDW: red cell distribution width *(indice di anisotropia); MCV:* mean corpuscular volume *(volume medio eritrocitario)*

	RDW normale	**RDW elevato**
MCV basso	malattie croniche talassemia	anemia sideropenica anemia falciforme
MCV normale	emorragia acuta malattie croniche malattie renali (bassa eritropoietina, EPO)	anemia falciforme deficit B_{12} (fase iniziale) deficit di folati (fase iniziale)
MCV alto	anemia aplastica epatopatie abuso di alcool	deficit di B_{12} deficit di folati mielo-distrofia reticolocitosi (emolisi)

3.2. Anemie microcitiche

☞ La microcitosi eritrocitaria è sempre il risultato di una difettosa sintesi di emoglobina dovuto alla alterata disponibilità di una delle sue componenti fondamentali:

- ferro (anemie sideropeniche)
- catene globiniche (talassemie)

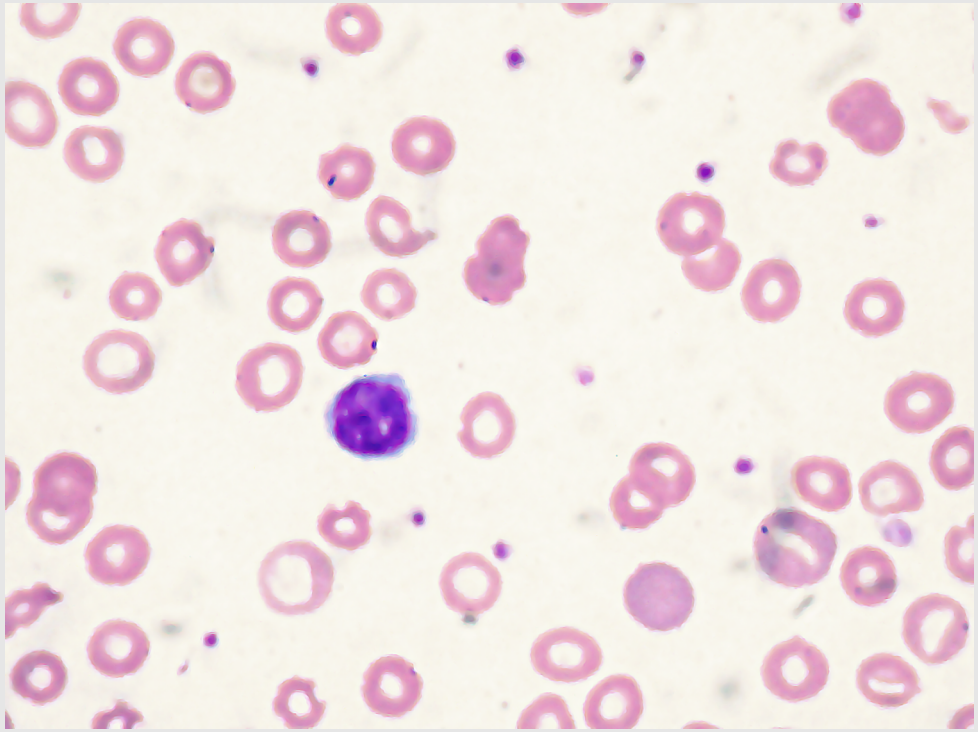
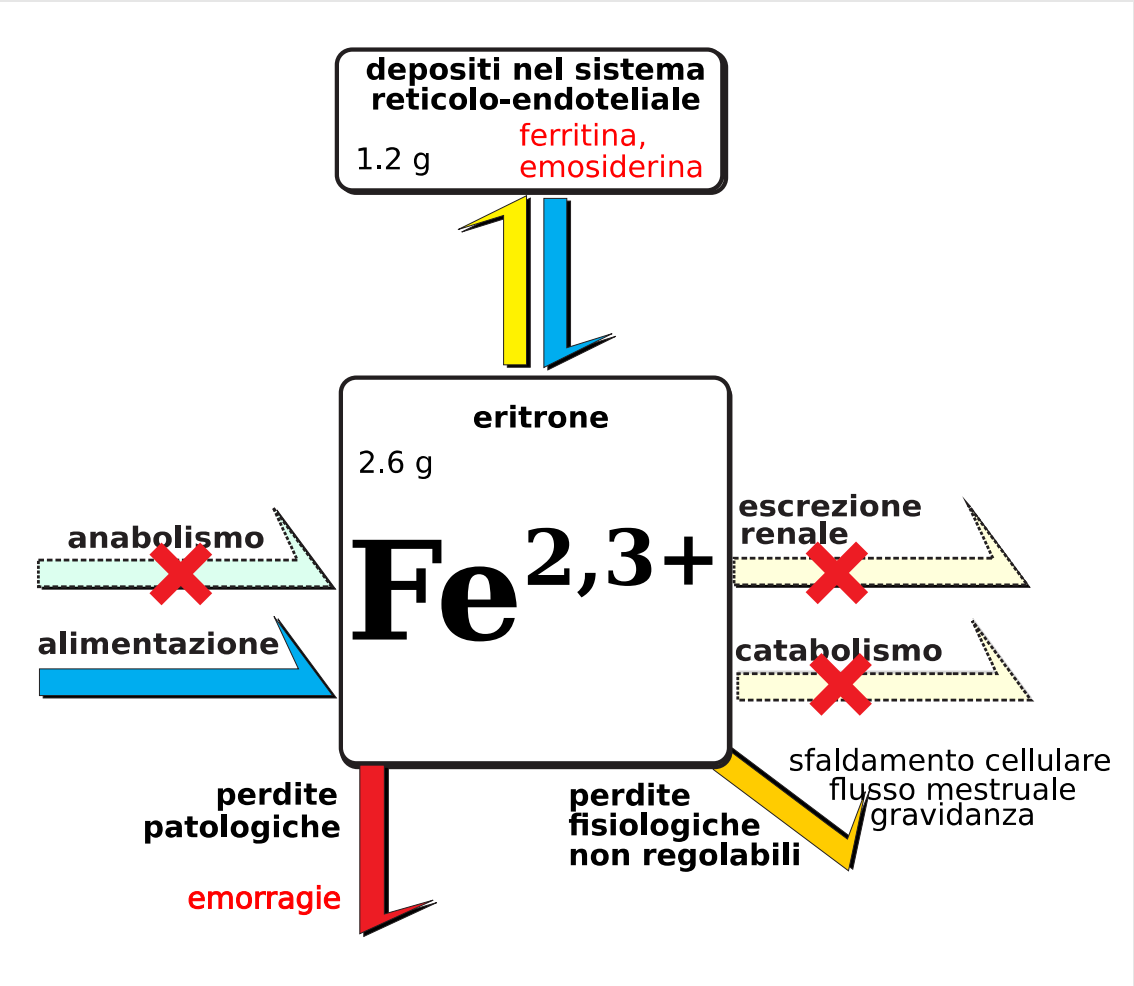


Figura 3.1. Striscio di sangue periferico in anemia microcitica ipocromica da carenza di ferro (anemia sideropenica). Immagine public domain *da: wikimedia.org_iron_deficiency_anemia*

3.3. Fisiopatologia del ricambio del ferro

3.3.1. Bilancio del ferro



Il ricambio del ferro è dominato dal fatto che non esistono mezzi per secernere il ferro accumulato in eccesso

Un uomo di 70 kg contiene circa 3.7 g di ferro

- la maggior parte del ferro si trova nell'emoglobina (70%)
- quasi tutto il resto (30%) è conservato sotto forma di ferritina
- il rimanente si trova nella mioglobina, nei citocromi, in altre emo-proteine ed altri metallo-enzimi e metallo-proteine

Figura 3.2. Bilancio del ferro. Da Barbieri (2012)

3.3.2. Eliminazione del ferro (perdita di ferro)

☞ Il ferro è molto attivo chimicamente

- si lega in maniera non specifica a molte proteine, con effetti deleteri per la loro struttura
- agisce cataliticamente in svariate reazioni di ossidazione, come la perossidazione dei lipidi insaturi di membrana aumentando la produzione di radicali ossidanti

A causa di questo si trova sempre sequestrato in strutture che lo isolano dall'acqua e dagli altri componenti biologici suscettibili di ossido-riduzione

---

☞ La quota libera è minima, ma è quella che consente lo scambio tra i depositi, i trasportatori e le cellule utilizzatrici

- in minima quantità tutte le cellule necessitano di ferro per la formazione dei citocromi e di altri metallo-enzimi

---

☞ Non c'è quindi ferro disponibile per una escrezione regolata

- *il ferro quindi può venire solo perduto*

☞ Il ferro viene perduto solo attraverso i seguenti processi fisiologici:

- sfaldamento cellulare
- flusso mestruale
- trasferimento al feto

e i seguenti processi patologici

- emorragie acute e croniche

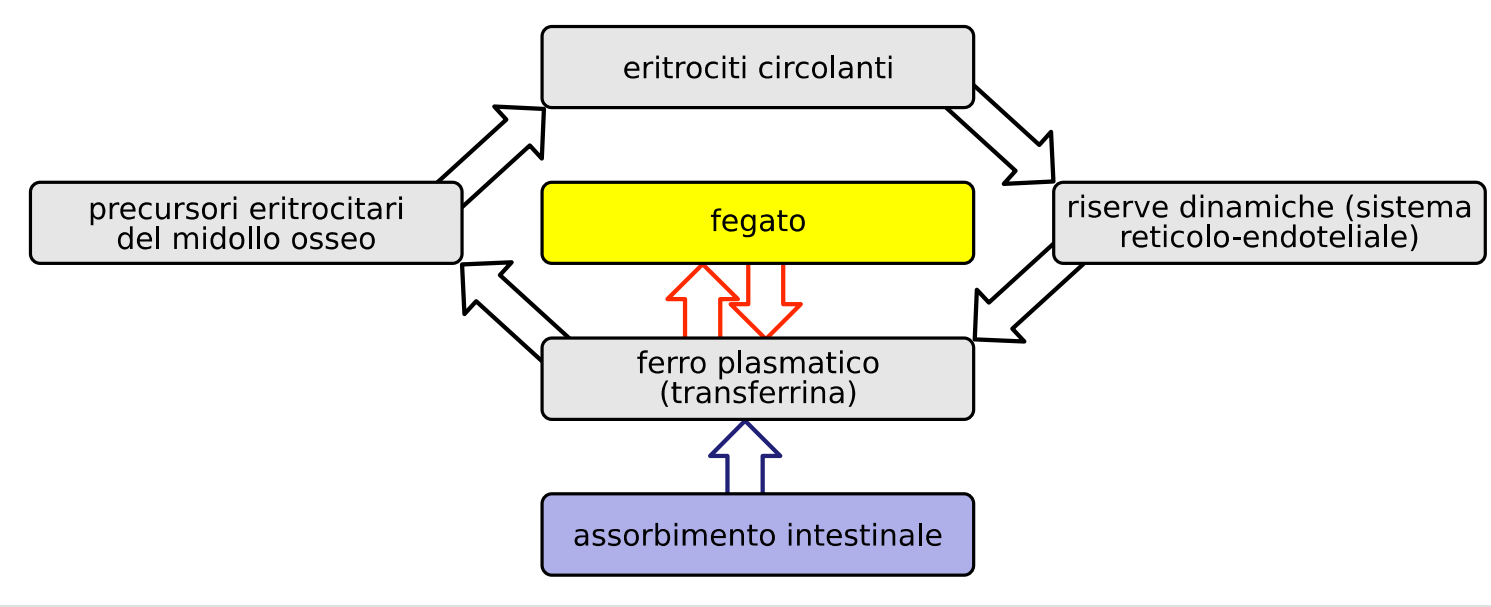
3.3.3. Riciclo del ferro

☞ Solo una piccola parte del ferro utilizzato ogni giorno viene dal ricambio: la maggior parte del ferro viene riciclato: la vita media del ferro si misura in anni

Il ricambio del ferro in condizioni fisiologiche nel maschio è di circa 1-2 mg al giorno quindi meno di un millesimo del ferro totale (3.7 g circa)

Figura 3.3. Circolazione interna del ferro

- *Il ferro viene assorbito dall'intestino per una quota che, all'equilibrio, corrisponde alle perdite*
- *La maggior parte del ferro circolante viene dal riciclo del ferro di derivazione emica proveniente dalla distruzione degli eritrociti*



☞ Esistono due riserve in equilibrio tra loro una dinamica (operativa) nel midollo osseo ed una di deposito nel fegato

3.3.4. Assorbimento intestinale del ferro

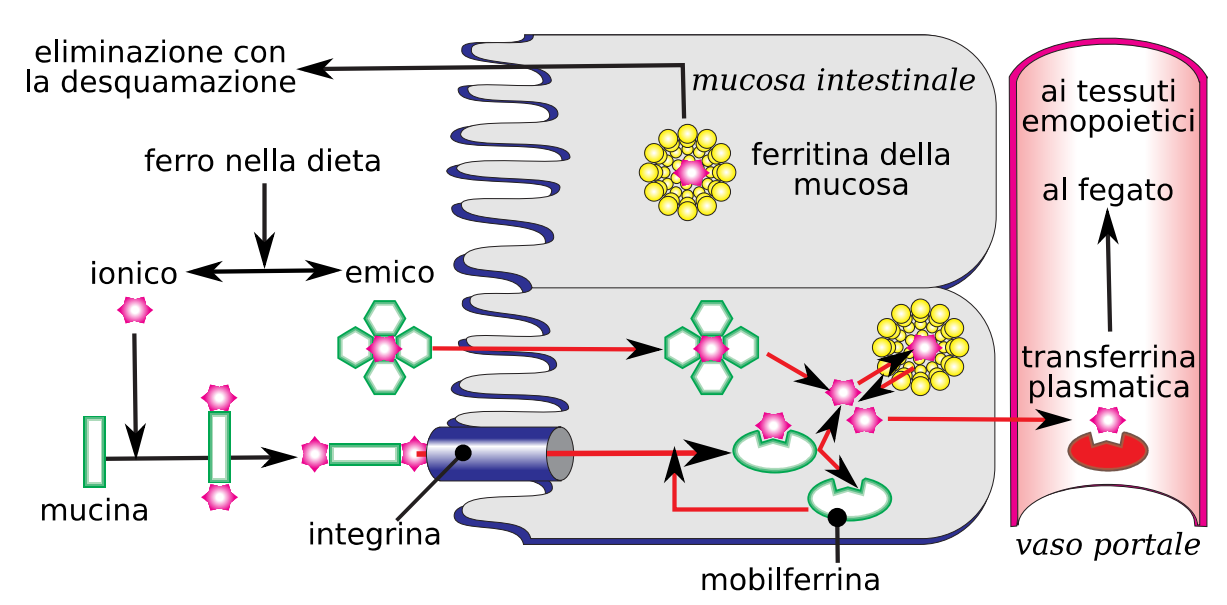


Figura 3.4. Assorbimento intestinale del ferro

Non essendoci una secrezione regolabile, il contenuto corporeo di ferro viene mantenuto costante controllandone l'assorbimento

Il ferro viene assorbito dall'enterocito sotto due forme: ionico ed emico

Il pool *di ferro libero citoplasmatico è in equilibrio con il ferro di deposito (ferritina dell'enterocita) e con il ferro plasmatico (transferrina)*

In ultima istanza la quantità di ferro assorbita dipende dalla saturazione della transferrina ed ha un trasporto massimo complessivo tra lume intestinale e plasma determinato dal gate *enterocitico (non più di 10 mg/die)*

Da Barbieri (2012)

Ferro nella dieta

☞ Ci sono due categorie di forme di ferro nella dieta:

- ferro emico, che si trova per lo più nelle carni rosse, ed è la forma più facilmente assorbibile
- altre forme di ferro legate ad altro costituente organico. La cottura tende a rompere queste interazioni e ad aumentare la disponibilità di ferro

Alcuni cibi ricchi di ferro sono in realtà sorgenti di ferro molto povere perché la presenza di complessi stabili rende il ferro non disponibile per l'assorbimento

- l'ossalato chela il ferro e lo rende non assorbibile (es.: gli spinaci)
- i fitati presenti nei prodotti con farina integrale che non sono stati oggetto di fermentazione con lieviti (es.: durante la preparazione del pane) hanno un effetto simile

Regolazione dell'assorbimento del ferro

☞ La regolazione dell'assorbimento di ferro si ha a livello della membrana basale delle cellule della mucosa intestinale

☞ *In caso di deplezione di ferro*

- viene sintetizzata poca apo-ferritina nelle cellule della mucosa
- che viene quindi rapidamente saturata
- creando un forte gradiente di ferro con la transferrina plasmatica
- il ferro quindi si muove verso il plasma

☞ *In caso di depositi di ferro pieni*

- viene sintetizzata più apo-ferritina nelle cellule della mucosa
- l'apo-ferritina è quindi meno saturata
- diminuendo il gradiente di ferro con la transferrina plasmatica
- il ferro viene intrappolato nelle cellule sotto forma di ferritina che può legare 4,500 atomi di ferro per molecola di proteina
- quando le cellule muoiono e si sfaldano, il ferro viene perso nel lume intestinale

3.3.5. Trasporto del ferro nel plasma

☞ Il ferro presente nelle cellule della mucosa intestinale o nei depositi epatici è in equilibrio con quello ematico, consentendone il trasferimento verso altri tessuti

Il ferro viene depositato, per lo più nel fegato, sotto forma di ferritina e emosiderina

☞ Il ferro nelle cellule della mucosa intestinale o depositato nel fegato può essere trasferito nel sangue per essere trasportato agli altri tessuti

☞ il ferro viene trasportato dalla proteina sierica transferrina

3.3.6. La saturazione della transferrina

☞ La transferrina contiene due siti che legano il ferro (trivalente) saldamente

Normalmente:

- circa 1/9 delle molecole di transferrina hanno ferro legato in entrambi i siti
- circa 4/9 hanno ferro legato ad un solo sito
- e circa 4/9 non hanno ferro legato

Questo significa che:

- la transferrina è normalmente saturata solo per un terzo (la somma della lista sopra riportata indica che circa 6 siti su 18 sono occupati)
- c'è una significativa capacità residua di legare il ferro

Un afflusso di ferro improvviso può quindi essere affrontato con facilità

3.3.7. Capacità plasmatica di legare il ferro e diagnosi

☞ La capacità del plasma (o del siero, da questo punto di vista non cambia) di legare ferro è un parametro di grande significato clinico-diagnostico

Essa dipende quasi interamente dalla transferrina

☞ Misure della capacità di legare il ferro plasmatica

- il SI (*serum iron*, ferro serico) è la concentrazione di ferro presente nel siero (circa 100 µg per 100 mL)
- la TIBC (*total iron binding capacity*, capacità totale di legare il ferro) è la massima quantità di ferro che può essere legata (300 µg per 100 mL)
- la UIBC (*unsaturated iron binding capacity*, capacità di legare il ferro disponibile, non saturata) è la differenza tra la TIBC ed il ferro serico (circa 200 µg per 100 mL)

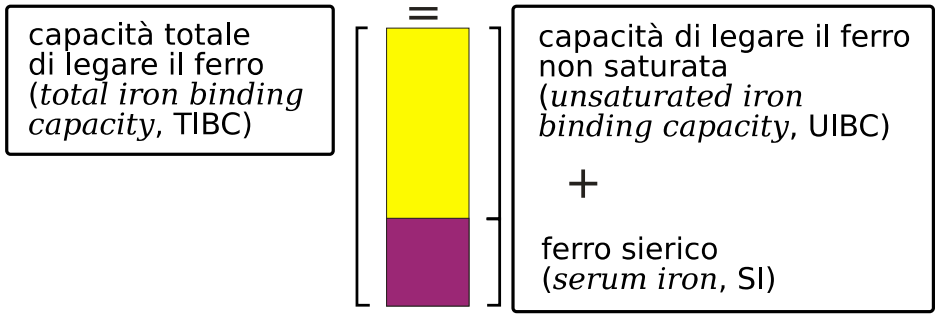


Figura 3.5. Ferro e capacità di legame per il ferro nel siero. Da Barbieri (2012)

3.3.8. *Total iron binding capacity* e diagnosi differenziale

☞ La capacità di legare il ferro viene usata nella diagnosi differenziale:

- in condizioni associate con una aumentata richiesta di ferro (carenza di ferro o gravidanza avanzata) la *total iron binding capacity* è aumentata, ma la saturazione è diminuita
- nell'emocromatosi, la *total iron binding capacity* è bassa, ma è saturata
- altre condizioni cliniche sono associate con caratteristici quadri di *total iron binding capacity* e saturazione percentuale

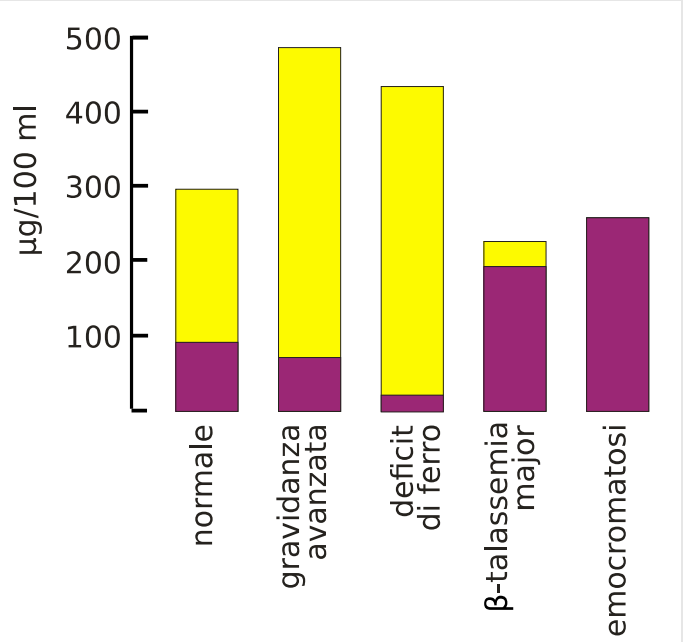


Figura 3.6. Ferro e capacità di legame per il ferro serici in fisiologia e patologia. Da Barbieri (2012)

3.3.9. Depositi di ferro

☞ Il ferro è depositato, per lo più nel fegato come ferritina o emosiderina

La ferritina è una proteina con una capacità di circa 4,500 ioni di ferro (trivalente) per molecola proteica. Questa è la forma principale di deposito di ferro

☞ Se la capacità di deposito di ferro nella ferritina viene superata, si formano complessi di ferro con fosfati ed idrossidi. Questa si chiama emosiderina ed è fisiologicamente disponibile

3.3.10. Eccesso di ferro: emosiderosi

☞ Si è in presenza di emosiderosi sistemica ogni qual volta vi sia un manifesto eccesso di ferro entro l'organismo

- il ferro si deposita inizialmente nelle cellule reticolo-endoteliali di tutto l'organismo
- nella gran parte dei casi, l'accumulo intra-cellulare di emosiderina non danneggia la cellula in quanto il ferro è legato in una tasca idrofobica che lo isola, evitando in questo modo reazioni ossido-riduttive ferro-dirette nocive per la cellula stessa
- se scompare la causa che ha provocato l'eccesso di ferro nell'organismo, quello contenuto nell'emosiderina può essere mobilizzato

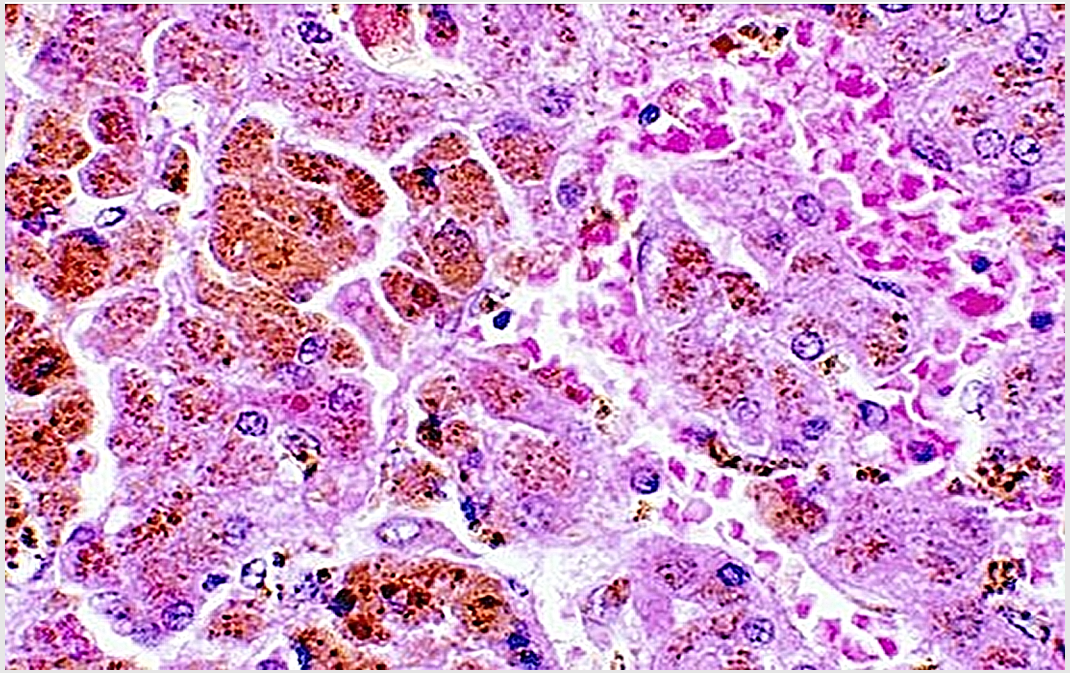


Figura 3.7. Emosiderosi del fegato. In rosso bruno i depositi di ferro. Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna. Da Barbieri (2012)

3.3.11. EMOCROMATOSI

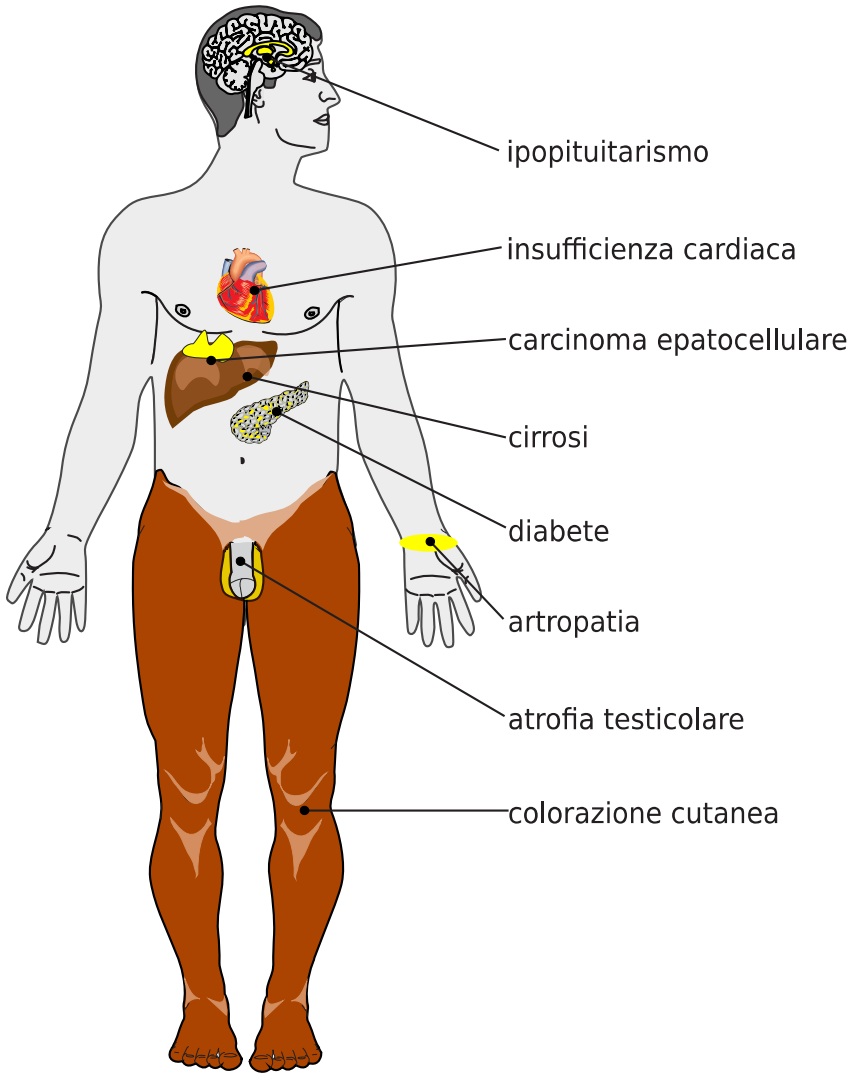


Figura 3.8. Conseguenze dell'emocromatosi. Da Barbieri (2012)

Il manifestarsi di un più massivo deposito di ferro non solo nel reticolo endotelio ma anche nei parenchimi di molti organi, costituisce una condizione patologica chiamata emocromatosi

- l'emocromatosi costituisce il caso estremo cui può portare un eccesso sistemico di ferro
- l'emocromatosi è una malattia cronica progressiva, spesso mortale
- la quantità di ferro presente supera la capacità delle cellule di tenerlo "nascosto" in tasche di legame idrofobiche, consentendo un significativo aumento del ferro ionico libero
- il ferro ionico partecipa alla formazione di radicali liberi che danno conto dell'effetto tossico

L'emocromatosi è dovuta a:

- trasfusioni multiple
- cause primitive (genetiche)

es.: rappresenta un problema molto serio per persone affette da β-talassemia major (morbo di Cooley), una malattia genetica nella quale sono necessarie continue trasfusioni di sangue a causa del ridotto numero di eritrociti prodotti per la mancanza di un gene per la catena β dell'emoglobina

3.3.12. Principali cause di deficienza di ferro

- *carenze alimentari*
  - dieta inadeguata (ricca di cereali e povera di carne)
- *ridotto assorbimento*
  - gastrectomia parziale o totale, acloridria
  - sindromi da malassorbimento (morbo celiaco)
- *aumentate richiesta*
  - infanzia, adolescenza, gravidanza, allattamento
- *perdite ematiche croniche*
  - perdite mestruali eccessive
  - emorragie gastrointestinali (ulcera peptica, gastrite, ernia iatale, diverticoliti, emorroidi, assunzione di salicilati, neoplasie)
  - emorragie genito-urinarie
  - epistassi

3.3.13. Reperti di laboratorio diagnostici della anemia sideropenica

Tabella 3.4. Reperti di laboratorio diagnostici nella anemia sideropenica

RBC (numero di globuli rossi)	diminuita
MCV (volume corpuscolare medio)	diminuito (<80 fL)
MCH (emoglobina media per eritrocita)	diminuito (<28 pg)
MCHC (concentrazione media di emoglobina eritrocitaria)	diminuito (<30%)
RDW (indice di anisocitosi)	aumentato (>14%)
PLT (numero di piastrine)	aumentata (spesso)
striscio	emazie microcitiche, ipo-cromiche e presenza di ellissociti
ferritinemia	diminuita (<20 ng/mL)
sideremia	diminuita (<60 µg/100mL)
transferrina: TIBC (capacità totale di legare il ferro)	aumentata (>360 µg/100mL)
transferrina: saturazione	bassa (%)
transferrina: recettore solubile	elevato

Il recettore solubile per la transferrina

☞ Le cellule utilizzatrici del ferro lo internalizzano tramite il legame tra apo-transferrina e specifici recettori presenti sulla membrana celullare detti recettori per la transferrina

Lo sfaldamento fisiologico delle membrane da origine agli esosomi rendendo così disponibili anche al compartimento plasmatico tali recettori

La determinazione sierica dei recettori della transferrina è utile per differenziare una anemia sideropenica da una associata patologie infiammatorie croniche in quanto nella prima risulta aumentata e in quest'ultima normale

Transferrina nell'anemia sideropenica

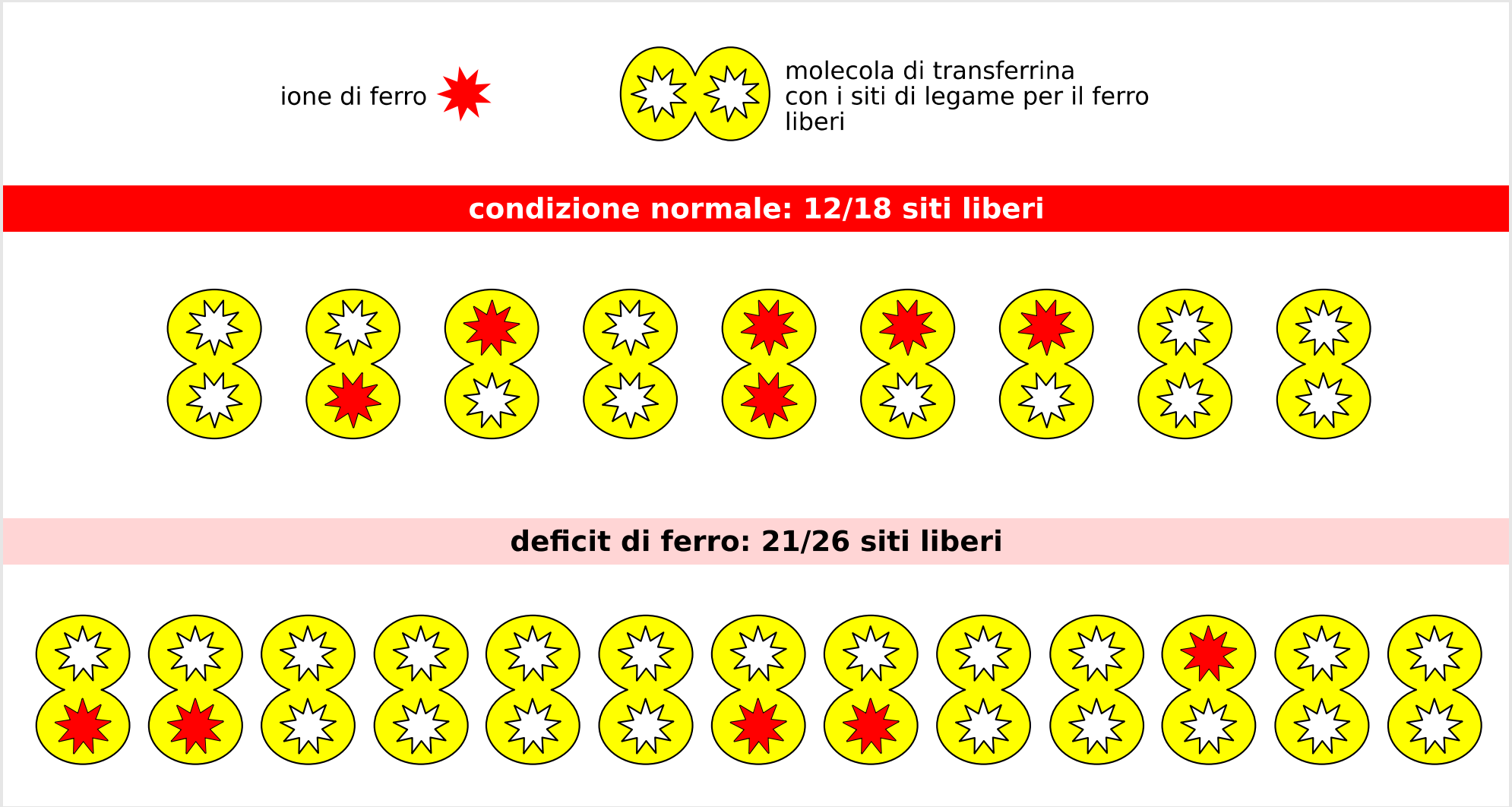


Figura 3.9. Transferrina nell'anemia sideropenica

3.4. Talassemie



☞ Le talassemie sono malattie ereditarie (autosomiche recessive) dovute ad alterazioni (mutazioni/delezioni) di geni che codificano per la globina, e sono pertanto caratterizzate dalla mancata o ridotta sintesi di catene globiniche

Le conseguenze ematologiche del deficit della sintesi di un tipo di catena globinica derivano

- non solo da un basso livello di emoglobina intra-cellulare (anemia ipo-cromica)
- ma anche dal relativo eccesso di altre catene, che tendono ad aggregarsi formando inclusioni insolubili all'interno delle emazie e dei loro precursori, così da provocare la prematura distruzione degli eritroblasti in maturazione nel midollo osseo (eritropoiesi inefficace) e la lisi di eritrociti maturi a livello della milza (emolisi)

3.4.1. VARIANTI EMOGLOBINICHE

☞ Nel corso della vita, compresa la vita intrauterina, sono presenti diversi tipi di emoglobina che differiscono tra loro per la composizione dei polipeptidi che costituiscono le catene globiniche

- *durante i primi 3 mesi di gravidanza vengono sintetizzate le emoglobine embrionali*
  - Hb Gower 1 (ζ2ε2)
  - Hb Gower 2 (α2ε2)
  - Hb Portland (ζ2γ2)
- *dopo il 3° mese di gravidanza diventa predominante*
  - l'emoglobina fetale (HbF: α2γ2), che rimane elevata per tutto il periodo della vita fetale
- *al momento della nascita l'emoglobina fetale è ancora elevata (65 – 95%) poi declina rapidamente fino ad assestarsi, dopo il primo anno di vita, su valori inferiori al 2%*
- *nell'adulto l'emoglobina è costituita principalmente da:*
  - HbA (α2β2): 95%
  - HbA2 (α2δ2): 1-3%
  - HbF (α2γ2): <2%

3.4.2. α-TALASSEMIA

☞ Le talassemie α sono caratterizzate da una ridotta o assente sintesi di catene α globiniche; poiché ogni individuo possiede 4 geni per la globina α (2 su ogni cromosoma 16), la gravità del quadro clinico risulta strettamente dipendente dal numero dei geni α difettivi

Come per le altre forme di talassemia, l'anemia deriva

- sia da una ridotta sintesi di emoglobina
- sia dall'eccesso di catene non-α: nel neonato si determina un eccesso di catene γ spaiate, che si aggregano a formare tetrameri γ4 (Hb Bart), mentre nell'adulto si determina un eccesso di catene β, che si aggregano a formare tetrameri β4 (HbH)

Classificazione delle α-talassemie

Tabella 3.5. Classificazione delle α-talassemie. Hb: haemoglobin*, emoglobina*

fenotipo	n° di geni funzionanti	genotipo	anomalie emoglobiniche
normale	4	▢ ▢ / ▢ ▢	
portatore asintomatico	3	_ ▢ / ▢ ▢	alla nascita: 0-2%
tratto talassemico	2	_ ▢ / _ ▢ _ _ / ▢ ▢	alla nascita: 2-8% diminuzione HbA2 nell'adulto
malattia da HbH	1	_ _ / _ ▢	alla nascita: 10–40% HbH nell'adulto
idrope fetale	0	_ _ / _ _	Hb Bart alla nascita: 80%

3.4.3. β-TALASSEMIA

☞ Ogni individuo possiede 2 geni per la globina β (1 su ogni cromosoma 11)

L'alterazione di entrambi i geni (β-talassemia omozigote, o talassemia major, o morbo di Cooley) determina una condizione grave, caratterizzata dall'assenza o dalla spiccata riduzione della sintesi di catene β

- dopo elettroforesi dell'emoglobina, la HbA appare parzialmente o del tutto assente e sostituita dalla HbF, mentre i livelli di HbA2 sono variabili

Se il difetto molecolare è invece a carico di uno solo dei due geni β presenti nel normale patrimonio genetico (β-talassemia eterozigote, o talassemia minor, o tratto talassemico), l'incremento nella sintesi delle catene β ad opera dell'altro gene attivo assicura un livello complessivo di emoglobina di poco inferiore ai valori normali

- dopo elettroforesi dell'emoglobina si osserva un caratteristico aumento dei livelli di HbA2 (>3,5%), mentre i livelli di HbF sono variabili

Reperti di laboratorio della talassemia β

☞ **indici di talassemia**

- RBC (numero di globuli rossi) normale o aumentato
- HTC (ematocrito) diminuito
- MCV (volume corpuscolare medio) diminuito (<80 fL)
- ferro normale
- striscio emazie microcitiche, a bersaglio, punteggiatura basofila di alcune emazie
- elettroforesi delle proteine (presenza di elevata HbA2)
- analisi molecolare

3.5. Anemia associata a malattie infiammatorie croniche



- La forma di anemia di più frequente riscontro nei pazienti ospedalizzati o ambulatoriali.
- Presenza di una malattia infiammatoria cronica sistemica (autoimmune, artrite reumatoide, infezione cronica, neoplasia)
- Normo-cromiche, normocitiche, in 1/3 dei casi microcitiche
- Meccanismo: alterata utilizzazione del ferro, eritropoiesi depressa, deficit di risposta a EPO (eritropoietina)

Reperti di laboratorio

anemia

- normocitica / microcitica con basso numero di reticolociti (ipo-proliferativa)

ferro

sideremia	bassa
transferrinemia	bassa
TIBC (*total iron binding capacity*)	bassa
ferritina sierica	normale o elevata per aumento dei depositi)
recettore solubile della transferrina	normale

3.6. Anemie normo-macrocitiche 

3.6.1. Reticolocitosi

☞
- *Normale numero di reticolociti:*
  - anemie da perdita di sangue (fase iniziale)
- *Elevato numero di reticolociti:*
  - anemie emolitiche
- *Ridotto numero di reticolociti:*
  - anemie aplastiche

3.6.2. Anemia da emorragia acuta

☞ Una emorragia acuta importante riduce rapidamente il volume ematico totale e innesca meccanismi compensatori che consistono:
- nell'aumentare la velocità del battito cardiaco
- nell'espandere il volume circolatorio a spese del liquido extra-vasale

il ripristino della volemia causa la comparsa dei segni dell'anemia; infatti:
- il liquido richiamato in circolo diluisce le cellule rimaste
- determinando una caduta graduale del valore dell'ematocrito durante le successive 24-72 h

Evoluzione della reticolocitosi

6 h	i livelli di eritropoietina aumentano entro 6 h
24 h	ed entro 24 h diviene evidente la reticolocitosi
6-10 d	la reticolocitosi raggiunge il picco dopo 6-10 d
30 d	se non ci sono altre perdite di sangue e i depositi di ferro consentono una eritropoiesi normale, la reticolocitosi scompare quando la massa eritrocitaria è completamente ripristinata, il che avviene generalmente entro 30 d

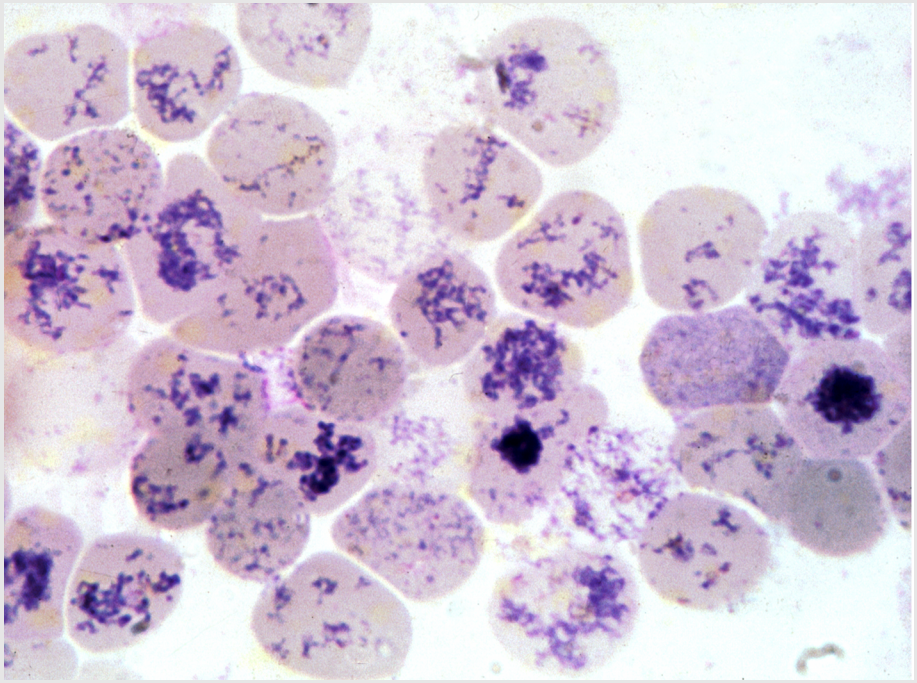


Figura 3.10. Reticolociti: striscio di sangue periferico (100×). Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

3.7. Anemie emolitiche



☞ Le anemie emolitiche costituiscono un gruppo eterogeneo di malattie caratterizzate da una ridotta sopravvivenza in circolo dei globuli rossi per prematura distruzione

Elementi di laboratorio comuni a queste forme di anemia sono:

- l'accumulo dei prodotti del catabolismo dell'emoglobina (bilirubina indiretta)
- il marcato aumento dell'eritropoiesi nel midollo osseo, nel tentativo di compensare la perdita di emazie, con conseguente aumento della percentuale di reticolociti circolanti

3.7.1. Sferocitosi ereditaria



☞ La sferocitosi ereditaria è caratterizzata da:

- anemia emolitica cronica extra-vascolare
- splenomegalia
- ittero
- espressione a carattere dominante (75%), recessiva (25%)
- deficit congenito di proteine del citoscheletro (spectrina, anchirina, proteina 4.2, banda 3)
- striscio: sferociti

3.7.2. Anemie emolitiche autoimmuni



☞ **Segni clinici:**

- pallore
- sub-ittero
- splenomegalia

☞ **Dati di laboratorio:**

- reticolocitosi
- ⇧ bilirubina indiretta
- ⇧ LDH
- ⇩ aptoglobina
- *Test* di Coombs diretto e indiretto (vedi in seguito)

3.7.3. *Test* di Coombs diretto e indiretto

Test di Coombs diretto

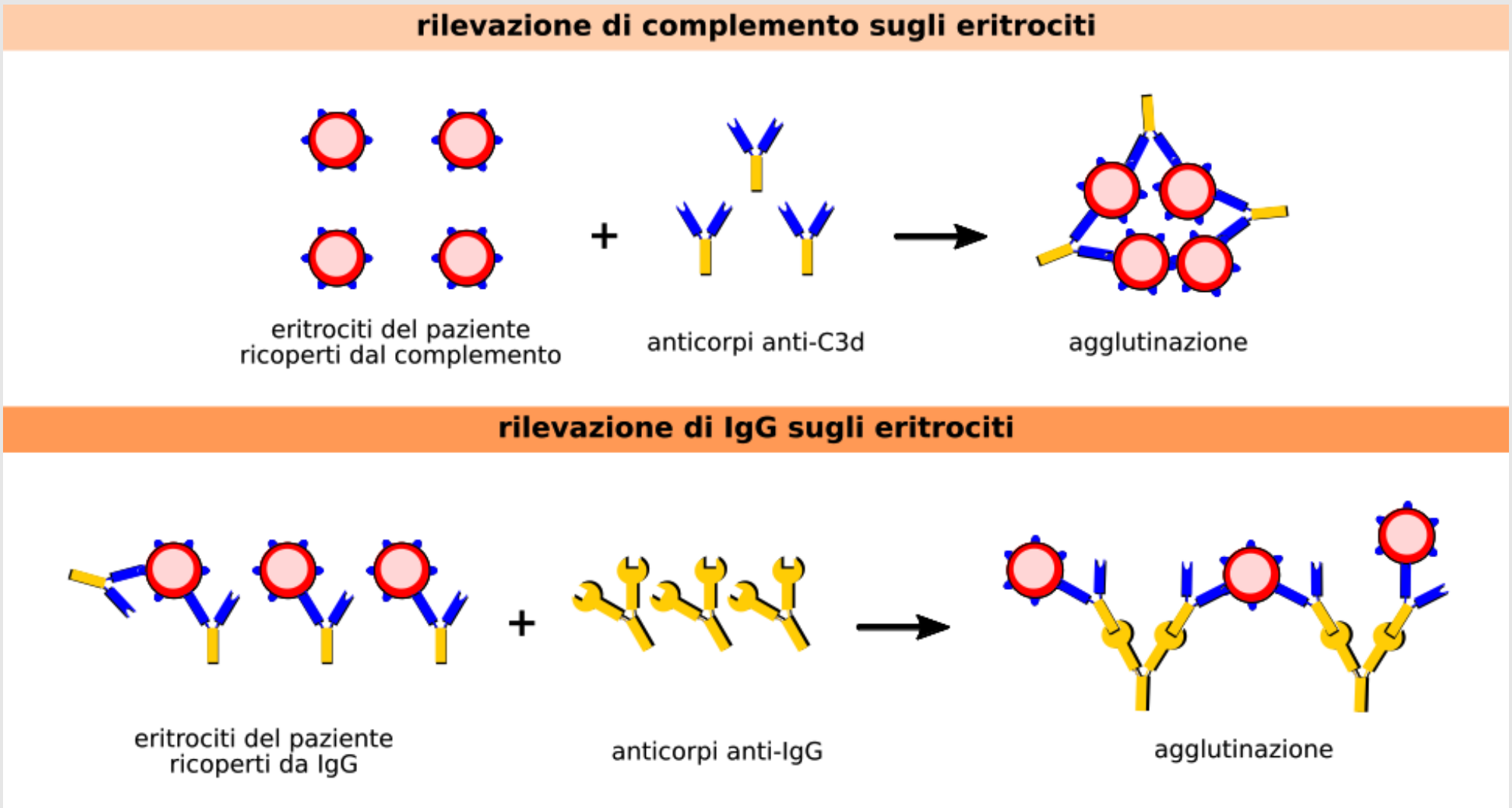


Figura 3.11. Test *di Coombs diretto*

Test di Coombs indiretto

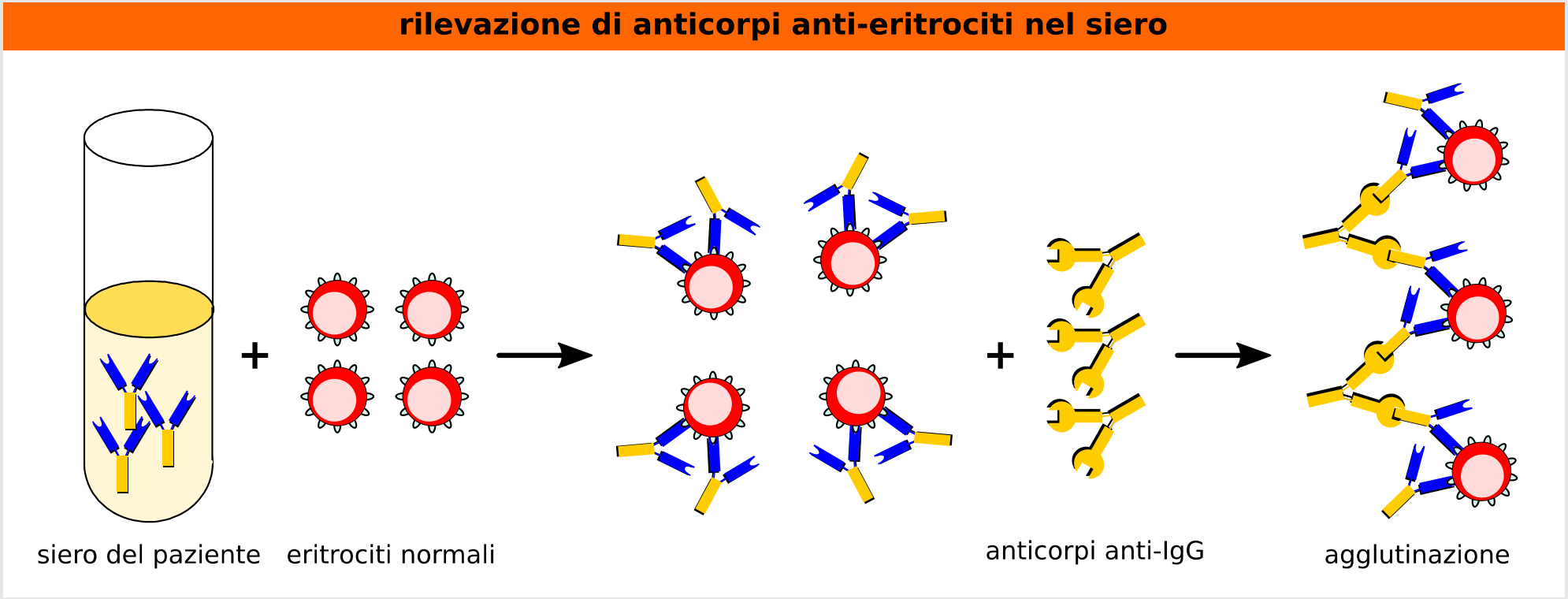


Figura 3.12. Test *di Coombs indiretto*

3.8. Anemie emolitiche autoimmuni

- *da anticorpi "caldi" (cioè che reagiscono solo a 37°C) (IgG)*
- *da anticorpi "freddi" (cioè che reagiscono anche a 25°C) (IgM) (malattia delle agglutinine a freddo)*
- *da anticorpi "freddi" (IgG) (Donath-Landsteiner)*
- *da farmaci:*
  - aptene (es.: penicilline)
  - immuno-complessi (es.: chinino)
  - auto-anticorpi (es.: metildopa)

3.8.1. Anemia emolitica autoimmune da anticorpi "caldi" (37°)

- *primaria (idiopatica)*
- *secondaria:*
  - malattie linfo-proliferative (leucemia linfatica cronica> linfoma non-Hodgkin > linfoma Hodgkin)
  - malattie del connettivo (lupus eritematoso sistemico, LES)
  - farmaci
  - è la forma più frequente (80%) Incidenza 1-2/100,000 ad ogni età (picco 7ª decade)
  - presenta emolisi extra-vascolare (milza, fegato)
  - IgG anti-antigeni pubblici non caratteristici (sistema Rh nel 50% dei casi)

3.8.2. Anemia emolitica autoimmune da anticorpi "freddi"

Anemia emolitica autoimmune da anticorpi "freddi" IgM

☞ Bersaglio:

- antigene I o antigene i

L'entità dell'emolisi

- dipende dal titolo anticorpale (IgM)
- dal range termico di attività (più grave quanto più prossimo a 37°C)

Presentazione clinica:

- forma acuta post-infettiva (prognosi buona)
- emolisi cronica e acrocianosi
- crisi emolitiche acute per esposizione al freddo

Anemia emolitica autoimmune da anticorpi "freddi" IgG (Donath-Landsteiner)

☞ Forma più rara secondaria a infezioni virali o a sifilide terziaria o congenita

Laboratorio:

- IgG anti antigene P dell'emazia
- anticorpi non agglutinanti
- il complesso antigene-anticorpo fissa irreversibilmente il complemento a basse temperature (aree esposte al freddo), promuovendo successivamente emolisi da solo complemento (intra-vascolare)

Presentazione clinica:

- a crisi con dolori muscolari, febbre, brividi, emoglobinuria

3.9. Anemie megaloblastiche



☞ Le anemie megaloblastiche

- sono caratterizzate da un difetto nella sintesi del DNA in presenza di una normale sintesi di RNA e di emoglobina
- in queste condizioni la maturazione citoplasmatica precede quella nucleare e la blocca precocemente, con produzione di eritroblasti di grandi dimensioni (megaloblasti) incapaci di dividersi in maniera adeguata
- i megaloblasti sono per questo più fragili e maggior rischio di morte intra-midollare (eritropoiesi inefficace)
- gli eritrociti che riescono a maturare e ad entrare in circolo sono di dimensioni aumentate (macrociti)

☞ Le anemie megaloblastiche riconoscono due cause fondamentali:

- deficit di vitamina B_{12}
- deficit di folati

3.9.1. Deficit di vitamina B_{12}

La vitamina B_{12} o cianocobalamina, è costituita da tre componenti molecolari

- da una struttura, simile alle porfirine, contenente quattro anelli pirrolici tenuti insieme da un atomo di cobalto
- da un nucleotide
- da un gruppo cianato CN

La vitamina B_{12} è assunta esclusivamente con la dieta (carne, fegato), latte, uova

Il fabbisogno giornaliero di vitamina B_{12} è modesto, ed il contenuto di vitamina B_{12} delle riserve consente una eritropoiesi normale per un periodo molto lungo (4 anni)

L'assorbimento della vitamina B_{12} ha luogo nell'ileo e richiede la presenza del fattore intrinseco, una glicoproteina secreta dalle cellule parietali del corpo e del fondo dello stomaco

Nel sangue la vitamina B_{12} è trasportata da due proteine: trans-cobalammina I e II

La vitamina B_{12} interviene in una serie di tappe metaboliche interessanti l'unità mono-carboniosa (-CH_3)

Gli effetti della carenza di B_{12} sono sovrapponibili a quelli della carenza di folato, fatta eccezione per la neuropatia che è presente solo nel deficit di B_{12}

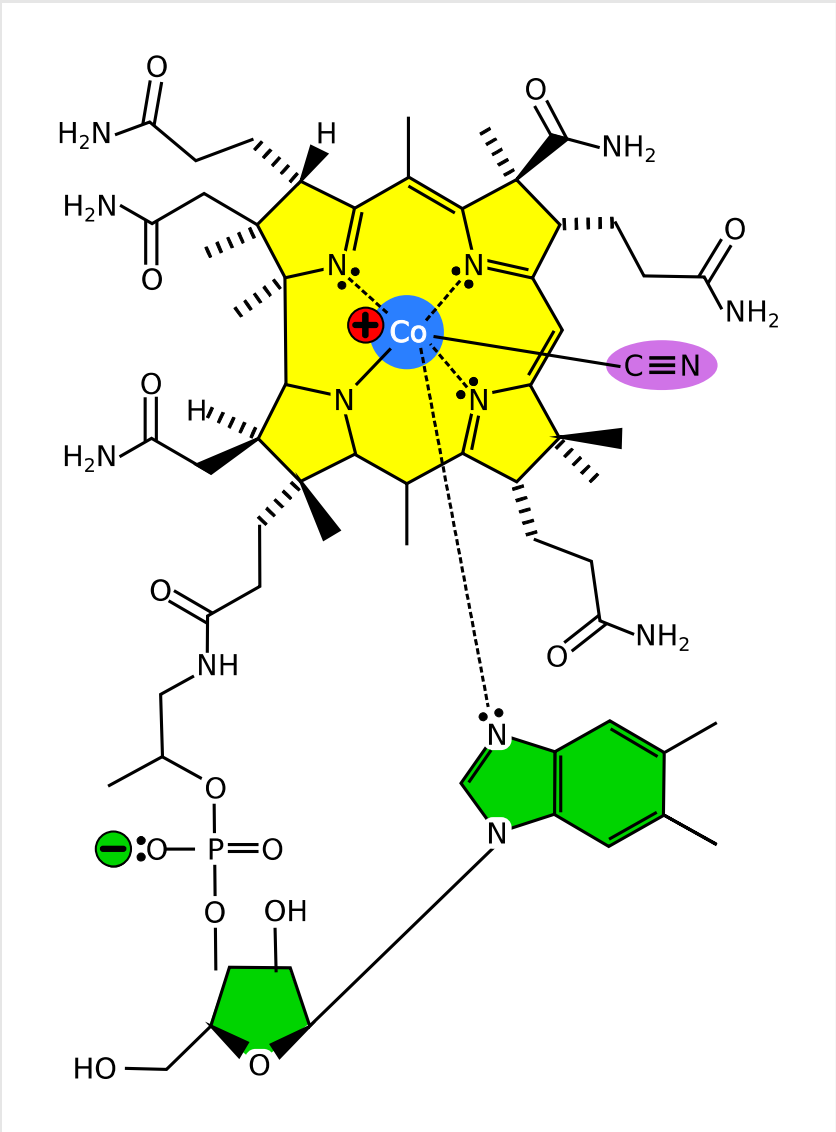


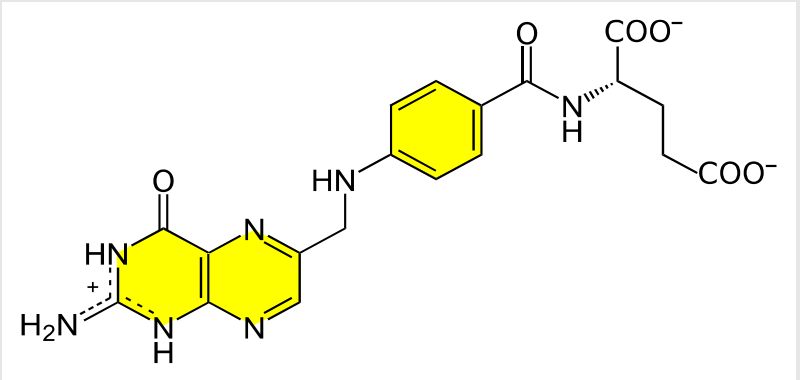
Figura 3.13. Vitamina B_{12} o cianocobalammina. Da Barbieri (2012)

3.9.2. Deficit di acido folico

☞ La carenza di acido folico può essere conseguente a

- inadeguata introduzione (ipo-alimentazione, alcolismo cronico)
- aumentato fabbisogno (infanzia, gravidanza, emodialisi)
- alterato assorbimento intestinale (celiachia, malattia di Crohn)
- assunzione di farmaci che alterano il metabolismo dei folati (es.: chemioterapici come il metotrexate, anti-convulsivanti come la difenilidantoina)

Figura 3.14. Acido folico



☞ A differenza dei pazienti con deficit di vitamina B_{12}, i pazienti con deficit di acido folico non presentano difetti neurologici

3.9.3. Approccio diagnostico alle anemie con indicazione delle analisi di laboratorio

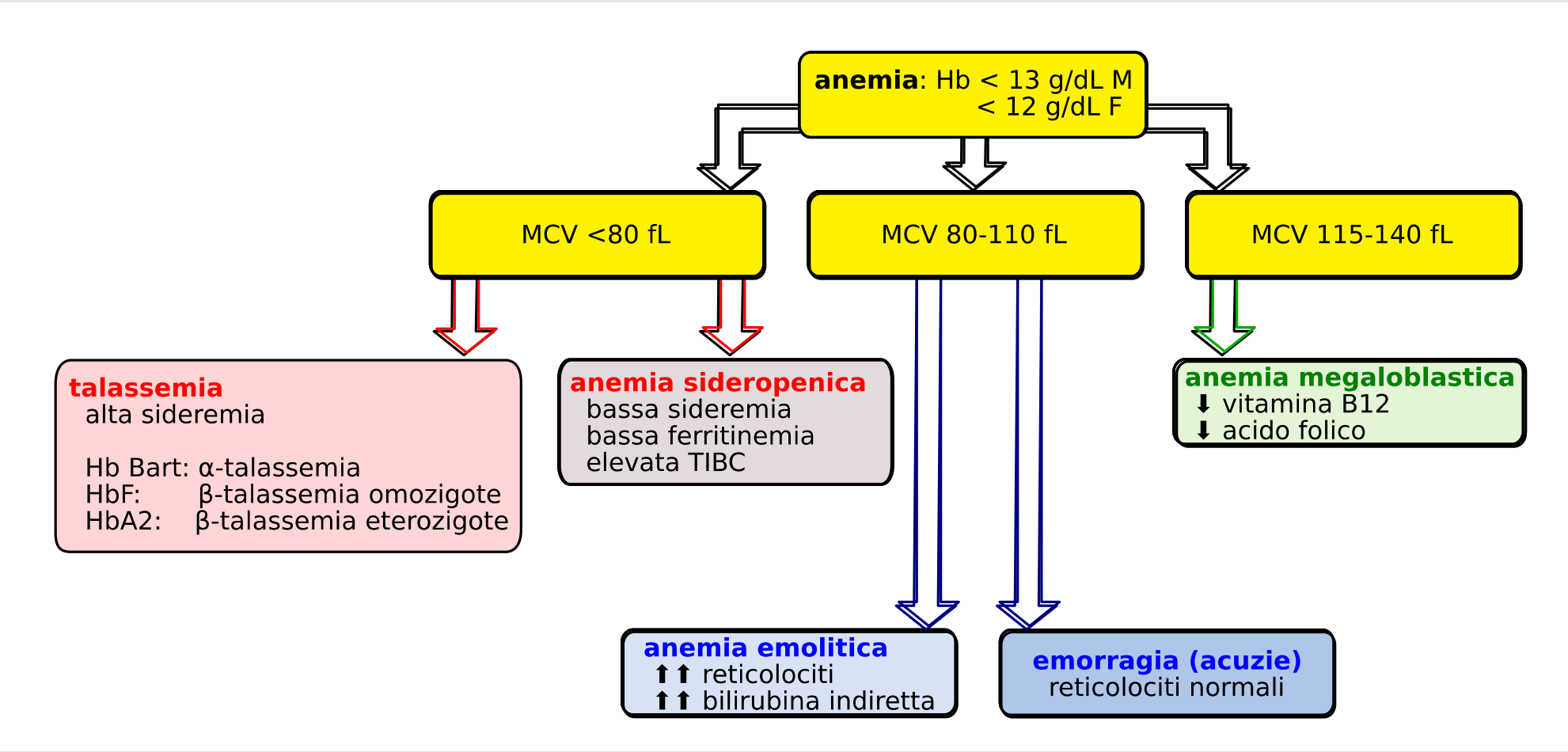


Figura 3.15. Anemie: flow chart *di laboratorio*

3.10. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Mais, D.D. (2010) Diseases of red blood cells. In Laposata, M. (ed) Laboratory medicine. I ed. Mc Graw Hill -Lange, New York, pp. 203-204

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_Patologia_generale_2014	*visitato il 29/01/2014*	*accessibile il 29/01/2014*
pathology.vcu.edu/education/PathLab/pages/hematopath	*visitato il 31/10/2012*	*accessibile il 29/01/2014*
wikimedia.org_iron_deficiency_anemia	*visitato il 31/10/2012*	*accessibile il 29/01/2014*







4. Esami di laboratorio di primo livello per lo studio della funzionalità epatica

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

4. Esami di laboratorio di primo livello per lo studio della funzionalità epatica....1
4.1. Anatomia funzionale del fegato....3
4.2. Principali funzioni svolte dal fegato....4
4.3. Prove di funzionalità epatica....5
4.3.1. Esami di primo livello per lo studio della funzionalità epatica....5
4.4. Bilirubina ed ittero....6
4.5. Itteri....9
4.6. Principali forme di ittero da iper-bilirubinemia prevalentemente non coniugata....10
4.6.1. Itteri da iper-produzione di bilirubina....11
4.6.2. Itteri da ridotta o assente attività glucuronil-transferasica....12
4.7. Principali forme di ittero da iper-bilirubinemia combinata....15
4.8. Proteine sieriche indicatrici di danno epatico....17
4.8.1. Enzimi sierici indicatori di danno epato-cellulare: ammino-transferasi (transamminasi)....17
4.8.2. Enzimi sierici indicatori di colestasi....18
4.8.3. Enzimi indicatori e patologie....19
4.8.4. Proteine sieriche....20
4.9. Dati di laboratorio dell'insufficienza epatica....22
4.10. Principali fonti utilizzate....23



4.1. Anatomia funzionale del fegato

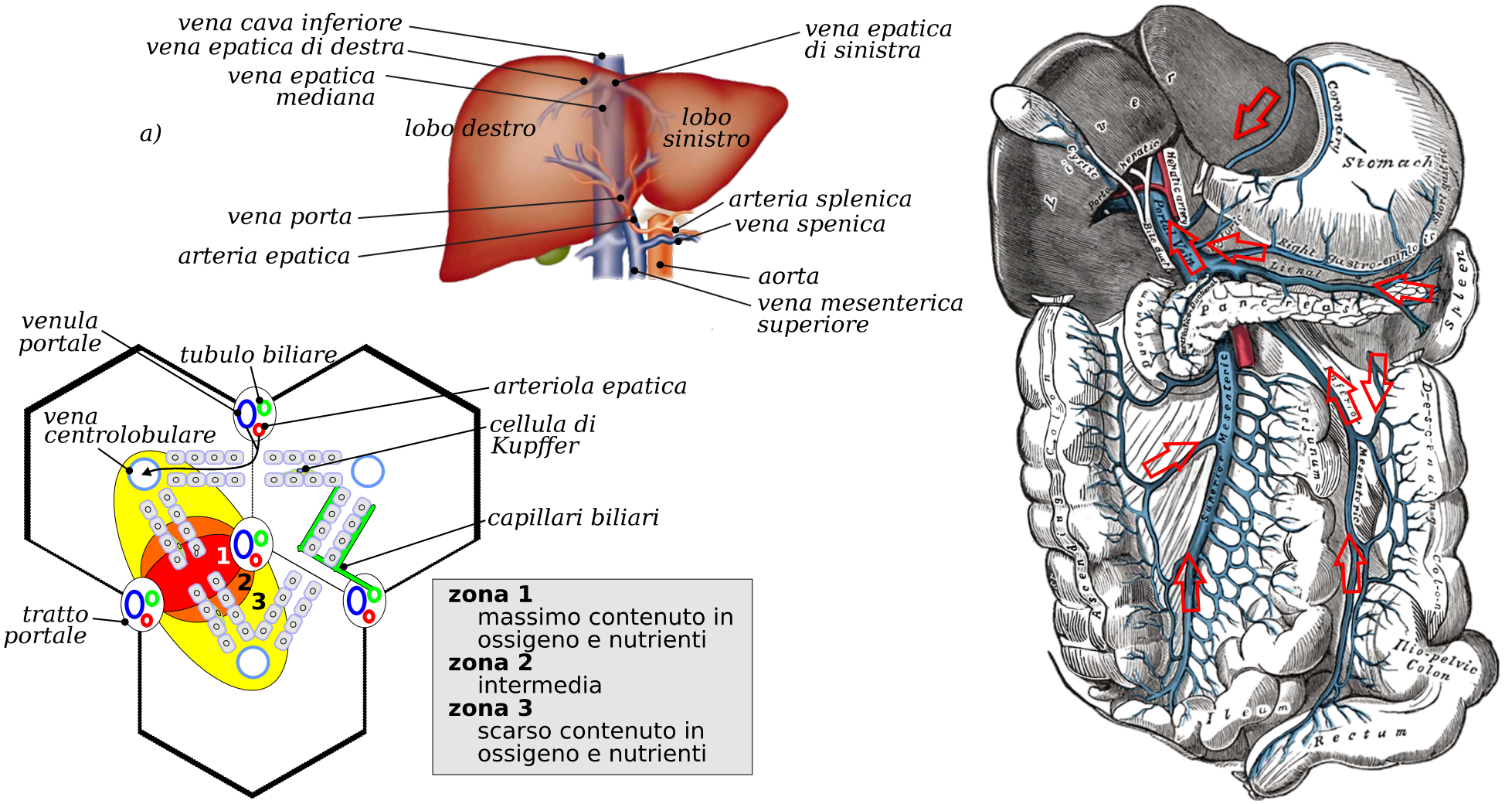


Figura 4.1. Anatomia funzionale del fegato e circolo portale. Da Barbieri (2012); immagine a dx. da Gray (1918), modificata

4.2. Principali funzioni svolte dal fegato 

☞ Il fegato svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi metabolica, operando importanti trasformazioni delle numerose sostanze che, sia come nutrienti che come prodotti terminali di altri metabolismi, gli arrivano con il sangue

☞
- metabolismo dei carboidrati: glicogeno-sintesi, glicogeno-lisi, gluconeogenesi, conversione in glucoso di altri monosaccaridi
- metabolismo dei lipidi: biosintesi e trasformazione degli acidi grassi, sintesi di trigliceridi, colesterolo, fosfolipidi, lipoproteine e corpi chetonici
- metabolismo proteico: sintesi e degradazione delle proteine, catabolismo degli amminoacidi
- metabolismo degli ormoni steroidei
- metabolismo ed escrezione della bilirubina
- sintesi ed escrezione degli acidi biliari
- coniugazione e detossificazione (es.: bilirubina, acidi biliari, farmaci, etc.)
- biosintesi dell'urea
- formazione dell'acido urico
- deposito (es.: vitamine A, D, K, B_{12}, ferro, rame)

4.3. Prove di funzionalità epatica



☞ Il fegato svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi metabolica, operando importanti trasformazioni delle numerose sostanze che, sia come nutrienti che come prodotti terminali di altri metabolismi, gli arrivano con il sangue

Di conseguenza, le molteplici attività dell'organo sono riflesse direttamente in molte delle sostanze presenti nel plasma o in altri liquidi dell'organismo

È del tutto evidente che analisi o misure relative ad alcune di queste sostanze possono risultare particolarmente indicative della integrità strutturale e funzionale del fegato; queste indagini di laboratorio vengono pertanto definite prove di funzionalità epatica

4.3.1. Esami di primo livello per lo studio della funzionalità epatica

☞ In considerazione della grande varietà di funzioni svolte dal fegato e del fatto che una richiesta di tutti i test disponibili sarebbe onerosa per il paziente e dispersiva per la diagnosi, nella pratica clinica in presenza di una malattia epatica accertata o sospetta si selezionano solo alcune indagini essenziali, indicative delle funzioni epatiche fondamentali

Tali indagini sono costituite dalla valutazione:

- della bilirubina totale e frazionata
- dei marcatori sierici indicatori di danno epato-cellulare e di colestasi
- delle proteine sieriche
- dei fattori della coagulazione

4.4. Bilirubina ed ittero

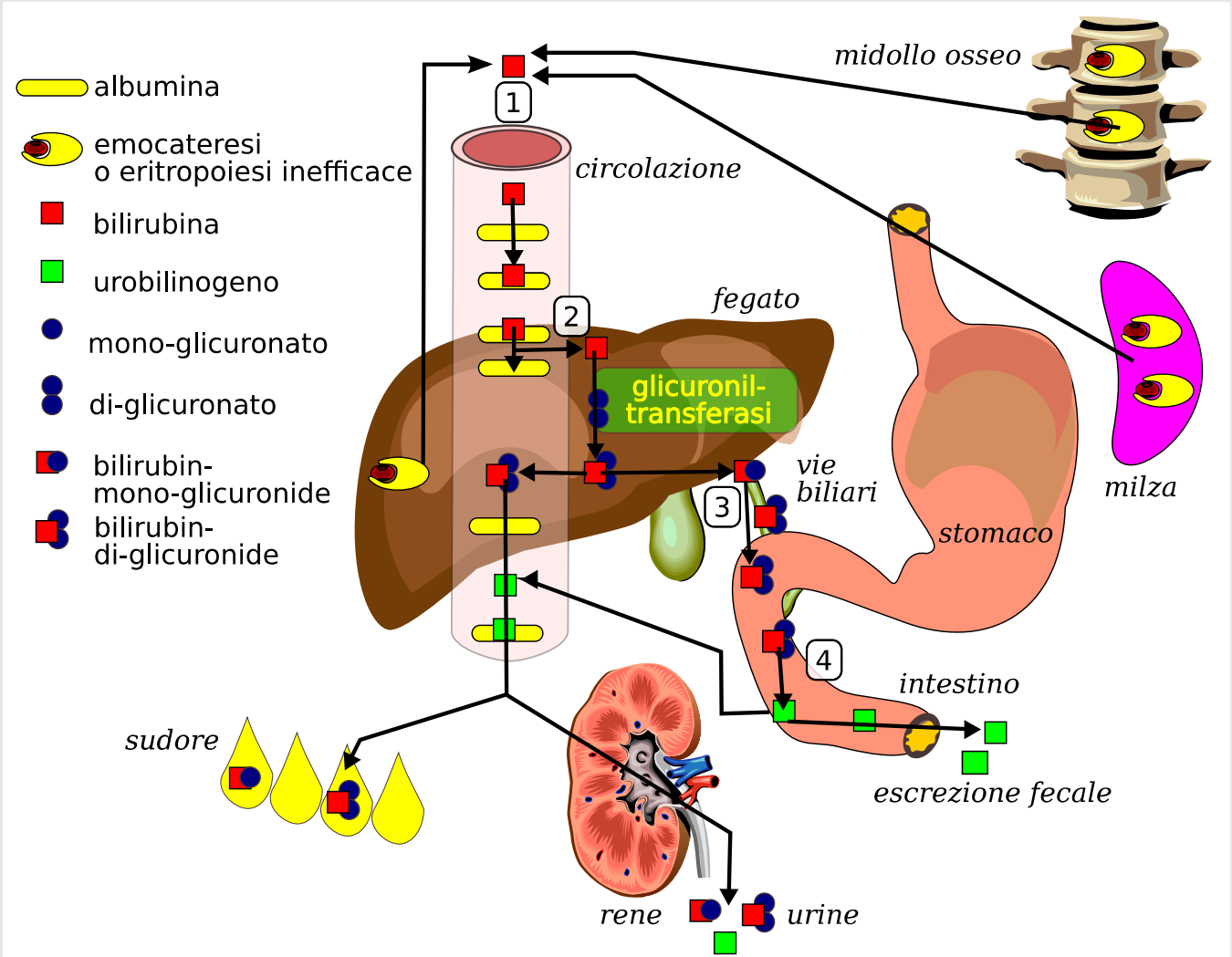


Figura 4.2. Circolazione della bilirubina
Da Barbieri (2012)

Le principali 4 tappe:

- 1. produzione di bilirubina a partire dall'eme deriva per lo più dalla eritro-cateresi. La bilirubina viene legata dall'albumina e trasportata al fegato
- 2. la captazione epatica e la glucuronazione nel reticolo endoplasmico generano bilirubin mono- e di-glucuronide, idrosolubili e secernibili nella bile
- 3. secrezione nella bile
- 4. i batteri nell'intestino deconiugano la bilirubina e la trasformano in urobilinogeni. Gli urobilinogeni insieme con residui intatti vengono escreti con le feci. Una piccola quota viene riassorbita ed escreta con le urine

Metabolismo della bilirubina

☞ La bilirubina è il prodotto di degradazione dell'eme

La produzione giornaliera di bilirubina (250-350 mg) deriva

- in massima parte (80-85%) dal catabolismo dell'emoglobina degli eritrociti invecchiati
- per il restante (15-20%) dalla eritropoiesi inefficace
- una minima quota di bilirubina deriva dal ricambio di proteine contenenti eme (es.: mioglobina, citocromi e catalasi)

La bilirubina non coniugata è liposolubile e, pertanto, potenzialmente tossica

- viene immessa in circolo dalle cellule del sistema reticolo-endoteliale legata all'albumina
- in questa forma, raggiunge il fegato

Nel fegato

- la bilirubina viene veicolata all'interno degli epatociti
- dove si lega a proteine citosoliche (glutatione S-transferasi o ligandina, e proteina Z) che prevengono il suo rientro nel circolo ematico e la sua diffusione all'interno di compartimenti epatocitari non idonei
- la bilirubina viene quindi trasferita nel reticolo endoplasmatico dove l'enzima uridina difosfato-glucuronil transferasi (UGT) la coniuga con acido glucuronico
- la bilirubina coniugata è idrosolubile e, in questa forma, può essere eliminata con la bile

Metabolismo dell'urobilinogeno

☞ La bilirubina coniugata viene secreta dagli epatociti nei canalicoli biliari attraverso un processo ATP-dipendente mediato da un trasportatore multi-specifico di anioni organici: MRP2 (*multi-drug resistance-associated protein 2*)

giunta nel lume intestinale, la bilirubina viene deconiugata e ridotta ad urobilinogeno, incolore e idrosolubile

☞ L'urobilinogeno ha tre diversi destini metabolici:

- la quota maggiore viene ossidata a stercobilina e urobilina ed eliminata con le feci, alle quali conferisce il caratteristico colore bruno
- una quota minore viene riassorbita a livello intestinale e ritorna al fegato tramite il circolo portale (circolo entero-epatico della bilirubina)
- una piccola quota riassorbita salta il filtro epatico, ed è eliminata con le urine (colore giallo delle stesse)

Determinazione della bilirubinemia

☞ La concentrazione ematica della bilirubina viene determinata mediante metodo fotometrico misurando gli azo-derivati ottenuti dalla reazione (detta di "Van der Bergh") tra la bilirubina e lo ione diazonio dell'acido sulfanilico (diazoreattivo di Ehrlich)

- la bilirubina coniugata è idrosolubile e reagisce direttamente con lo ione diazonio (bilirubina diretta)
- la bilirubina non coniugata è insolubile in acqua e reagisce con lo ione diazonio solo se viene prima solubilizzata con alcoli o con altri solventi (bilirubina indiretta)

Valori di riferimento per la bilirubina nel siero

☞ **bilirubina totale**	**0.1-1.0 mg/dL**	**1.7-17 µmol/L**
bilirubina diretta	**0.0-0.2 mg/dL**	**0.0-3.4 µmol/L**
bilirubina indiretta	**0.2-0.8 mg/dL**	**3.4-13.7 µmol/L**

4.5. Itteri

Definizione di ittero

Si definisce ittero la colorazione giallastra della cute e delle mucose dovuta ad accumulo di bilirubina

Si chiama sub-ittero un aumento della bilirubina plasmatica a cui corrisponde una variazione della colorazione solo delle sclere e non ancora della cute e delle mucose apprezzabile ad occhio nudo

☞ Il fenomeno saliente di un disturbo del metabolismo della bilirubina è l'ittero

Perché un ittero cominci a farsi apprezzare clinicamente occorre che la bilirubinemia raggiunga valori di 2–2.5 mg/dL

☞ Sulla base del rapporto tra bilirubina diretta e indiretta, gli itteri si classificano in:

- itteri da iper-bilirubinemia prevalentemente non coniugata, in cui l'80-85% della bilirubina sierica è non coniugata
- itteri da iper-bilirubinemia combinata, in cui la quota sierica coniugata supera il 50%

☞ Nella pratica:

- quando il rapporto tra bilirubinemia coniugata/totale è 0.4 o maggiore sarà presente una iper-bilirubinemia coniugata
- quando il rapporto è inferiore a 0.4 sarà presente una iper-bilirubinemia non coniugata

4.6. Principali forme di ittero da iper-bilirubinemia prevalentemente non coniugata



☞ Itteri da iper-produzione di bilirubina

- emolisi
- eritropoiesi inefficace
- degradazione dell'eme in raccolte extra-vascolari di eritrociti (es.: ematomi di vaste proporzioni)

Itteri da difetti della captazione epatica

- assunzione di farmaci o mezzi di contrasto che provocano una inibizione competitiva del legame tra bilirubina e ligandina
- deficit di ligandina (es.: sindrome di Gilbert)

Itteri da ridotta o assente attività glucuronil-transferasica

- ittero fisiologico del neonato
- sindrome di Gilbert
- sindrome di Crigler-Najjar I e II

4.6.1. Itteri da iper-produzione di bilirubina

Emolisi

☞ La produzione di eritrociti da parte del midollo in seguito ad emolisi può aumentare al massimo fino ad 8 volte; pertanto, l'emolisi da sola non produce mai valori di bilirubinemia superiori a 4-5 mg/dL

Nei casi di emolisi protratta si possono formare calcoli costituiti da sali di bilirubina nella colecisti o nelle vie biliari

Le anemie emolitiche che più spesso provocano questa forma di ittero sono

- la sferocitosi ereditaria
- l'anemia falciforme
- l'anemia da deficit enzimatici (G6PD, glucoso-6-fosfato deidrogenasi)

Eritropoiesi inefficace

☞ Alcune anemie sono caratterizzate da un significativo aumento dell'eritropoiesi inefficace, che può arrivare a produrre fino al 70% della bilirubina totale; anche in questi casi l'ittero è comunque sempre modesto

- talassemia major
- anemie francamente megaloblastiche

Degradazione extra-vascolare

☞ Itteri di lieve entità possono anche derivare dalla degradazione dell'eme in raccolte extra-vascolari di eritrociti

- estesi infarti tessutali (soprattutto polmonari)
- emorragie interne (dalla rottura di un aneurisma dell'aorta allo stillicidio da errate manovre per il posizionamento di un catetere)
- ematomi di grandi dimensioni

4.6.2. Itteri da ridotta o assente attività glucuronil-transferasica

Ittero fisiologico del neonato

Questa forma di ittero è provocata da un deficit transitorio di glucuronil-transferasi

- Nella vita intra-uterina la bilirubina viene eliminata dalla placenta: alla nascita l'attività glucuronil-transferasica è fisiologicamente ridotta, e ciò giustifica l'insorgenza dell'ittero
- Il 97% dei nati a termine ha una iper-bilirubinemia tra la II e la V giornata: generalmente non supera i 5 mg/dL e regredisce entro due settimane. In casi eccezionali (in neonati prematuri) i livelli di bilirubina possono essere superiori
- Quando si superano i 20 mg/dL si può avere l'ittero nucleare, causato dal passaggio di bilirubina attraverso una immatura barriera emato-encefalica e precipitazione della stessa nei nuclei encefalici della base, ricchi di lipidi, e in altre aree cerebrali

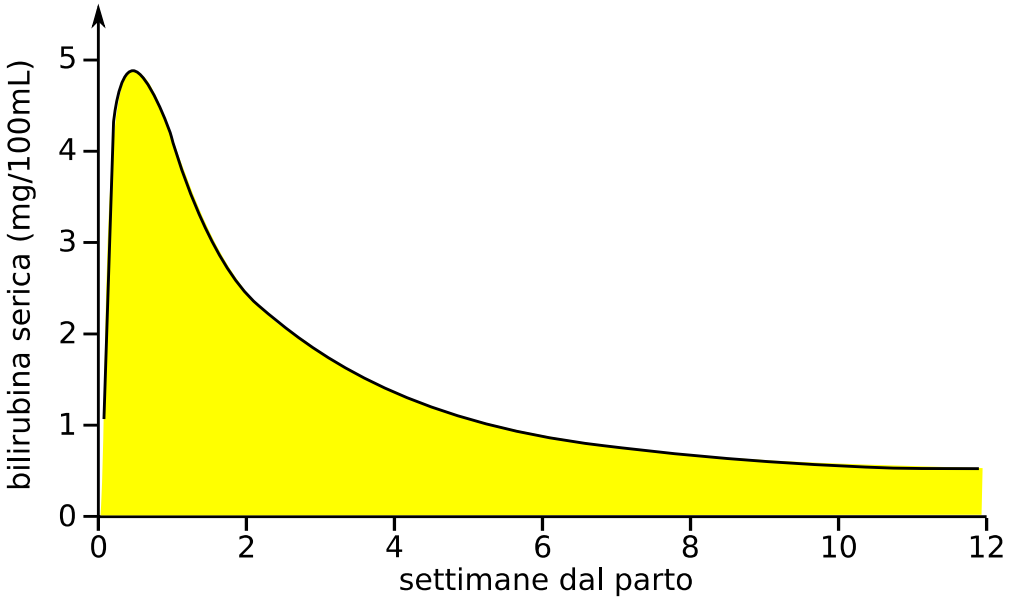


Figura 4.3. Ittero fisiologico del neonato. Da Barbieri (2012)

☞ La maturazione enzimatica può essere stimolata dalla somministrazione di barbiturici al neonato o alla madre

Nei pazienti con valori particolarmente alti di bilirubinemia si ricorre alla fototerapia: sottoposta ad intensa illuminazione con luce bianca o azzurra, la bilirubina si trasforma in una serie di isomeri idrosolubili (foto-isomerizzazione) che vengono eliminati con la bile anche senza coniugazione

Sindrome di Gilbert

☞ La sindrome di Gilbert è una malattia ad eziologia genetica. Le sue principali caratteristiche sono:

- è una comune condizione benigna (2-7% della popolazione), ma cronica, solitamente reperto occasionale nel corso di un esame ematologico di routine.
- di norma non richiede interventi terapeutici
- l'importanza della diagnosi è per tranquillizzare il paziente e per evitare ulteriori indagini non necessarie
- è causata da una mutazione del gene *HUG-BR1* (uridina-difosfato glucuronil-transferasi 1), mutazione che riduce l'attività transferasica dal 65 al 90%
- i valori di bilirubina sono solitamente tra 1.2 e 3 mg/dL; solo raramente superano i 5 mg/dL, restando comunque sempre inferiori ai 6 mg/dL
- l'ittero è per lo più asintomatico e solo raramente è accompagnato da affaticamento, malessere e dolore addominale
- l'iper-bilirubinemia è accentuata da stress quali sforzo fisico, febbre, malattie infettive, stati post-operatori (spesso per interventi odontoiatrici), digiuno e assunzione di elevate quantità di alcool
- un aspetto che può essere usato a scopo diagnostico è l'aumento della bilirubina sierica a seguito di un digiuno prolungato o di un regime di restrizione calorica
- la somministrazione di fenobarbitale riduce la bilirubinemia fino a riportarla ai valori normali
- alcune forme sono dovute ad un deficit di ligandina

Sindrome di Crigler-Najjar

☞ Sindrome di Crigler-Najjar I

- condizione autosomica recessiva causata da una mutazione del gene *HUG-BR1* che determina la completa assenza di attività glucuronil-transferasica
- l'iper-bilirubinemia è elevata (20-50 mg/dL); si presenta nel neonato ed è permanente
- prima della fototerapia la malattia portava a morte nei primi anni di vita per encefalopatia da bilirubina; con l'avvento della fototerapia e del trapianto di fegato la prognosi di questi pazienti è notevolmente migliorata. In questi casi, il trattamento con fenobarbitale non ha alcun effetto perché manca una glucuronil transferasi attiva da indurre

☞ Sindrome di Crigler-Najjar II

- malattia autosomica prevalentemente recessiva causato da una mutazione del gene *HUG-BR1* che determina un deficit enzimatico severo ma non assoluto
- il quadro clinico può variare da paziente a paziente
- l'encefalopatia da bilirubina è rara
- solitamente l'ittero può rimanere latente fino all'adolescenza, con valori di bilirubinemia tra 6 e 20 mg/dL
- la terapia di elezione è con fenobarbitale, che riduce la bilirubinemia del 25%

4.7. Principali forme di ittero da iper-bilirubinemia combinata

- *Itteri da difetti ereditari della funzione escretoria epatica:*
  - sindrome di Dubin-Johnson
  - sindrome di Rotor
- *Itteri da difetti acquisiti della funzione escretoria epatica:*
  - malattie epato-cellulari: epatiti/cirrosi
  - ostruzione delle vie biliari

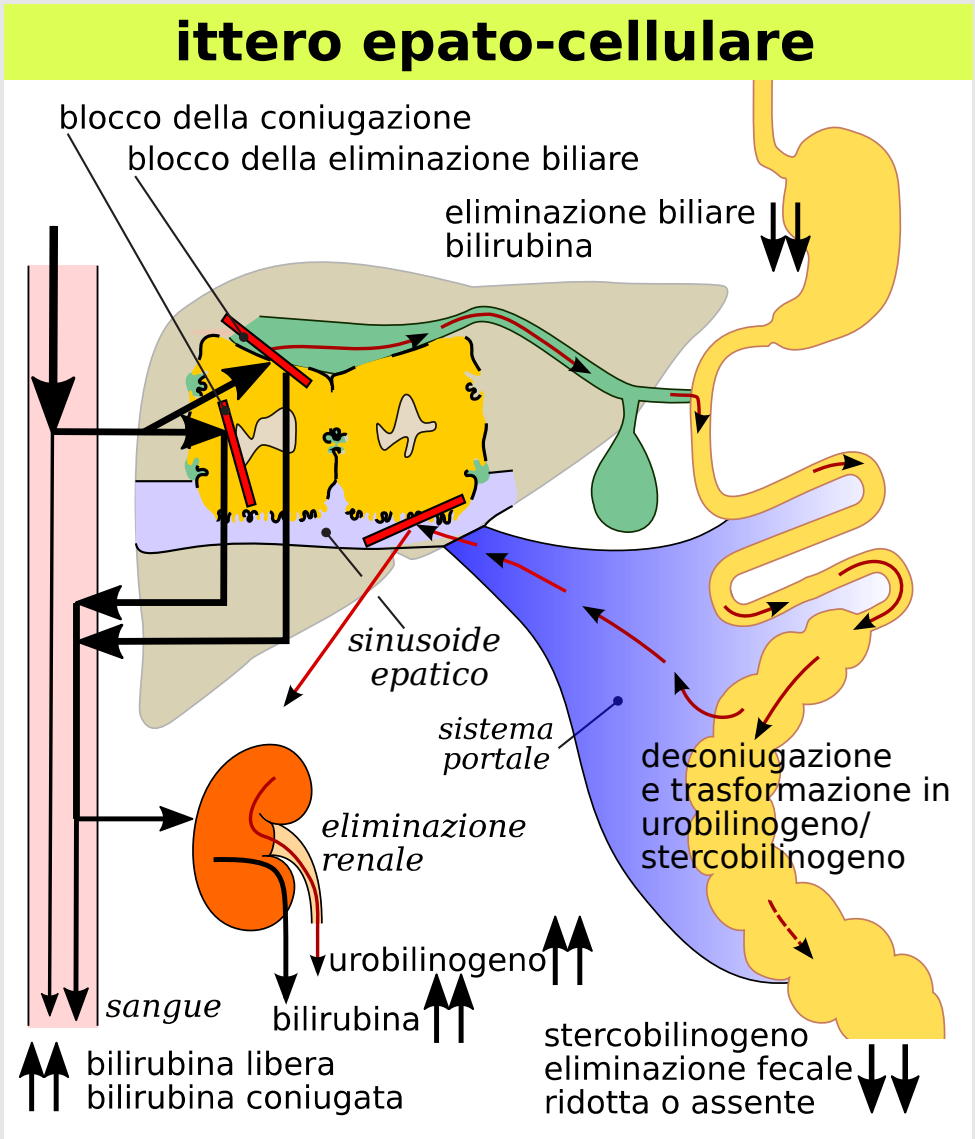


Figura 4.4. Ittero epato-cellulare

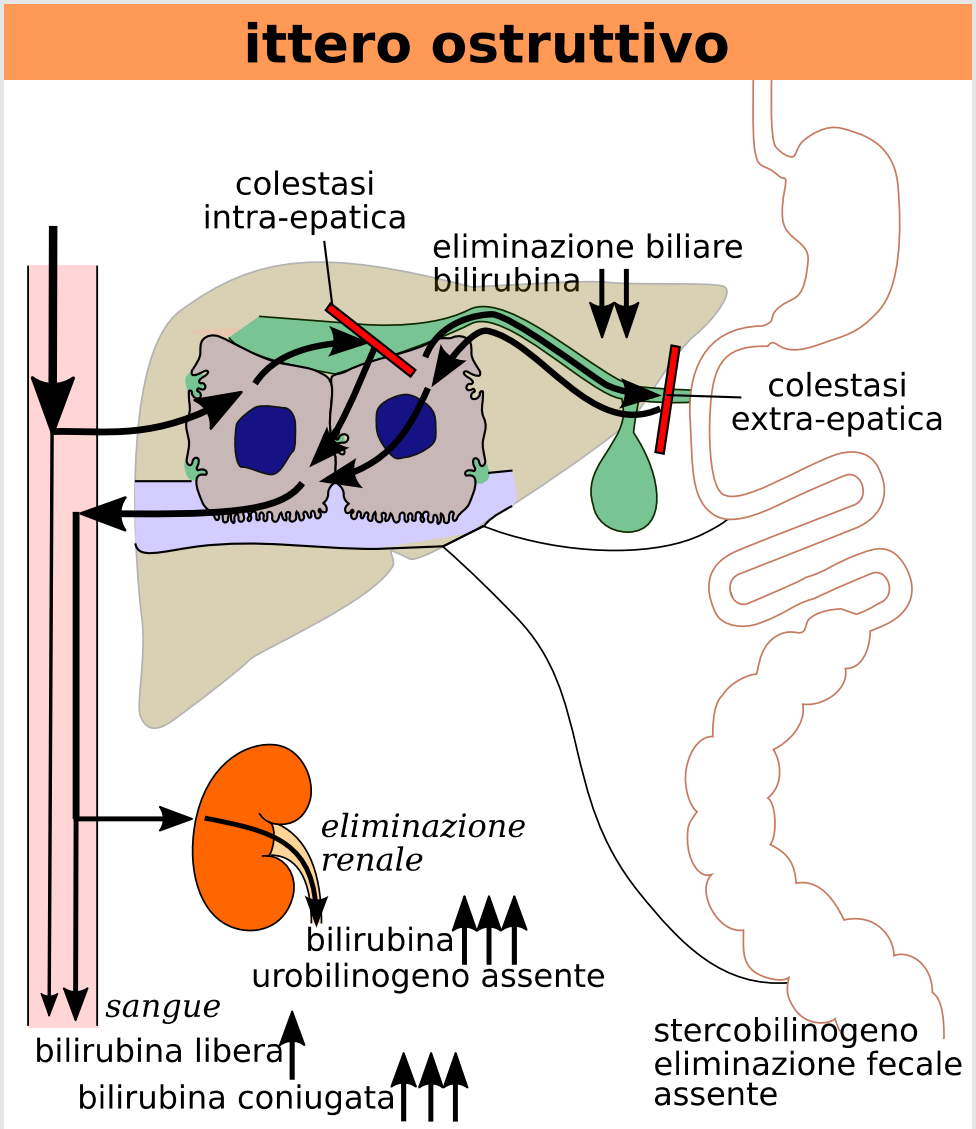


Figura 4.5. Ittero ostruttivo

4.8. Proteine sieriche indicatrici di danno epatico



☞ Le proteine sieriche indicatrici (marcatori) di patologia epatica si possono dividere in due categorie

- proteine che normalmente non devono essere presenti nel siero se non in tracce (es.: ammino-transferasi)
- proteine plasmatiche prodotte dal fegato la cui concentrazione cambia in presenza di epatopatia

4.8.1. Enzimi sierici indicatori di danno epato-cellulare: ammino-transferasi (transamminasi)

Aspartato ammino-transferasi (AST) o transamminasi glutamminico-ossalacetica sierica (SGOT)

☞ Aspartato ammino-transferasi (AST) o transamminasi glutammico-ossalacetica sierica (SGOT): trasferisce il gruppo amminico dall'acido aspartico all'acido α-chetoglutarico determinando la sintesi di acido ossalacetico

Presente sia nei mitocondri sia nel citosol delle cellule di diversi tessuti tra cui fegato, miocardio, muscolo scheletrico, reni, cervello, pancreas, polmoni, leucociti e eritrociti (in ordine decrescente di concentrazione)

Alanina ammino-transferasi (ALT) o Transamminasi glutammico- piruvico sierica (SGPT)

☞ Alanina ammino-transferasi (ALT) o transamminasi glutammico- piruvico sierica (SGPT): trasferisce il gruppo amminico dall'alanina all'acido α-chetoglutarico determinando la sintesi di acido piruvico

Presente principalmente nel citosol degli epatociti e delle cellule renali

Rapporto AST/ALT (SGOT/SGPT)

☞ Se il apporto AST/ALT (SGOT/SGPT) è:

- <1 è indicativo di epatite virale
- >2 è indicativo di epatite alcolica

4.8.2. Enzimi sierici indicatori di colestasi

Fosfatasi alcalina (ALP)

☞ Fosfatasi alcalina (*alkaline phosphatase*, ALP): appartiene alla classe delle idrolasi: a pH alcalino rimuove i gruppi fosfato da proteine e da altre molecole

Si distinguono 4 forme iso-enzimatiche organo specifiche:

- epatica
- ossea
- placentare
- intestinale

La forma epatica facilita il trasporto dei sali biliari: quando i sali biliari si accumulano nelle vie biliari per una colestasi, la sua sintesi viene indotta

γ-Glutammil-transpeptidasi (γ-GT)

☞ γ-Glutammil-transpeptidasi (γ-GT): trasferisce radicali -glutammilici da diversi peptidi a L-amminoacidi o ad altri peptidi

Indice molto sensibile di malattia epatica ma poco specifico, in quanto aumenta in condizioni quali l'obesità, il diabete e l'alcolismo cronico, ed in corso di malattie pancreatiche, cardiache, renali e polmonari

4.8.3. Enzimi indicatori e patologie

Tabella 4.1. Enzimi indicatori e patologie epatiche. ALP: fosfatasi alcalina; ALT: alanina ammino-transferasi; AST: aspartato ammino-transferasi

epatopatie	**ALT e AST ⇧⇧⇧ ALP ⇧**
acuta (presente da <6 mesi)	epatite virale (A, B, C) epatite alcolica epatite tossica danno ischemico
cronica (presente da >6 mesi)	epatite virale (B, C) farmaci epatite alcolica steatosi non-alcoolica epatite autoimmune disturbi metabolici

colangiopatie	**ALT ⇧⇧ AST-ALP ⇧**
atresia delle vie biliari	genetica
ostruzione delle vie biliari	colelitiasi colangite colangite sclerosante cirrosi biliare primitiva fibrosi stenosante
compressione delle vie biliari	carcinoma del pancreas pancreatite epato-carcinoma

4.8.4. Proteine sieriche

Albumina e globuline

☞ La maggior parte delle proteine sieriche è sintetizzata dal fegato, mentre le γ-globuline sono prodotte da linfociti e plasmacellule contenute sia negli organi emolinfo-poietici che diffusamente presenti nello stroma di quasi tutti i tessuti

☞ Nel corso di malattie epatiche di lunga durata si verifica

- una diminuzione della concentrazione delle proteine plasmatiche totali e, in particolare, dell'albumina, che rappresenta la principale proteina plasmatica prodotta dal fegato
- un aumento delle γ-globuline

si osserva pertanto

- una inversione del rapporto albumina/globuline (normalmente tra 1.2 e 1.7) che scende facilmente sotto alla unità e può anche arrivare a 0.5

Fattori della coagulazione

☞ Il fegato sintetizza la maggior parte dei fattori che intervengono nel processo di coagulazione del sangue

☞ Stati di grave insufficienza epatica determinano pertanto una ridotta produzione dei fattori della coagulazione e, conseguentemente

- un allungamento del tempo di protrombina (PT) o tempo di Quick (*test* che valuta l'efficacia della via estrinseca e comune della coagulazione)
- un allungamento del tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) (*test* che valuta l'efficacia della via intrinseca e comune della coagulazione)

☞ Il fattore VII è tra i fattori della coagulazione quello con più breve emivita

- è quindi il primo a diminuire nel sangue periferico di pazienti con un deficit funzionale epatico
- poiché la carenza di questo fattore causa un allungamento del PT, nei deficit funzionali epatici il PT risulterà alterato più precocemente dell'aPTT

4.9. Dati di laboratorio dell'insufficienza epatica

Tabella 4.2. Insufficienza epatica: dati di laboratorio. ALT: alanina ammino-transferasi; AST: aspartato ammino-transferasi; INR: international normalised ratio *(rapporto internazionale normalizzato)*

⇧ bilirubina diretta e indiretta	deficit di coniugazione e secrezione
ipo-albuminemia	diminuita sintesi
⇧ ALT e AST	danno acuto: innalzamento anche di 100 volte
ammoniemia	alterazione ciclo dell'urea
ipoglicemia	deficit gluconeogenesi
PT prolungato (INR)	deficit sintesi, malassorbimento di vitamina K
trombocitopenia (piastrinopenia)	deficit di trombopoietina
anemia	perdite da rottura di varici esofagee, ridotta produzione midollare
⇧ creatinina e BUN (*blood urea nitrogen*)	diminuzione dell'*output* urinario

4.10. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Gray, H. (1918) Anatomy of the human body (Lewis, W.H. ed.) XX ed. Lea & Fibiger, Philadelphia

Kumar, P., Clark, M. (2009) Clinical Medicine. VII ed. Saunders, Edimbourgh

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014 visitato il 30/01/2014 accessibile il 30/01/2014





5. Le proteine sieriche

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

5. Le proteine sieriche....1
5.1. Le proteine del sangue....3
5.2. Elettroforesi delle proteine sieriche....4
5.2.1. Frazioni delle proteine sieriche....5
5.3. Albumine....6
5.3.1. Albumina....6
5.3.2. Pre-albumina o trans-tiretina....7
5.4. a1-Globuline....8
5.4.1. α1-Glicoproteina acida....8
5.4.2. α1-Fetoproteina....8
5.4.3. α1-Anti-tripsina (AAT)....9
5.5. a2-Globuline....10
5.5.1. α2-Macroglobulina....10
5.5.2. Aptoglobina....11
5.5.3. Ceruloplasmina....11
5.6. b1-globuline....12
5.6.1. Transferrina....12
5.7. b2-globuline....13
5.7.1. Frazione C3 del complemento....13
5.7.2. Emopessina....13
5.7.3. β2-Microglobulina....13
5.8. γ-globuline....14
5.8.1. Fibrinogeno....14
5.8.2. Proteina C-reattiva....14
5.9. Condizioni associate ad alterazioni specifiche del tracciato elettroforetico delle proteine sieriche....15
5.10. Determinazione di proteine sieriche specifiche....16
5.11. La risposta di fase acuta....17
5.12. Proteine di fase acuta....18
5.12.1. Principali proteine di fase acuta....19
5.12.2. Funzioni delle proteine di fase acuta....20
5.12.3. La proteina C-reattiva....21
5.12.4. VES: velocità di eritro-sedimentazione....23
5.12.5. Principali condizioni che causano un aumento della VES....24
5.13. Principali fonti utilizzate....26



5.1. Le proteine del sangue

☞ Per proteine del sangue si intendono le proteine disciolte nel plasma

Si dividono funzionalmente in 3 categorie:

- proteine la cui funzione si svolge prevalentemente nel plasma stesso (es.: albumina)
- proteine la cui funzione si svolge nei tessuti e transita passivamente nel sangue (es.: alcuni ormoni proteici)
- proteine che compaiono solo in condizioni patologiche (es.: enzimi rilasciati da cellule in necrosi)

☞ Nell'organismo umano le proteine più facilmente disponibili a scopo di studio sono quelle del sangue

Nonostante costituiscano solo una piccola frazione di tutte le proteine presenti nell'organismo, esse sono estremamente importanti per il clinico, giacché le loro variazioni quantitative e qualitative possono fornire indicazioni molto utili ai fini diagnostici

---

☞ Nel plasma umano sono presenti più di 100 proteine diverse, sintetizzate

- in massima parte dal fegato
- per una quota minore dalle plasmacellule (immunoglobuline)
- dal sistema monocito/macrofagico (alcuni fattori del complemento)
- dalle cellule della parete intestinale (alcune apo-lipoproteine)

☞ Per evitare errori quantitativi dovuti alla dinamica proteolitica del plasma, nella diagnostica automatizzata di routine il dosaggio delle proteine del sangue viene effettuato da campioni di siero

- in condizioni normali, la concentrazione delle proteine sieriche varia tra 6 e 8 g/dL

5.2. Elettroforesi delle proteine sieriche

☞ L'insieme eterogeneo delle proteine sieriche può essere risolto nelle sue diverse componenti utilizzando la tecnica elettroforetica

L'elettroforesi consente di separare su un idoneo supporto solido (gel di agaroso o acetato di cellulosa) le proteine sieriche in base alla loro carica ed al loro peso molecolare

Dalla scansione densitometrica delle singole frazioni si ottiene un tracciato (profilo) in cui le singole bande sono rappresentate da picchi di diversa altezza e larghezza, la cui area è proporzionale al contenuto proteico delle rispettive frazioni

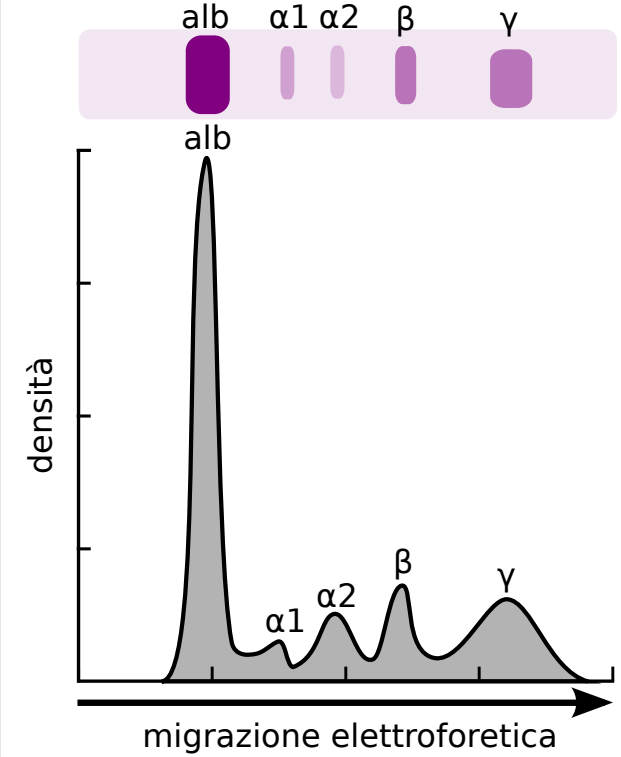


Figura 5.1. Elettroforesi delle proteine sieriche

5.2.1. Frazioni delle proteine sieriche

☞ Dalla separazione elettroforetica delle proteine sieriche si ottengono 5 frazioni principali che corrispondono, partendo dal polo anodico (carico positivamente) fino ad arrivare a quello catodico (carico negativamente)

albumina	3.2-5.6 g/dL	52–68%
α1-globuline	0.1-0.4 g/dL	2.4–5,3%
α2-globuline	0.4-1.2 g/dL	6.6–13.5%
β-globuline	06–1.3 g/dL	8.5–14.5%
γ-globuline	0.5-16 g/dL	10.7–21%

☞ *Il rapporto albumina/globuline normalmente varia da 1.2 a 1.7*

5.3. Albumine

5.3.1. Albumina

☞ Caratteristiche principali

- pesa circa 66,000 Da: rappresenta la proteina limite per dimensioni nella permeabilità vascolare: tutto ciò che ha un ingombro sterico inferiore all'albumina viene filtrato nell'interstizio, tutto ciò che ha un ingombro sterico superiore rimane nel plasma
- si trova per il 50% nel plasma e per il 50% nell'interstizio (essendo il volume plasmatico più piccolo di quello interstiziale è più concentrata nel plasma)
- è la proteina ematica a più elevata concentrazione (tra 3.6 e 5.3 g/dL)
- ha una emivita di 14-20 d e la sua degradazione avviene a livello renale, epatico e intestinale

Funzioni dell'albumina

- è la principale responsabile della pressione oncotica (pressione osmotica esercitata da soluzioni colloidali) del plasma
- è un *carrier* per sostanze insolubili in acqua (es.: bilirubina, NEFA (*non-esterified fatty acids*, acidi grassi liberi)), ormoni (es.: tiroxina, triiodotironina, cortisolo, aldosterone), farmaci (es.: salicilati, warfarin, clofibrato, fenilbutazone) e ioni (es.: il 40% del calcio sierico)
- rappresenta una riserva di amminoacidi a scopo nutrizionale

Significato clinico dell'albumina

- la sua concentrazione plasmatica viene utilizzata principalmente come indice di funzionalità epatica e dello stato nutrizionale: l'albuminemia diminuisce inoltre nelle nefropatie con proteinuria, nelle ustioni, e nelle enteropatie protido-disperdenti
- la riduzione dei suoi livelli plasmatici costituisce un elemento caratterizzante la "risposta di fase acuta"

5.3.2. Pre-albumina o trans-tiretina

☞ Caratteristiche

- denominata pre-albumina in quanto migra davanti alla albumina, o trans-tiretina in quanto veicola la tiroxina e la RBP (*retinol binding protein*, proteina legante il retinolo o vitamina A)
- è sintetizzata dal fegato ed è presente nel siero e nel liquor, dove costituisce una delle componenti proteiche maggiori
- ha una emivita di 2 d

Funzioni

- svolge principalmente una funzione di trasporto per amminoacidi, enzimi, ormoni, vitamine e farmaci

Significato clinico

- rappresenta un indice di funzionalità epatica e/o dello stato nutrizionale più precoce rispetto all'albumina (vita media di 2 d invece di 20 d)
- come l'albumina, i suoi livelli plasmatici si riducono durante la "risposta della fase acuta"

5.4. α1-Globuline



☞ Le principali α1-globuline sono:

- α1-glicoproteina acida
- α1-fetoproteina
- α1-anti-tripsina
- lipoproteine (HDL)

5.4.1. α1-Glicoproteina acida

☞ α1-glicoproteina acida (o orosomucoide)

- la sua funzione non è stata ancora perfettamente compresa: le omologie nella sequenza amminoacidica con le immunoglobuline suggeriscono un suo ruolo ancestrale nel sistema immunitario
- è una proteina della fase acuta che aumenta in particolare in corso di malattie autoimmuni quali LES (lupus eritematoso sistemico) e artrite reumatoide
- è inoltre un inibitore del progesterone

5.4.2. α1-Fetoproteina

☞ α1-fetoproteina è una albumina fetale sintetizzata

- nel sacco vitellino e, a partire dal 4°mese di gravidanza
- dal fegato fetale
- dall'8° mese decresce rapidamente, contestualmente ad una aumenta produzione di albumina

Durante la gravidanza un suo aumento indica difetti del tubo neurale, spina bifida o gravidanza gemellare, mentre una sua riduzione è associata alla sindrome di Down

In età adulta il suo aumento è associato alla presenza di epato-carcinoma

5.4.3. α1-Anti-tripsina (AAT)

☞ Circa il 90% del picco delle α1-globuline è costituito dalla α1-anti-tripsina (AAT)

la AAT è una anti-proteasi che si lega alla tripsina e ad altri enzimi proteolitici (es.: elastasi, collagenasi, chimotripsina, plasmina e trombina), inattivandoli

è una proteina della fase acuta il cui ruolo fisiologico consiste nel controllare l'azione istolesiva degli enzimi liberati dai leucociti (polimorfonucleati neutrofili) nel corso dei processi infiammatori

---

☞ Il deficit di AAT può causare enfisema polmonare e epatopatia

- la patologia polmonare si manifesta nella 3ª-4ª decade di vita ed è provocata dalla mancata inibizione della elastasi rilasciata dai leucociti in risposta alla presenza di agenti irritanti (quali il fumo) nelle vie respiratorie, con conseguente azione distruttiva dell'enzima sul parenchima polmonare
- la malattia epatica si manifesta in età pediatrica con una epatite cronica che può evolvere in cirrosi e in epato-carcinoma, conseguente all'accumulo nel reticolo endoplasmatico degli epatociti di una forma di proteina mutata che non riesce ad essere trasferita all'apparato del Golgi e quindi eliminata dalla cellula

---

☞ Il deficit di AAT si trasmette come carattere autosomico recessivo; ha una incidenza di 1/2,000-4,000 nati vivi, che la pone tra le più comuni malattie genetiche gravi

Sono note più di 75 varianti del gene (*SERPINA1* in 14q32.1), tra cui:

- la variante M, in omozigosi in >90% della popolazione europea, è associata a normali valori dell'enzima
- la variante Z determina in omozigosi una riduzione dei livelli di enzima circolante dell'85-90%: questi pazienti hanno un elevato rischio di sviluppare la patologia polmonare e nel 20% dei casi sviluppano una epatopatia; in eterozigosi (MZ) la riduzione dell'enzima è del 50% e mancano le manifestazioni cliniche
- la variante S determina in omozigosi una riduzione dell'enzima del 40% senza manifestazioni cliniche, mentre causa enfisema polmonare solo quando in eterozigosi con Z in soggetti fumatori
- la variante Null, molto rara, è associata in omozigosi alla totale assenza dell'enzima e, quindi, ad un elevatissimo rischio di sviluppare la patologia polmonare

5.5. α2-Globuline



☞ Le principali α2-globuline sonio:

- α2-macro-globulina
- aptoglobina
- ceruloplasmina
- pre-β-lipoproteine (VLDL)

5.5.1. α2-Macroglobulina

☞ La α2-macro-globulina è una anti-proteasi molto aspecifica e molto potente, che interviene

- nella regolazione dei processi emo-coagulativi (come la α2-anti-plasmina inibisce l'azione fibrinolitica della plasmina sulla fibrina, legandosi ad essa)
- nella regolazione dei processi della risposta immunitaria
- nel trasporto di ormoni quali l'ormone somatotropo (GH, *growth hormone*) e l'insulina

Il suo ruolo fisiologico è così importante che non sono mai stati descritti deficit congeniti, probabilmente incompatibili con la vita

Ha peso molecolare molto alto (800,000) e, come dimensione, è seconda solo alle IgM: pertanto, anche nei casi di grave proteinuria (sindrome nefrosica) non si perde con le urine, ma rimane nel siero, determinando un tracciato elettroforetico caratteristico

La α2-macro-globulina non è una proteina della fase acuta

5.5.2. Aptoglobina

☞ L’aptoglobina (α2-globulina) è in grado di combinarsi con l'emoglobina libera rilasciata nel plasma in seguito ad emolisi intra-vascolare

- i complessi aptoglobina-emoglobina vengono rimossi dal plasma in pochi minuti ad opera del sistema reticolo-endoteliale, dove vengono metabolizzati in amminoacidi e ferro
- l’aptoglobina è pertanto fisiologicamente preposta a prevenire le perdite urinarie di emoglobina (e quindi di ferro) che si determinerebbero nei casi di emolisi intra-vascolare
- l'aptoglobina diminuisce in presenza di emolisi intra-vascolari
- l’aptoglobina aumenta in corso di neoplasie, traumi e processi infiammatori

L’aptoglobina è una proteina della fase acuta

5.5.3. Ceruloplasmina

☞ La ceruloplasmina è una proteina della fase acuta deputata al trasporto del rame; la riduzione dei suoi livelli ematici si osserva

- nel morbo di Wilson: malattia autosomica recessiva (*gene ATP7B* localizzato in 13q14-q21) caratterizzata da difetti nell’escrezione epatica del rame, che porta ad accumuli tossici del metallo principalmente nel fegato, nel cervello e nella cornea (anello di Kaiser-Fleischer)
- nella malattia di Menkes: sindrome *X-linked*, recessiva, caratterizzata da un ridotto assorbimento intestinale di rame con sintomatologia prevalentemente neuro-degenerativa
- in altre sindromi da malassorbimento

La ceruloplasmina è una proteina della fase acuta

5.6. β1-globuline

5.6.1. Transferrina

☞ La transferrina è la principale β1 globulina

- lega il ferro assorbito dall'intestino o rilasciato dal catabolismo dell'emoglobina
- trasporta il ferro in parte al fegato e in parte alle cellule del sistema reticolo-endoteliale, cedendolo alla ferritina e all'emosiderina (ferro di deposito) o affidandolo direttamente alle cellule deputate alla sintesi di composti contenenti ferro quali emoglobina, mioglobina e citocromo-ossidasi (ferro funzionale)

Variazioni della transferrina

- nelle anemie sideropeniche i livelli plasmatici di transferrina aumentano per un meccanismo compensatorio, dando origine ad un modesto picco nella regione β1
- la transferrina aumenta anche in gravidanza ed in seguito all'assunzione di estro-progestinici

È una proteina negativa della fase acuta, in quanto si riduce in corso di processi infiammatori

Per maggiori approfondimenti vedi quadri da 3.3.5 a 3.3.8

5.7. β2-globuline 

☞ Le principali β2-globuline sono:
- la frazione C3 del complemento
- emopessina
- β2-microglobulina
- lipoproteine (LDL)

5.7.1. Frazione C3 del complemento

☞ La frazione C3 del complemento: è la proteina del complemento presente nel plasma a più elevata concentrazione
- si riduce nelle malattie da immuno-complessi in quanto il consumo che si verifica dall'attivazione della via classica eccede la sintesi
- è una proteina della fase acuta che si eleva molto lentamente, raggiungendo i massimi livelli plasmatici solo alcuni giorni dopo l'inizio del processo infiammatorio

5.7.2. Emopessina

☞ La emopessina: lega il gruppo eme libero in rapporto 1:1 e lo trasporta al fegato nei casi di emolisi intra-vascolare
- è una proteina della fase acuta

5.7.3. β2-Microglobulina

☞ β2-microglobulina: costituisce la catena leggera degli antigeni del sistema maggiore di istocompatibilità (MCH) di classe I

5.8. γ-globuline



☞ Le γ-globuline contengono le immunoglobuline: IgG, IgA, IgM, e, meno rappresentate in condizioni normali, IgD ed IgE

5.8.1. Fibrinogeno

☞ Fibrinogeno o fattore I della coagulazione (migra al confine con le β-globuline): tra i fattori della coagulazione è quello a più elevata concentrazione plasmatica (200-400 mg/dL)

Il fibrinogeno è una proteina della fase acuta

5.8.2. Proteina C-reattiva

☞ La proteina C-reattiva (CRP, *C-reactive protein*), così denominata perché capace di legare

- il polisaccaride C della parete cellulare dello *Streptococcus pneumoniae*

in realtà è in grado di legare anche:

- molti altri polisaccaridi appartenenti a batteri, protozoi e metazoi parassiti
- fosfolipidi e sfingolipidi di membrana
- cromatina ed istoni

una volta complessata, la CRP:

- attiva la via classica del complemento attraverso il fattore C1q
- promuove inoltre la *clearance* di detriti tessutali
- è ritenuta essere una opsonina

La proteina C-reattiva è una proteina della fase acuta

5.9. Condizioni associate ad alterazioni specifiche del tracciato elettroforetico delle proteine sieriche



☞ Le principali associazioni tra alterazioni del profilo elettroforetico delle proteine sieriche sono:

- infiammazione acuta o lesioni distruttive (neoplasie estese, necrosi ischemiche, traumi, ustioni): aumento delle α2-globuline (aptoglobina) e, in misura minore, delle α1-globuline (α1-anti-tripsina)
- infiammazione cronica: aumento “a base larga” del picco delle γ-globuline associato ad un moderata diminuzione delle α- e β-globuline
- epatopatia cronica: marcato aumento a base larga del picco delle γ-globuline ed inversione del rapporto albumina/globuline
- sindrome nefrosica (proteinuria elevata, ipo-albuminemia, edemi generalizzati, iper-lipidemia e ipercolesterolemia): riduzione della albumina con aumento delle α2-globuline (α2-macro-globulina) e diminuzione delle γ-globuline
- anemia sideropenica: modesto aumento delle β1-globuline per un aumento della transferrina
- gammopatia monoclonale: presenza di un picco “a base ristretta” nella zona delle γ-globuline
- ipo/agamma-globulinemia: appiattimento/scomparsa del picco delle globuline
- deficit di α1-anti-tripsina: riduzione / scomparsa del picco delle α1-globuline

5.10. Determinazione di proteine sieriche specifiche



- Le diverse specie proteiche che costituiscono una singola banda possono essere differenziate facendo reagire campioni di plasma con anticorpi policlonali specifici
  - i complessi antigene-anticorpo che si formano conferiscono al siero una leggera torbidità, che viene quantificata mediante determinazione nefelometrica

- Per la determinazione di basse concentrazioni proteiche si ricorre a tecniche più sensibili (tecniche immunometriche) basate sull'uso di anticorpi monoclonali e di specifici indicatori, o traccianti, capaci di rivelare la presenza di complessi antigene-anticorpo
  - le tecniche più utilizzate a questo scopo sono i metodi enzimo-immunometrici, che utilizzano come traccianti enzimi

5.11. La risposta di fase acuta



☞ Il termine fase acuta si riferisce all'insieme degli eventi sistemici che accompagnano l'infiammazione acuta, costituiti principalmente da:

- febbre
- anoressia
- leucocitosi
- aumentata sintesi di alcuni ormoni (quali ACTH, cortisolo, adrenalina)
- variazione dei livelli ematici di alcune proteine sintetizzate dal fegato, definite proteine di fase acuta

☞ La fase acuta è sostenuta e regolata da mediatori chimici liberati dal sito o dai siti della infiammazione, che hanno come bersaglio specifici recettori posti su cellule distanti dal luogo della loro secrezione

☞ La risposta di fase acuta è

- veloce
- efficace
- standardizzata
- caratteristicamente aspecifica; essa viene infatti attivata da svariate condizioni che producono una lesione o uno stress tessutale, quali quelle che si determinano in corso di infezioni, reazioni immuno/allergiche, ipossia, infarti, traumi, ustioni, interventi chirurgici, neoplasie maligne, etc.

5.12. Proteine di fase acuta

Definizione della proteine di fase acuta

Si definiscono proteine della fase acuta tutte le proteine la cui concentrazione plasmatica varia almeno del 25% durante un processo infiammatorio

☞ Le proteine della fase acuta sono prodotte dal fegato

- la sintesi epatica è mediata principalmente da interleuchina-6 (IL-6)
- IL-6 viene liberata nel luogo dell'infiammazione da cellule immunitarie e non-immunitarie, inclusi fibroblasti, macrofagi, cellule epiteliali ed endoteliali
- la produzione di IL-6 è indotta a sua volta da IL- 1 liberata dai macrofagi attivati dai linfociti T *helper* e dal TNF (*tumour necrosis factor*), prodotto anch'esso dai macrofagi

☞ Le proteine plasmatiche che, secondo questi criteri, possono essere incluse tra le proteine della fase acuta sono oggi più di trenta

5.12.1. Principali proteine di fase acuta 

- α1-anti-tripsina
- α1-glicoproteina acida
- α1-anti-chimotripsina
- amiloide A sierica (SAA)
- aptoglobina
- ceruloplasmina
- anti-trombina III
- frazione C3 del complemento
- plasminogeno
- fibrinogeno
- proteina C reattiva (CRP)

5.12.2. Funzioni delle proteine di fase acuta 

☞ Le proteine di fase acuta hanno ruoli e funzioni assai differenti tra loro. Es.:

- l'amiloide A sierica (SAA) è costituita da una famiglia di apo-lipoproteine che si legano alle HDL (*high density lipoproteins*) dopo la loro sintesi ed hanno la capacità di influenzare il metabolismo del colesterolo durante il processo infiammatorio: la persistente produzione di SAA nell'infiammazione cronica può portare allo sviluppo di alcuni tipi di amiloidosi
- alcune proteine di fase acuta (fattori del complemento, CRP) sono opsonine e fattori chemiotattici per neutrofili e macrofagi
- altre proteine di fase acuta (α1-anti-tripsina, α1-anti-chimotripsina) sono anti-proteasi che neutralizzano le proteasi liberate da neutrofili e macrofagi
- altre (fibrinogeno) sono fattori della coagulazione che bloccano le emorragie, contribuiscono ad intrappolare i microrganismi nel focolaio infiammatorio e promuovono la guarigione delle ferite
- altre (aptoglobina, emopessina, ceruloplasmina) sono degli *scavengers* (spazzini) dei residui dei processi distruttivi in quanto hanno azione antiossidante e riducono i livelli dei radicali liberi dell'ossigeno che si liberano dalla reazione infiammatoria
- altre (CPR) promuovono la *clearance* delle particelle estranee e dei detriti, contribuendo ad eliminare materiale che potrebbe fare persistere l'infiammazione e produrre reazioni autoimmunitarie contro antigeni nucleari
- altre (emopessina, ceruloplasmina) sono proteine leganti metalli che prevengono perdite di ferro, rame trasportandolo alle cellule del sistema reticolo endoteliale e sottraendolo così ai batteri

5.12.3. La proteina C-reattiva 

☞ Per le caratteristiche di seguito riportate, la proteina C-reattiva (*C-reactive protein*, CPR) costituisce la proteina plasmatica che meglio si adatta ad una valutazione diretta e quantitativa della risposta della fase acuta; infatti:

- in assenza di infiammazione ha una concentrazione ematica bassa (intorno ad 1mg/dL, e comunque mai superiore a 10 mg/dL), che non dipende né dell'età né da altri fattori individuali
- ha una emivita breve (<24 h) ed una velocità di eliminazione dal sangue costante
- pertanto la sua concentrazione plasmatica dipende esclusivamente dalla entità della sintesi epatica
- il suo aumento si osserva 6-8 h dopo il danno tessutale e procede in maniera esponenziale, raddoppiando ogni 8-9 h e raggiungendo il picco massimo dopo 48 h, con valori anche centinaia di volte superiori a quelli di riferimento
- i livelli rimangono elevati durante la fase acuta e ritornano rapidamente alla normalità con l'esaurirsi del processo infiammatorio
- pochi sono i processi patologici che non producono un incremento (elevato o modico) dei livelli plasmatici di questa proteina

Variazione nel tempo dei livelli plasmatici delle principali proteine della fase acuta

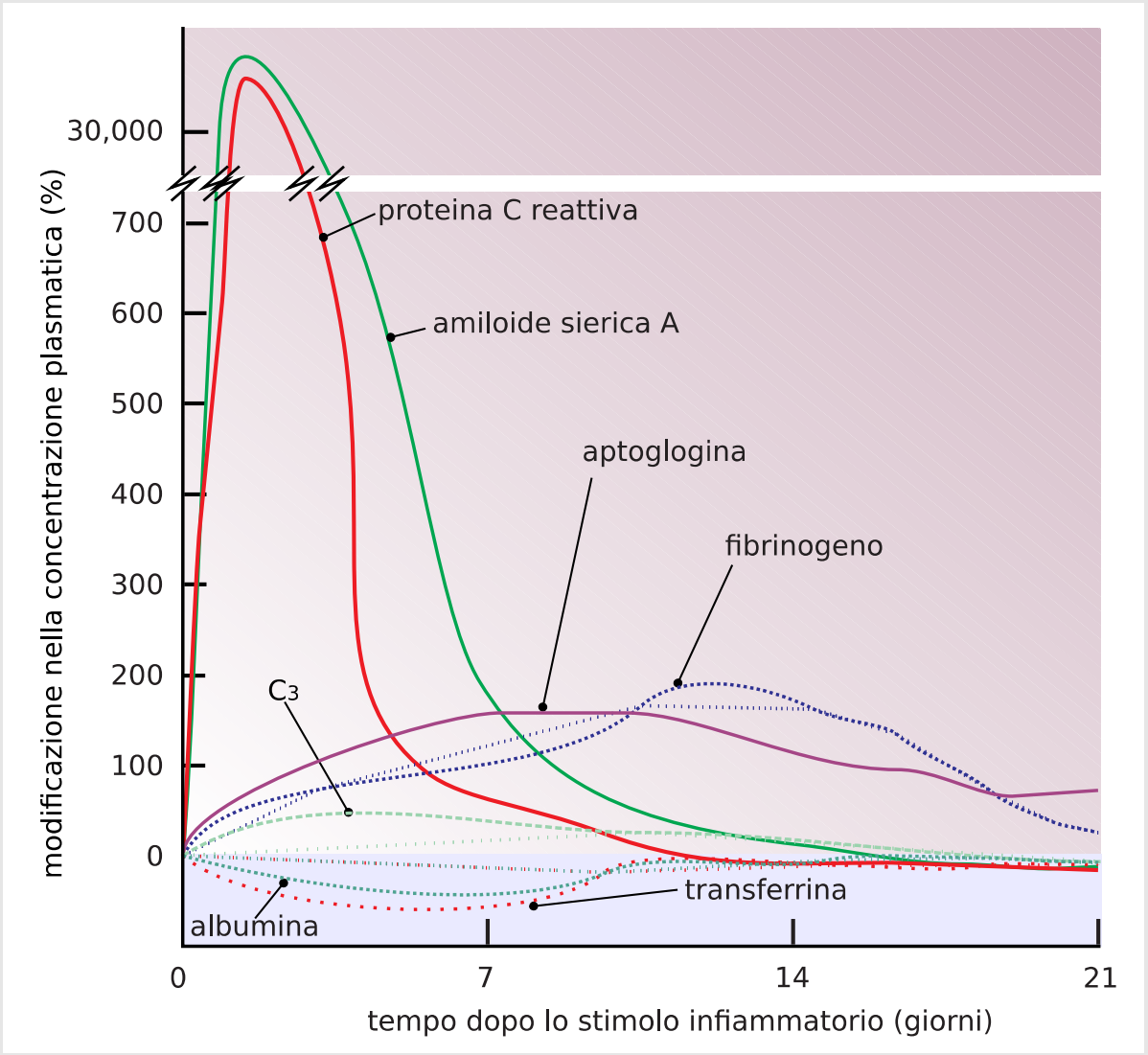


Figura 5.2. Variazione nel tempo dei livelli plasmatici delle principali proteine della fase acuta. Da Barbieri (2012)

Proteine "negative" della fase acuta

Sono state identificate una serie di proteine plasmatiche la cui concentrazione ematica tende a ridursi durante un processo infiammatorio; tali proteine, denominate proteine "negative" della fase acuta, sono costituite da:

- albumina
- trans-tiretina
- α1 fetoproteina
- *retinol binding protein* (proteina che lega il retinolo o vitamina A)
- transferrina
- fattore XII

Il significato della riduzione di queste proteine durante la fase acuta della risposta ed i meccanismi che ne regolano le variazioni plasmatiche non sono stati ancora perfettamente chiariti

5.12.4. VES: VELOCITÀ DI ERITRO-SEDIMENTAZIONE

☞ Quando una colonna di sangue reso incoagulabile viene lasciata in posizione verticale, gli eritrociti sedimentano verso il fondo attratti dalla forza gravitazionale, in quanto la loro densità è superiore a quella del plasma

La VES (velocità di eritro-sedimentazione), misura la velocità di sedimentazione delle emazie nel plasma in cui sono sospese, esprimendola come distanza, in millimetri, tra il livello iniziale del sangue e la parte superiore della colonna di eritrociti sedimentati dopo 1 h

I valori di riferimento della VES sono nei soggetti

- maschi con età inferiore a 50 anni fino a 15 mm/h
- femmine in età fertile fino a 20 mm/h (con un incremento durante il periodo mestruale)

Dopo i 50 anni i valori di riferimento salgono

- maschi fino a 20 mm/h
- femmine fino a 30 mm/h

Legge di Stokes

☞ La velocità di sedimentazione degli eritrociti si può calcolare applicando la legge di Stokes; tale legge si riferisce a particelle ideali sferiche, alle quali possiamo comunque approssimare la morfologia degli eritrociti

$$v = \frac{2}{9} \frac{(\rho_s - \rho_f)}{\eta} g r^2$$

v: velocità di sedimentazione r: raggio delle particelle sferiche ρ_s: densità delle particelle sferiche ρ_f: densità del fluido di sospensione g: accelerazione di gravità η: viscosità del liquido

☞ La VES è quindi direttamente proporzionale alla massa degli eritrociti ed inversamente proporzionale al loro numero e alla viscosità del sangue

Meccanismi di variazione della VES





- In condizioni normali le emazie mostrano una scarsa predisposizione alla aggregazione in quanto le forze che favoriscono la loro coesione (forza di van der Waals) sono superate dalle cariche negative delle membrana cellulare (potenziale Z), che tendono invece alla repulsione
- Alcune delle proteine prodotte dal fegato durante un processo infiammatorio diminuiscono la naturale repulsione elettrica degli eritrociti, favorendone l'aggregazione ed aumentandone la massa e la velocità di sedimentazione
- Le proteine che maggiormente causano aggregazione dei globuli rossi sono il fibrinogeno (per le sue caratteristiche strutturali fortemente asimmetriche e la presenza di cariche positive), le IgM, le IgG ed, in misura minore, tutte le altre globuline, mentre l'albumina e la pre-albumina ritardano l'aggregazione eritrocitaria

5.12.5. Principali condizioni che causano un aumento della VES





L'aumento della VES è fortemente aspecifico: in quanto si può osservare in moltissime condizioni quali:

- infiammazioni
- malattie infettive
- leucemie acute
- affezioni renali
- età >50 anni
- stati febbrili
- tumori maligni
- leucemie croniche
- allergie
- macrocitosi
- anemie
- epatopatie acute
- epatopatie croniche
- dis-protidemie
- gravidanza

Valore clinico della VES 

☞ Essendo strettamente dipendente dalla concentrazione ematica delle proteine della fase acuta

- la VES rappresenta una misura “indiretta” della fase acuta della risposta

Inoltre:

- è poco standardizzata
- è dipendente dall’età del paziente
- è dipendente da parametri eritrocitari (numero e dimensione) e dalla viscosità del sangue
- si modifica con una certa latenza rispetto all’inizio e alla fine della fase acuta
- presenta una ampiezza di valori ristretta

☞ Il valore clinico della VES risiede comunque nel fatto che essa costituisce un metodo semplice ed a buon mercato per la valutazione dei processi infiammatori e di altri processi patologici

Applicazioni cliniche della VES

☞ Nella pratica clinica, la misura della VES viene applicata con tre principali finalità:

- rivelare la presenza di processi infiammatori per i quali esiste già un sospetto o una evidenza clinica
- controllare il decorso o lo stato di attività di una malattia infiammatoria cronica
- individuare condizioni neoplastiche o infiammatorie occulte

☞

- *È estremamente improbabile che una VES alterata possa associarsi ad uno stato di buona salute*

5.13. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Gitlin, J.D., Colten, H.R. (1987) Molecular biology of the acute phase plasma proteins. In: Pick, E., Landis, M. (eds) Lymphokines. Academic Press, Los Angeles, 14, 123-153

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014 *visitato il 25/09/2012* *accessibile il 28/04/2013*







6. Il laboratorio nella valutazione della funzione emostatica

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

6. Il laboratorio nella valutazione della funzione emostatica 1
6.1. Emostasi....3
6.1.1. Bilancio tra attività pro-trombotiche ed anti-trombotiche....4
6.2. Sostanze ad azione anticoagulante....5
6.2.1. Tipi di sostanze anticoagulanti....5
6.3. Diatesi trombotica e diatesi emorragica....6
6.4. Patologia dell'emostasi con diatesi emorragica....7
6.4.1. Piastrinopatie....7
6.4.2. Fattori vitamina K-dipendenti....8
6.4.3. Malattia di von Willebrand ed emofilia....11
6.5. Manifestazioni cliniche associate a deficit dell'emostasi....14
6.6. Malattie emorragiche: anamnesi ed esame obiettivo....15
6.7. Trombofilia....16
6.7.1. Triade di Virchow....17
6.7.2. Stati iper-coagulativi e morte....17
6.7.3. Stati di iper-coagulabilità....18
6.7.4. Associazioni di fattori trombogenici....22
6.8. Valutazione della emostasi primaria e relativi valori di riferimento....23
6.8.1. Tempo di sanguinamento....23
6.8.2. Conteggio delle piastrine....24
6.8.3. Test di adesività piastrinica....24

6.8.4. Test di aggregazione piastrinica....24
6.8.5. Test di aggregazione con ADP....25
6.8.6. Flow chart delle analisi di laboratorio per la valutazione dell'emostasi primaria....26
6.9. Indagini di laboratorio per la valutazione dell'emostasi secondaria 27
6.10. Valutazione della formazione/degradazione della fibrina....30
6.10.1. Indici di intensa attività coagulativa: fibrinopeptidi A e B....31
6.10.2. Indici di fibrinolisi: FDP e D-dimero....31
6.11. Valutazione degli stati di iper-coagulabilità....33
6.12. Farmaci trombolitici....34
6.13. CID (coagulazione intra-vasale disseminata)....35
6.14. Principali fonti utilizzate....41



6.1. Emostasi 

Definizione di emostasi

Il termine emostasi comprende tutti i meccanismi fisiologici che l'organismo mette in atto per evitare perdite di sangue

☞ Grazie alla funzione emostatica l'organismo può fare cessare il sanguinamento di una ferita, pur mantenendo nello stesso tempo la necessaria fluidità del sangue nel compartimento intra-vascolare; un'insufficiente emostasi porta alla emorragia, mentre l'incapacità di mantenere il sangue fluido porta alla trombosi

Attualmente è assai più facile caratterizzare laboratoristicamente i difetti che causano emorragia piuttosto che quelle situazioni, potenzialmente curabili, che predispongono alla trombosi

Definizione di coagulazione

La coagulazione è il processo attraverso il quale il sangue passa, in un organismo vivente, dallo stato liquido allo stato solido

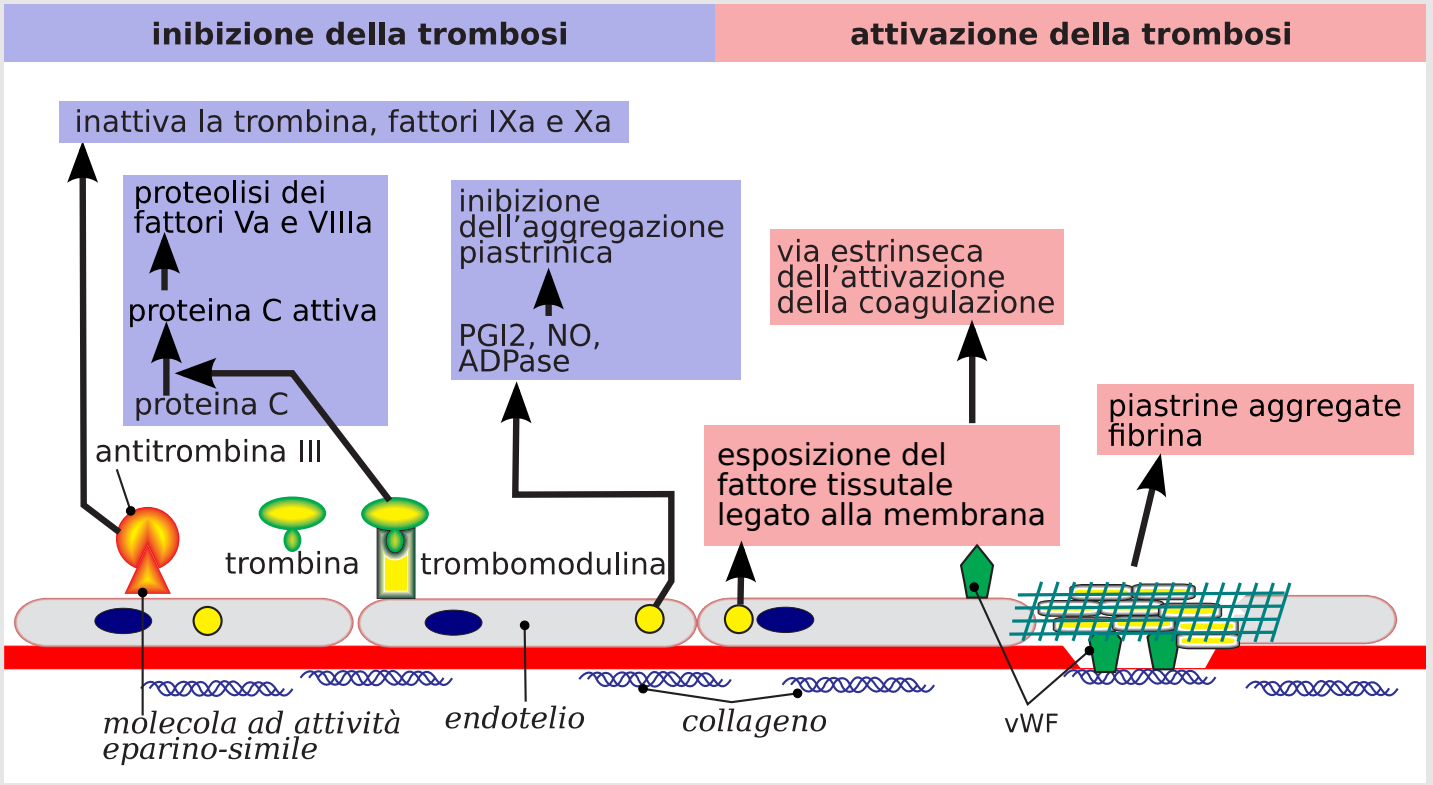
6.1.1. Bilancio tra attività pro-trombotiche ed anti-trombotiche

☞ Il bilancio tra le attività anti-trombotiche e pro-trombotiche dell'endotelio è un fattore critico nel determinare la formazione del trombo, la sua propagazione, la sua dissoluzione

Figura 6.1. Endotelio e trombosi

vWF: fattore di von Willebrand; PG: prostaglandina

Da Barbieri (2012), liberamente tratto da: Cotran (1999)



L'endotelio può essere attivato da:

- agenti infettivi
- fattori emodinamici
- mediatori plasmatici
- citochine

6.2. Sostanze ad azione anticoagulante

6.2.1. Tipi di sostanze anticoagulanti

☞ Al di fuori del circolo il sangue può essere mantenuto liquido rimuovendo tutto il fibrinogeno oppure aggiungendo sostanze anticoagulanti

Si distinguono due gruppi di sostanze ad azione anticoagulante:

- sostanze chelanti il calcio, che di fatto sottraggono il calcio alla cascata coagulativa
- inibitori della trombina

Sostanze chelanti il calcio

Tabella 6.1. Utilizzo delle sostanze chelanti il calcio. VES: velocità di eritrosedimentazione; EDTA: acido etilendiamminotetracetico

sostanza	caratteristiche peculiari	utilizzo	codice colore
citrato	azione reversibile non tossico	trasfusioni determinazione della VES conta delle piastrine quantificazione dei fattori della coagulazione	provetta con tappo blu chiaro
fluoruro di sodio		glicemia	provetta con tappo grigio per glicemia contenente inibitore della glicolisi
EDTA	azione irreversibile soluzione di sali di Na e K	emocromo	provetta con tappo viola/lavanda
eparina	esalta l'attività dell'anti-trombina	non può essere usata per emocromo perché induce aggregati di leucociti e piastrine	provetta con tappo verde

6.3. Diatesi trombotica e diatesi emorragica

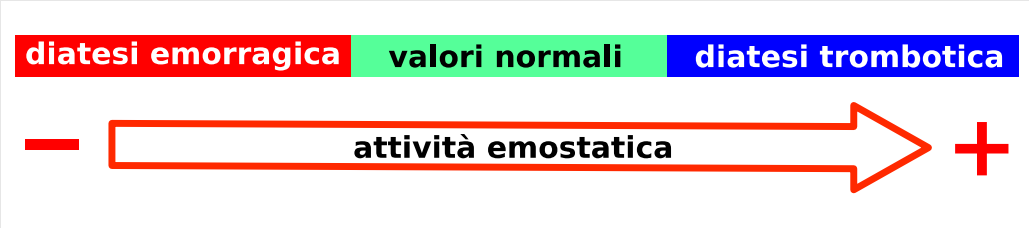


Figura 6.2. Rapporti emostasi/patologie correlate

I sistemi di innesco della coagulazione non sono mai bloccati completamente: hanno una velocità di base in equilibrio con i sistemi di eliminazione dei loro prodotti

Nel caso quindi di diatesi emorragica questa velocità è rallentata; nel caso di diatesi trombotica è aumentata

Da Barbieri (2012)

- la trombosi può essere considerata l'attivazione per causa patologica dei processi emostatici normali, con conseguente formazione di un coagulo intra-vascolare che è esso stesso causa di patologia
- la diatesi emorragica è la incapacità di attivare in modo adeguato i meccanismi dell'emostasi in seguito ad uno stimolo appropriato

6.4. Patologia dell'emostasi con diatesi emorragica

6.4.1. Piastrinopatie

☞ Disturbi congeniti della funzione piastrinica

- *Sindrome di Bernard–Soulier:*
  - autosomica recessiva
  - deficit del recettore Ib/IX (lega il vWF)

con conseguente

- alterata adesione piastrinica

☞
- *Trombo-astenia di Glanzmann:*
  - autosomica recessiva
  - deficit del recettore IIb/IIIa (lega il fibrinogeno)

con conseguente

- deficit di aggregazione

☞
- Storage Pool disease:
  - rara
  - assenza dei granuli densi

6.4.2. Fattori vitamina K-dipendenti

☞ I fattori II, VII, IX e X sono chiamati vitamina K-dipendenti in quanto necessitano della vitamina K per svolgere la loro azione biologica

☞ I fattori vitamina K-dipendenti sono sintetizzati nel fegato

- una carbossilasi vitamina K-dipendente catalizza un'unica modificazione post-traduzionale che aggiunge un secondo gruppo carbossilico a determinati residui di acido glutammico
- a coppie, questi residui di acido carbossi-glutammico legano il calcio
- consentendo ai fattori suddetti di ancorarsi ai fosfolipidi piastrinici carichi negativamente e di poter svolgere, quindi, la loro funzione

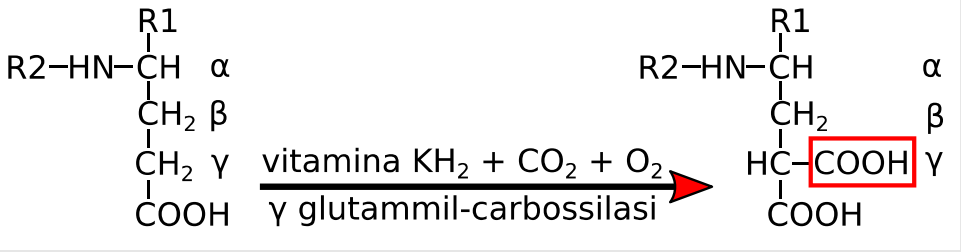
In assenza di vitamina K, i fattori II, VII, IX e X vengono ugualmente sintetizzati dal fegato, ma risultano funzionalmente inattivi

☞ Il deficit di vitamina K produce una sintomatologia emorragica, sebbene anche le proteine inibitrici la cascata coagulativa C ed S siano vitamina K-dipendenti

Carbossilazione dell'acido glutammico

Figura 6.3. Carbossilazione dell'acido glutammico.

La vitamina K agisce da substrato per l'enzima γ-glutammil-carbossilasi che catalizza l'aggiunta di un gruppo carbossilico al carbonio dell'acido glutammico presente nei precursori dei fattori vitamina K dipendenti; R1 e R2 rappresentano gli altri amminoacidi della sequenza



Ciclo della vitamina K

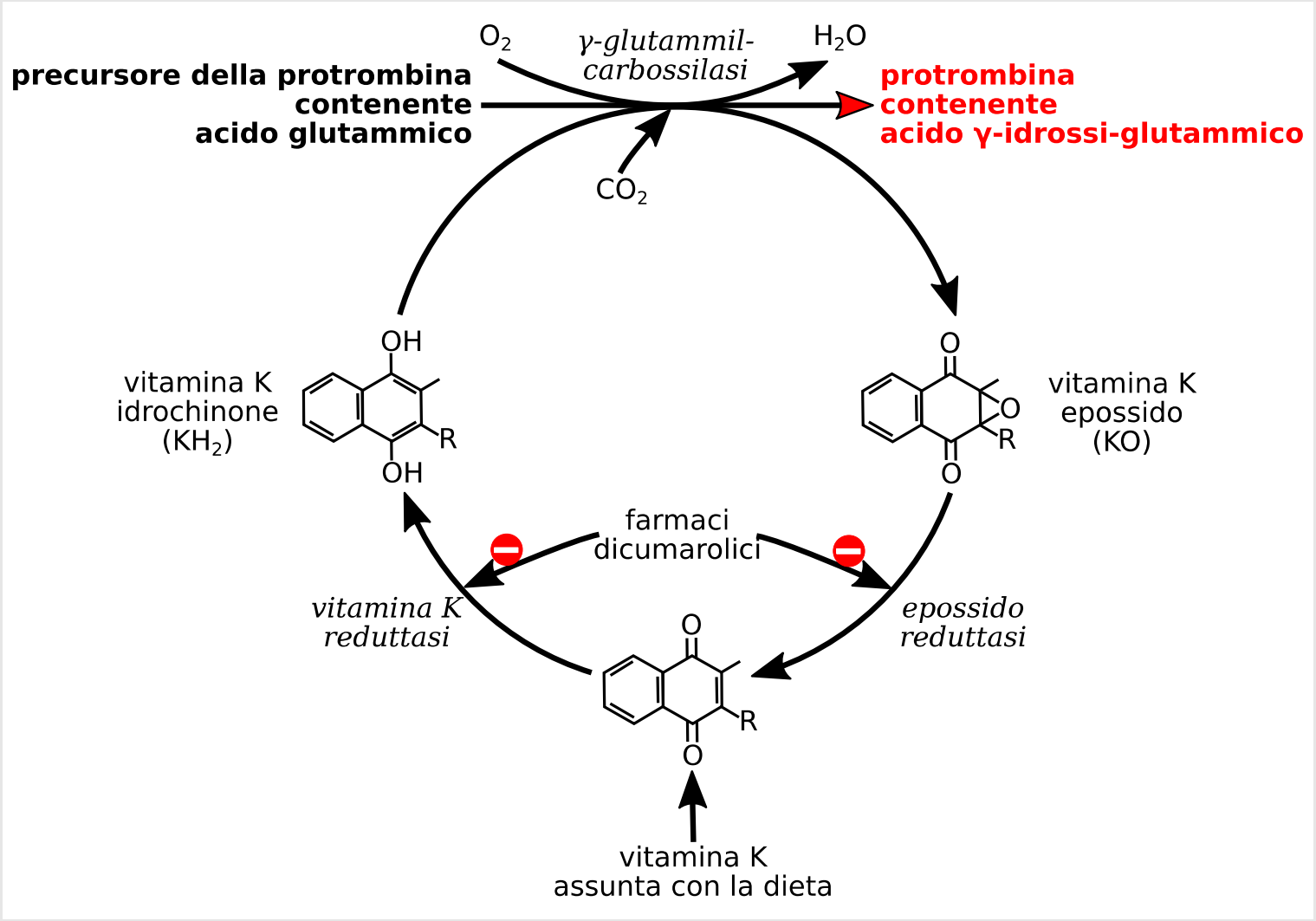


Figura 6.4. Il ciclo della vitamina K

Principali condizioni cliniche associate a deficit dei fattori vitamina K-dipendenti

Tabella 6.2. Deficit di vitamina K

nel neonato	**meccanismo patogenetico**
prematurità	deficit di vitamina K, ridotte riserve, immaturità dei meccanismi di carbossilazione
assunzione di anticoagulanti o anti-convulsivanti da parte della madre	inibizione dell'enzima vitamina K epossido reduttasi
nell'adulto	**meccanismo patogenetico**
deficienza dietetica di vitamina K	malnutrizione, nutrizione parenterale, ridotte riserve in pazienti portatori di malattie croniche e/o epatopatici
ostruzione delle vie biliari	ittero colestatico con ridotta escrezione dei sali biliari e del secreto pancreatico
sindromi da malassorbimento	malattie infiammatorie croniche dell'intestino, fibrosi cistica, sprue tropicale, morbo celiaco, coliti batteriche
epatopatie	difetto di sintesi dei fattori, difetto dei meccanismi di carbossilazione, difetto dell'enzima vitamina K epossido reduttasi, ridotte riserve
pancreatiti acute o croniche	ridotta produzione del secreto pancreatico
assunzione di dicumarolici a scopo terapeutico, suicida o accidentale	inibizione dell'enzima vitamina K epossido reduttasi
terapie antibiotiche protratte	distruzione della flora anaerobica intestinale, inibizione dell'enzima vitamina K epossido reduttasi da parte di alcune cefalosporine
sindrome nefrosica	eliminazione dei fattori per via urinaria

6.4.3. Malattia di von Willebrand ed emofilia

Il Fattore VIII e il Fattore vW

☞ **Il Fattore VIII**

- è una importante proteina della via intrinseca della coagulazione
- è sintetizzato nel fegato dall'endotelio dei sinusoidi e dalle cellule di Kupffer e nel rene dall'endotelio dei glomeruli renali e dall'epitelio tubulare renale
- in circolo è associato a multimeri di vWF formando complessi di elevato PM
- la emivita (12 h) è strettamente dipendente dai livelli di vWF

☞ **Il vWF**

- è prodotto dall'endotelio, dai megacariociti ed è presente nei granuli α delle piastrine
- interagisce con il recettore Ib/IX delle piastrine e con il collagene
- forma multimeri che si complessano al fattore VIII
- favorisce l'adesione e l'aggregazione piastrinica

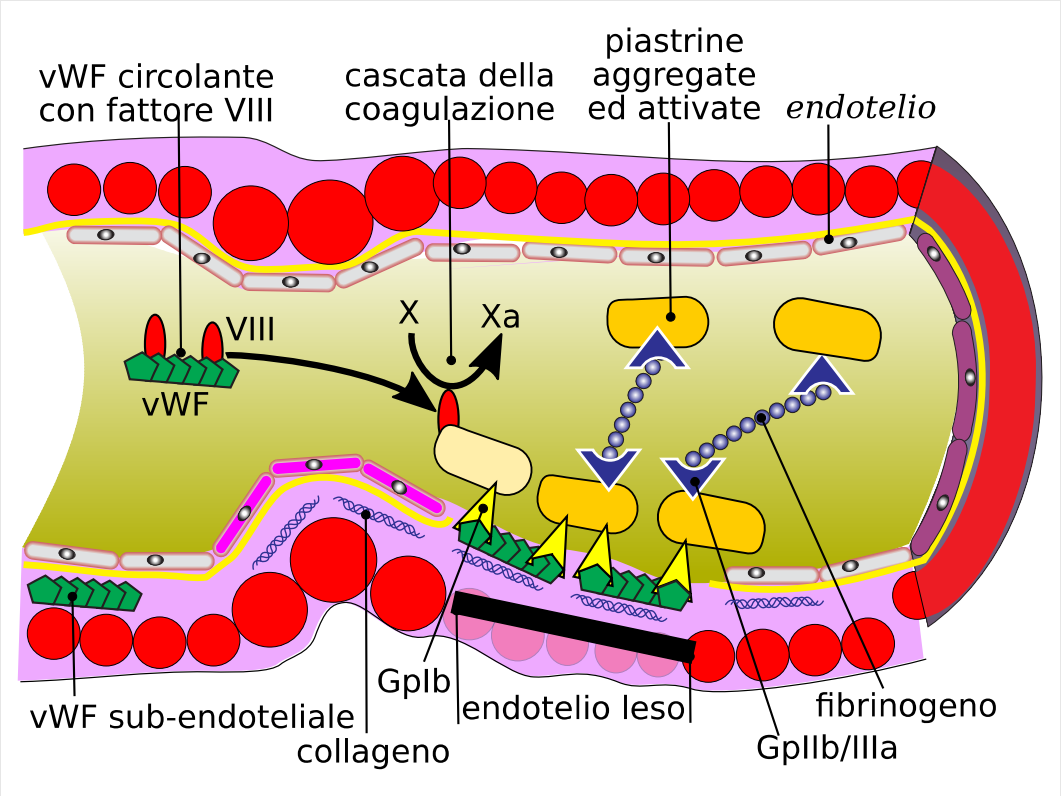


Figura 6.5. Meccanismo d'azione del fattore VIII e del fattore di von Willebrand. vWF: fattore di von Willebrand; Gp: glicoproteina

Malattia di vW (von Willebrand)

☞ Nella malattia di vW le carenze fattoriali portano ad un allungamento dell'aPTT (activated partial thromboplastin time, tempo di tromboplastina parziale attivata)

☞ **Caratteristiche**

- comune (1% della popolazione)
- trasmissione genetica autosomica dominante (95% dei casi)
- deficit quantitativo (75%)
- deficit qualitativo (25%) del vWF

Clinica

- sanguinamento per traumi modesti
- sanguinamento delle mucose
- eccessivo sanguinamento delle ferite
- menorragie

☞ **Malattia di von Willebrand da alterazioni quantitative (tipo I e tipo III)**

Malattia di vW tipo I (classica)

- comune
- autosomica dominante
- deficit quantitativo del vWF per ridotta sintesi
- lieve sintomatologia

Malattia di vW tipo III

- rara
- autosomica recessiva
- deficit quantitativo importante
- sintomatologia grave

☞ **Malattia di von Willebrand da alterazioni qualitative (tipo II)**

- rara
- autosomica dominante
- deficit qualitativo del vWF per alterata sintesi (mutazione non-senso)
- i multimeri non si assemblano correttamente e il legame con il fattore VIII non è funzionale
- il fattore VIII non legato viene degradato
- sintomatologia intermedia

Emofilia

Emofilia A (malattia della regina Victoria)	**Emofilia B (malattia di Christmas)**
comune (1% della popolazione)	rara
X-linked (maschi e femmine omozigoti)	*X-linked* (maschi e femmine omozigoti)
deficit quantitativo e qualitativo del fattore VIII	deficit quantitativo e/o qualitativo del fattore IX
ecchimosi per traumi modesti; emartro; sanguinamento eccessivo post-chirurgico	ecchimosi per traumi modesti; emartro; sanguinamento eccessivo post-chirurgico
allungamento del aPTT; dosaggio della proteina	allungamento del aPTT; dosaggio del singolo fattore
terapia con fattore VIII ricombinante	terapia con fattore IX ricombinante



Figura 6.6. La regina Victoria. Immagine di public domain

6.5. Manifestazioni cliniche associate a deficit dell'emostasi



☞ Le conseguenze cliniche di deficit dell'emostasi possono andare da trascurabili a intrattabili con esito infausto

- petecchie: piccole emorragie capillari della cute e delle mucose con diametro di circa 1-2 mm di colorito rosso violaceo, frequenti nelle zone dove maggiore è la pressione idrostatica o dove c'è pressione o frizione esterna (piastrino-penia)
- porpore: emorragie con diametro 3 mm costituite da un insieme di petecchie (vasculite)
- ecchimosi: versamenti emorragici sottocutanei di diametro tra 1 e 2 cm, inizialmente di colore rosso-blu, poi verde-blu e quindi giallo-oro, mano a mano che l'emoglobina si degrada
- ematomi: versamenti emorragici profondi che spesso dissecano le fasce muscolari; possono avere esiti clinicamente insignificanti (lividi) così come gravissimi, finanche mortali (versamento retro-peritoneale da dissecazione di un aneurisma dell'aorta)
- versamenti ematici in cavità dell'organismo: emotorace, emopericardio, emoperitoneo, emartro
- sanguinamenti da determinati distretti dell'organismo: gengivorragia, epistassi (emissione di sangue dal naso), ematemesi (emissione di sangue con il vomito), melena (emissione di sangue con le feci), ematuria, menorragia (sanguinamento mestruale eccessivo) e metrorragia (sanguinamento al di fuori della fase mestruale)

6.6. Malattie emorragiche: anamnesi ed esame obiettivo 

Tabella 6.3. Malattie emorragiche: anamnesi ed esame obiettivo

	deficit dell'emostasi primaria	deficit dell'emostasi secondaria
petecchie	caratteristiche	rare
ecchimosi	piccole e numerose	grandi
ematomi profondi	rari	caratteristici
emartri (sangue negli spazi sinoviali)	rari	caratteristici
sanguinamento da ferita	immediato e profuso cessa in seguito all'applicazione di una pressione locale	ritardato e modesto riprende dopo rimozione di una pressione locale
sesso	più comune nelle femmine	più comune nei maschi
ereditarietà	rara	frequente

6.7. Trombofilia 

Definizione di trombofilia

Per trombofilia si intende una condizione clinica in cui il paziente, di età inferiore ai 45 anni, dimostra una inusuale predisposizione al trombo-embolismo artero-venoso ed una tendenza alle recidive, anche in assenza di cause scatenati evidenti; tale condizione viene anche chiamata stato iper-coagulabile o di iper-coagulabilità

6.7.1. Triade di Virchow

Tre principali fattori (triade di Virchow) predispongono alla formazione della trombosi:

- danno all'endotelio
- stasi o turbolenza del flusso ematico
- iper-coagulabilità (trombofilia) del sangue (aumento della velocità di base della cascata proteasica della coagulazione)

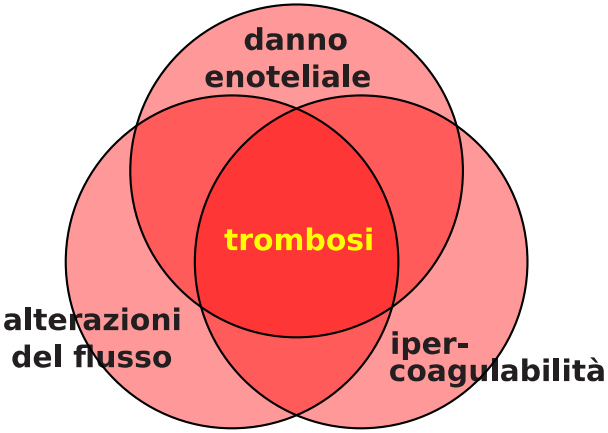


Figura 6.7. Triade di Virchow

Da Barbieri (2012)

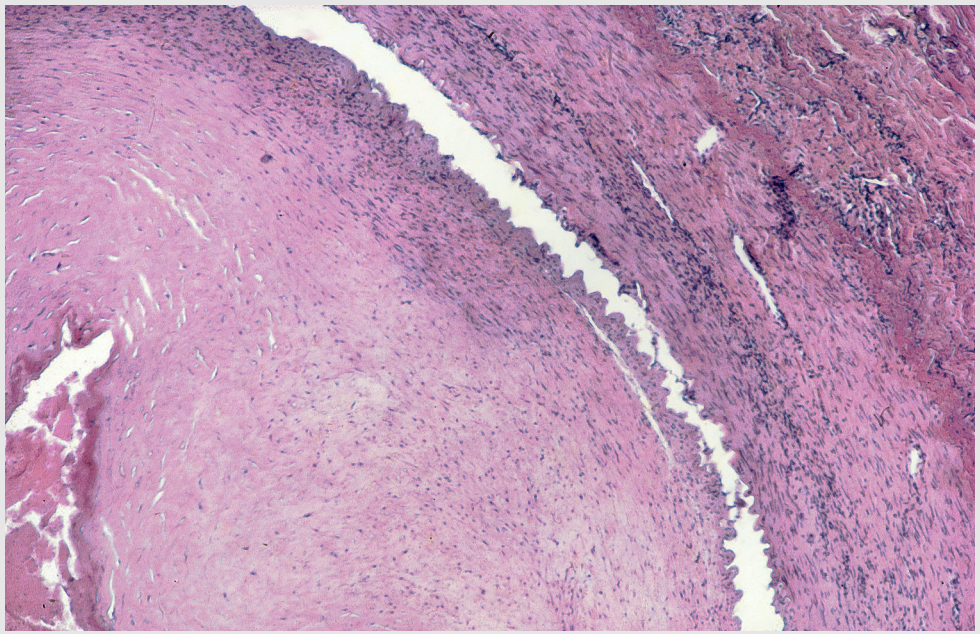


Figura 6.8. Trombosi in un'arteria. La parte esterna è già parzialmente organizzata. Verso il centro il trombo è ancora giovane

Dalla collezione Eugenio Bonetti, Istituto di Patologia generale dell'Università di Bologna

Da Barbieri (2012)

6.7.2. Stati iper-coagulativi e morte

☞ Gli stati di iper-coagulabilità hanno un rilevanza clinica importante: studi post-mortem eseguiti su pazienti ospedalizzati hanno infatti indicato che che il trombo-embolismo rappresenta il 10% delle cause di morte ed è una concausa in un ulteriore 15% dei casi

6.7.3. Stati di iper-coagulabilità 

Difetti degli anticoagulanti naturali anti-trombina, proteina C e proteina S

☞ I difetti ereditari degli inibitori naturali della coagulazione (anti-trombina, proteina C e proteina S) determinano uno stato di iper-coagulabilità e predispongono i pazienti alla trombosi

☞ il deficit di uno di questi fattori anticoagulanti è documentabile nel 6-7 % dei pazienti con trombosi, con una prevalenza nella popolazione generale inferiore allo 0,5 %

Queste condizioni

- sono ereditate come tratti autosomici dominanti a penetranza variabile
- lo stato di omozigosi è incompatibile con la sopravvivenza
- mentre i soggetti eterozigoti presentano una riduzione del 50% della proteina interessata, o una mescolanza di molecole normali e mutate

La presentazione clinica è simile in tutti i casi ed è caratterizzata da:

- anamnesi famigliare fortemente positiva per trombosi
- episodi ricorrenti di trombo-embolismo
- sintomi che iniziano intorno ai 20 anni

Mutazioni del gene del fattore V

- In una percentuale di pazienti di razza bianca variabile tra il 2 ed il 15% si riscontra una mutazione del gene che codifica per il fattore V; tale mutazione è detta di Leiden dalla città Olandese in cui è stata identificata per la prima volta
  - La mutazione (G1691A) determina la sostituzione della arginina con la glutammina in posizione 506 ed abolisce un sito di clivaggio della proteina C nel fattore V, prolungando in questo modo l'effetto trombogenico del fattore V e determinando, pertanto, uno stato di iper-coagulabilità
- Il soggetti eterozigoti hanno un rischio relativo di trombosi 3 volte superiore a quello della popolazione che non presenta la mutazione, mentre nei soggetti omozigoti (2% circa dei pazienti affetti) il rischio è da 50 a 80 volte superiore
- Il fattore V di Leiden renda conto del 25% dei pazienti con trombosi venosa profonda ricorrente o embolia polmonare

Mutazioni del gene della protrombina

- Il rischio di trombosi venosa profonda risulta essere aumentato anche in pazienti con un specifica mutazione puntiforme nel gene della protrombina. La prevalenza della mutazione nella popolazione generale oscilla tra l'1 ed il 2%; i soggetti eterozigoti hanno un rischio relativo di trombosi venosa 2,8 volte superiore a quello che si riscontra nella popolazione che non presenta la mutazione: essi rappresentano circa il 18% dei pazienti con storia familiare di trombosi venosa e il 6% dei pazienti con un primo episodio di trombosi venosa profonda
  - La mutazione più comune consiste nella conversione di G in A in posizione 20210 (G20210A)
  - La mutazione si localizza nella regione 3' non tradotta (3'UT) del gene, e determina un aumento del 30% dei livelli plasmatici di protrombina attraverso una traduzione più efficiente o una maggiore stabilità dell'mRNA

Iper-omocisteinemia

☞ L'omocisteina è un amminoacido solforato che deriva dalla demetilazione della metionina

L'omocisteina viene poi

- rimetilata formando metionina
- trans-solforata a costituire cisteina

La trasformazione dell'omocisteina avviene ad opera di tre enzimi la cui funzione è condizionata dall'acido folico e dalle vitamine B_6 e B_{12}

☞ L'innalzamento dei livelli plasmatici di omocisteina, conseguente ad un blocco delle vie di trasformazione, è associato ad una aumentata incidenza di aterosclerosi e di trombosi venosa

L'iper-omocisteinemia contribuisce:

- alla aterosclerosi attraverso un effetto tossico sulle cellule endoteliali e l'ossidazione delle LDL
- alla trombosi venosa inducendo la liberazione del fattore tessutale da parte dei monociti ed inibendo l'espressione e l'attività della trombomodulina

Circa il 10% dei pazienti con trombosi hanno aumentati livelli ematici di omocisteina, condizione che si riscontra nel 4,8% della popolazione

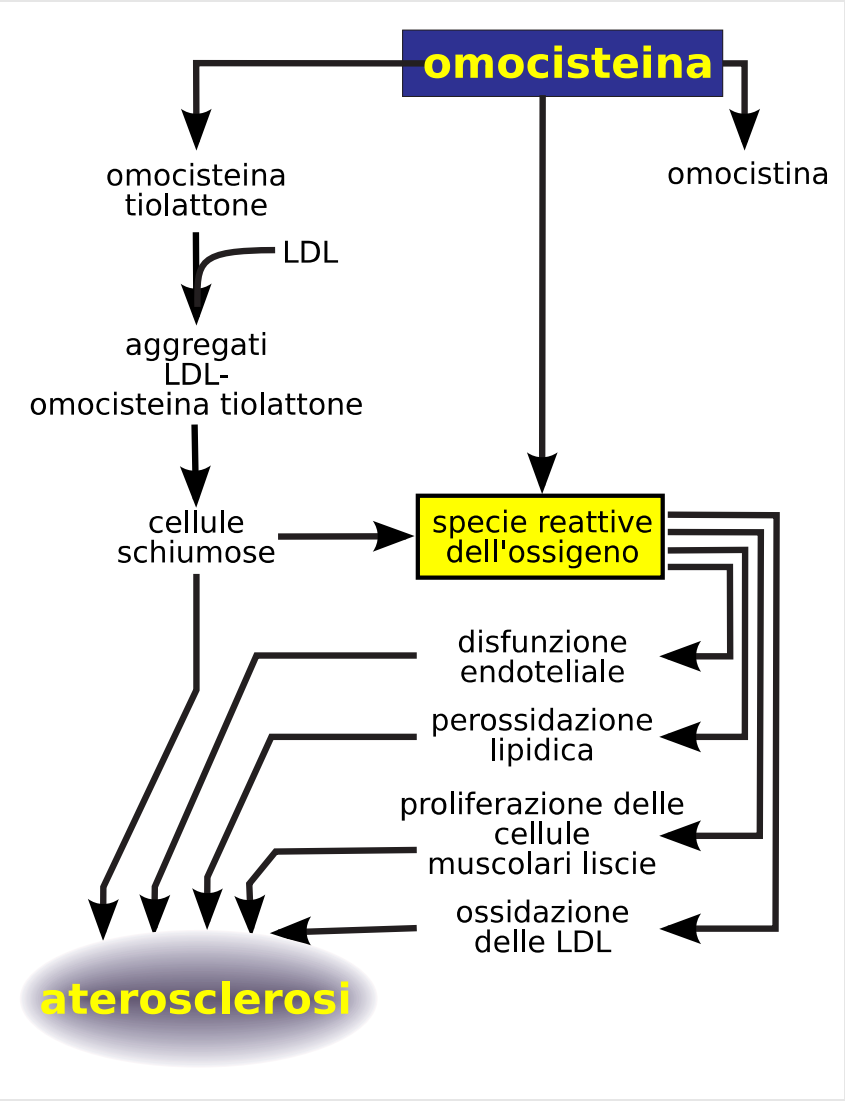


Figura 6.9. Omocisteina ed aterosclerosi. Da Barbieri (2012) liberamente tratto da Ross (1999)

Sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi

☞ La sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi (APS, *anti-phospholipid syndrome*) è una condizione acquisita caratterizzata da

- episodi di trombosi arteriosa e (più frequentemente) venosa
- perdita fetale ricorrente
- piastrinopenia

Può essere

- primitiva
- secondaria ad una malattia autoimmune sistemica (solitamente il lupus eritematoso sistemico)

☞ Responsabili sono un gruppo di auto-anticorpi detti anticorpi anti-fosfolipidi

Gli anticorpi anti-fosfolipidi

- sono immunoglobuline appartenenti alle classi IgG o IgM dirette contro complessi proteici-fosfolipidici di varia natura e sono capaci di interferire con il normale processo di coagulazione del sangue
- I bersagli più comuni sono la β2-glicoproteina I (apo-lipoproteina H) e la cardiolipina

---

☞ La APS ha un ampio impatto sanitario:

- l'incidenza della APS nella popolazione di razza bianca è del' 1-2%
- i pazienti con anticorpi anti-fosfolipidi hanno un rischio di trombosi ricorrenti dal 22 al 69% più alto rispetto ai pazienti che non presentano gli auto-anticorpi

---

6.7.4. Associazioni di fattori trombogenici

☞ Dal punto di vista epidemiologico è importante ricordare la spesso evidente coesistenza, nello stesso paziente, di più fattori trombogenici

In questi casi, il rischio di trombosi è molto più che additivo

- es.: se il fattore V di Leiden è associato al deficit di anti-trombina, di proteina C o di proteina S, l'incidenza di trombosi venose ricorrenti diventa, rispettivamente, il 92%, il 73% ed il 72%
- es.: se uno dei fattori precedentemente descritti si associa ad un'altra condizione predisponente la trombosi, quale la gravidanza, l'assunzione di contraccettivi orali, la terapia estrogenica sostitutiva, la presenza di una neoplasia, l'immobilità o il decorso post-operatorio, il rischio di trombosi aumenta in maniera molto significativa

6.8. Valutazione della emostasi primaria e relativi valori di riferimento

- tempo di sanguinamento: 10 minuti (nei soggetti normali tra 3-6 minuti)
- conteggio delle piastrine: 150,000–400,000 per µL
- *test* di adesività piastrinica: >70%
- *test* di aggregazione piastrinica: confronto dei tracciati di trasmittanza con quelli ottenuti su piastrine normali

6.8.1. Tempo di sanguinamento

Il tempo di sanguinamento (o di emorragia) viene determinato (metodo di Ivy)

- effettuando una piccola incisione superficiale sulla rete capillare della faccia volare dell'avambraccio
- in una zona pulita, esente da malattie della pelle e lontano dalle vene superficiali
- mantenendo una pressione venosa costante di 40 mmHg con uno sfigmomanometro
- cronometrando la durata della fuoriuscita del sangue dalla ferita

Il test viene eseguito in maniera accuratamente standardizzata provocando una incisione di profondità e lunghezza costante con una lama calibrata o con un bisturi automatico: i pazienti con un tempo di sanguinamento superiore ai 10 minuti presentano un rischio emorragico aumentato

6.8.2. Conteggio delle piastrine

- 150,000-400,000/µL: valori di riferimento
- >100,000/µL: i pazienti sono asintomatici e il tempo di sanguinamento rimane nella norma
- 50,000-100,000/µL: il tempo di sanguinamento è lievemente allungato, ma senza alcuna sintomatologia emorragica
- <50,000/µL: il tempo di sanguinamento è allungato; si osservano porpore cutanee dopo traumi minimi e sanguinamenti a livello mucoso in seguito a piccoli interventi chirurgici
- <20,000/µL: notevole rischio di sanguinamenti spontanei intra-cranici e in altri sede interne

6.8.3. *Test* di adesività piastrinica

Il *test* di adesività piastrinica misura la capacità delle piastrine di aderire ad una superficie estranea; viene effettuato facendo passare il sangue, spinto da una pompa a perfusione continua, attraverso un tubicino di plastica contenente microsfere di vetro e determinando il numero di piastrine trattenute rispetto a quelle presenti nel sangue dello stesso paziente non trattato

Il risultato viene espresso in percentuale di piastrine trattenute; i valori normali sono tra 70 e 98%

6.8.4. *Test* di aggregazione piastrinica

L'aggregazione piastrinica può essere valutata in laboratorio mettendo a contatto un plasma ricco di piastrine con sostanze di cui è nota la capacità di indurre aggregazione; le sostanze utilizzate a questo scopo sono il collageno, l'adrenalina e la trombina (che agiscono inducendo il rilascio di ADP dalle piastrine), oppure direttamente l'ADP

- L'entità della aggregazione viene quantificata misurando la variazione di torbidità della soluzione dopo aggiunta delle sostanze aggreganti utilizzando un aggregometro, strumento capace di registrare in continuo le variazioni della trasmissione ottica (trasmittanza) di un campione mantenendolo a temperatura costante e in delicata agitazione

6.8.5. *Test* di aggregazione con ADP

☞ L'ADP induce aggregazione piastrinica modificando la conformazione del complesso glicoproteina IIb/glicoproteina IIIa rendendolo così in grado di legare il fibrinogeno; l'aggregazione piastrinica indotta dall'ADP dipende quindi dalla normale presenza, oltre che del fibrinogeno, delle glicoproteine IIb e IIIa

La mancata aggregazione *in vitro* dopo aggiunta di ADP è tipica della malattia di Glanzmann

Test di aggregazione con ristocetina

☞ L'antibiotico ristocetina attiva *in vitro* i recettori piastrinici Gp1b (glicoproteina 1b) per il vWF (fattore di Von Willebrand), producendo una aggregazione piastrinica che presuppone la presenza sia del vWF sia della glicoproteina 1b

Risposte anomale alla ristocetina (mancata aggregazione) si avranno caratteristicamente in pazienti con:

- malattia di von Willebrand
- malattia di Bernard-Soulier

La diagnosi differenziale si ottiene aggiungendo al campione di sangue del paziente il plasma di un soggetto normale (contenente il vWF):

- in caso di malattia di Bernard-Soulier non si avrà aggregazione
- mentre si osserverà una normale aggregazione in caso di malattia di von Willebrand

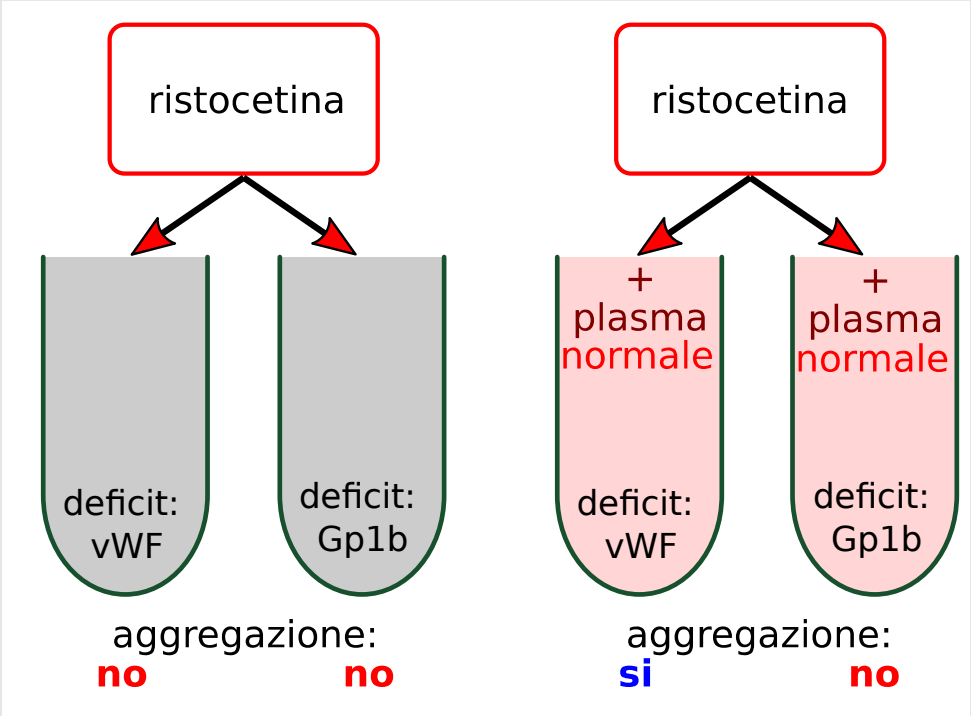


Figura 6.10. Il test *alla ristocetina*

6.8.6. *Flow chart* delle analisi di laboratorio per la valutazione dell'emostasi primaria

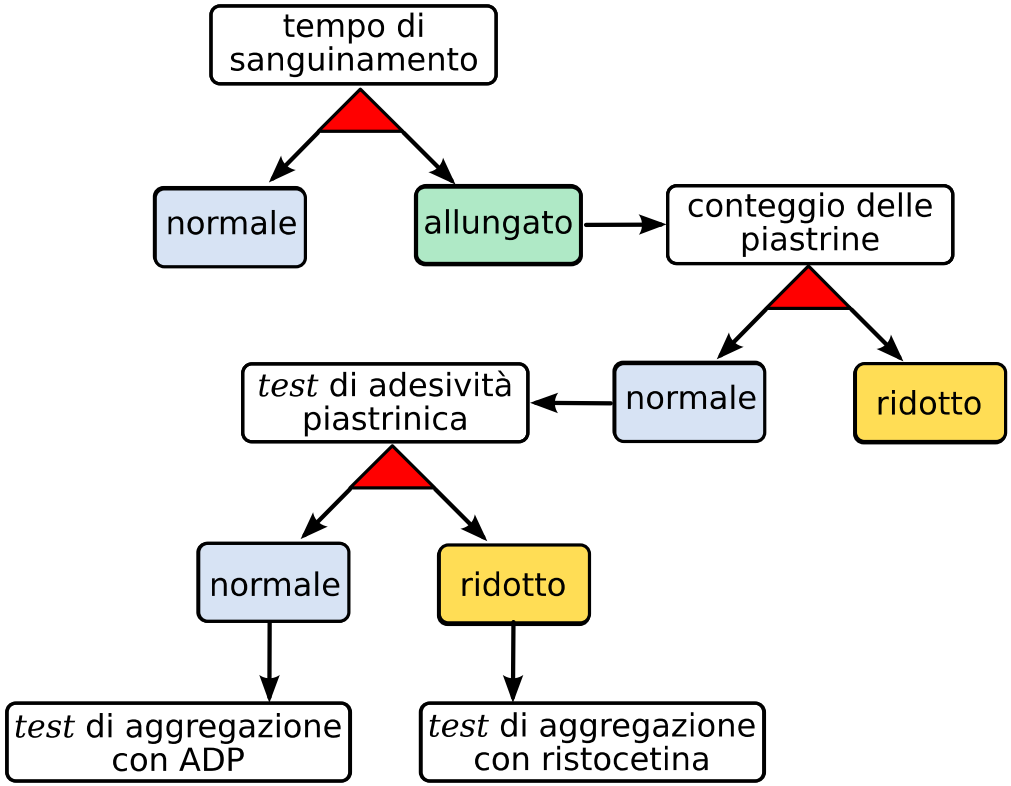


Figura 6.11. Flow chart *delle analisi di laboratorio per la valutazione dell'emostasi primaria*

6.9. Indagini di laboratorio per la valutazione dell'emostasi secondaria

☞
- valutazione dell'aPTT (tempo di tromboplastina parziale attivata)
- valutazione del PT (tempo di protrombina o tempo di Quick)

Tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT)

☞ Questo *test* valuta l'efficacia della via intrinseca e comune della coagulazione (fattori I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII, HMWK e PK)

Si esegue aggiungendo al plasma-citrato del paziente agenti attivanti (caolino), una emulsione di fosfolipidi (sostituti piastrinici) e ioni calcio, e cronometrando il tempo necessario alla formazione del coagulo

I valori sono normalmente espressi in secondi (valori normali tra 28 e 40 secondi) o come rapporto (*ratio*) tra il tempo del plasma in esame e quello di un campione di plasma normale di controllo

Tempo di protrombina (PT) o tempo di Quick

☞ Questo *test* valuta l'efficacia della via estrinseca e comune della coagulazione (fattori I, II, V, VII e X)

Si esegue aggiungendo al plasma-citrato del paziente tromboplastina tessutale e ioni calcio, e cronometrando il tempo necessario alla formazione del coagulo

I valori sono normalmente espressi in secondi (valori normali tra 11 e 13 sec) o come rapporto (ratio) tra il tempo del plasma in esame e quello di un campione di plasma normale di controllo

Test di complementazione

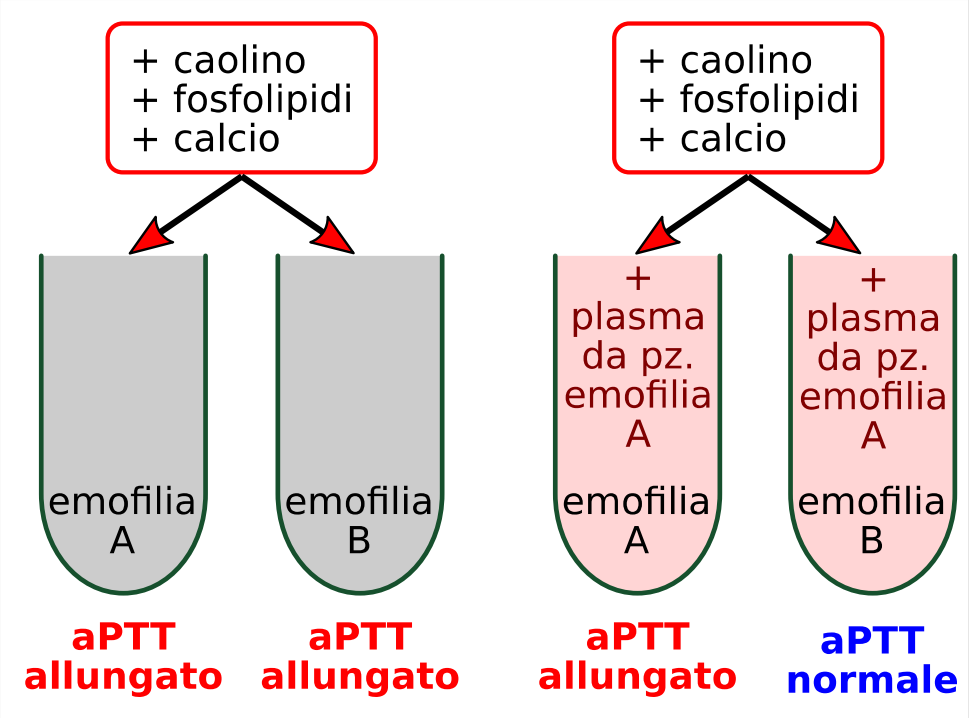


Figura 6.12. Test *di complementazione*

PT e aPTT nella terapia anticoagulante

☞ La terapia anticoagulante con eparina associata ad antagonisti della vitamina K per via orale (farmaci dicumarolici) rappresenta il trattamento standard delle trombosi venose acute e delle embolie polmonari

I dosaggi dei farmaci anticoagulanti vengono definiti sulla base delle variazioni indotte sui tempi di coagulazione:

- l'aPTT permette l'ottimizzazione dell'impiego della eparina
- il PT viene utilizzato per monitorare il trattamento con farmaci dicumarolici

Sistema INR

☞

INR = (PTpaziente / PTcontrollo) ISI

Per ottenere una migliore standardizzazione della terapia con antagonisti della vitamina K è stato adottato il sistema INR (*international normalized ratio*) che prevede che

- il PT ratio sia corretto per la sensibilità della tromboplastina determinata sulla base dell' ISI (*International Sensitivity Index)*

I valori attesi di INR sono

- paziente normale: 1-1.3
- durante terapia con warfarin: 2-3

Comparazione tra i *test* sulla coagulazione

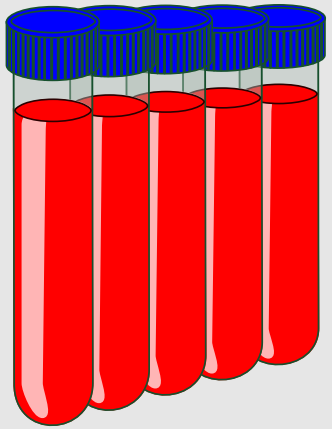
Sangue da un singolo paziente	reagente tromboplastinico	PT del paziente	PT medio dei rif. normali	PTR	ISI	INR
		(sec)	(sec)			
	A	16	12	1,3	3,2	2,6
	B	18	12	1,5	2,4	2,6
	C	21	13	1,6	2	2,6
	D	24	11	2,2	1,2	2,6
	E	38	14,5	2,6	1	2,6

Figura 6.13. Provette da test *coagulativo*

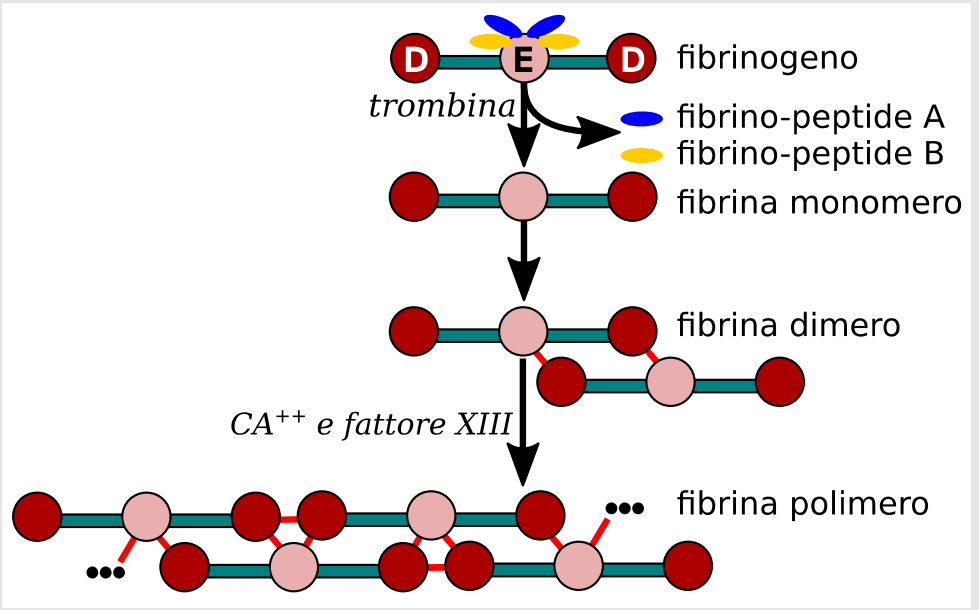
6.10. Valutazione della formazione/degradazione della fibrina

☞ Le principali indagini di laboratorio sulla formazione/degradazione della fibrina sono:

- determinazione dei fibrino-peptidi A e B
- dosaggio dei prodotti di degradazione della fibrina e del fibrinogeno (FDP, *fibrin degradation products*)
- dosaggio del D-dimero

Figura 6.14. Formazione della fibrina

Il fattore XIII (FSH: fibrin stabilizing factor*) e gli ioni calcio stabilizzano i polimeri di fibrina con formazione di legami covalenti tra due dominii D adiacenti e tra i dominii D ed E*



6.10.1. Indici di intensa attività coagulativa: fibrinopeptidi A e B

☞
- I fibrinopeptidi A e B (FpA e FpB) si producono in seguito all'azione proteolitica della trombina sul fibrinogeno
- la molecola residua (monomero di fibrina) va incontro a polimerizzazione
- in presenza del fattore XIII, produce un coagulo stabilizzato

☞ L'aumento nel siero dei FpA e FpB è indice di una intensa attività coagulativa

Attualmente sono disponibili immuno-dosaggi molto sensibili sia per il FpA sia per il FpB, anche se più comunemente viene dosato il solo FpA

6.10.2. Indici di fibrinolisi: FDP e D-dimero

☞ I parametri di laboratorio che vengono utilizzati per la valutazione del sistema fibrinolitico sono rappresentati dal dosaggio di
- FDP (*fibrinogen degradation products*, prodotti di degradazione del fibrinogeno)
- D-dimero

☞ Gli FDP derivano dall'azione della plasmina indistintamente sul fibrinogeno, sul monomero di fibrina e sul polimero di fibrina instabile

☞ Il dominio D-dimero è invece un prodotto specifico della degradazione operata dalla plasmina sulla fibrina stabilizzata dal fattore XIII in quanto non è presente né nella molecola originale del fibrinogeno, né nei suoi prodotti di degradazione, né nella fibrina solubile

Uso degli indici di fibrinolisi nella pratica clinica

☞ La determinazione degli indici di laboratorio di fibrinolisi, in particolare del D-dimero, sta diventando uno strumento molto diffuso per

- la diagnosi delle trombosi
- il monitoraggio della terapia trombolitica

☞ Livelli elevati di D-dimero si riscontrano in condizioni patologiche quali

- la trombosi profonda venosa
- l'embolia polmonare
- la coagulazione intra-vasale disseminata (CID)

e in condizioni fisiologiche come

- la normale gravidanza

☞ Una concentrazione di D-dimero al di sotto del valore soglia riscontrato in pazienti a rischio trombotico ha un alto valore predittivo negativo

6.11. Valutazione degli stati di iper-coagulabilità



☞ I principali test per la valutazione degli stati di iper-coagulabilità sono:

- determinazione della attività degli anticoagulanti naturali anti-trombina, proteina C e proteina S
- ricerca delle mutazioni del gene del fattore V
- ricerca delle mutazioni del gene della protrombina
- determinazione dei livelli ematici di omocisteina
- ricerca di anticorpi anti-fosfolipidi, anti-trombina, anti-proteina C e anti-proteina S

6.12. Farmaci trombolitici

☞ I principali farmaci trombolitici attuano la conversione del plasminogeno in plasmina accelerando così la dissoluzione del trombo

- streptochinasi
- urochinasi
- attivatore tissutale del plasminogeno ricombinante
- altri

☞ Applicazioni (massimo beneficio entro 4 ore):

- infarto del miocardio
- *stroke* (*ictus* ischemico)
- embolia polmonare massiva
- ischemia di arto

6.13. CID (coagulazione intra-vasale disseminata)



☞ La CID , nota anche come coagulopatia da consumo o sindrome da defibrinazione, è una alterazione trombo-emorragica provocata dalla attivazione sistemica della cascata coagulativa che porta simultaneamente

- alla formazione intravascolare di trombi
- all'esaurimento delle piastrine e dei fattori della coagulazione

☞ La CID può quindi manifestarsi con segni e sintomi di

- ipossia dei tessuti
- infarti causati dai microtrombi
- malattia emorragica dovuta alla deplezione dei fattori richiesti all'emostasi

La presentazione clinica può variare in misura notevole, e ciò può rendere difficoltosa l'identificazione delle strategie diagnostiche e terapeutiche adeguate

☞ La CID è associata a diffusi danni delle cellule endoteliali (con attivazione, oltre che della via estrinseca, anche delle piastrine e della via intrinseca della coagulazione)

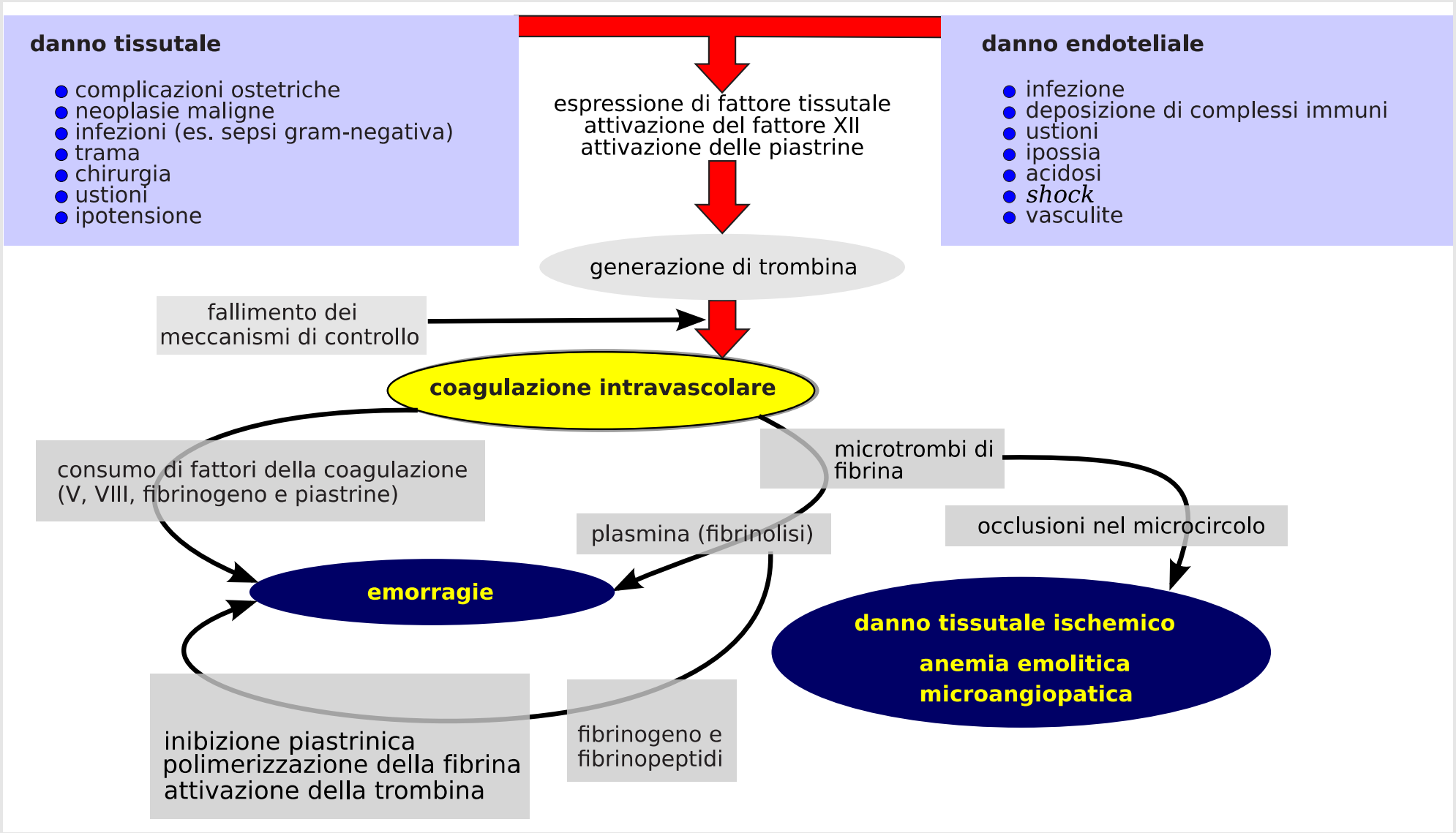


Figura 6.15. Patogenesi della coagulazione intra-vascolare disseminata (CID). Da Barbieri (2012)

Eziologia

☞ La CID è sempre secondaria ad una condizione patologica che attiva la cascata coagulativa a qualsiasi livello

- attivazione piastrinica
- attivazione della via intrinseca
- attivazione della via estrinseca
- deficit dei meccanismi di inibizione (anti-trombina III, proteina C, proteina S)

☞ Nella pratica clinica, le cause più frequenti di CID sono comunque rappresentate dal massivo rilascio in circolo del fattore tessutale e da diffusi danni delle cellule endoteliali

CID da liberazione di fattore tessutale (attivazione della via estrinseca della coagulazione)

☞ incidenti ostetrici:	distacco di placenta embolia di liquido amniotico ritenzione di feto morto aborto nel secondo trimestre di gravidanza
neoplasie epiteliali	carcinomi del polmone, del pancreas, del colon e dello stomaco
neoplasie ematologiche	leucemia pro-mielocitica acuta
danno tissutale esteso	ustioni congelamenti traumi ferite d’arma di fuoco
sepsi da batteri gram-negativi	endotossina
embolia adiposa	
emolisi intravascolare acuta	trasfusione di sangue incompatibile interventi in circolazione extra-corporea malaria emoglobinuria parossistica notturna

CID da diffusi danni alle cellule endoteliali (attivazione delle vie estrinseca ed intrinseca della coagulazione e delle piastrine)

☞	immuno-complessi circolanti	LES (lupus eritematoso sistemico)
	Infezioni batteriche	meningococco, rickettsie
	Infezioni virali	arbovirus, varicella, vaiolo, rosolia
	colpo di calore, ustioni	in particolare settico
	shock	
	vasculiti	
	anossia	
	acidosi	

CID da immissione in circolo di sostanze ad azione diretta

☞	veleni da serpente	il veleno della vipera Russel attiva direttamente il fattore X altri veleni attivano il fattore II
	pancreatiti acute	la tripsina attiva direttamente i fattori X e II

CID: forme cliniche

forme acute	quadro clinico dominato da ● manifestazioni emorragiche, a volte imponenti
forme sub-acute	quadro clinico caratterizzato da ● sintomi ischemici a carico di vari organi (cervello, cute, rene, polmone, intestino) conseguenti alla trombosi del microcircolo ● e/o da emorragie di lieve entità conseguenti al consumo di fattori della coagulazione
forme croniche	quadro clinico silente ● l'attivazione della coagulazione è documentabile solo in base ai dati di laboratorio tali forme possono scompensarsi dando luogo a sindromi acute o sub-acute

CID: diagnosi di laboratorio

Indici di attivazione del sistema della coagulazione e del sistema fibrinolitico	● aumento dei fibrinopeptidi A e B ● aumento degli FDP ● aumento del D-dimero ● diminuzione dell'anti-trombina
indici di consumo dei fattori della coagulazione	● ipo-fibrinogenemia ● diminuzione degli altri fattori della coagulazione (in particolare V e VIII) ● allungamento di PT e aPTT piastrino-penia

6.14. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012), Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T. (1999) Robbins pathologic basis of disease. VI ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia

Kumar, V., Fausto, N, Abbas, A., Aster, J. (2009) Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. VIII ed. Elsevier Saunders, Philadelphia

Mann, K.G. (1984) The biochemistry of coagulation. Clin. Lab. Med. 4, 207-220

Ross, R. (1999) Atherosclerosis. an inflammatory disease. N. Engl. J. Med. 340, 115-126

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014 *visitato il 30/01/2014* *accessibile il 30/01/2014*









7. Esami di laboratorio per lo studio della funzionalità renale

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Giuliana Bacchi, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

7. Esami di laboratorio per lo studio della funzionalità renale 1
7.1. Indagini di laboratorio per lo studio della funzionalita` renale. .3
7.2. Analisi dell'urina: caratteristiche fisiche.....4
7.2.1. Cause di anomale colorazioni dell'urina.....6
7.2.2. Odore.....7
7.2.3. Peso specifico.....8
7.3. Analisi delle urine: caratteristiche chimiche.....9
7.3.1. pH urinario.....10
7.3.2. Glucoso e corpi chetonici.....11
7.3.3. Proteine.....12
7.3.4. Bilirubina e urobilinogeno.....19
7.3.5. Nitriti.....19
7.4. Esame microscopico del sedimento urinario.....20
7.4.1. Cellule di sfaldamento.....21
7.4.2. Cristalli.....22
7.4.3. Sedimento urinario: altri reperti patologici.....23
7.4.4. Ematuria.....24
7.4.5. Leucociti, batteri e parassiti.....26

7.5. Refertazione di esami di urine....28
7.5.1. Esempi di referti di laboratorio per esami completi di urine standard....28
7.5.2. Determinazioni effettuabili con strisce reattive....31
7.6. Valutazione della funzionalità renale....33
7.7. Insufficienza renale....34
7.7.1. Segni e sintomi di insufficienza renale....35
7.7.2. Insufficienza renale: test di valutazione....36
7.8. La velocità di filtrazione glomerulare: misura della clearance. 37
7.8.1. Clearance di sostanze endogene ed esogene....37
7.9. Determinazione della concentrazione ematica di composti azotati non proteici....38
7.9.1. L'urea....39
7.9.2. BUN (blood urea nitrogen, azoto ematico relativo all'urea o azoto ureico). .41
7.9.3. Creatinina....42
7.9.4. Acido urico....43
7.10. Clearance renali....44
7.11. Valutazione della funzione glomerulare....45
7.11.1. Funzionalità renale nella pratica clinica....48
7.11.2. Determinazione della PRP (portata renale plasmatica)....49
7.12. Valutazione della funzione tubulare....50
7.13. Analisi di farmaci e droghe ricreazionali....51
7.14. Principali fonti utilizzate....52



7.1. Indagini di laboratorio per lo studio della funzionalità renale

- *Analisi dell'urina:*
  - esame delle caratteristiche fisiche
  - esame delle caratteristiche chimiche
  - esame microscopico del sedimento urinario

- *Determinazione della concentrazione ematica di composti azotati non proteici:*
  - uremia (BUN, *blood urea nitrogen*, azoto ureico nel sangue)
  - creatininemia
  - uricemia

- *Prove di funzionalità glomerulare:*
  - *clearance* renale di inulina e di creatinina per la determinazione della velocità di filtrazione glomerulare
  - *clearance* renale del PAI per la determinazione della portata plasmatica renale
  - analisi della proteinuria

- *Prove di funzionalità tubulare:*
  - prova di diluizione
  - prova di concentrazione

7.2. Analisi dell'urina: caratteristiche fisiche

☞ Le principali caratteristiche fisiche determinabili sono:

- colore
- aspetto
- odore
- peso specifico





Figura 7.1. A sn. Valutazione delle urine nel medioevo. Antica immagine di Muhammad ibn Zakariya al-Razi (attivo tra il 865 ed il 930) nella traduzione delle sue opere di Gerardo da Cremona (XII secolo)

Figura 7.2. A dx. Antica immagine: istruzione per l'esame delle urine. Jacob Meydenbach (1491)

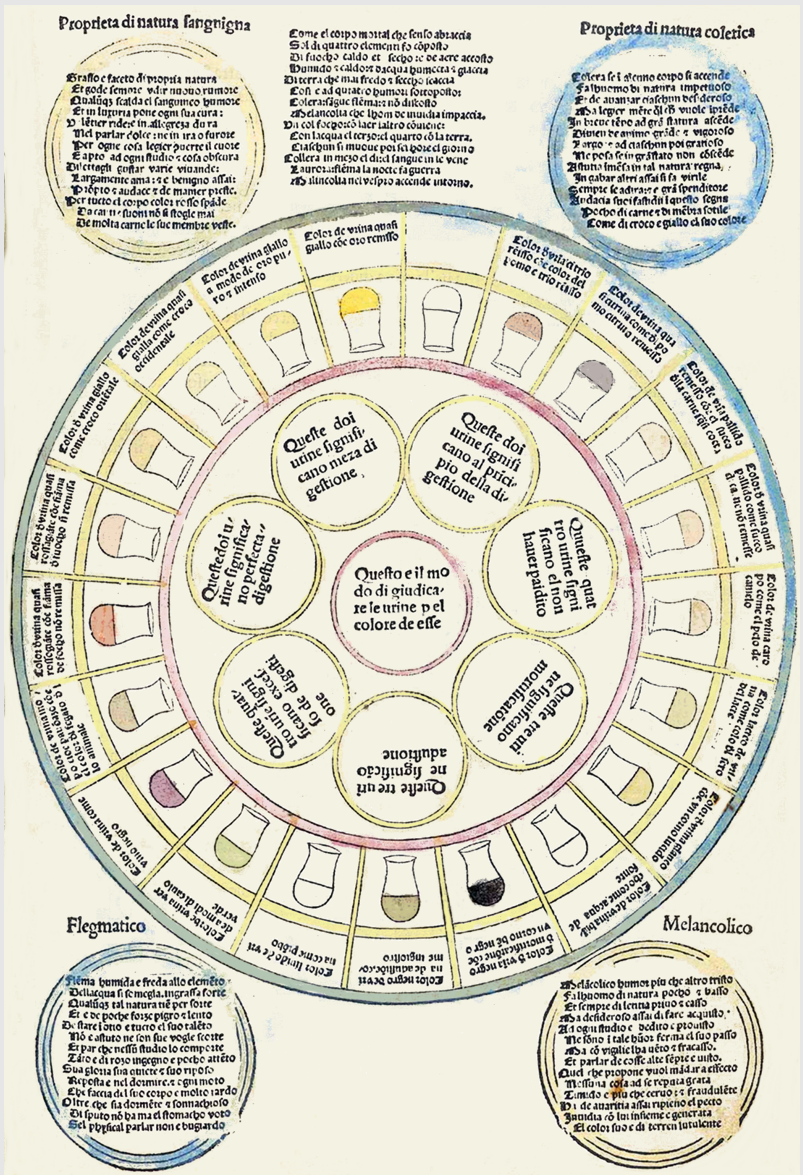




Figura 7.3. A sn. Da Johannes de Ketham (1495), adattato

Figura 7.4. A dx. Serie di flaconi per l'analisi delle urine. Albik (attivo nel XV secolo)

7.2.1. Cause di anomale colorazioni dell'urina

Tabella 7. 7.1. Cause principali di anomale colorazioni dell'urina

colore	cause patologiche	cause non patologiche
rosso	emoglobina mioglobina porfirine	farmaci coloranti bietole rabarbaro
arancio	pigmenti biliari	farmaci contro le infezioni delle vie urinarie
giallo intenso	urina molto concentrata	carote fenacetina nitrofurantoina
giallo chiaro	diabete	iper-idratazione
verde	biliverdina batteri (*Pseudomonas*)	vitamine farmaci psico-attivi
marrone	mioglobina pigmenti biliari	nitrofurani lassativi a base di *Senna*
blu	nessuna	blu di metilene

7.2.2. Odore

☞ L’analisi dell’odore delle urine ha perso di interesse in ambienti ad alta tecnologia sanitaria

Il valore normale è detto *sui generis*

Un cambiamento nell’odore delle urine può essere dovuto a:

- una permanenza del campione a temperatura ambiente per un periodo prolungato. Un odore ammoniacale può essere il risultato di un campione di urina raccolto molto tempo prima dell’analisi in cui i batteri hanno scisso l’urea in ammoniaca portando alla alcalinizzazione delle urine e conseguente odore di ammoniaca
- chetonuria che conferisce un odore dolce, fruttato
- farmaci (es.: amoxicillina, vitamina B_6)
- cibi particolari (es.: asparagi che contengono grandi quantità di asparagina eliminata dall'emuntorio renale)

7.2.3. Peso specifico

Definizione di peso specifico

Il peso specifico di una sostanza è il rapporto tra il peso in grammi della sostanza ed il peso di un uguale volume di acqua distillata a 4°C. Riflette la densità del campione

☞ In condizioni normali il peso specifico dell'urina varia tra 1.010 e 1.026

- se il peso specifico scende sotto 1.010 si parla di ipostenuria, situazione che si verifica quando il rene perde, in parte, la sua capacità di formare urine concentrate e diluite
- quando i reni perdono completamente questa capacità, il peso specifico delle urine rimane costantemente uguale a quello del filtrato glomerulare, cioè intorno a 1.007 (isostenuria)

☞
- nelle poliurie le urine hanno solitamente basso peso specifico (con l'eccezione importante del diabete)
- nelle oligurie il peso specifico delle urine è solitamente aumentato

7.3. Analisi delle urine: caratteristiche chimiche

☞ Le principali caratteristiche chimiche determinabili sono:

- *pH*
- *glucoso*
- *proteine*
- *emoglobina*
- *corpi chetonici*
- *bilirubina*
- *urobilinogeno*
- *nitriti*

7.3.1. pH URINARIO

☞ Il pH dell'urina
- varia fisiologicamente tra 4.5 a 7.0
- normalmente è comunque intorno a 6.0 (oscillando tra 5.5 e 6.5), dunque debolmente acido

☞ Il pH urinario risulta
- ridotto negli stati di acidosi
- aumentato negli stati di alcalosi

☞ L'acidità urinaria aumenta
- in caso di digiuno
- se si segue una dieta particolarmente ricca di cibi carnei e di grassi
- in caso di prolungato esercizio muscolare
- in seguito all'assunzione di farmaci acidificanti

La reazione delle urine sarà alcalina
- se si segue una dieta vegetariana
- se si assumono farmaci alcalinizzanti
- nel caso di ritenzione urinaria con urine che ristagnano a lungo nella vescica (ipertrofia prostatica)

7.3.2. Glucoso e corpi chetonici

☞
- Normalmente il glucoso non è presente nelle urine se non in tracce
- Quando la glicemia supera i 180-200 mg/dL (soglia di escrezione renale), la capacità del *carrier* specifico per il riassorbimento tubulare del glucoso viene superata e, pertanto, si osserva la comparsa di glucoso nelle urine (glicosuria)

☞ I corpi chetonici originano dall'incompleto catabolismo dei lipidi

I corpi chetonici nelle urine sono rappresentati

- per il 78% da acido β-idrossibutirrico
- per il 20% da acido acetoacetico
- per il 2% da acetone

La chetonuria è un reperto caratteristico del diabete mellito scompensato e del digiuno prolungato

7.3.3. Proteine

☞ Nelle urine di un soggetto normale si riscontrano solo tracce di proteine, quantificabili con valori di perdita proteica giornaliera compresi tra 40 e 80 mg (valore massimo 150 mg)

La presenza di valori superiori di proteine nelle urine è indicata con il termine di proteinuria

La proteinuria può essere la conseguenza o di una alterazione dei glomeruli, che lasciano filtrare una quantità abnormemente elevata di proteine, o di una diminuita capacità dei tubuli di riassorbire le proteine

---

☞ Se valutate qualitativamente le proteinurie sono classificate in:

- fisiologiche
- glomerulari
- tubulari
- miste

Se valutate quantitativamente sono invece classificate in:

- lievi (<1 g/die)
- moderate (1-3 g/die)
- gravi (>3 g/die)

Proteinuria fisiologica

☞ Il tracciato elettroforetico della proteinuria fisiologica deve essere eseguito su urine fortemente concentrate e presenta le seguenti caratteristiche:

- l'albumina è poco evidente e in quantità minore (30-40%) rispetto alle globuline;
- le globuline anziché presentarsi come frazioni ben distinte appaiono come una zona continua indifferenziata

Proteinurie glomerulari

☞ Le proteinurie glomerulari

- sono caratterizzate dalla presenza nelle urine di proteine ad alto peso molecolare (pm) >70,000 Da)
- sono espressione di un danno glomerulare
- costituiscono il tipo più frequente di proteinurie patologiche

Le proteinurie glomerulari sono a loro volta distinte in:

- altamente selettive se viene escreta quasi esclusivamente albumina (pm 69,000 Da)
- selettive quando assieme all'albumina sono escrete proteine con pm tra 70,000 e 100,000 Da(es.: la transferrina, con pm 90,000 Da)
- non selettive quando sono escrete proteine con pm superiore a 100,000 Da, fino al passaggio nelle urine di quasi tutte le proteine plasmatiche

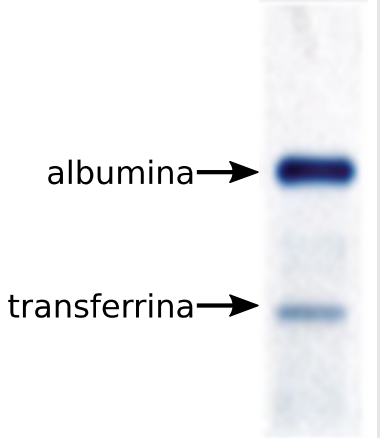


Figura 7.5. Proteinuria glomerulare selettiva

Si noti la mancanza di immunoglobuline, caratteristiche della proteinuria glomerulare non selettiva

Proteinurie tubulari

☞ Le proteinurie tubulari sono caratterizzate dalla presenza nelle urine di proteine a basso pm (tra 10,000 e i 30,000 Da), dette microglobuline, quali

- β2-microglobulina (pm 11,000 Da)
- lisozima (pm 14,500 Da)
- α2-microglobulina o RBP (*retinol binding protein*: pm 21,000 Da)

Sono generalmente di modica entità

Testimoniano un ridotta capacità del tubulo renale di riassorbire le proteine a basso peso molecolare normalmente filtrate del glomerulo

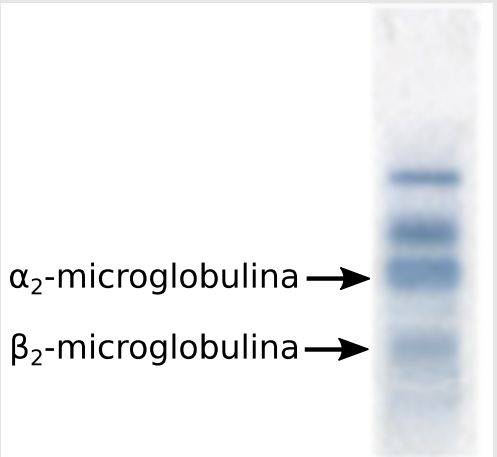


Figura 7.6. Proteinuria tubulare

Proteinurie miste

☞ Le proteinurie sono frequentemente prodotte dal sommarsi di

- un'alterazione glomerulare
- un'alterazione tubulare

Si hanno così le proteinurie miste, caratterizzate dalla presenza nell'urina di un notevole numero di frazioni proteiche, comprendenti:

- albumina
- frazioni proteiche plasmatiche
- frazioni proteiche caratteristiche della proteinuria tubulare (microglobuline)

Overflow proteinuria

☞ Questo tipo di proteinuria è anche detta pre-renale per sottolineare che non è dovuta a nefropatia: compare quando si determina l'aumento della concentrazione plasmatica di una proteina con basso peso molecolare

- la proteinuria di Bence Jones (pm tra 22,000 e 24,000 Da) rappresenta un esempio classico di *overflow* proteinuria
  - una proteina di Bence Jones è una globulina monoclonale o una catena leggera immunoglobulinica reperibile nelle urine. Il reperire la proteina di Bence Jones fa sospettare una diagnosi di mieloma multiplo (tumore maligno formato da plasmacellule)

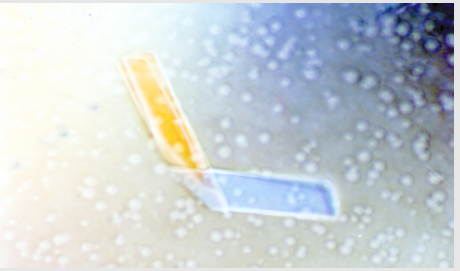


Figura 7.7. Cristallo di proteina di Bence Jones creato per l'analisi ai raggi X. Modificato da una immagine di public domain *di McPherson, A. da: images.nigms.nih.gov_ID=2399*

Altre proteine interessate possono essere:

- lisozima (pm 14,500 Da)
- mioglobina (pm 17,000 Da)
- α1-glicoproteina acida (pm 44,000 Da)
- α1-anti-tripsina (pm 45,000 Da)
- emoglobina (pm 64,000 Da)

Micro-albuminuria

☞ La micro-albuminuria è una condizione patologica che esprime un'alterazione della permeabilità dei glomeruli renali alle proteine

- può essere transitoria o permanente
- può talvolta evolvere in proteinuria franca

Si osserva nella fase iniziale del danno renale

- conseguente ad ipertensione arteriosa
- della nefropatia diabetica

Inizialmente saltuaria e reversibile, tende a diventare permanente, esprimendo un danno strutturale dei glomeruli. In questo caso si può osservare il passaggio da micro- a macro-albuminuria

☞ Il dosaggio della microalbunuria può essere eseguito secondo diverse modalità:

• AER (*albumin excretion rate*) velocità di escrezione di albumina (standard di riferimento)	su campioni con raccolta temporizzata	espressa come mg/24h
• TAER (*temporised AER*) tasso di escrezione temporizzato	su campioni di urine raccolte durante le notte (4h)	espresso come µg/min
• CAU (concentrazione di albumina urinaria)	su campione estemporaneo per una veloce valutazione	espressa come mg/L
• RACU (rapporto albumina/creatinina urinario) o ACR (*albumin/creatinine ratio*)	per correggere le variazioni dovute all'equilibrio dei liquidi corporei	espresso come mg/g

☞ Si parla di micro-albuminuria quando la quantità di albumina è compresa

- fra 30 e 300 mg nelle urine delle 24 h

oppure

- fra 20 e 200 µg/min nelle urine non collezionate (cioè da singola raccolta)

Emoglobinuria

Emoglobina

- la molecola di emoglobina ha dimensioni tali da passare il filtro glomerulare (pm 64,000 Da)
- tuttavia normalmente ciò non avviene in quanto l'emoglobina è contenuta all'interno dei globuli rossi

Emolisi intra-vascolare

Nella emolisi intravascolare, l'emoglobina che si libera in circolo

- viene captata dall'aptoglobina
- e veicolata al sistema reticolo-endoteliale

Emoglobinuria

La capacità dell'aptoglobina di legare l'emoglobina è però saturata da concentrazioni ematiche di emoglobina superiori a 100-150 mg/dL; pertanto, il riscontro di emoglobina nelle urine indica la presenza di una emolisi intra-vascolare importante

Emoglobinuria associata ad ematuria

Si può avere emoglobinuria anche nei casi di sanguinamento delle vie urinarie con successiva parziale emolisi delle emazie all'interno delle urine; in questo caso l'emoglobinuria si associa ad ematuria

7.3.4. Bilirubina e urobilinogeno

☞
- la bilirubina non coniugata (indiretta) è insolubile in acqua e legata all'albumina non passa il filtro glomerulare
- la bilirubina coniugata (diretta) è idrosolubile non è legata all'albumina e può quindi passare il filtro glomerulare

in condizioni normali la bilirubina circolante è per la maggior parte nella forma non coniugata e, pertanto, non si riscontra nelle urine

☞ L'urobilinogeno si forma nell'intestino per riduzione della bilirubina libera:

L'urobilinogeno viene eliminato

- per lo più con le feci (dove prende il nome di stercobilinogeno/stercobilina)
- una piccola quota viene riassorbita ed eliminata poi con la bile (circolo entero-epatico)
- in minima parte, attraverso il rene (0.5-1.5 mg/24 h): dando il colore alle urine

7.3.5. Nitriti

☞ La presenza di nitriti nelle urine è indice di una elevata carica batterica

- il *test* è giustificato dal fatto che numerose specie batteriche (es.: *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, stafilococchi) riducono i nitrati (da verdure fresche con la dieta) a nitriti

La negatività del *test* non consente di escludere la presenza di batteri nelle urine in quanto:

- alcuni germi non riducono i nitrati (es.: enterococchi)
- c'è inoltre la possibilità che il soggetto non abbia nitrati nelle urine
- oppure che l'urina esaminata non sia rimasta in vescica per un tempo sufficiente alla trasformazione dei nitrati da parte dei batteri

7.4. Esame microscopico del sedimento urinario

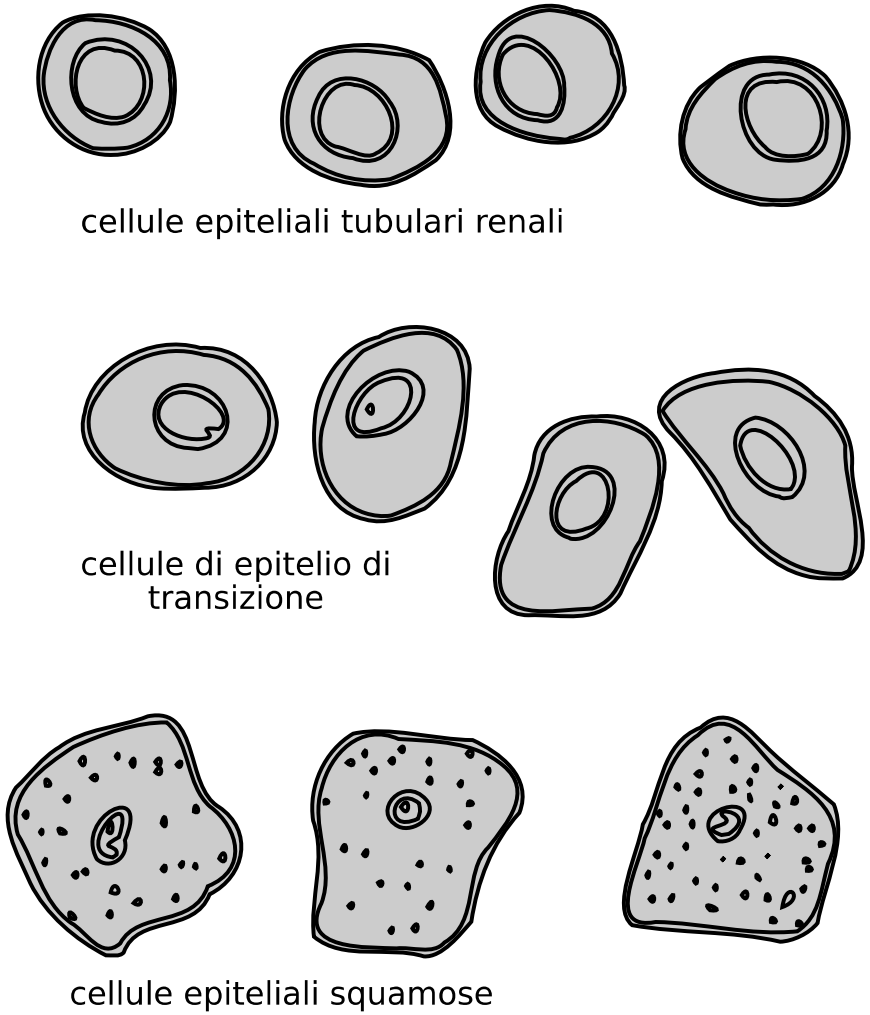
☞ Il sedimento urinario si ottiene per

- centrifugazione di 10-15 mL di urina a velocità moderata in una provetta a fondo conico
- decantazione del sovrastante e risospensione in 0.2–0.5 mL
- posizionamento di una goccia del sedimento su un vetrino per l'esame al microscopio

☞ In condizioni normali il sedimento urinario

- è scarsissimo
- permette la valutazione di isolate cellule epiteliali derivate dallo sfaldamento degli epiteli che ricoprono le vie genitali, l’uretra e la vescica
- permette di evidenziare la presenza di sostanze minerali solide amorfe o organizzate in cristalli

7.4.1. Cellule di sfaldamento



L'origine delle cellule sfaldate può spesso essere determinata:

- le cellule dei tubuli renali sono poco più grandi dei leucociti e presentano un grande nucleo ovale
- le cellule epiteliali transizionali (originate da pelvi renale, uretere, vescica) sono più grandi e meno rotonde delle precedenti e presentano un nucleo proporzionalmente più piccolo
- le cellule epiteliali squamose (originate dal tratto terminale dell'uretra o dalla superficie cutanea) sono ancora più grandi, di forma poligonale e nucleo molto piccolo

Figura 7.8. Sedimento urinario: cellule di sfaldamento. Liberamente tratto da: library.med.utah.edu/WebPath

7.4.2. Cristalli

☞ I cristalli dipendono principalmente da

- dieta
- pH delle urine

I cristalli non hanno un preciso significato patologico, anche se sono più frequenti in corso di infezioni delle vie urinarie

☞ Nelle urine a reazione acida si possono osservare

- cristalli di acido urico
- urati amorfi
- cristalli di ossalato di calcio

Nelle urine a reazione basica si possono osservare

- cristalli di fosfato di ammonio e magnesio
- cristalli di fosfato di calcio
- fosfati amorfi

☞ Lo studio della natura dei cristalli è giustificato principalmente in pazienti con malattia litiasica, allo scopo di definire la composizione dei calcoli

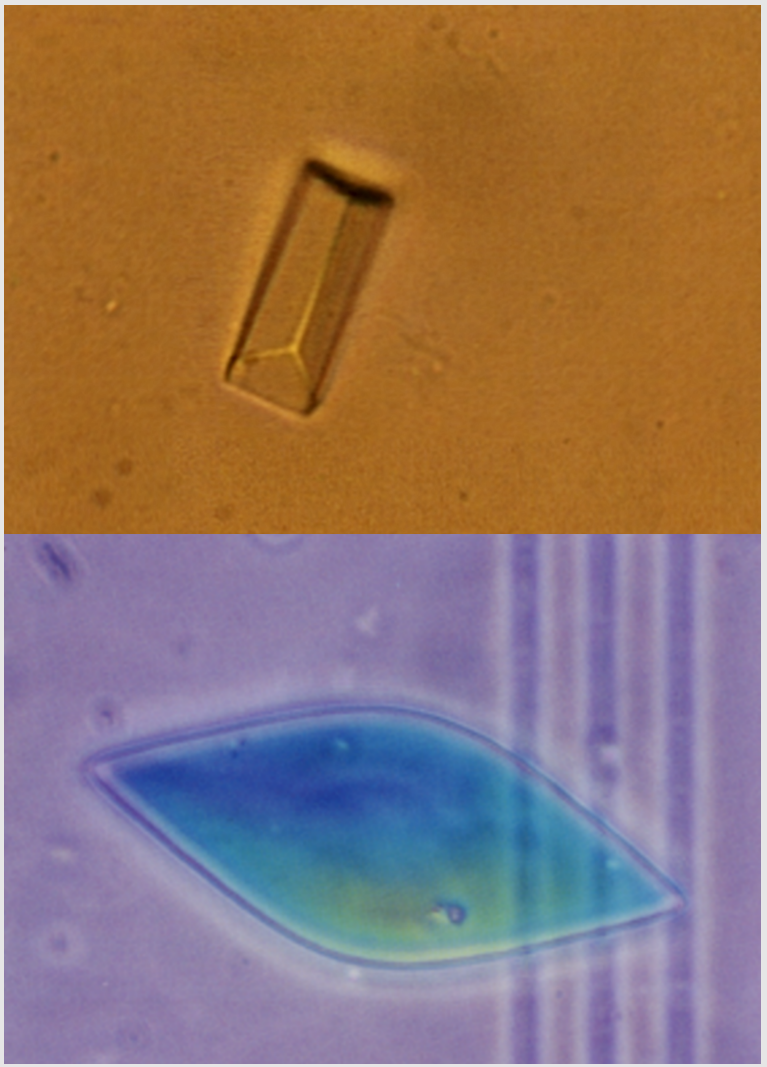


Figura 7.9. In alto. Sedimento urinario: tipico cristallo romboide di acido urico

Figura 7.10. In basso. Tipico cristallo di magnesio ammonio fosfato

Immagini dal Dipartimento di Medicina Specialistica, Diagnostica e Sperimentale dell'Alma Mater Università di Bologna

7.4.3. Sedimento urinario: altri reperti patologici

☞ I principali reperti patologici osservabili nel sedimento urinario sono:

- cilindri
- muco
- globuli rossi
- globuli bianchi
- batteri
- parassiti

Cilindri e muco

☞ I cilindri sono formazioni che riproducono a stampo il lume dei tubuli, dove si formano

- si formano per particolari condizioni di pH, stasi e concentrazione urinaria
- la matrice è costituita da proteine (pertanto sono reperto frequente nelle glomerulopatie)

Per composizione i cilindri si distinguono in:

- cilindri amorfi
- cilindri cellulari (epiteliali, ematici, leucocitari)

☞ Il muco è un reperto:

- non necessariamente patologico
- legato ad uno stato irritativo delle mucose urinarie con effetto di stimolo sulla secrezione delle cellule mucipare

I cilindri di solo muco sono detti cilindroidi

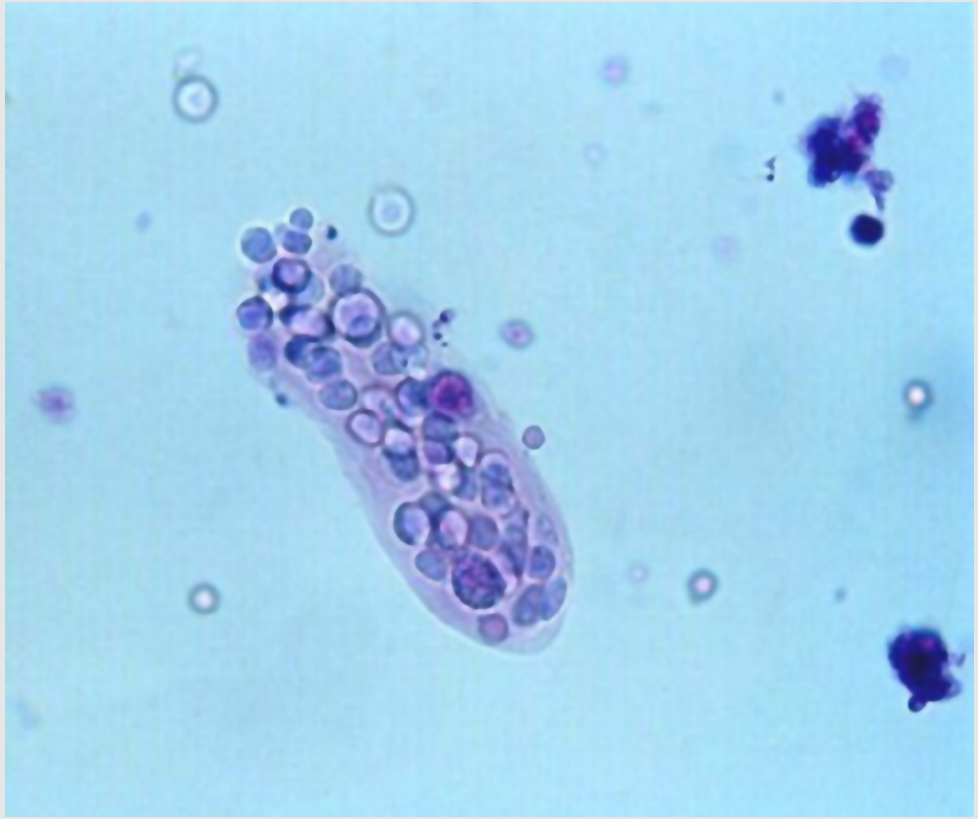


Figura 7.11. Esempio di cilindro ematico costituito da matrice proteica e da emazie

7.4.4. Ematuria

☞ Ematuria è la presenza di sangue nelle urine. Si parla di

- ematuria macroscopica quando la quantità è tale per cui è visibile ad occhio nudo
- ematuria microscopica quando la presenza di eritrociti è riconoscibile solo nel sedimento

☞ Nelle ematurie gli eritrociti si presentano con morfologia diversa in funzione di:

provenienza

- alte vie (glomerulo): eritrociti frammentati, frastagliati (pleiomorfi)
- basse vie (dalla vescica verso l'esterno): morfologia ben conservata; eritrociti intatti

osmolarità dell'urina

- rigonfi nelle urine ipotoniche
- disidratati nelle urine ipertoniche

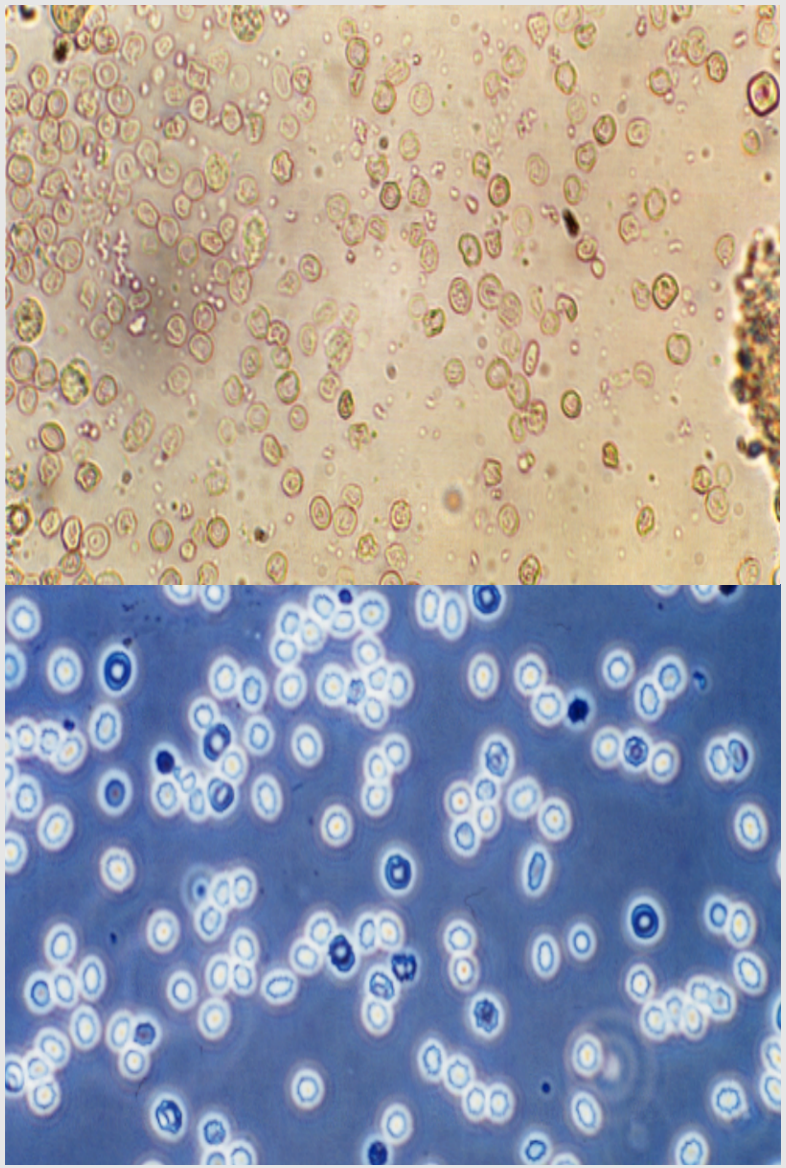


Figura 7.12. In alto. Ematuria: globuli rossi acantotici in urine di paziente affetto da ematuria glomerulare: gli eritrociti sono di diversa taglia e struttura (pleiomorfi).

Figura 7.13. In basso. Sedimento urinario: ematuria da sforzo. Normale morfologia degli eritrociti che contengono emoglobina

Si definisce acantocito (dal greco ἄκανθα, punta) un globulo rosso dalla forma anomala che presenta protrusioni a forma di spine

Cause di ematuria

☞ In teoria le urine non dovrebbero contenere eritrociti; tuttavia qualche globulo rosso può essere talvolta riscontrato anche nelle urine di soggetti in buono stato di salute

Le principali cause di ematuria sono rappresentate da:

- glomerulopatie
- tumori delle vie urinarie
- traumi renali
- litiasi delle vie urinarie
- infarti renali
- necrosi tubulare acuta
- infezioni della alte e basse vie urinarie
- *stress* fisici

☞ Le urine possono inoltre risultare contaminate da eritrociti provenienti

- dalla vagina in donne mestruate
- da traumi conseguenti a cateterismo vescicale

7.4.5. Leucociti, batteri e parassiti

☞ La presenza di leucociti nelle urine (leucocituria) è indicativa di una processo infettivo delle vie urinarie

- si parla di piuria quando l'elevato numero di leucociti presenti conferisce all'urina un aspetto torbido

La presenza di batteri nelle urine (batteriuria) è un reperto costante

- si definisce patologica una batteriuria con $>10^5$ unità formanti colonie/mL di urina

☞ Oltre a batteri, nelle urine si possono riscontrare:

- funghi (es.: *Candida albicans*)
- protozoi (es.: *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas hominis*)

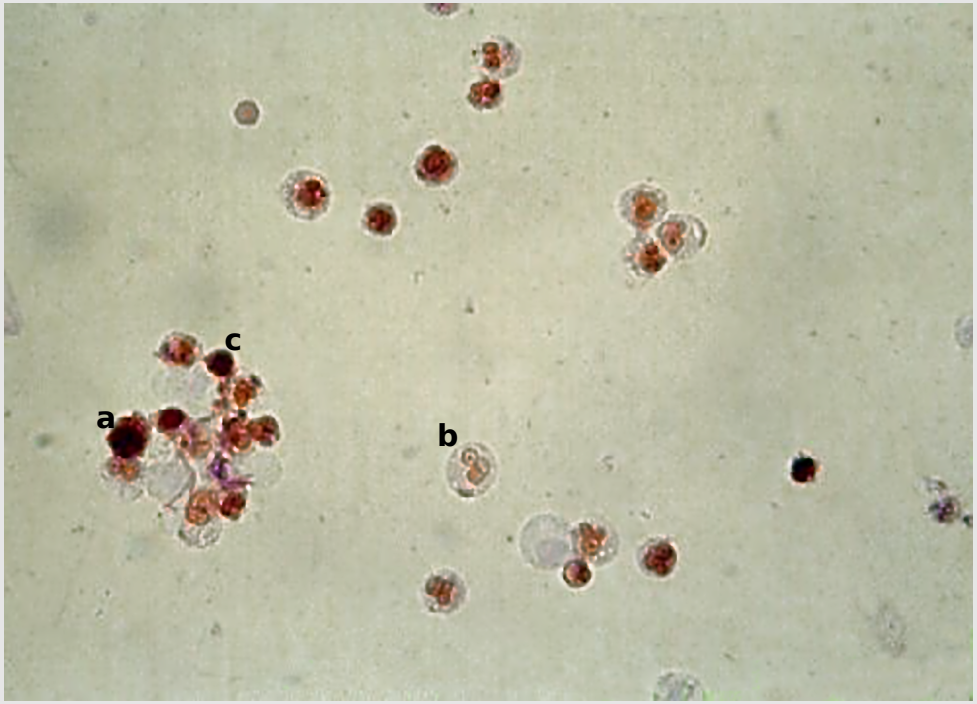


Figura 7.14. Esempio di leucocituria. Si osservano polimorfonucleati neutrofili e leucociti mononucleati (linfociti e/o monociti). monocito (a), granulocito polimorfonucleato (b), linfocito (c).

7.4.6. Urinocoltura

Definizione

L'urinocoltura è un esame delle urine che serve a identificare la presenza in esse di batteri e a definirne la specie

☞ L'urinocoltura, di norma negativa, risulta positiva in presenza di infezioni delle vie urinarie

☞ Le infezioni delle vie urinarie vengono distinte in:

- batteriuria asintomatica, riscontro casuale di batteri in assenza di sintomatologia specifica
- cistite, infezione batterica della vescica accompagnata da sintomi (dolore pelvico, tenesmo vescicale, pollachiuria, bruciore alla minzione, urine torbide, talora ematuria)
- pielonefrite, infezione degli ureteri che per via ascendente interessa dapprima il bacinetto pelvico e poi il parenchima renale.

☞ Di solito l'urinocoltura viene completata dall'antibiogramma, ovvero da un *test* di laboratorio che ricerca tra i vari antibiotici quello più adatto a uccidere il germe trovato nelle urine

☞ In caso di positività il referto contiene:

- il nome del batterio identificato
- la concentrazione dei batteri, espressa come potenza di 10 (es.: 10^5 (10^5) unità formanti colonie (UFC/mL)). In genere si considerano clinicamente significative e quindi da trattare farmacologicamente, concentrazioni batteriche superiori a $5x10^4$ (5x10^4) UFC/mL
- l'antibiogramma, espresso con una tabella che elenca gli antibiotici di cui è stata valutata l'efficacia

7.5. Refertazione di esami di urine

7.5.1. Esempi di referti di laboratorio per esami completi di urine standard

Esame	Esito		U.M.	Valori Riferimento
UROLOGIA - COPROLOGIA				
Esame completo urine				
Colore	Giallo paglierino			
Aspetto	Opalino			
pH		5.0 <		5.5 - 6.5
Glucoso	+4	5000	mg/dL	<10
Proteine	-	5	mg/dL	<20
Emoglobina	-	0.0	mg/dL	Assente
Corpi chetonici	+1	10	mg/dL	Assente
Bilirubina	-	0.0	mg/dL	Assente
Urobilinogeno	+-	0.2	EU/dL	0.0 - 0.2
Nitriti		-		Negativo
Peso specifico		1.023 <		1.014 - 1.028
Sedimento	*Rare cellule delle basse vie*			

Figura 7.15. Esempio di referto di esame urine: paziente diabetico

Esame	*Esito*	*U.M.*	*Valori Riferimento*
UROLOGIA			
Esame completo urine			
Colore	Giallo oro		
Aspetto	Opalino		
pH	7.0 >		5.5 - 6.5
Glucoso	- 0	mg/dL	<10
Proteine	- 0	mg/dL	<20
Emoglobina	- 0.00	mg/dL	Assente
Corpi chetonici	- 0	mg/dL	Assente
Bilirubina	+3 6.0	mg/dL	Assente
Urobilinogeno	+1 2.0	EU/dL	0.0 - 0.2
Nitriti	-		Negativo
Peso specifico	1.004 <		1.014 - 1.028
Sedimento	*Rari leucociti*		

Figura 7.16. Esempio di referto di esame urine: paziente con ittero

Esame	*Esito*		*U.M.*	*Valori Riferimento*
UROLOGIA - COPROLOGIA				
Esame completo urine				
Colore		**Giallo paglierino**		
Aspetto		**Opalino**		
pH		**7.5**	**>**	**5.5 - 6.5**
Glucoso	-	**0**	mg/dL	**<10**
Proteine	+-	**20**	mg/dL	**<20**
Emoglobina	+3	**OVER**	mg/dL	**Assente**
Corpi chetonici	-	**0**	mg/dL	**Assente**
Bilirubina	-	**0.0**	mg/dL	**Assente**
Urobilinogeno	+2	**6.0**	EU/dL	**0.0 - 0.2**
Nitriti		**-**		**Negativo**
Peso specifico		**1.011**	**<**	**1.014 - 1.028**
Sedimento		***Tappeto di eritrociti***		

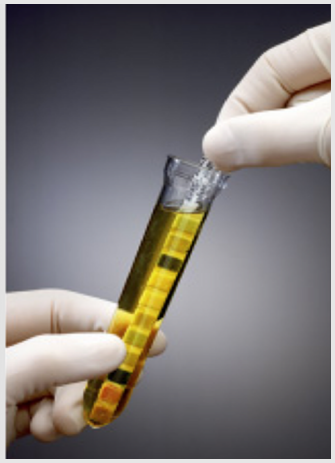
Figura 7.17. Esempio di referto di esame urine: paziente con ematuria

7.5.2. Determinazioni effettuabili con strisce reattive

☞ Attualmente sono disponibili anche procedure analitiche rapide che fanno uso di reagenti (indicatori, enzimi, etc.) in quantità esattamente predeterminata, essicati ed immobilizzati su adatti supporti (carta o film)







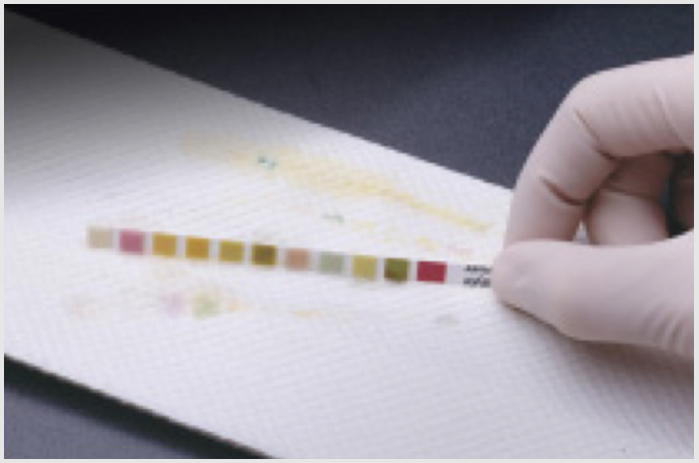






Figure 7.18, 7.19, 7.20, 7.21. Procedura per l'uso degli stick (strisce reattive)

- *Nelle cosiddette strisce reattive i reagenti rimangono stabili fino al momento del loro utilizzo*
- *La reazione ha inizio quando i reagenti vengono idratati*
- *La sostanza da ricercare si lega ai reagenti dando luogo ad una reazione evidenziata da una variazione cromatica*
- *La lettura del colore viene effettuata visivamente per confronto con una scala cromatica di riferimento o tramite strumenti particolari*

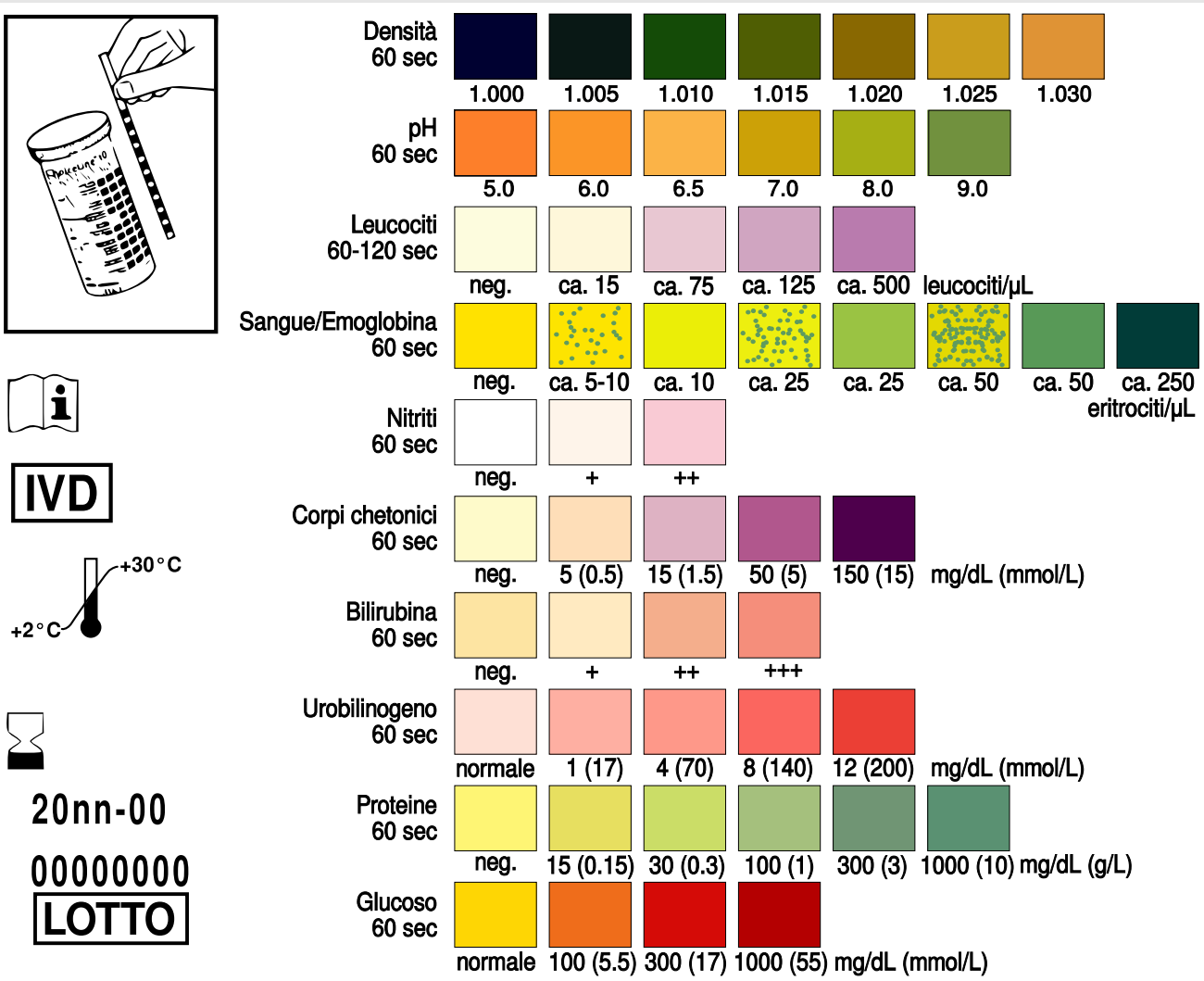


Figura 7.22. A sn.: esempi dei principali parametri urinari valutabili in maniera semi-quantitativa mediante strisce reattive

Figura 7.23. In basso: Apparecchiatura portatile per la lettura automatica degli stick *(strisce reattive)*



7.6. Valutazione della funzionalità renale



☞ La valutazione della funzionalità renale si effettua allo scopo di:

- *identificare una disfunzione renale*
- *diagnosticare una malattia renale*
- *monitorare la progressione della malattia*
- *monitorare la risposta al trattamento*
- *quantificare alterazioni della funzionalità che possono influenzare alcune terapie (es.: digossina, chemioterapici)*

7.7. Insufficienza renale

☞ Esistono numerose patologie che possono portare a un'insufficienza renale, tra cui

- diabete
- ipertensione arteriosa sistemica
- glomerulo-nefriti e nefriti interstiziali

L'insufficienza renale può evolvere in

- sindrome uremica: stadio terminale in cui il rene non filtra più ed è possibile intervenire solo con dialisi o con un trapianto

☞ Una diminuzione della filtrazione glomerulare porta a distinguere se questa sia dovuta a cause:

cause pre-renali o funzionali	quando la perfusione è ridotta per disidratazione o per *shock*
cause renali od organiche	quando i glomeruli non sono funzionanti
cause post-renali od ostruttive	quando c'è un'ostruzione al deflusso dell'urina

7.7.1. Segni e sintomi di insufficienza renale



Sintomi dell'uremia da accumulo di prodotti tossici	• nausea • vomito	• letargia • prurito
Alterazioni della minzione	• pollachiuria (aumentata frequenza) • nicturia	• ritenzione • disuria
Alterazioni del volume di urine	• poliuria	• oliguria • anuria
Alterazioni della composizione delle urine	• proteinuria • ematuria • calcoli	• batteriuria • leucocituria
Edema	• ipo-albuminemia	• ritenzione di acqua e sali
Dolore (solo per distensione concomitante della capsula renale o delle vie renali (es.: idronefrosi, calcoli, etc.)		

7.7.2. Insufficienza renale: *test* di valutazione 

☞ Vi sono numerosi approcci allo studio della funzionalità renale:

- Test *di filtrazione glomerulare*: la *clearance* di una sostanza è il volume di sangue depurato (di questa sostanza) dal rene in una certa unità di tempo calcolata nelle urine delle 24 h

  Viene solitamente stimata tramite formule (CKD-EPI, MDRD; Cockroft-Gault)

Altri *test*

- *Test* di secrezione
  - la capacità massima di secrezione tubulare può essere determinata con la prova di secrezione del PAI (acido para-amminoippurico), con tecnica alquanto indaginosa e poco usata
  - In maniera più semplice è possibile misurare la capacità massima di riassorbimento del glucoso e del fosfato: la semplice eliminazione urinaria di glucoso in presenza di condizioni plasmatiche normali di glicemia è indicativa di lesione tubulare
- Analisi della proteinuria

7.8. *La velocità di filtrazione glomerulare: misura della* clearance

7.8.1. *Clearance* di sostanze endogene ed esogene

Clearance di sostanze endogene

☞ La clearance di una sostanza endogena è un buon indice di filtrazione glomerulare quando:

- la sostanza viene eliminata solo attraverso la filtrazione glomerulare
- la sostanza non viene riassorbita
- la sostanza non viene metabolizzata in un altro tessuto

In condizioni normali la filtrazione glomerulare è circa 110-130 mL/min

Clearance di sostanze esogene

☞ Inulina, ioexolo, etc.

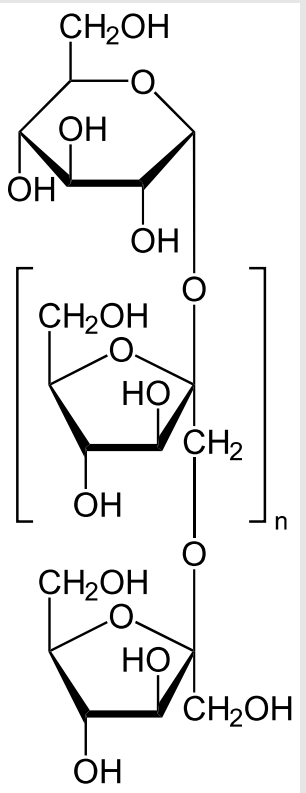


Figura 7.24. Inulina

7.9. Determinazione della concentrazione ematica di composti azotati non proteici



☞ I principali composti azotati non proteici presenti nel sangue sono:

- urea
- creatinina
- acido urico

Il rene elimina con le urine questi composti in concentrazione assai più elevata di quanto non si trovino nel plasma:

- l'urea è concentrata circa 60 volte
- la creatinina circa 100 volte

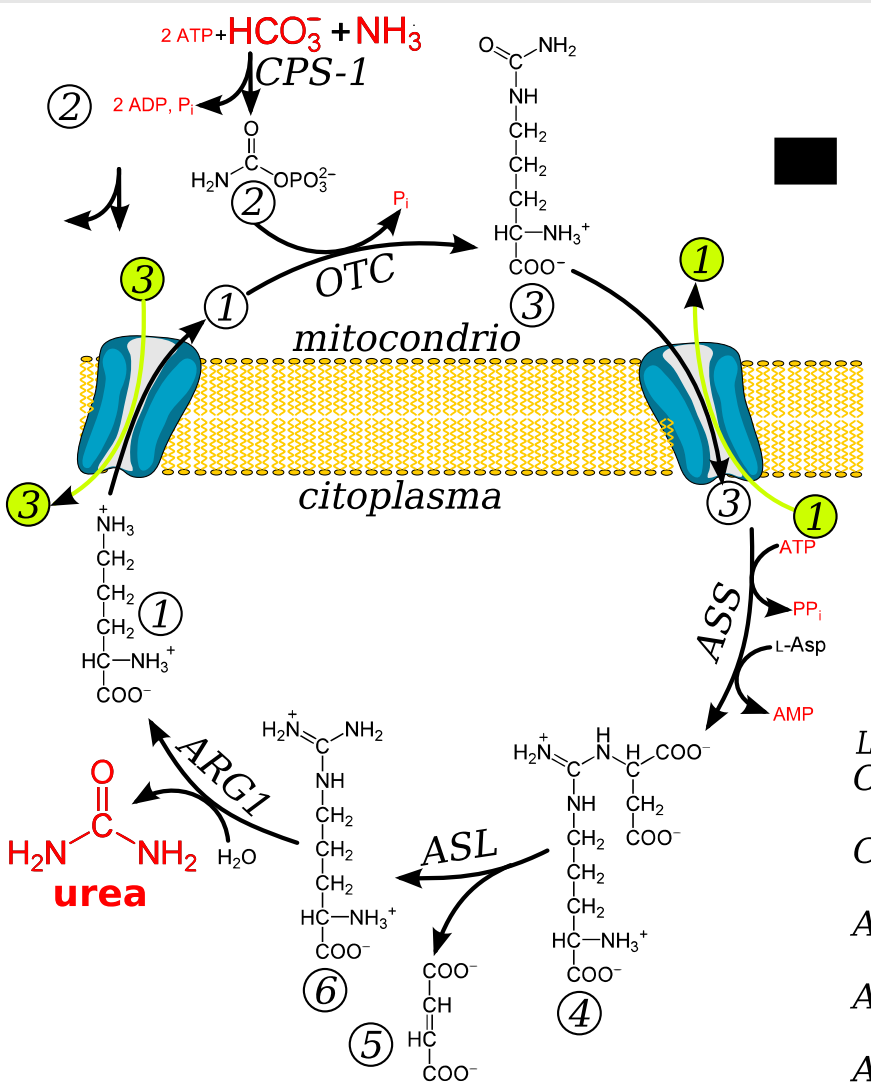
☞ Affinché questo lavoro possa svolgersi sono necessarie

- una normale funzionalità renale
- una normale portata renale plasmatica ed un normale deflusso

Se uno di questi fattori si riduce

- le sostanza azotate non vengono più eliminate in maniera adeguata
- e si accumulano nel sangue

7.9.1. L'UREA



1. *L-ornitina*
2. *carbamoil-fosfato*
3. *L-citrullina*
4. *arginino-succinato*
5. *fumarato*
6. *L-arginina*

L-Asp: L-aspartato
CPS-1: carbamoil-fosfato sintetasi I
OTC: ornitina trans-carbamilasi
ASS: argino-succinato sintetasi
ASL: arginino-succinato liasi
ARG1: arginasi 1

- L'urea è il prodotto di fissazione della ammoniaca che deriva dalla trans-amminazione e dalla de-amminazione ossidativa degli amminoacidi, unità costitutive delle proteine
- L'urea è prodotta dal fegato (ciclo dell'urea)
- L'urea è eliminata principalmente per via renale
- In soggetti con un normale apporto proteico giornaliero nella alimentazione (1g/kg di peso) i valori ematici di urea sono compresi tra 20 e 45 mg/dL

Figura 7.25. Il ciclo dell'urea

Urea e dieta

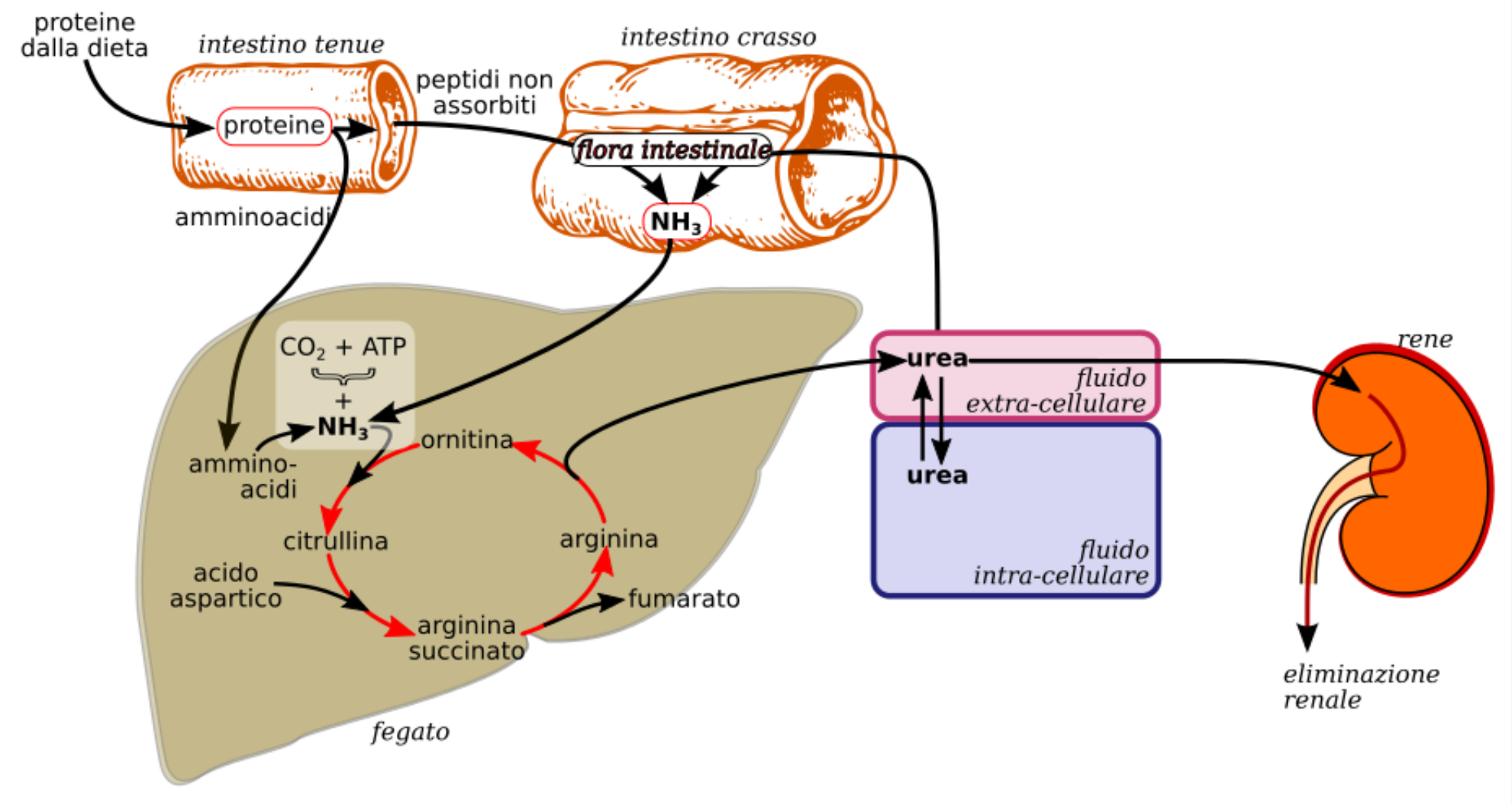


Figura 7.26. Urea e dieta. La concentrazione ematica di urea dipende dalla assunzione di proteine con la dieta

7.9.2. BUN (*blood urea nitrogen*, azoto ematico relativo all'urea o azoto ureico)

☞ Alternativamente alla concentrazione ematica dell'urea nella diagnostica di laboratorio viene più spesso determinata la concentrazione ematica dell'azoto ureico (BUN: *blood urea nitrogen*)

Dato che:

- una molecola di urea pesa 60 Da
- nella molecola di urea sono contenuti due atomi di azoto (ciascuno 14 Da)
- il rapporto urea/azoto ureico corrisponde a 60/28, cioè a 2.14

pertanto

- in soggetti con un normale apporto proteico giornaliero nella alimentazione (1g/kg di peso) i valori ematici di azoto ureico sono compresi tra 9 e 20 mg/dL

7.9.3. Creatinina

☞ La creatinina è l'anidride interna della creatina, dalla quale si forma per perdita di una molecola d'acqua

- è sintetizzata dal fegato a partire da 3 amminoacidi (arginina, glicina e metionina)
- si trova per il 95% nel muscolo dove, fosforilata a fosfo-creatina, svolge un importante ruolo energetico

La creatinina è il prodotto finale del catabolismo della fosfo-creatina e della creatina

- ha valori ematici compresi tra 0.5 e 1.2 mg/dL
- viene eliminata esclusivamente per via renale

Contrariamente all'urea (la cui concentrazione nel sangue è legata all'assunzione di proteine)

- la produzione di creatinina nell'organismo è esclusivamente endogena
- la sua concentrazione nel sangue non è influenzata dall'apporto alimentare
- la creatininemia dipende direttamente dalla massa muscolare

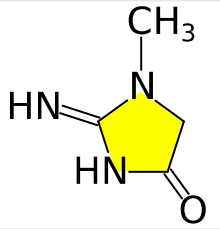


Figura 7.27. Formula della creatinina

7.9.4. Acido urico

☞ L’acido urico è il prodotto terminale del catabolismo purinico nell’uomo

La sintesi di acido urico, catalizzata dall’enzima xantina ossidasi, si compie soprattutto nel fegato

Immesso nel sangue, dove per il 96% si trova sotto forma di urato monosodico non legato a proteine

La concentrazione ematica di acido urico corrisponde a 2,5-7 mg/dL

Arriva ai reni dove viene filtrato, parzialmente riassorbito e, di nuovo, parzialmente secreto prima di essere definitivamente eliminato con l’urina

L’acido urico è poco solubile in acqua

- se, nelle urine, raggiunge elevate concentrazioni, precipita rapidamente sotto forma di cristalli di urato, determinando la formazione di calcoli renali
- similmente, in pazienti con alti livelli di acido urico nel sangue, cristalli di urato si depositano nei tessuti molli, in modo particolare nelle articolazioni: ciò determina una sindrome clinica denominata gotta

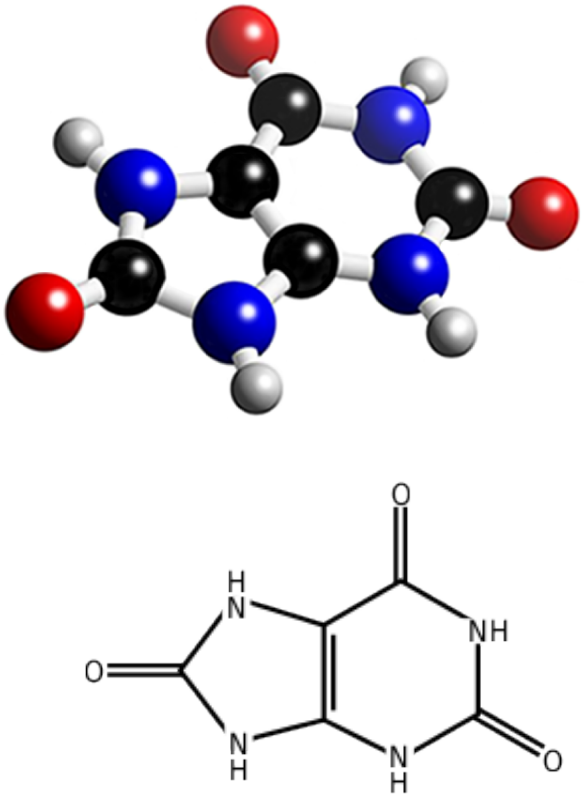


Figura 7.28. Acido urico, struttura. Da Barbieri (2012)

7.10. Clearance *renali* 

Definizione di *clearance*

Si definisce clearance *(*to clear*: depurare) di una sostanza la quantità di plasma che viene depurata di quella sostanza nell'unità di tempo*

Calcolo della *clearance*

☞ il calcolo della *clearance* si basa sull'assunto che ogni sostanza rimossa dal plasma si ritrova simultaneamente nelle urine

pertanto, la concentrazione nel plasma di una certa sostanza (P), moltiplicata per il volume di sangue depurato di essa in 1 minuto (vale a dire il valore della *clearance* - C) deve essere uguale alla concentrazione della stessa sostanza nelle urine (U) moltiplicata per la quantità di urina eliminata nell'unità di tempo (V), ossia:

$$C \times P = U \times V$$

da cui

$$C = (U \times V) / P$$

7.11. Valutazione della funzione glomerulare

Come calcolare la *clearance*

☞ Le prove di *clearance* vengono utilizzate principalmente per la valutazione del filtrato glomerulare, cioè del volume di preurina prodotta dal glomerulo nell'unità di tempo per ultrafiltrazione del sangue circolante

La sostanza ideale da utilizzare a questo scopo dovrebbe presentare le seguenti caratteristiche:

- essere filtrata completamente dal glomerulo
- non essere né riassorbita né secreta dal tubulo
- non legarsi a proteine plasmatiche
- non essere metabolizzata dall'organismo
- non essere eliminate attraverso altri emuntori o dispersa nei tessuti
- essere priva di tossicità e ben tollerata
- poter essere dosata con facilità e sicurezza

- *Non esiste una sostanza perfetta che risponda a tutti i requisiti*

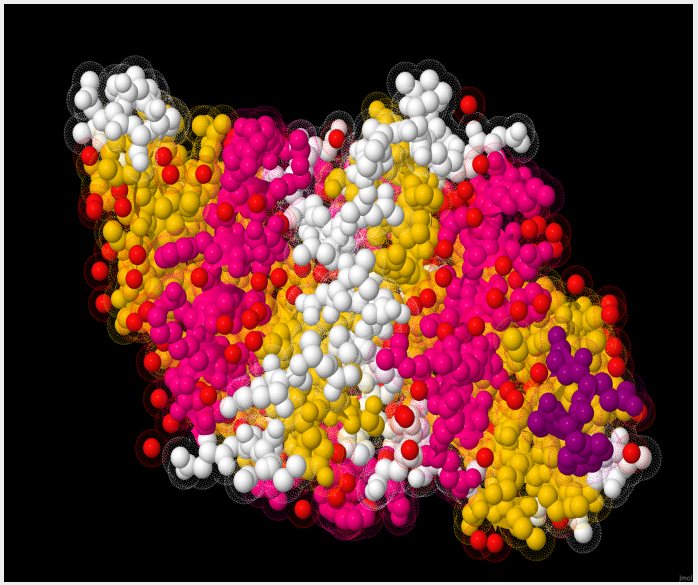


Figura 7.29. Cistatina C. Da PDB 3gax (Kolodziejczyk 2010) elaborata con Jmol®

☞ Le sostanze che più si avvicinano ai requisiti ideali sono:

- inulina (sostanza esogena)
- creatinina (sostanza endogena)
- cistatina C (peptide endogeno)

La *clearance* dell'inulina e della creatinina

☞ La sostanza che meglio risponde ai suddetti requisiti è l'inulina

- l'inulina è un polisaccaride esogeno costituito prevalentemente da unità di D-fruttoso (pm 5,000 Da)
- l'inulina viene completamente filtrata dal glomerulo ed eliminata con le urine senza essere né riassorbita né secreta dal tubulo, pertanto
- *la sua* clearance *corrisponde esattamente alla quantità di liquido filtrato dai glomeruli nell'unità di tempo*

☞ Per comodità di esecuzione, nella pratica clinica si ricorre più spesso alla creatinina, sostanza endogena

- la creatinina presenta però il limite di essere parzialmente secreta dalle cellule del tubulo renale, soprattutto quando i valori ematici si alzano per un deficit di filtrazione
- tale limite viene comunque controbilanciato da un errore tecnico relativo alla metodica utilizzata per la determinazione della creatinina che tende a sovrastimare la concentrazione di creatinina sierica rispetto a quella urinaria

Unità di misura:

- *creatinina plasmatica: (mg/dL)*
- *clearance della creatinina: (mL/min)*

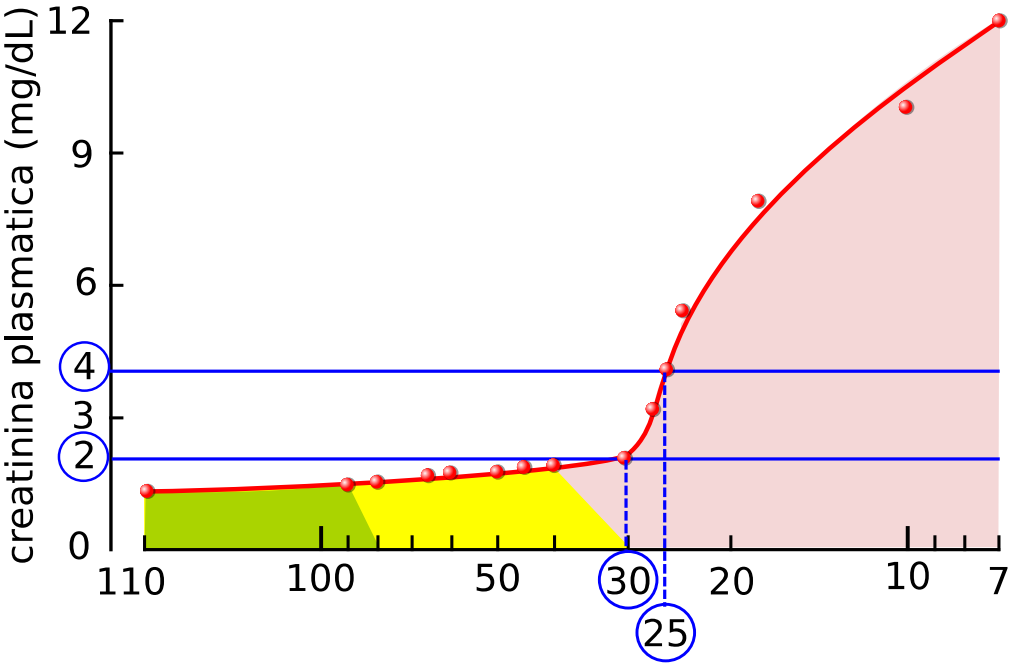


Figura 7.30. Relazione tra creatina plasmatica e clearance *della creatinina*

Cause di riduzione del filtrato glomerulare

☞ Una riduzione del filtrato glomerulare può verificarsi in seguito ad una:

- *riduzione della portata renale plasmatica*

es.: come quella che si verifica nei casi di:

- grave caduta della pressione arteriosa in seguito a stati di *shock*
- emorragie acute
- disidratazione

- *riduzione della superficie filtrante dei glomeruli*

es.: come quella che si verifica in corso di:

- glomerulonefrite cronica
- glomerulo-sclerosi diabetica
- pielonefrite cronica

7.11.1. Funzionalità renale nella pratica clinica

☞ Nella pratica clinica si utilizzano valutazioni indirette ottenute attraverso varie modalità di calcolo

La determinazione della velocità di filtrazione glomerulare (VFG) viene correntemente valutata mediante apposite formule che stimano in maniera molto attendibile la clearance della creatinina misurata in maniera convenzionale

☞ Le tre principali formule utilizzate per il calcolo del VFG sono:

- formula di Cockroft-Gault
- formula MDRDs (derivata dallo studio MDRD (*modification of diet in renal disease*), versione semplificata
- formula CKD-EPI (derivata dallo studio *chronic kidney disease epidemiology collaboration*). Attualmente è quella più utilizzata per la maggiore accuratezza specie negli alti valori di VFG.

☞ Esistono delle applicazioni certificate che eseguono i calcoli relativi a queste formule inserendo:

- età
- sesso
- etnia
- superficie corporea (od altra valutazione della massa corporea)
- creatininemia sierica

7.11.2. Determinazione della PRP (portata renale plasmatica)



Definizione di portata renale plasmatica

La portata renale plasmatica (PRP) è data dalla quantità di plasma che circola attraverso l'apparato escretorio renale nell'unità di tempo

☞ Condizione basilare per la determinazione della PRP è l'impiego di una sostanza che, in un solo passaggio attraverso il rene, venga

- completamente estratta dal sangue (non importa se ad opera del tubulo o del glomerulo)
- e totalmente escreta con le urine

La *clearance* di tale sostanza, vale a dire la quantità di plasma depurata dalla stessa nell'unità di tempo, corrisponderà al volume di plasma che attraversa il rene nell'unità di tempo cioè, appunto, alla PRP

La clearance del PAI (para-ammino-ippurato)

☞ La sostanza che meglio di ogni altra risponde ai suddetti requisiti è il sale sodico dell'acido para-ammino-ippurico (PAI), sostanza esogena che viene eliminata dal sangue sia per filtrazione glomerulare sia per secrezione tubulare

Una condizione fondamentale per l'uso del PAI nella determinazione delle PRP è che la sua concentrazione ematica rimanga sotto i 10 mg/mL: oltre questo valore, infatti, si supera sia la capacità di filtrazione glomerulare sia la capacità di secrezione tubulare

7.12. Valutazione della funzione tubulare

☞ Le prove funzionali sono indagini estremamente semplici che consentono di valutare la funzionalità del tubulo renale; esse studiano la capacità dei reni di adattare l'eliminazione urinaria a condizioni di:

- carenza d'acqua: prova di concentrazione
- sovraccarico: prova di diluizione

☞ prova di concentrazione:

- il paziente deve svuotare la vescica e consumare una cena priva di liquidi alle 18, senza assumere altro alimento liquido o solido
- alle 6, alle 8 e alle 10 della mattina successiva si raccolgono tre campioni di urina
- in condizioni di normale funzionalità tubulare, negli ultimi due campioni, o almeno in uno di essi, il peso specifico deve superare 1.025

☞ prova della diluizione:

- al soggetto digiuno dalla sera precedente si fa svuotare la vescica e quindi si somministrano 1,200 mL di acqua che devono essere bevuti in 30 min
- nelle successive 4 h, ogni 30 min si raccolgono separatamente le urine formate
- in condizioni di normale funzionalità tubulare, il peso specifico di almeno uno dei due primi campioni deve scendere a un valore di 1.003

7.13. Analisi di farmaci e droghe ricreazionali

☞ Le urine sono un ottimo mezzo per valutare l'assunzione di farmaci o droghe per ragioni non terapeutiche: auto-danneggiamento o scopo ricreazionale

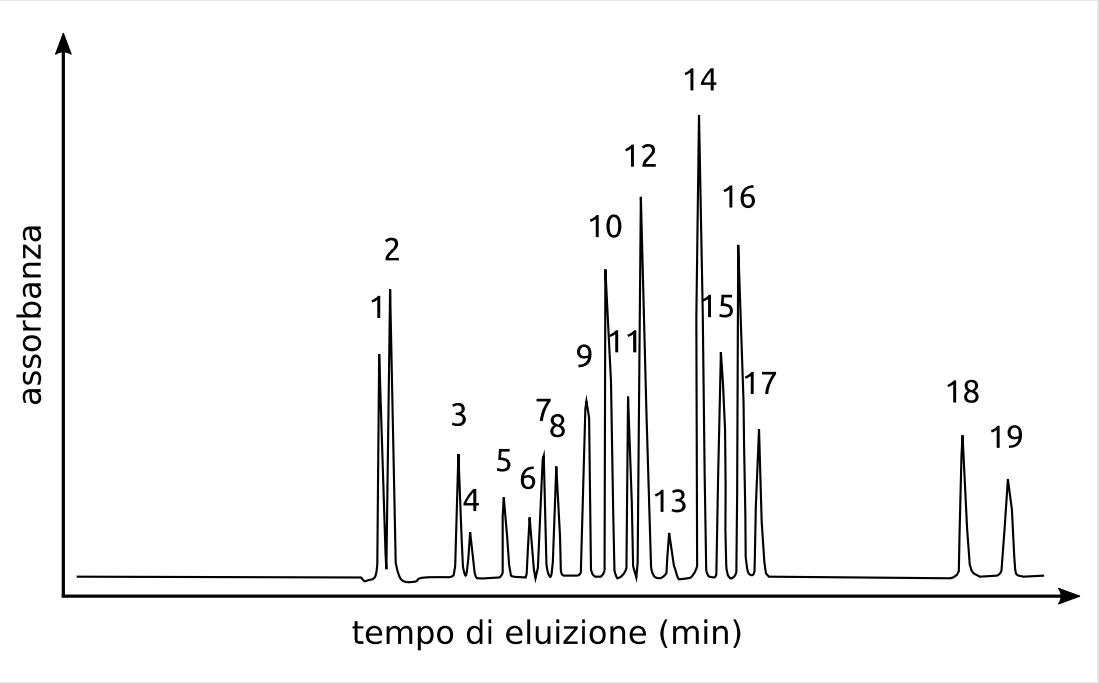


Figura 7.31. Screening dell'urina per la presenza di molteplici droghe da abuso per elettroforesi capillare. Dati da Alnajjar (2007)

(1) amfetamina, (2) metamfetamina, (3) efedrina, (4) psilocina, (5) cocaina, (6) cocaetilene, (7) metadone, (8) PCP (bifenile cloridrato), (9) feniramina, (10) difenidrammina, (11) ossicodone, (12) tebaina, (13) fentanil, (14) codeina, (15) morfina, (16) 6-AM (6-acetilmorfina), (17) eroina, (18) noscapina, (19) papaverina

7.14. Principali fonti utilizzate

Albik, M. (attivo nel XV secolo) Tractatus de Pestilencia. Praha

Alnajjar, A., Idris, A.M., Multzenberg, M., McCord, B. (2007) Development of a capillary electrophoresis method for the screening of human urine for multiple drugs of abuse. J. Chromatography B 856, 62–67

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012), Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.cib.unibo.it/3437/

Giorgio Federici. (2008) Medcina di Laboratorio. III ed. Mc Graw Hill, Milano

Johannes de Ketham (1495) Fasciculus Medicinae. Venezia

Kolodziejczyk, R., Michalska, K., Hernandez-Santoyo, A., Wahlbom, M., Grubb, A., Jaskolski, M. (2010) Crystal structure of human cystatin C stabilized against amyloid formation. Febs J. 277, 1726-1737

Meydenbach, J. (1491) Ortus sanitatis. Mainz

Muhammad ibn Zakariya al-Razi (attivo tra il 865 ed il 930) Opere tradotte da Gerardo da Cremona (attivo tra il 1134 ed il 1178)

Simerville, J.A., Maxted, W.C., Pahira, J.J. (2005) Urinalysis: a comprehensive review. Am. Fam. Physician. 71, 1153-1162

Siti web

aafp.org/afp/2005/0315/p1153	*visitato il 13/04/2013*	*accessibile il 30/01/2014*
barbieri_strocchi_lezioni_di_Patologia_generale_2014	*visitato il 25/09/2012*	*accessibile il 30/01/2014*
encyclopedie-universelle_fasciculus-medicinae	*visitato il 27/09/2012*	*accessibile il 30/01/2014*
images.nigms.nih.gov_ID=2399	*visitato il 13/04/2013*	*accessibile il 30/01/2014*
islam.wikia.com/wiki/Alchemy_and_chemistry_in_medieval_Islam?file=Al-RaziInGerardusCremonensis1250.JPG	*visitato il 13/04/2013*	*accessibile il 30/01/2014*
library.med.utah.edu/WebPath	*visitato il 05/11/2012*	*accessibile il 30/01/2014*
lifeinthefastlane.com/investigations/tests/urinalysis/	*visitato il 13/04/2013*	*accessibile il 30/01/2014*



8. Il laboratorio nel diabete mellito

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

8. Il laboratorio nel diabete mellito....1
8.1. Diabete mellito....3
8.1.1. Metabolismo normale dell'insulina....5
8.1.2. Principali effetti biologici dell'insulina....6
8.1.3. Epidemiologia....8
8.1.4. Correlazioni cliniche....9
8.2. Criteri per la diagnosi di diabete....10
8.2.1. Intolleranza al glucoso....12
8.3. Classificazione del diabete....13
8.4. Diabete di tipo 1....14
8.4.1. Diabete di tipo 1: caratteristiche cliniche....15
8.5. Diabete di tipo 2....17
8.6. LADA: Latent Autoimmune Diabetes in Adults....20
8.7. Criteri per la diagnosi di diabete in gravidanza....21
8.8. Complicanze "a distanza" del diabete....22
8.9. Indagini di laboratorio per la diagnosi di diabete....23
8.10. Indagini di laboratorio per il monitoraggio del paziente diabetico....24
8.10.1. Glycation (glicosilazione non enzimatica)....25
8.11. Screening per il diabete di tipo 2 in soggetti asintomatici....27
8.11.1. Fattori di rischio per il diabete di tipo 2....27
8.12. Principali fonti utilizzate....28



8.1. Diabete mellito

Definizione di diabete mellito

Il diabete mellito è una malattia cronica che interessa il metabolismo dei carboidrati, dei lipidi e delle proteine, caratterizzata da un patologico aumento della concentrazione di glucoso nel sangue conseguente ad una carenza assoluta o relativa, rispetto al soggetto normale di uguale peso e costituzione, dell'attività biologica dell'insulina

☞ Il deficit insulinico si riflette sul metabolismo intermedio e terminale

- del glucoso
- degli amminoacidi
- dei lipidi

Cosicché il diabete mellito si presenta come una condizione morbosa che abbraccia tutti gli aspetti metabolici dell'organismo

☞ Il diabete mellito con le sue complicanze, può interessare praticamente tutti gli organi e gli apparati

Il diabete mellito può

- decorrere in maniera completamente asintomatica
- manifestarsi con patologie a carico di differenti organi
- essere una condizione gravemente invalidante per la vita di relazione
- avere un esito anche fatale

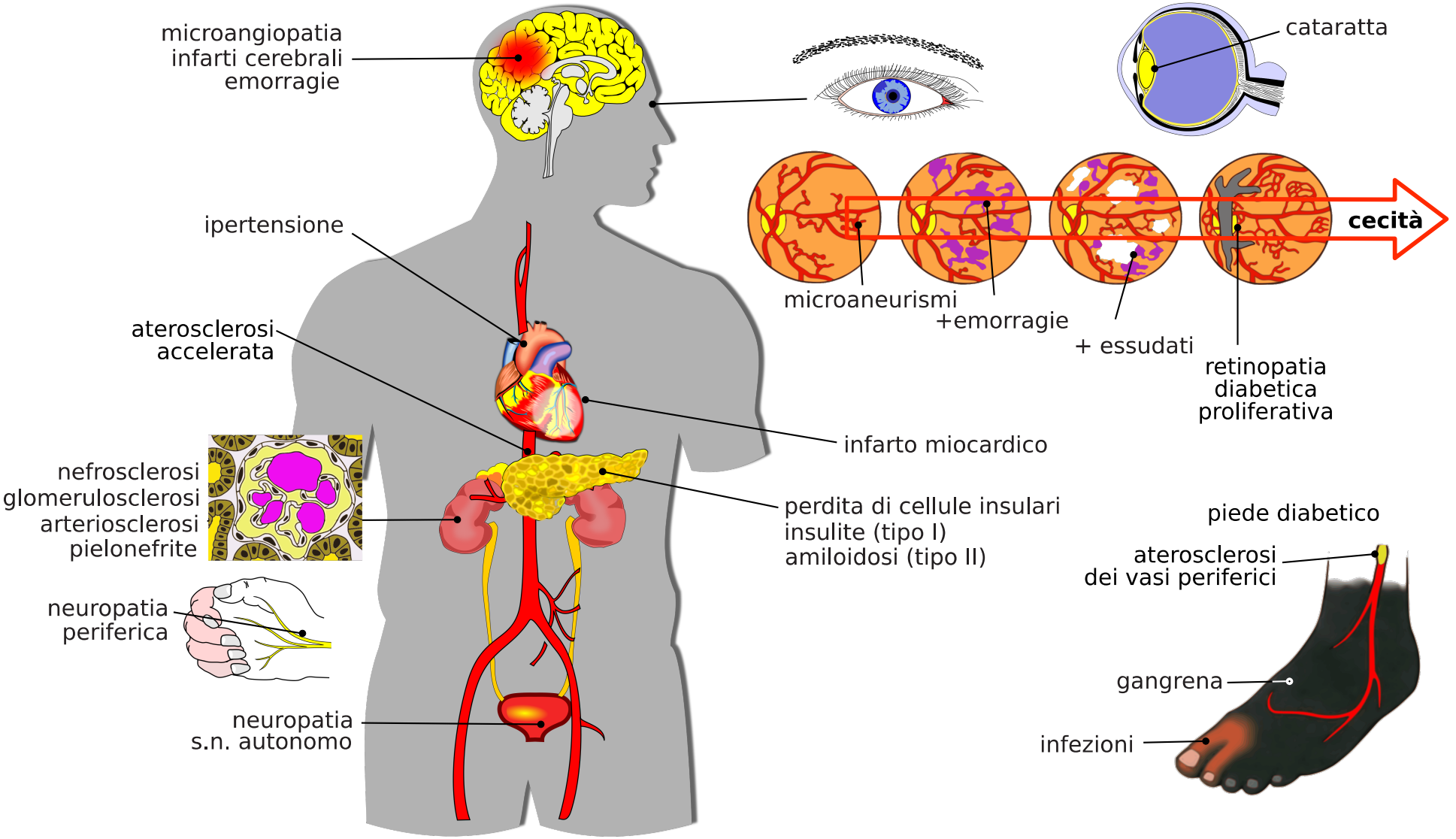


Figura 8.1. Complicanze secondarie del diabete. Da Barbieri (2012)

8.1.1. Metabolismo normale dell'insulina

☞ L'insulina è un ormone peptidico ed ha una vita complessa:

- il gene dell'insulina viene espresso nelle cellule β delle isole pancreatiche
- l'ormone, prima di essere immesso in circolo, viene immagazzinato in granuli citoplasmatici
- il rilascio dell'ormone è un processo bifasico che interessa due diversi *pool* di insulina
- l'aumento della glicemia determina la pronta liberazione dell'insulina accumulata nei granuli secretori
- se lo stimolo persiste segue una risposta ritardata ma continua che implica una attiva sintesi dell'ormone
- lo stimolo più importante per il rilascio e per la sintesi dell'insulina, è rappresentato dal glucoso
- le modificazioni che esso induce nel metabolismo cellulare, unitamente alla stimolazione colinergica da parte del sistema nervoso autonomo, promuovono la secrezione insulinica
- altri fattori, quali ormoni intestinali, alcuni amminoacidi (leucina, arginina), sulfaniluree, stimolano invece la liberazione dell'insulina, ma non la sua sintesi
- l'insulina viene ultrafiltrata dal rene e riassorbita nei tubuli contorti prossimali dove viene distrutta. Altre vie di eliminazione dell'insulina dipendono da attività proteasiche specifiche e non specifiche

8.1.2. Principali effetti biologici dell'insulina

☞ I principali effetti biologici dell'insulina sono:

- stimola l'ingresso di glucoso nelle cellule riducendo la glicemia
- stimola la glicogeno-sintesi e inibisce la glicogeno-lisi
- stimola la glicolisi e inibisce la gluconeogenesi
- stimola la sintesi di acidi grassi e trigliceridi e inibisce il catabolismo lipidico
- riduce la chetogenesi favorendo l'ingresso dell'acetil-coenzima-A nel ciclo di Krebs
- stimola l'ingresso di amminoacidi nelle cellule (soprattutto muscolari) riducendo l'amminoacidemia
- facilita l'avvio della formazione di catene peptidiche stimolando quindi la sintesi proteica, e riduce la proteolisi
- favorisce l'ingresso cellulare di potassio e l'uscita di sodio
- favorisce la sintesi degli acidi nucleici
- stimola la crescita dei tessuti esercitando una azione anabolizzante

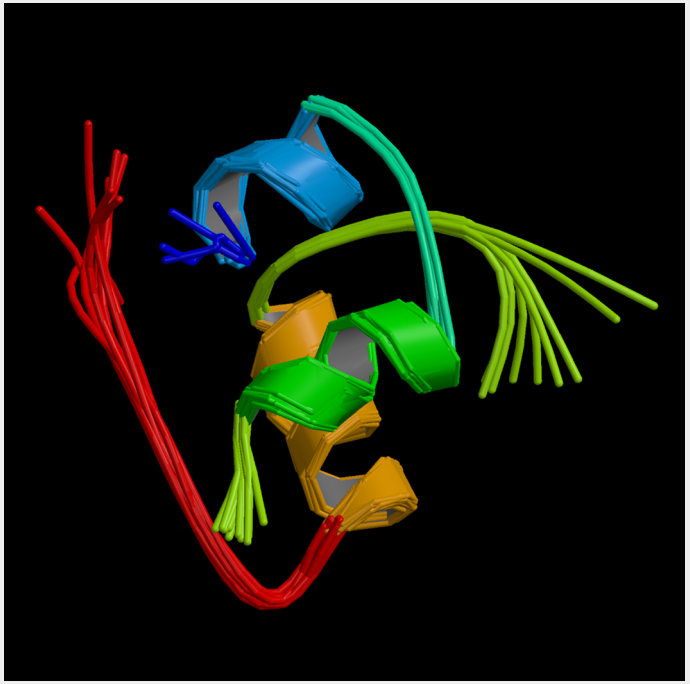


Figura 8.2. Struttura 3D dell'insulina

Rendering *di 1g7a.pdb (Bohem,1999) ottenuto con molscript® (Kraulis, 1991) e Raster3D® (Merrit, 1997)*

Ormoni che influenzano i livelli di glicemia

Tabella 8.1. Ormoni che influenzano i livelli di glicemia

ormone	origine	principali effetti metabolici	effetto sulla glicemia
insulina	pancreas	• aumenta la captazione cellulare del glucoso • stimola la glicogeno-sintesi, la sintesi di acidi grassi e trigliceridi, e la sintesi proteica • inibisce la glicogeno-lisi, la proteolisi e la lipolisi	diminuzione
glucagone	pancreas	• stimola la glicogeno-lisi • stimola la gluconeogenesi • stimola la chetogenesi	aumento
somatostatina	pancreas	• inibisce il rilascio di glucagone e di insulina	aumento
adrenalina	surrene	• stimola la glicogeno-lisi • stimola la lipolisi • induce la sintesi del glucagone	aumento
cortisolo	surrene	• stimola la gluco-neogenesi • stimola la lipolisi	aumento
ACTH	ipofisi	• aumenta il rilascio di cortisolo • stimola la lipolisi	aumento
GH	ipofisi	• antagonista dell'insulina • stimola la lipolisi	aumento
tiroxina	tiroide	• stimola la glicogeno-lisi • stimola l'assorbimento intestinale degli zuccheri	aumento

8.1.3. Epidemiologia

☞ Il diabete è diagnosticato nel 3% della popolazione italiana

circa il 10% dei pazienti è affetto da diabete di tipo 1

- è in trattamento insulinico (100%)

il restante 90% è affetto da diabete di tipo 2

- è in trattamento con insulina (10%)
- è in trattamento con ipo-glicemizzanti orali (60%)
- è in trattamento con la sola dieta (30%)

☞ A questa quota di diabete diagnosticato si deve aggiungere una quota, dello stesso ordine di grandezza, di diabete non diagnosticato, rappresentato esclusivamente da diabete di tipo 2

Ciò significa che nel nostro paese vi sono non meno di 3,000,000 soggetti diabetici, solo per la metà riconosciuti come tali

---

☞ La prevalenza del diabete di tipo 2 aumenta con l'età; al di sopra dei 65 anni, oltre il 10% della popolazione è affetta da diabete

---

8.1.4. Correlazioni cliniche

Figura 8.3. Correlazioni cliniche del diabete.

Le manifestazioni cliniche del diabete sono così variabili che non si lasciano facilmente sintetizzare.

I sintomi soggettivi classici nel diabete scompensato sono:

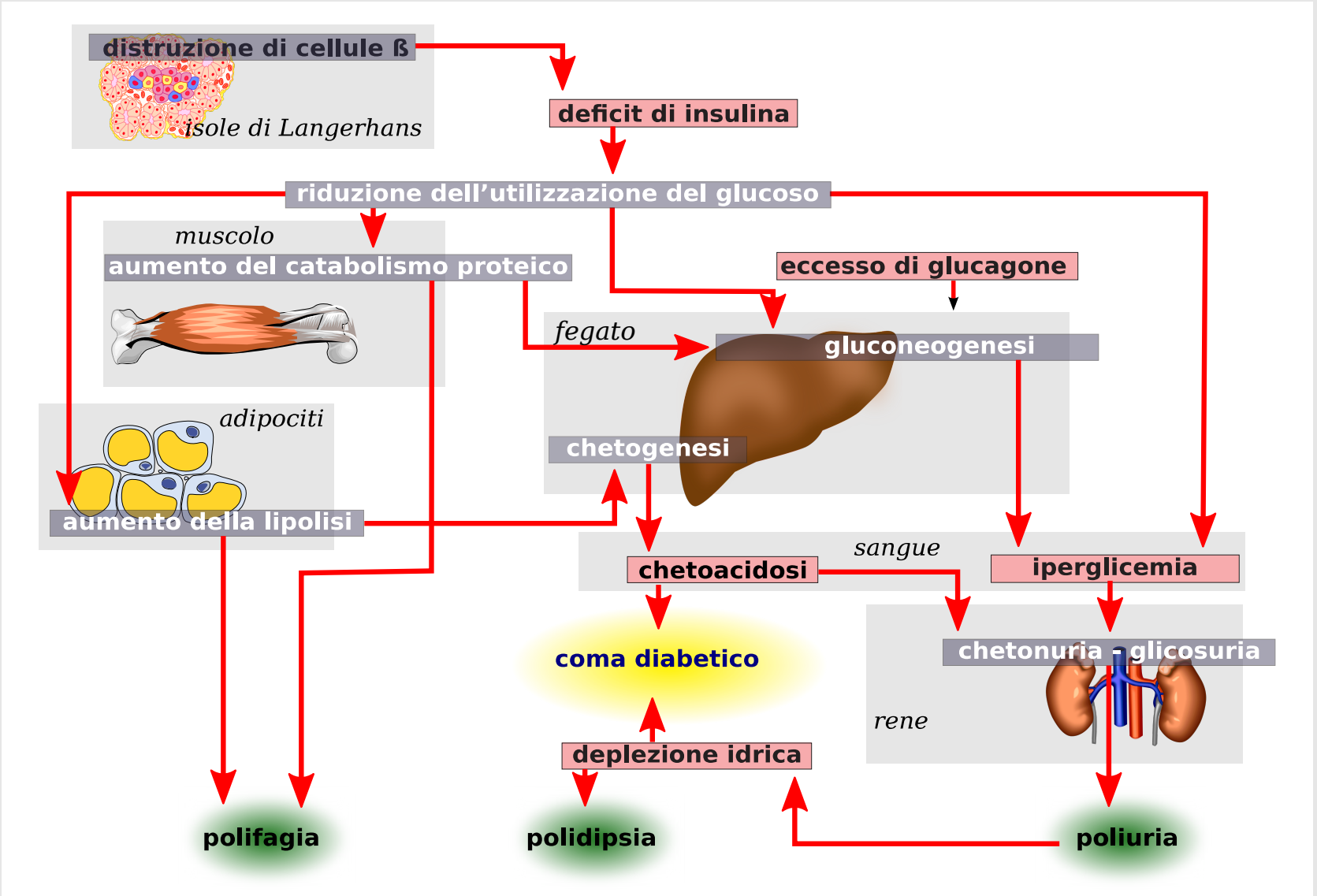
- *polifagia*
- *polidipsia*
- *poliuria*

Nelle crisi iperglicemiche più gravi si arriva a:

- *chetoacidosi*
- *coma diabetico*

La somministrazione eccessiva di insulina per correggere l'iperglicemia può causare sintomi di ipoglicemia, sino al coma ipoglicemico

Da Barbieri (2012)



8.2. Criteri per la diagnosi di diabete 

Tabella 8.2. Criteri diagnostici per il diabete

	riscontro casuale di glicemia		**glicemia a digiuno**		**2hrPPG (*two-hour post-prandial plasma glucose*) 75 g**	
	(mg/dL)	(mmol/L)	(mg/dL)	(mmol/L)	(mg/dL)	(mmol/L)
soggetto normale			<100	5.5	<140	7.75
alterata omeostasi glucidica a digiuno			100-125	5.5-7.0		
intolleranza al glucoso					140-199	7.8-11.1
diabete mellito riscontro in almeno due occasioni di: sintomi di diabete mellito (poliuria, polidipsia polifagia e perdita di peso) associati al riscontro di valori ematici di glicemia elevata	≧200	≧11.1	≧126	≧7.0	≧200	≧11.1

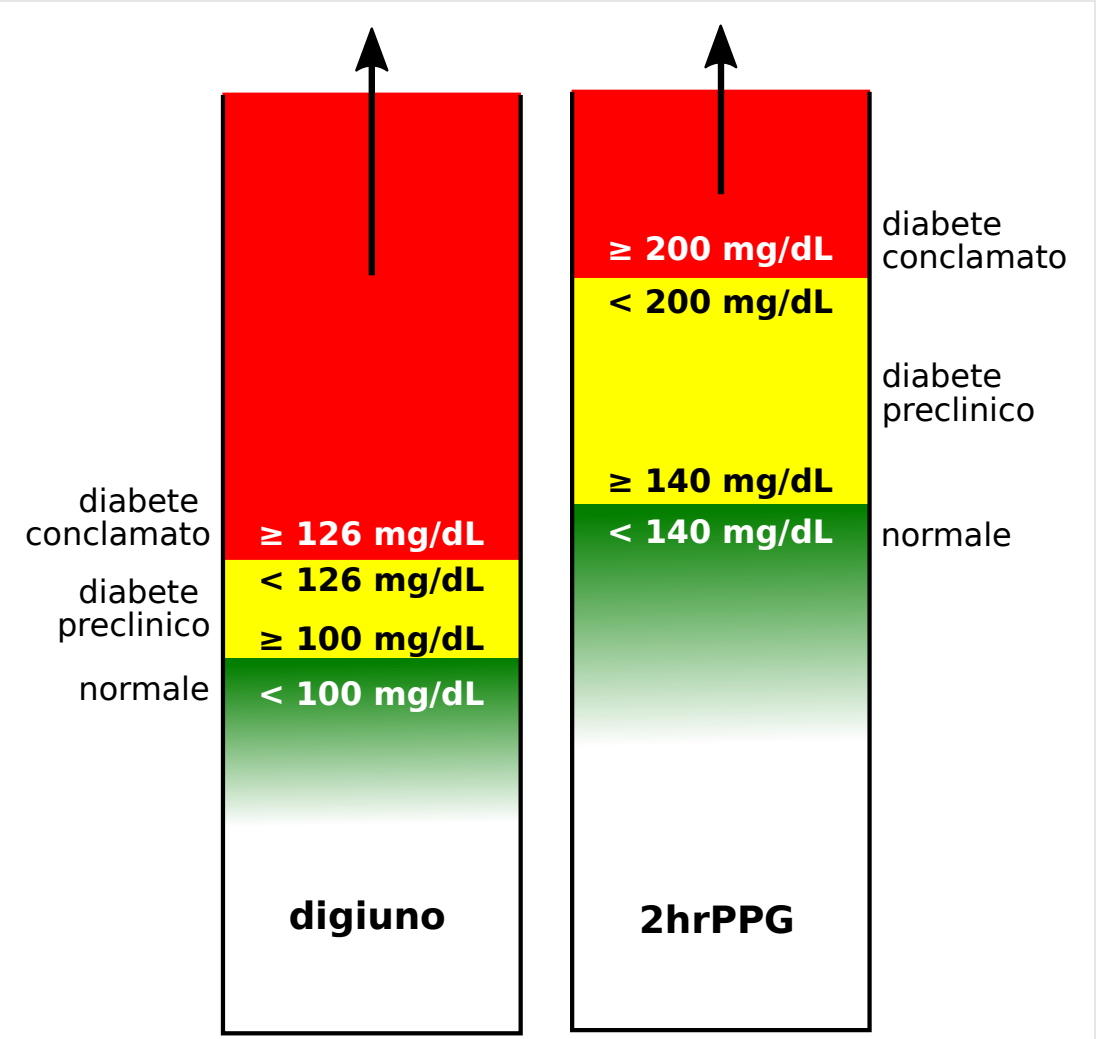


Figura 8.4. Valori di glicemia a digiuno e dopo un pasto.

2hrPPG: 2 hours post-prandial glucose *(glicemia post-prandiale, 2 h)*

8.2.1. Intolleranza al glucoso

☞ Una ridotta tolleranza al glucoso è una caratteristica del diabete mellito

si evidenzia valutando la glicemia al mattino a digiuno e poi a tempi successivi dopo somministrazione di glucoso per via orale

- nei soggetti normali si osserva solo un lieve aumento della glicemia, in quanto la pronta secrezione pancreatica di insulina riporta i valori alla norma entro 1 ora
- nei soggetti diabetici, anche se in fase di malattia pre-clinica, la glicemia aumenta in modo abnorme e si mantiene a livelli elevati per un tempo più lungo

Ciò può dipendere da

- mancanza di insulina
- mancata risposta all'insulina nei tessuti bersaglio
- entrambi i fattori

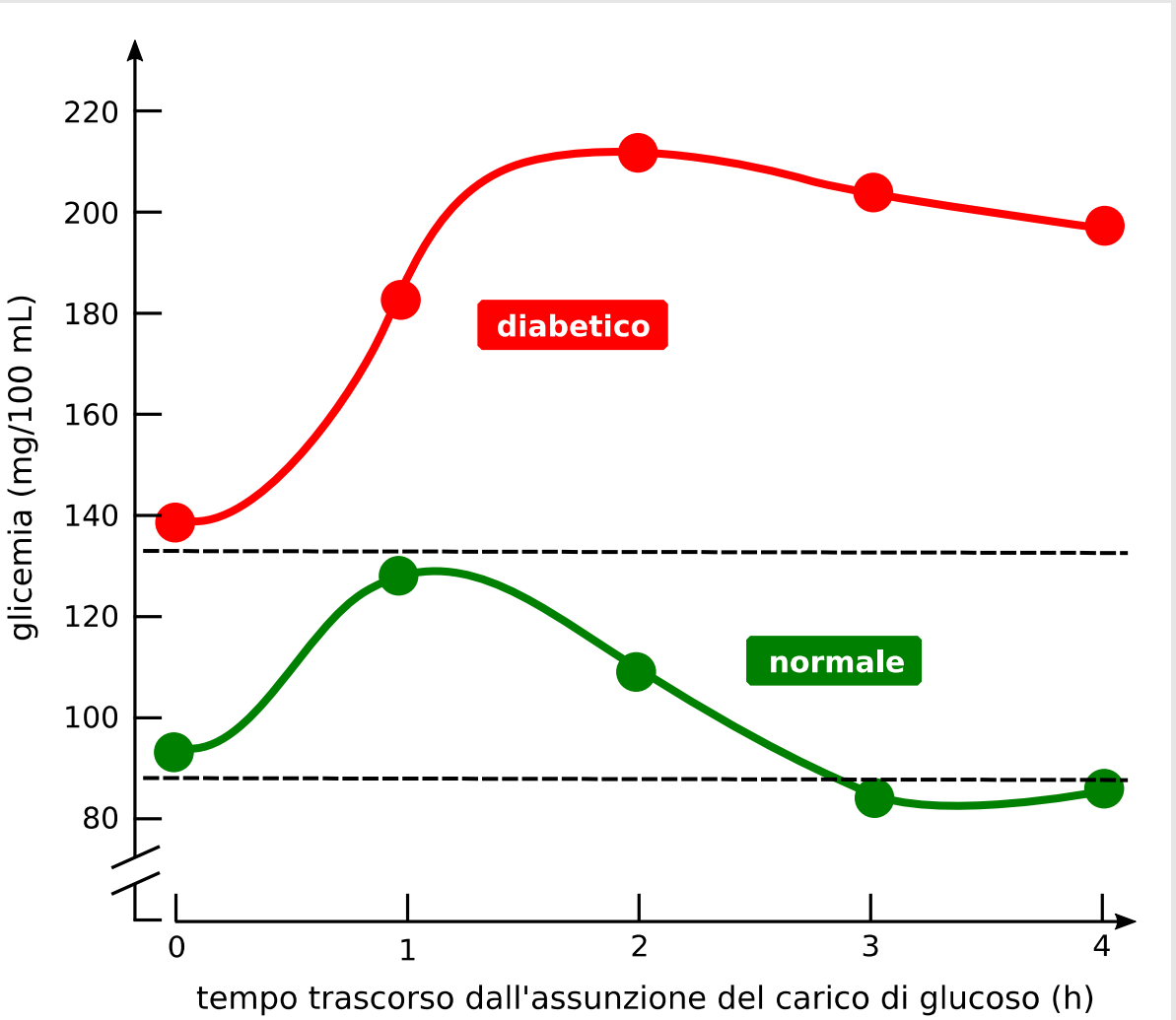


Figura 8.5. Curva da carico di glucoso. Da Barbieri (2012)

8.3. Classificazione del diabete



- *diabete di tipo 1*
- *diabete di tipo 2*
- *altri tipi (forme da causa nota):*
  - difetti genetici della funzione delle cellule β (MODY (*maturity onset diabetes of the young*, diabete giovanile ad insorgenza nell'adulto), etc.)
  - difetti genetici dell'azione insulinica
  - malattie del pancreas esocrino (pancreatiti, traumi, pancreasectomia, neoplasie, fibrosi cistica, emocromatosi, etc.)
  - endocrinopatie (acromegalia, sindrome di Cushing, glucagonoma, feocromocitoma, ipertiroidismo, aldosteronoma, somatostatinoma)
  - indotto da farmaci o da sostanze chimiche (vacor, pentamidina, acido nicotinico, glucocorticoidi, ormone tiroideo, agonisti β-adrenergici, tiazide, fenitoina, interferone, etc.)
  - infezioni (rubella congenita, citomegalovirus, etc.)
  - forme non comuni immuno-mediate
  - sindromi genetiche talvolta associate al diabete (sindrome di Down, sindrome di Klinefelter, sindrome di Turner, atassia di Friedreich, corea di Huntington, sindrome di Lawrence-Moon Beidel, distrofia miotonica, porfiria, sindrome di Prader-Willi, altre)
- *diabete gestazionale*

8.4. Diabete di tipo 1

☞ Il diabete mellito di tipo I o diabete insulino-dipendente (IDDM: insulin dependent diabetes mellitus):

- è il risultato di una carenza di insulina per riduzione delle cellule β nelle isole pancreatiche
- si sviluppa di solito nell'infanzia
- diabete mellito insulino-dipendente perché è indispensabile la somministrazione di insulina per la sopravvivenza

☞
- il diabete di tipo I si rende clinicamente evidente solo dopo che si è avuta la distruzione della maggior parte di cellule β

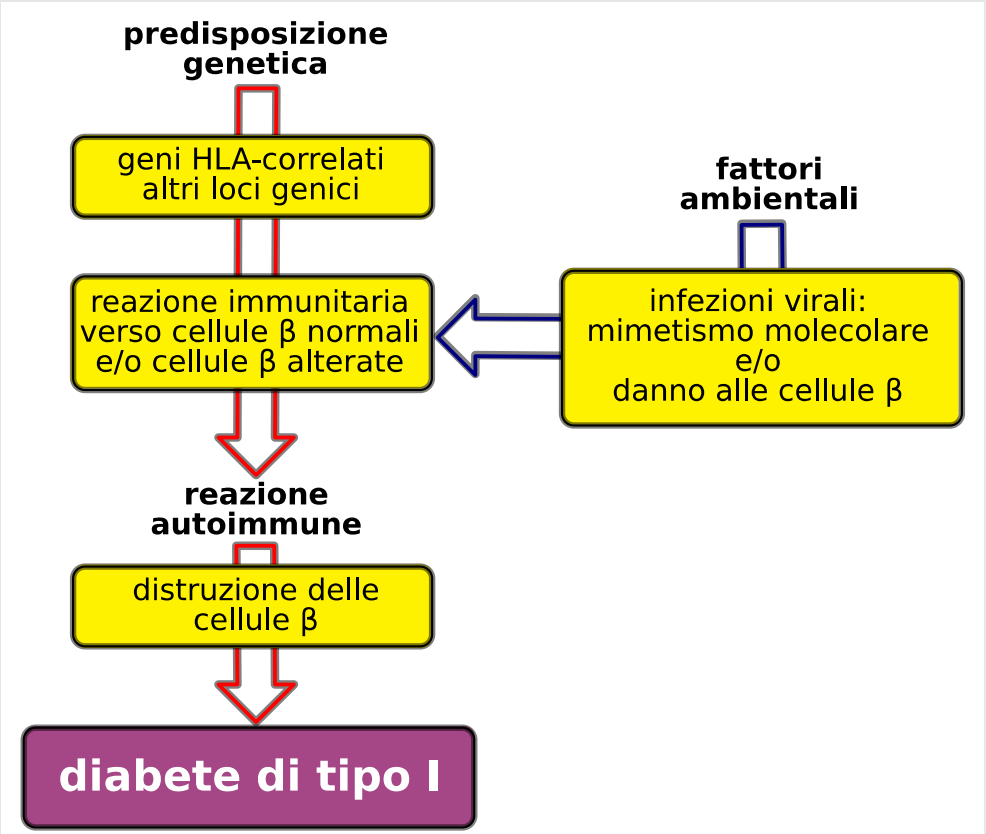


Figura 8.6. Patogenesi del diabete mellito di tipo I insulino-dipendente. Da Barbieri (2012)

8.4.1. Diabete di tipo 1: caratteristiche cliniche

☞ Il diabete di tipo 1 esordisce nel 95% dei casi prima dei 25 anni e, comunque, sempre prima dei 35. Il paziente tipico ha aspetto fisico normale o deperito, comunque non obeso. I sintomi possono comparire bruscamente e sono costituiti da:

- poliuria, cioè diuresi osmotica provocata dalla glicosuria, talvolta associata a sintomi di disidratazione
- polidipsia, cioè sete intensa conseguente alla perdita di acqua ed elettroliti
- polifagia, cioè aumento dell'appetito conseguente al passaggio da una fase anabolica insulino-dipendente ad una fase catabolica da deficit insulinico
- progressivo calo ponderale debolezza muscolare
- chetoacidosi

Chetoacidosi diabetica

☞ La chetoacidosi diabetica è indotta da un grave deficit insulinico associato ad un incremento assoluto o relativo del glucagone che si produce:

- nel diabete di tipo 1 non sufficientemente trattato o non ancora trattato con insulina, o in seguito a brusca interruzione della terapia con insulina
- nel diabete di tipo 1 o, raramente, di tipo 2 in seguito alla liberazione di un eccesso di ormoni contro-regolatori dell'insulina conseguente a stress fisici (infezioni, traumi, interventi chirurgici, etc.) o emozionali

Coma chetoacidosico

☞ Per fornire alle cellule fonti energetiche alternative al glucoso, l'organismo ricorre a

- catabolismo dei lipidi (lipolisi)
- mobilitazione degli acidi grassi liberi (NEFA)
- accelerato catabolismo epatico degli acidi grassi (β-ossidazione)

Si produce un eccesso di acetil-CoA che non può entrare nel ciclo di Krebs per difetto del suo partner naturale, l'acido ossalacetico che dipende dal metabolismo del glucoso

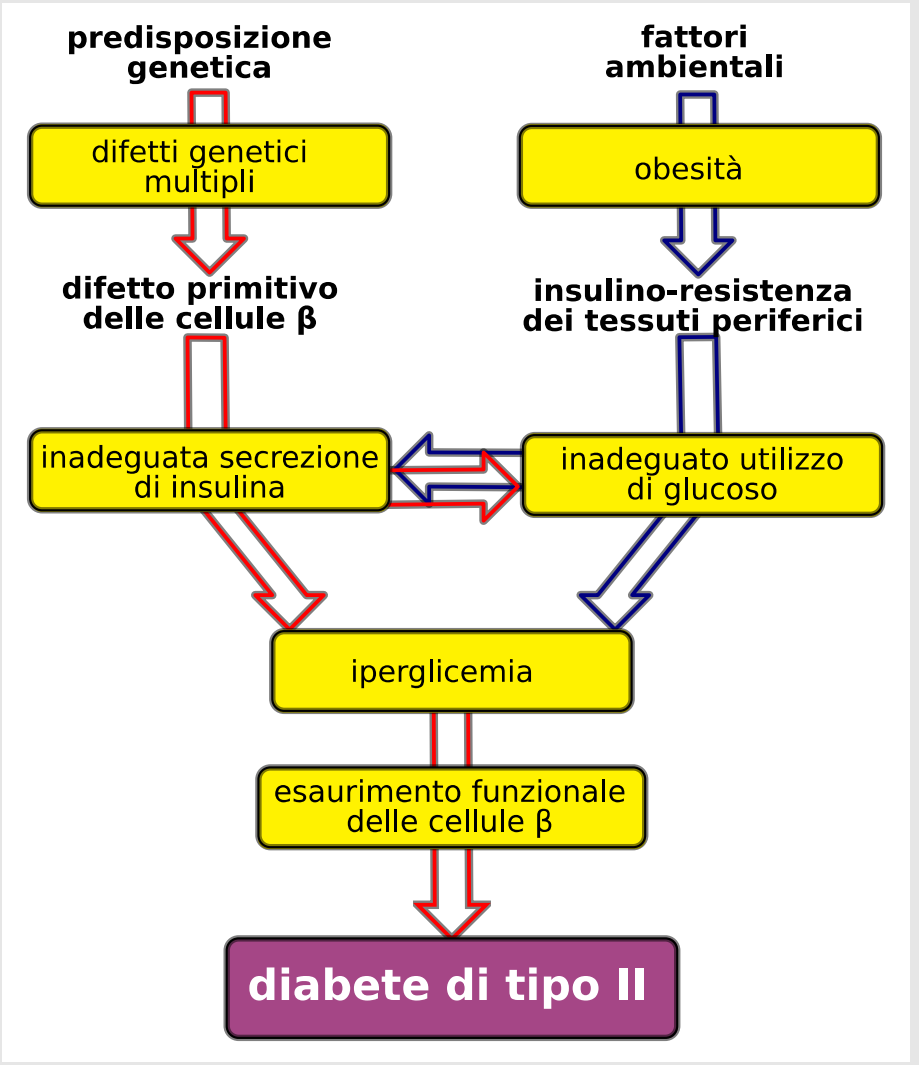
Dalla condensazione delle molecole di acetil-CoA formatesi in eccesso si producono i corpi chetonici

- acido acetoacetico
- acido β-idrossibutirrico
- acetone

I corpi chetonici possono giungere ad alterare l'equilibrio acido base, orientandolo nel senso della acidosi; l'acidosi a sua volta può scompensarsi in seguito a condizioni intercorrenti (infezioni o altri tipi di stress) e precipitare il coma chetoacidosico

8.5. Diabete di tipo 2

Figura 8.7. Patogenesi del diabete mellito di tipo II non insulino-dipendente (NIDDM, non insulin-dependent diabetes mellitus*). Da Barbieri (2012)*



Il diabete di tipo II non insulino-indipendente (NIDDM, *non insulin-dependent diabetes mellitus*) non è correlato a geni HLA, e non vi sono generalmente segni di meccanismi autoimmunitari, la correlazione genetica però è più stretta che nel diabete di tipo I

Sono significative le correlazioni con le abitudini di vita

A partire dai dati epidemiologici si può affermare che il diabete di tipo II sia il risultato di molteplici alterazioni genetiche, ciascuna con un suo proprio rischio, e ciascuna influenzabile da fattori ambientali

I pazienti con diabete di tipo 2 presentano due caratteristiche fisiopatologiche fondamentali:

- una alterata produzione di insulina da parte delle cellule
- una resistenza dei tessuti periferici all'azione della insulina

Diabete di tipo 2: sviluppo

☞ Si possono riconoscere tre fasi nell'andamento della malattia:

- una prima fase con glicemia normale nonostante la presenza di elevati livelli di insulina, segno di resistenza periferica all'insulina
- una seconda fase in cui si assiste ad un aumento della resistenza all'insulina con progressiva diminuzione della tolleranza al glucoso e conseguente comparsa di iperglicemia post-prandiale
- una terza fase in cui non si modifica significativamente la resistenza all'insulina, ma si assiste ad una riduzione della secrezione della insulina che determina l'insorgenza di iperglicemia a digiuno e diabete franco

Diabete di tipo 2: caratteristiche cliniche

☞ Il diabete di tipo 2 rappresenta l'80–90% delle forme di diabete

esordisce dopo i 40 anni (da cui il termine "diabete dell'età adulta") in pazienti tipicamente sovrappeso

L'esordio è sintomatologicamente graduale e spesso l'iperglicemia è un riscontro occasionale durante indagini di laboratorio di routine in soggetti asintomatici: l'attenzione del clinico deve comunque essere suscitata dalla comparsa di astenia o di perdita di peso altrimenti non spiegabili

Questi pazienti solitamente non sviluppano chetoacidosi (o comunque la chetoacidosi rappresenta un evento molto raro), mentre in caso di scompenso può verificarsi un coma iper-osmolare non chetosico

Coma iper-osmolare

☞ Il coma iper-osmolare è caratterizzato da una disidratazione imponente prodotta da una diuresi eccessiva non controbilanciata da un apporto idrico adeguato

Clinicamente si manifesta con

- iper-glicemia gravissima (anche >1,000 mg/dL)
- iper-osmolarità conseguente
- ipo-volemia
- iper-natriemia

insieme a segni di interessamento del sistema nervoso centrale

- obnubilamento del sensorio
- torpore
- coma

Sono spesso presenti malattie concomitanti di vario genere e il coma può essere precipitato dalla somministrazione di farmaci quali diuretici, corticosteroidi e fenitoina

8.6. LADA: Latent Autoimmune Diabetes in Adults 

☞ Sinonimi:

- *Late-onset Autoimmune Diabetes of Adulthood*
- *Slow Onset Type 1 diabetes*
- *Type one-and-a-half (1.5) diabetes*

Caratteristiche principali:

- insorge in età adulta (solitamente oltre i 25 anni)
- si presenta come diabete di tipo 2 (per l'età e per l'assenza di chetoacidosi) in soggetti non obesi che solitamente non presentano familiarità per il diabete
- inizialmente può essere controllato con la dieta e con ipo-glicemizzanti orali
- nel giro di pochi mesi sviluppa gradualmente insulino-dipendenza
- non presenta resistenza periferica all'insulina
- presenta bassi valori di peptide C
- è positivo agli auto-anticorpi (anti-GAD65)

8.7. Criteri per la diagnosi di diabete in gravidanza

☞ I *test* di *screening* sono da eseguire su tutte le gestanti tra la 24ª e la 28ª settimana di gestazione

Tabella 8.3. Criteri per la diagnosi di diabete in gravidanza

glicemia:	***test* di *screening* (con somministrazione di 50 g di glucoso)**	***test* diagnostico (con somministrazione di 100 g di glucoso)**
a digiuno		**≦105 mg/dL**
dopo 1 h	**≧140 mg/dL**	**≧190 mg/dL**
dopo 2 h		**≧165 mg/dL**
dopo 3 h		**≧145 mg/dL**

8.8. Complicanze "a distanza" del diabete 

☞ Oltre alle complicanze acute di tipo metabolico (chetoacidosi e stato iper-osmolare), il diabete è anche caratterizzato dallo sviluppo di gravi lesioni vascolari che si producono diversi anni dopo l'insorgenza della malattia, e che sono provocate dagli elevati livelli di glucoso nel sangue; tali complicanze comprendono:

- la micro-angiopatia diabetica (retinopatia, neuropatia e nefropatia), caratterizzata dall'ispessimento della membrana basale dei capillari e dalla compromissione dei parenchimi interessati per il ridotto apporto di ossigeno e nutrienti
- la macro-angiopatia diabetica, che è invece alla base delle complicanze aterosclerotiche di cui il diabete è un importante fattore di rischio, comprendenti la coronaropatia, la vasculopatia periferica e la malattia cerebrovascolare

8.9. Indagini di laboratorio per la diagnosi di diabete



☞ Indagini ematiche

- glicemia a digiuno e 2 ore dopo il pasto (2hrPPG)
- insulinemia basale e 2 ore dopo il pasto (2hrPPG)
- chetonemia

Indagini urinarie

- glicosuria
- chetonuria

Indagini immunitarie: presenza di anticorpi

- anti-β cellula pancreatica (ICA, *islet cell antibodies*)
- anti-insulina (IAA, insulin auto-antibodies)
- anti-acido glutammico decarbossilasi (GADA, *glutamic acid decarboxylases auto-antibodies* o anti-GAD65)
- anti-tirosinfosfatasi (IA2)

Indagini immuno-genetiche e genetiche

- tipizzazione per gli antigeni HLA
- diagnosi molecolare delle forme genetiche

8.10. Indagini di laboratorio per il monitoraggio del paziente diabetico



☞ Obiettivi del trattamento del paziente diabetico:

- glicemia a digiuno <120 mg/dL
- HbA1c <7%

☞ *Test* legati direttamente al glucoso ed all'insulina:

- glicemia/glicosuria
- insulinemia
- peptide C: frammento di 31 amminoacidi che si stacca dalla pro-insulina e si libera in circolo dalle cellule pancreatiche in quantità equimolari all'insulina
- emoglobina glicata (HbA1c): quota di emoglobina legata al glucoso; riflette una glicemia media relativa ai 30-60 giorni precedenti il prelievo

Test di funzionalità generale

- indici di funzionalità renale: micro-albuminuria, BUN (*blood urea nitrogen*), creatininemia
- assetto lipidico: colesterolo totale e frazionato, trigliceridi

8.10.1. *Glycation* (glicosilazione non enzimatica)

☞ È il processo per il quale il glucoso si lega ai gruppi amminici delle proteine senza l'intervento di enzimi

Il grado di glicosilazione non enzimatica è in rapporto diretto con la concentrazione del glucoso nel sangue

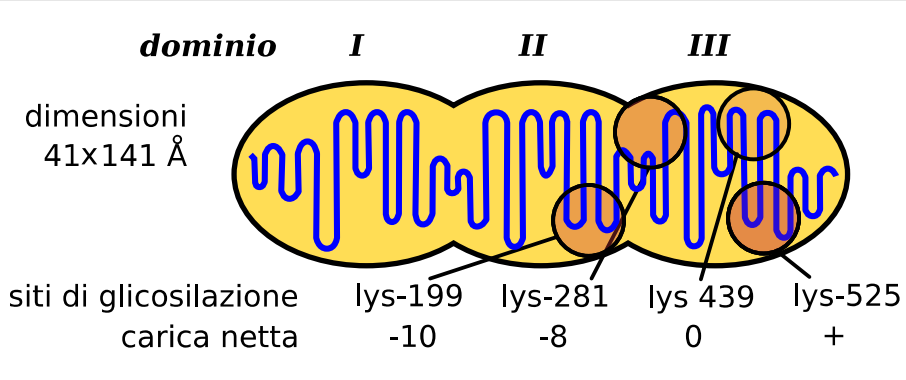


Figura 8.8. Albumina glicata. Da Barbieri (2012)

☞ L'emoglobina glicata (HbA1c) rappresenta il prodotto di una reazione non enzimatica tra una molecola di glucoso e il gruppo ammino-terminale (-NH_2) della valina presente nelle catene dell'emoglobina

- Tale reazione avviene in due fasi delle quali la prima, reversibile, conduce alla formazione di una base di Schiff (aldimina) e la seconda, irreversibile, alla formazione di un prodotto di Amadori, la chetoammina (HbA1c)
- Un incremento transitorio della glicemia può produrre la formazione di una notevole quantità di aldimine, reazione comunque reversibile con la normalizzazione dei valori glicemici; la persistenza di iperglicemia rende invece tale reazione irreversibile, per cui la molecola di emoglobina resterà "glicata" sino alla morte del globulo rosso

Poiché questo processo avviene con continuità nel corso dei 120 giorni di vita dei globuli rossi, una singola misurazione del contenuto in emoglobina glicosilata fornisce un indice dei livelli medi glicemici nei 2-4 mesi precedenti ed è quindi un utile ausilio nella caratterizzazione diagnostica della malattia

Emoglobina glicata: HbA1c

Tabella 8.4: Corrispondenza tra percentuale di HbA1c glicata e glicemia media

Hba1c glicata		glicemia	
(%)	unità IFCC (mmol/mol)	(mg/dL)	(limiti 95%)
5	31	97	70-120
6	42	126	100-152
7	53	150	122-179
8	64	183	147-217
9	75	212	170-249
10	86	240	193-282
11	97	269	217-314
12	108	300	240-347

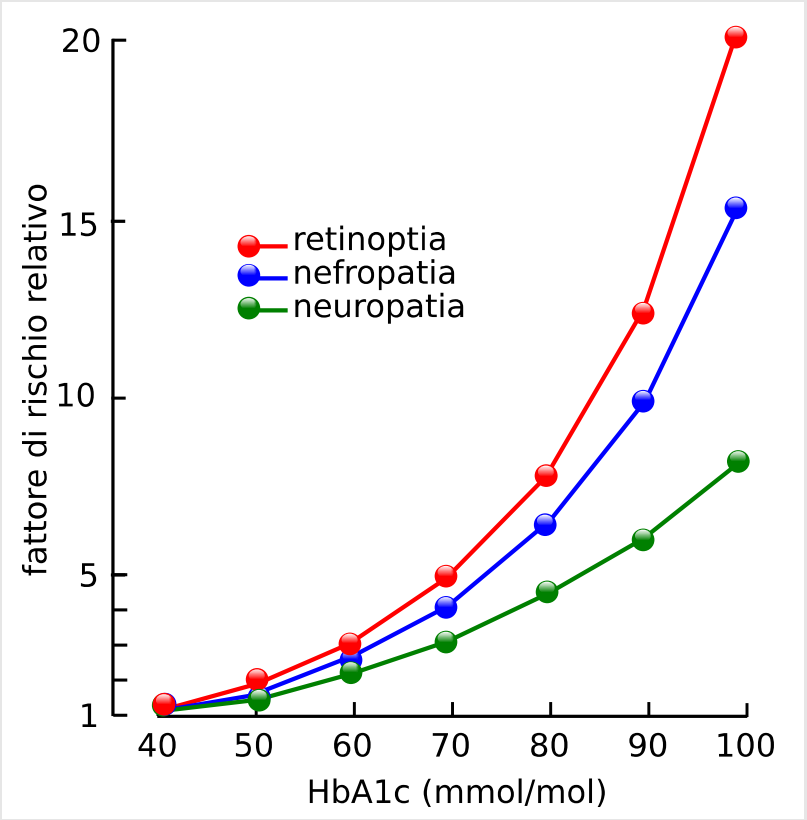


Figura 8.9. Rischio relativo di sviluppo di complicanze in funzione dei valori di HbA1c

8.11. Screening per il diabete di tipo 2 in soggetti asintomatici



☞ L'introduzione di uno *screening* per la diagnosi di diabete di tipo 2 in soggetti asintomatici viene fortemente incoraggiato dalle seguenti considerazioni:

- un gran numero di individui che risulterebbero affetti da diabete mellito secondo i criteri correnti sono inconsapevoli della loro malattia
- studi epidemiologici suggeriscono che, relativamente al diabete di tipo 2, l'intervallo tra insorgenza e diagnosi della malattia potrebbe essere intorno ai 10 anni
- il 50% dei pazienti con diabete di tipo 2 presenta, già al momento della diagnosi, una o più complicanze specifiche del diabete mellito

Come *test* di *screening* è stato proposto di valutare la glicemia a digiuno ogni 3 anni in tutti gli individui di età superiore ai 45 anni; nei soggetti "a rischio" è consigliabile iniziare lo screening a partire da una età più precoce

8.11.1. Fattori di rischio per il diabete di tipo 2

☞

- familiarità per il diabete (parenti di primo grado affetti da diabete mellito di tipo 2)
- obesità: IBW (*ideal body weight*) > 120% o MBI (*body mass index*) > 27kg/ m^2
- appartenenza a popolazioni a rischio: afro-americani, ispano-americani, americani autoctoni, americani-asiatici, abitanti delle isole del Pacifico
- precedente riscontro di alterata tolleranza al glucoso o alterata glicemia a digiuno
- madri di feti macrosomici (con peso > 4 kg) o con diabete gestazionale
- ipertensione (PA > 140/90)
- colesterolo HDL < 35 mg/dL e/o trigliceridi > 250 mg/dL

8.12. Principali fonti utilizzate

Ahmed, N. (2005) Advanced glycation endproducts role in pathology of diabetic complications. Diabetes Res. Clin. Practice 67, 3-21

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Cryer, P.E. (2008) Hypolycemia. In: Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XVII ed. Mc Graw Hill, New York. Pp. 2305-2310

Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z. (2005) The metabolic syndrome. The Lancet 365, 1415–1428

Friedman, J. M., Halaas, J. L. (1998) Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature, 395, 763-767

Goldstein, B.J., Jabbour, S., Furlong, K. (2008) Obesity, diabetes mellitus, and metabolic syndrome. In: Rubin, R., Strayer, D.S. (eds.) Rubin's pathology: clinicopathologic foundations of medicine. VII ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia

Guven, S., Kuenzi, J., Matfin, G. (2006) Diabetes mellitus and the metabolic syndrome. In: Munden, J. (ed.) Pathophysiology. VII ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. Pp. 987-1015

Kraulis, P.J. (1991) MOLSCRIPT: a program to produce both detailed and schematic plots of protein structures. J. Appl. Cryst. 24, 946-950

Lliers, J.S.. (2001) Obesity. In: Braunwald, E., Fauci, A.S., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XV ed. Mc Graw Hill, New York. Pp. 479-486

Merritt, E.A., Bacon, D.J. (1997) Raster3D photorealistic molecular graphics. Meth. Enzymol. 277, 505-524

Powers, A.C. (2008) Diabetes mellitus. In: Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XVII ed. Mc Graw Hill, New York. Pp. 2275-2304

Rubin, R., Farber, J.L. (1994) Pathology. II ed. Lippincott, Philadelphia

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014 *visitato il 26/04/2013* *accessibile il 30/01/2014*



9. Il laboratorio nelle malattie cardiovascolari

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Pier Camillo Pavesi, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

9. Il laboratorio nelle malattie cardiovascolari.....1
9.1. Ischemia del miocardio.....3
9.2. Aterosclerosi.....4
9.2.1. Aterosclerosi coronarica.....5
9.2.2. Patogenesi e fattori di rischio.....6
9.2.3. Categorie di Rischio Cardiovascolare.....7
9.3. Iper-lipidemie.....8
9.3.1. Le inter-relazioni tra le varie classi di lipidi.....9
9.3.2. Iper-lipo-proteinemie.....10
9.4. Lipo-proteine.....12
9.4.1. Struttura di una lipo-proteina.....13
9.4.2. Classi di lipo-proteine.....14
9.4.3. Classificazione delle iper-lipo-proteinemie primitive su base genetica.....18
9.4.4. Principali iper-lipo-proteinemie secondarie.....21
9.4.5. Iper-colesterolemia combinata e iper-colesterolemia pura.....22
9.5. Diagnosi di laboratorio delle iper-lipo-proteinemie.....23
9.5.1. Colesterolo LDL, colesterolo HDL, trigliceridi, e malattie cardiovascolari...24
9.6. Terapia delle iper-lipidemie.....26
9.6.1. Iper-lipidemia e alimentazione.....26
9.6.2. Valori desiderabili di Colesterolo LDL in soggetti con differenti livelli di Rischio Cardiovascolare (nella prevenzione secondaria).....27
9.7. Patologie cardio-vascolari oggetto di indagini di laboratorio....28
9.7.1. Ipertensione arteriosa sistemica.....29
9.7.2. Valutazione del paziente iperteso.....30
9.7.3. Trombosi venosa profonda.....31
9.7.4. Valutazione di supposta trombosi venosa profonda ed embolia polmonare..31
9.8. Il cuore.....32
9.8.1. Principali patologie cardiache per cui è essenziale l'intervento del laboratorio.....32
9.8.2. Definizione di infarto miocardico: III definizione universale (2012).....33
9.8.3. Sindromi Coronariche Acute.....34
9.8.4. La cellula muscolare cardiaca.....35
9.8.5. I bio-marcatori per il danno miocardico.....36

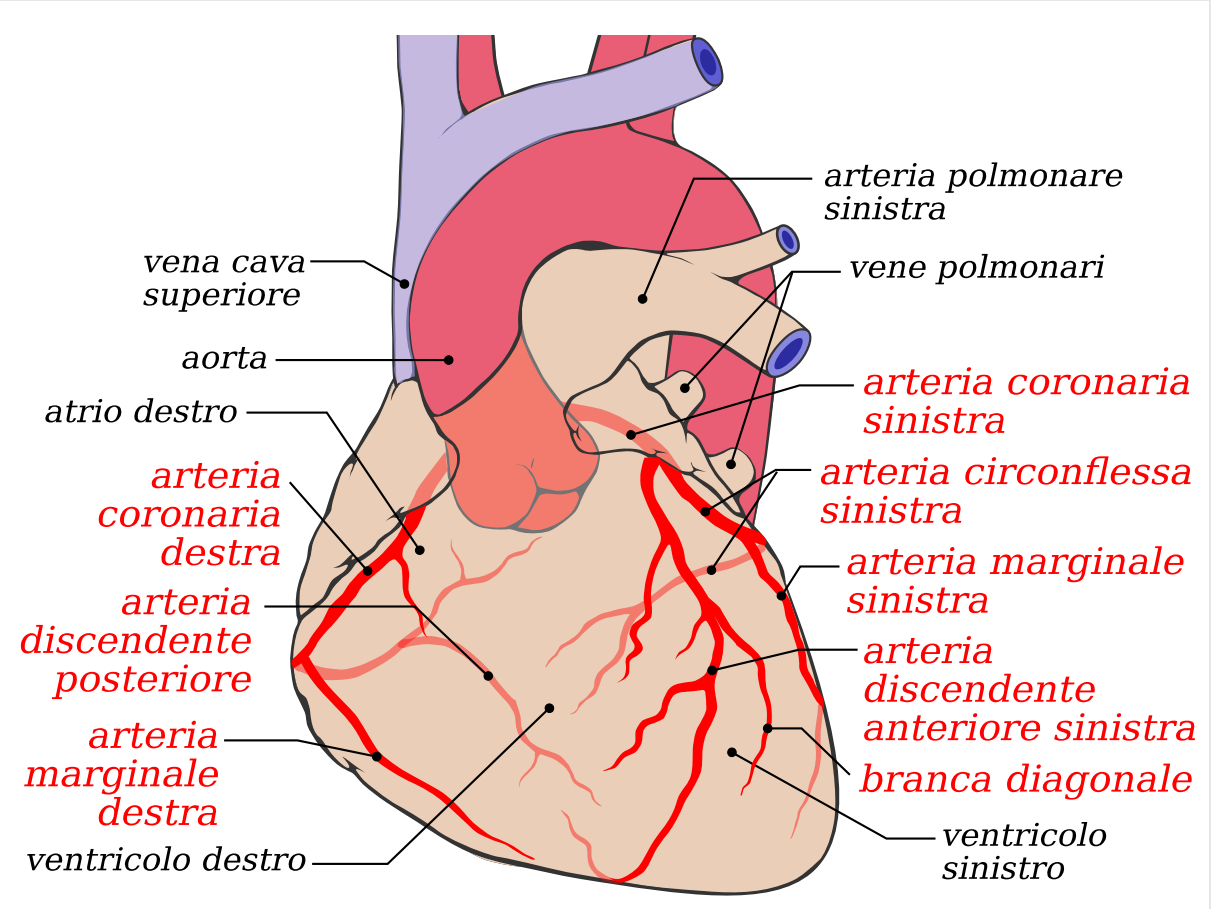
9.9. Il marcatore unico: il paradigma della troponina.....37
9.10. Cause non ischemiche di innalzamento dei bio-marcatori cardiaci 46
9.10.1. Insufficienza cardiaca.....47
9.11. Altre patologie vascolari per cui è essenziale l'intervento del laboratorio: le vasculiti.....49
9.11.1. Valutazione del paziente con vasculite.....50
9.12. Principali fonti utilizzate.....51



9.1. Ischemia del miocardio

Definizione di ischemia

Ischemia è uno sbilanciamento tra apporto di ossigeno e richiesta funzionale dell'organo/tessuto



☞ Ostruzione meccanica da malattia vascolare:

- *Aterosclerosi (es.: CAD)*
  - ateroma
  - trombosi
  - embolia
- *arterite (es.: lupus eritematoso sistemico, LES)*

☞ CAD: *coronary artery disease* (steno-insufficienza coronarica) dovuta ad aterosclerosi
LES: lupus eritematoso sistemico, malattia autoimmune con presenza di estesi danni vascolari con presenza patognomonica di anticorpi anti DNA

Figura 9.1. Sistema delle arterie coronariche. Modificato da Patrick J. Lynch e Mikael Häggström nl.wikipedia.org_coronary_arteries

9.2. Aterosclerosi

L'aterosclerosi è una malattia sistemica infiammatoria della arterie ddi calibro medio-grande ad alta pressione

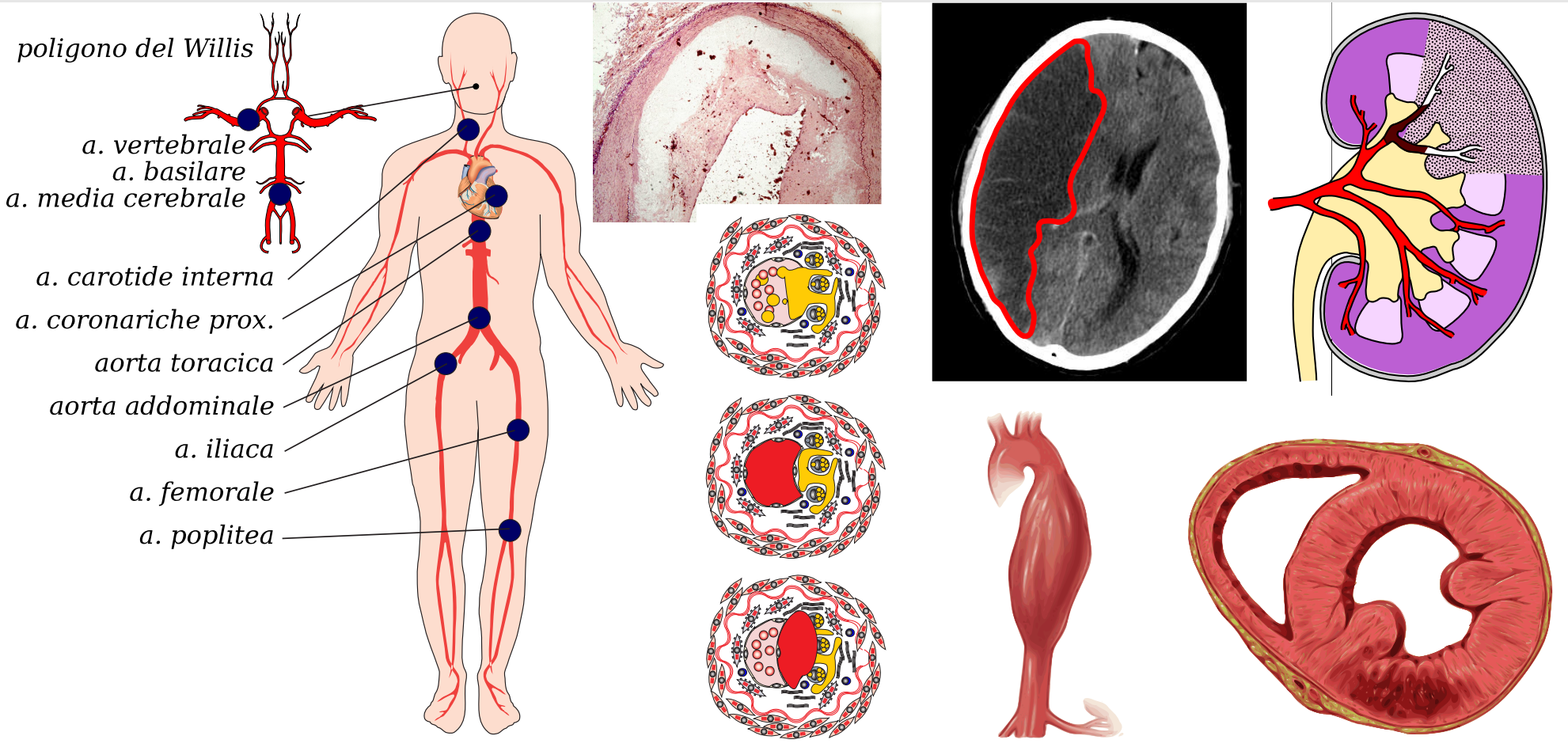


Figura 9.2. Overview *sull'aterosclerosi. Per un approfondimento fisiopatologico vedi Barbieri (2012)*

9.2.1. Aterosclerosi coronarica

☞

- Malattia infiammatoria caratterizzata dall'accumulo di lipidi, macrofagi e cellule muscolari lisce nell'intima arteriosa
- Istopatologia: la lesione elementare è la placca fibro-lipidica
- La placca può crescere lentamente producendo una stenosi emodinamicamente significativa quando produce una stenosi del 70% del lume o diventare instabile e dare origine alla placca complicata con sovrapposta trombosi (atero-trombosi)

Aterosclerosi coronarica: trombosi e sindromi cliniche

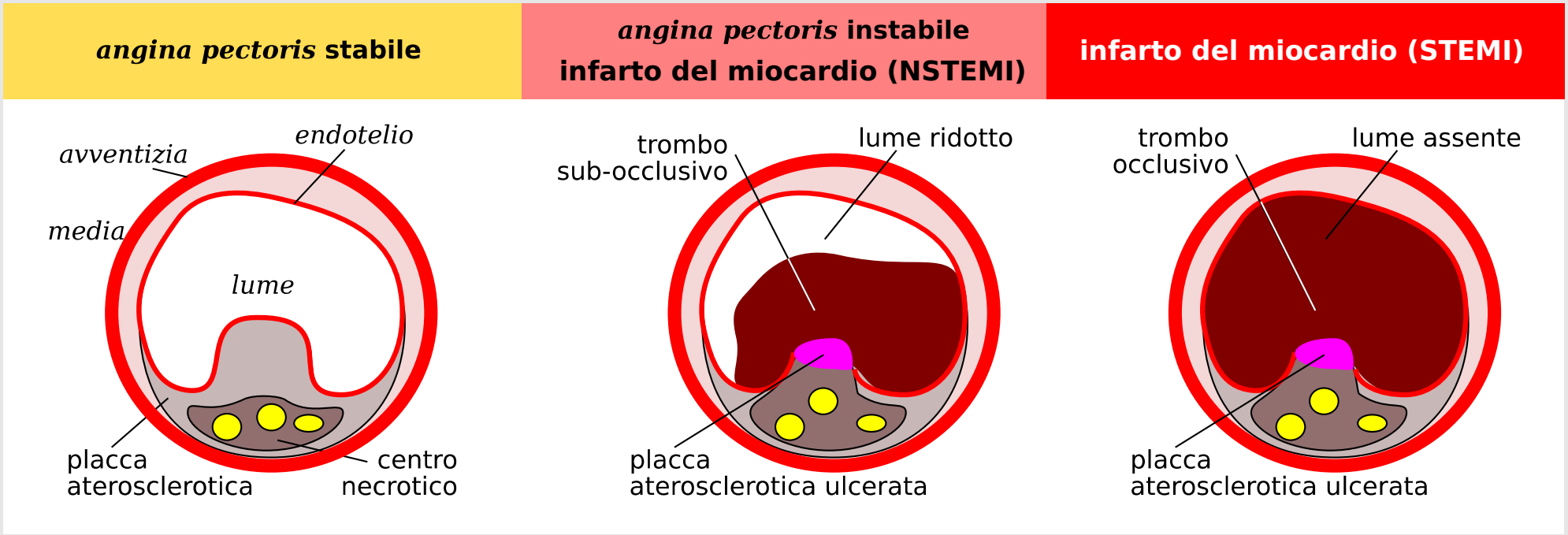


Figura 9.3. Aterosclerosi coronarica: trombosi e sindromi cliniche. (N)STEMI: (non) ST elevated myocardial infarction

9.2.2. Patogenesi e fattori di rischio

☞ *L'aterosclerosi è una malattia multifattoriale*

Fattori di rischio

☞ Fattori di rischio non modificabili

- età
- sesso (>M)
- familiarità

Fattori di rischio modificabili

- iper-lipidemia
- diabete
- dieta
- obesità
- vita sedentaria
- ipertensione
- fumo
- omocisteinemia
- proteina C reattiva
- iper-fibrinogenemia

9.2.3. Categorie di Rischio Cardiovascolare

Rischio lievemente aumentato

- *Un fattore di rischio in forma non grave, es.:*
  - età >45 y
  - sesso maschile
  - colesterolo totale tra 200 e 300 mg/dL
  - obesità
  - colesterolo HDL <40 mg / dL
  - ipertensione
  - un rapporto colesterolo totale / HDL tra 4 e 5
  - fumo (10 sigarette / die)

Rischio moderatamente aumentato

- *Un fattore di rischio in forma grave, es.:*
  - colesterolo >300 mg/dL,
  - 20 sigarette / die)
- *Due fattori di rischio in forma non grave*

Rischio elevato

- *Tre fattori di rischio in forma non grave*
- *Due fattori di rischio in forma grave*
- *Iper-lipidemia su base genetica*
- *Diabete tipo I o II*

9.3. Iper-lipidemie 

☞ Sono la conseguenza di una predisposizione genetica e di una non corretta abitudine alimentare

Possono essere anche secondarie ad altre condizioni patologiche

Iper-lipidemia e malattie cardiovascolari

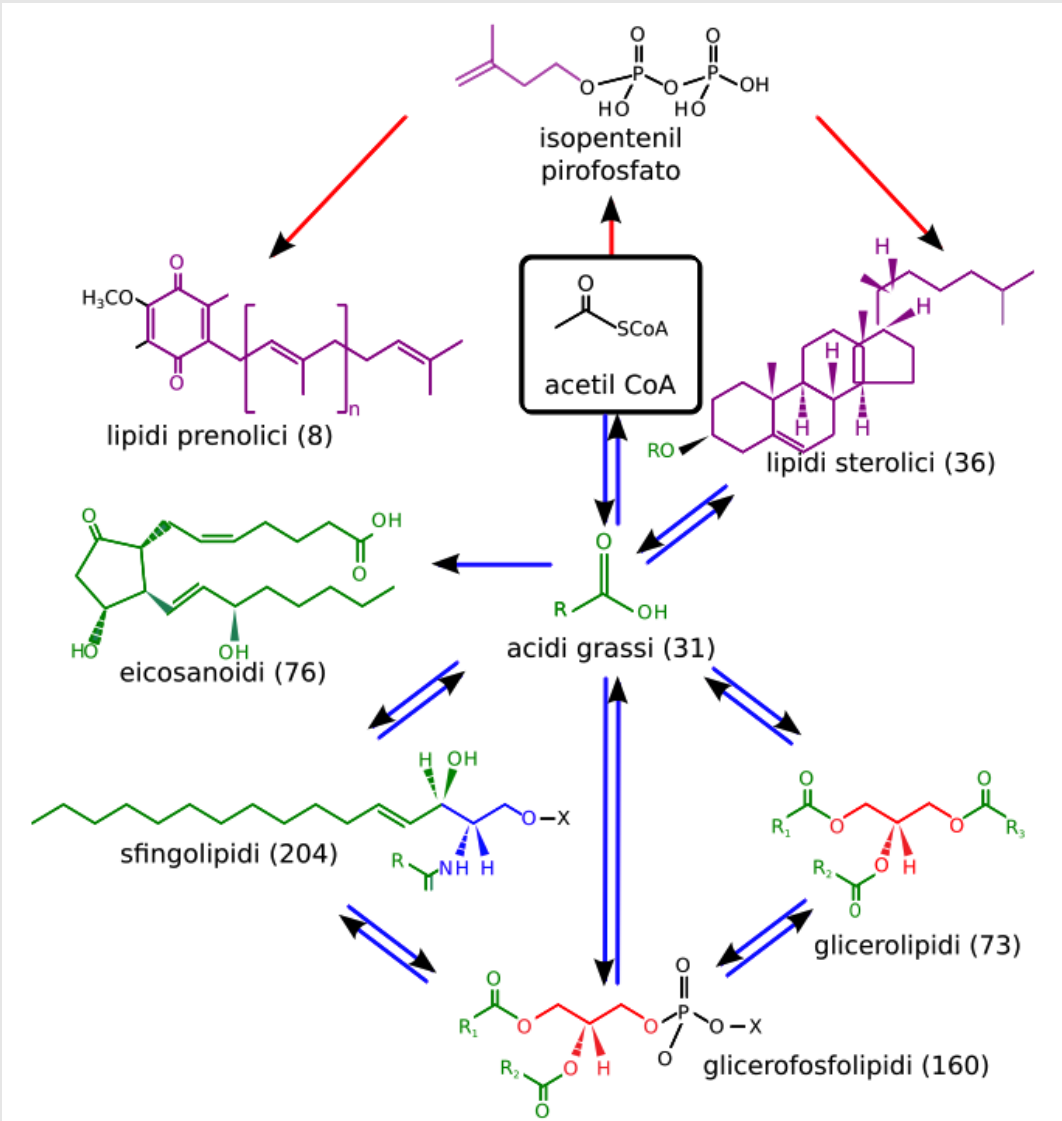
☞ Un grande numero di prove sperimentali e di dati epidemiologici hanno dimostrato che

- il processo aterosclerotico, responsabile del danno ischemico, è accelerato dalla presenza di una iper-lipidemia
- la correzione, anche parziale, della iper-lipidemia riduce significativamente la mortalità cardiovascolare

Ciò è risultato vero

- in studi di prevenzione primaria, cioè in pazienti senza segni di cardiopatia coronarica
- in studi di prevenzione secondaria, cioè su pazienti già colpiti da episodi di cardiopatia ischemica

9.3.1. Le inter-relazioni tra le varie classi di lipidi



☞ Con la possibilità sempre maggiore di valutare l'assetto lipidico (lipidomica) in modo integrato e complessivo, diviene essenziale ricordare che le classi di lipidi sono strettamente correlate tra loro

Figura 9.4. Relazioni tra le principali categorie di lipidi

Le relazioni tra le principali categorie di lipidi sono qui esemplificate attraverso molecole rappresentative di ogni classe e due vie principali a partire dal precursore a 2 atomi di carbonio acetil-coenzima A (CoA)

- *prima via (frecce rosse): a partire dall'acetil-CoA formazione del precursore isoprenico a 5 atomi di carbonio isopentenil-pirofosfato, il mattone per la sintesi di lipidi prenolici e sterolici (n indica il numero di unità isopreniche)*
- *seconda via (frecce blu): a partire dall'acetil-CoA biosintesi degli acidi grassi. Gli acidi grassi a loro volta entrano a far parte di lipidi complessi - glicero-lipidi, glicero-fosfo-lipidi, sfingo-lipidi e lipidi sterolici. Alcuni acidi grassi vengono convertiti ad eicosanoidi*

Gruppi sostituenti derivati dagli acidi grassi sono indicati in verde, atomi derivati dall'isoprene sono indicati in viola, il backbone *derivato dal glicerolo in rosso, mentre quello derivato dalla serina è indicato in blu*

Le frecce indicano trasformazioni tra le principali categorie lipidiche. I valori tra parentesi indicano il numero di analiti diversi tra loro all'interno della singola categoria lipidica

Da Barbieri (2012), liberamente tratto da: Quehenberger (2010, 2011)

9.3.2. Iper-lipo-proteinemie

Definizione di iper-lipo-proteinemie

Le iper-lipo-proteinemie (o iper-lipidemie, o dis-lipidemie) sono disordini del trasporto lipidico che derivano da un'accelerata sintesi o da una ritardata degradazione delle lipo-proteine vettrici del colesterolo e/o dei trigliceridi nel plasma

☞ Con il termine iper-lipo-proteinemia si intende un aumento della concentrazione di colesterolo e/o trigliceridi nel siero di un soggetto a digiuno

L'importanza clinica delle iper-lipo-proteinemie deriva dal fatto che esse possono determinare patologie importanti come:

- l'aterosclerosi (con i conseguenti infarto miocardico, ictus cerebrale, etc.)
- la pancreatite

oltre a provocare una serie di patologie minori che possono indirizzare alla diagnosi della malattia

es.:

- xantomi eruttivi
- epatomegalia
- splenomegalia

Iper-lipidemie primitive e secondarie

☞ Iper-lipo-proteinemie primitive (da causa genetica):

- iper-colesterolemia isolata
- iper-colesterolemia familiare
- difetto familiare di apo B100
- iper-colesterolemia poligenica
- iper-trigliceridemia isolata
- iper-trigliceridemia familiare
- deficit familiare di LPL
- deficit familiare di apo C II
- iper-colesterolemia con iper-trigliceridemia
- iper-lipidemia familiare combinata
- dis-β-lipoproteinemia

☞ Iper-lipo-proteinemie secondarie:

- diabete mellito
- ipo-tiroidismo
- ostruzione delle vie biliari
- etilismo
- sindrome nefrosica

9.4. Lipo-proteine

☞ Le lipo-proteine sono un complesso di macromolecole eterogenee, costituite da

- una parte proteica
- una parte lipidica

La funzione delle lipo-proteine è quella di trasportare i lipidi nel sangue

Ogni particella lipoproteica contiene:

- un nucleo centrale idrofobico (*core*) costituito da lipidi non polari (principalmente trigliceridi e colesterolo esterificato)
- un rivestimento superficiale idrofilo costituito da proteine (apo-lipo-proteine) e lipidi polari (fosfolipidi e piccole quantità di colesterolo non esterificato)

9.4.1. Struttura di una lipo-proteina

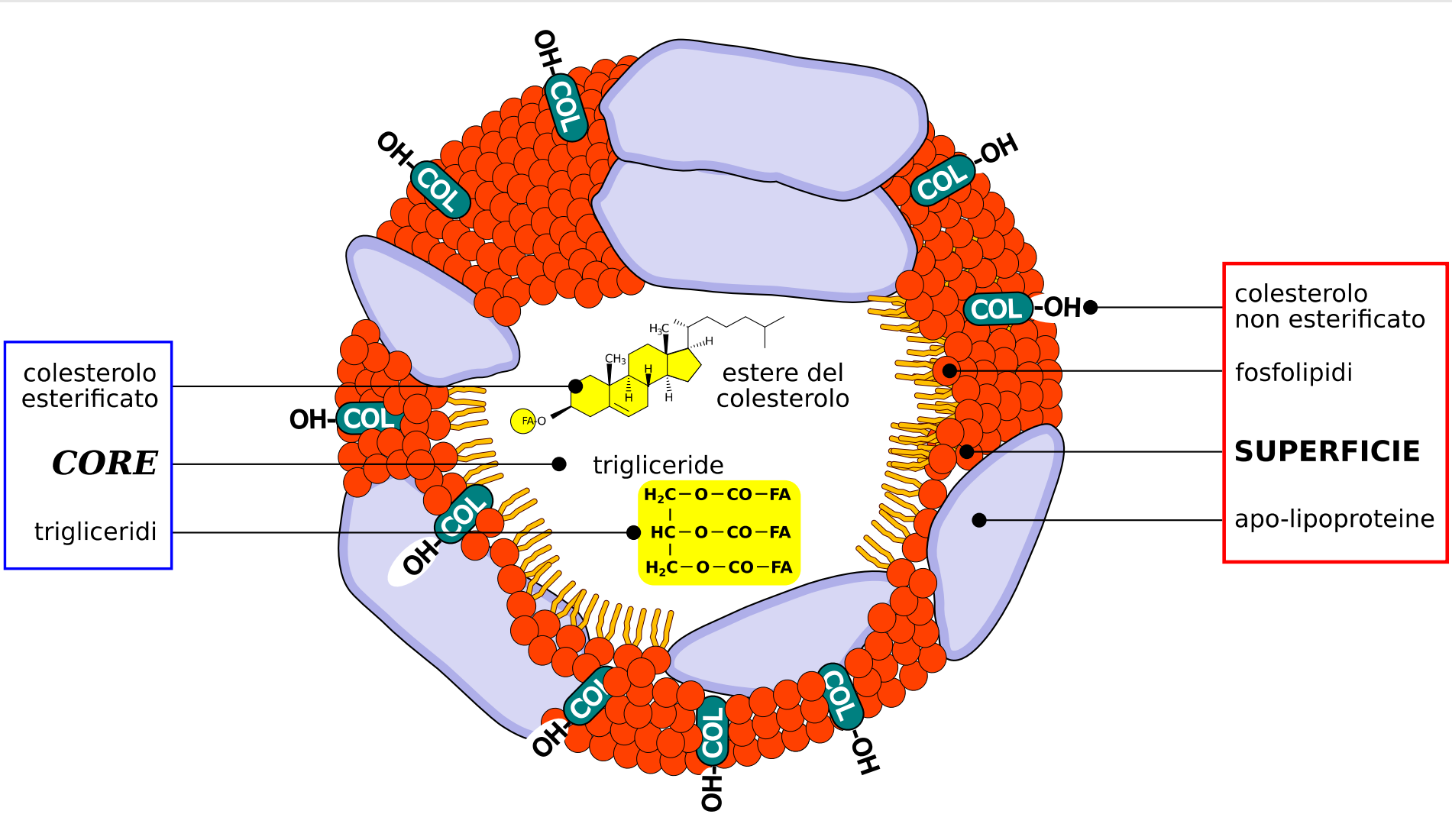


Figura 9.5. Struttura di una lipo-proteina

9.4.2. Classi di lipo-proteine

☞ Le lipo-proteine vengono distinte, in base alla diversa densità, in 5 classi principali, costituite da:

- chilomicroni
- VLDL (*very-low-density lipoproteins*, lipo-proteine a bassissima densità)
- IDL (*intermediate-density lipoproteins*, lipo-proteine a densità intermedia)
- LDL (*low-density lipoproteins*, lipo-proteine a bassa densità)
- HDL (*high-density lipoproteins*, lipo-proteine ad alta densità)

Caratteristiche delle principali classi di lipo-proteine

Tabella 9.1. Caratteristiche delle principali classi di lipo-proteine. TG: trigliceridi, EC: esteri del colesterolo C: colesterolo non esterificato; FL: fosfolipidi; Pr: proteine; Ø: diametro

classe	densità (g/L)	Ø (Å)	elettroforesi	origine	apo-lipo-proteine	composizione (% in peso)				
						TG	EC	C	FL	Pr
chilomicroni	930	800–12,000	origine (catodo)	intestino	AI, AIV, B48, CI-III, E	90	3	2	4	1
VLDL	930–1006	300–800	pre-β	fegato	B100, CI-III, E	55	12	7	18	8
IDL	1006–1019	230–350	pre-β lente	VLDL	B100, CIII, E	23	39	9	19	19
LDL	1019-1063	80-280	β	IDL	B100	6	42	8	22	22
HDL	1063-1210	5-120	α	fegato intestino	AI, AII, CI-III, D, E	5	15	5	25	50

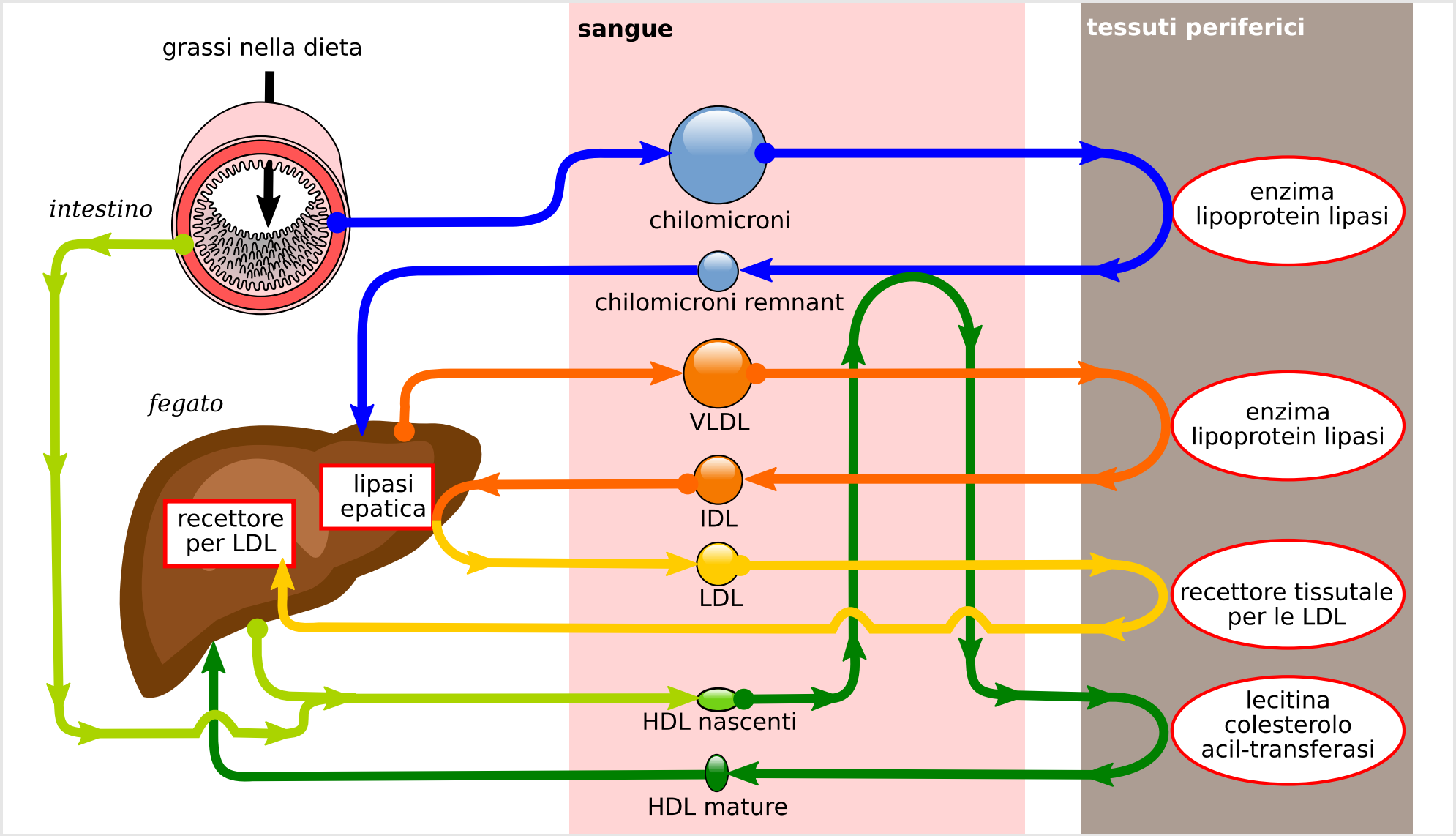


Figura 9.6. Trafficking *delle lipo-proteine*

Funzioni delle lipo-proteine

☞ I chilomicroni, grandi complessi lipoproteici sintetizzati dalle cellule intestinali distribuiscono

- i trigliceridi assunti con la dieta alle cellule adipose e muscolari
- il colesterolo assunto con la dieta (esogeno) al fegato

Il fegato è anche in grado di sintetizzare colesterolo ex novo a partire da due molecole di acetil-CoA grazie all'azione di un enzima specifico, la idrossi-metilglutaril-coenzima A-reduttasi (HMG-CoA-reduttasi) la cui attività può essere ridotta dall'uso dei più efficaci farmaci ipo-colesterolizzanti disponibili: le statine

☞ Le VLDL distribuiscono i trigliceridi sintetizzati dal fegato al tessuto adiposo e muscolare

☞ Le LDL distribuiscono il colesterolo di derivazione epatica ai tessuti periferici

☞ Le HDL trasportano il colesterolo dai tessuti periferici al fegato o agli organi che sintetizzano ormoni steroidei

9.4.3. Classificazione delle iper-lipo-proteinemie primitive su base genetica

- con iper-colesterolemia isolata
- con iper-trigliceridemia isolata
- miste

Iper-lipo-proteinemie primitive con iper-colesterolemia isolata

Tabella 9.2. Iper-lipo-proteinemie primitive con iper-colesterolemia isolata. aa: residuo amminoacidico; ez.: eterozigosi; oz.: omozigosi

iper-lipo-proteinemia	genetica	colesterolo plasmatico (mg/dL)	lipo-proteina in eccesso	segni clinici
iper-colesterolemia familiare	da mutazione del gene del recettore per le LDL, cromosoma 19 *ez.: incidenza: 1:500* *oz.: incidenza: 1:1,000,000*	ez.: 275-500	LDL (IIa)	sviluppo di xantomi in età adulta e di una patologia vascolare tra i 30 e i 50 anni
		oz.: >500	LDL (IIa)	sviluppo di xantomi e di una patologia vascolare nell'infanzia
deficit familiare di apo B100	da mutazione non senso dell'aa3,500 dell'apo B100, che riduce l'affinità per il loro recettore *ez.: incidenza: 1:500-600* *oz.: incidenza: rara*	ez.: 275-500	LDL (IIa)	condizione fenotipicamente identica alla precedente
		oz.: >500	LDL (IIa)	
ipercolesterolemia poligenica (85% delle iper-colesterolemie)	poligenica	250-350	LDL (IIa)	asintomatica fino allo sviluppo di una patologia vascolare assenza di xantomi tendinei

Iper-lipo-proteinemie primitive con iper-trigliceridemia isolata

Tabella 9.3. Iper-lipo-proteinemie primitive con iper-trigliceridemie isolata

iper-lipo-proteinemia	genetica	trigliceridi plasmatici (mg/dL)	lipo-proteina in eccesso	segni clinici
iper-trigliceridemia familiare	autosomica dominante *incidenza: 1:200*	250–750	VLDL (IV: plasma torbido)	asintomatica rischio di cardiopatia coronarica solo moderatamente aumentato
deficit familiare di LPL	autosomica recessiva *incidenza: 1:100,000*	>750	chilomicroni (I, V; plasma lattescente)	può essere asintomatica o associata a dolore addominale, pancreatite, epato e splenomegalia presenza di xantomi tuberosi e *lipemia retinalis*
deficit familiare di apo CII	autosomica recessiva *incidenza: rarissima*	>750	chilomicroni (I, V; plasma lattescente)	condizione fenotipicamente identica alla precedente a parte una minore incidenza di xantomi

iper-lipo-proteinemie primitive con iper-colesterolemia e iper-trigliceridemia

Tabella 9.4. Iper-lipo-proteinemie primitive miste. CO: colesterolo; TG: trigliceridi

iper-lipo-proteinemia	genetica	colesterolo e trigliceridi plasmatici (mg/dL)	lipo-proteina in eccesso	segni clinici
iper-lipidemia familiare combinata	autosomica dominante *incidenza 0.5-1:100*	CO:.250-500 TG: 250–750	VLDL	asintomatica fino allo sviluppo di una patologia vascolare
dis-β-lipo-proteinemia	autosomica recessiva *incidenza : 2-3:100,000*	CO:.250-500 TG: 250–500	VLDL IDL	asintomatica fino allo sviluppo di una patologia vascolare; presenza di xantomi tuberosi e strie palmari

9.4.4. Principali iper-lipo-proteinemie secondarie

Tabella 9.5. Principali iper-lipo-proteinemie secondarie

causa	meccanismo	lipo-proteine aumentate	note
diabete mellito	aumento del flusso di acidi grassi liberi al fegato e sintesi epatica di VLDL particolarmente ricche di trigliceridi	VLDL, chilomicroni (IIb, IV, V)	presenza di LDL piccole e dense (particolarmente aterogene) e riduzione delle HDL
ipo-tiroidismo	ridotta espressione del recettore per le LDL	LDL (IIa, IIb)	la colesterolemia può essere usata quale indice dell'efficacia della terapia
ostruzione vie biliari	accumulo di LP-X	LP-X	composizione della LP-X: fosfolipidi 66%, colesterolo libero 25%, trigliceridi 3%, proteine 6%
sindrome nefrosica	aumentata sintesi epatica di apo-proteine	LDL (IIa, IIb)	si osserva in presenza di ipo-albuminemia
etanolo	aumento del NADH che stimola la sintesi degli acidi grassi liberi e la loro incorporazione nei trigliceridi	VLDL (IV, V)	si associa spesso a pancreatiti

9.4.5. Iper-colesterolemia combinata e iper-colesterolemia pura

Se ho un aumento combinato del colesterolo e dei trigliceridi a quali condizioni devo pensare ?	**Se ho un aumento isolato del colesterolo a quali condizioni devo pensare ?**
☞ iper-lipidemia alimentare	☞ Mai di origine alimentare
☞ iper-lipidemia primitiva • dislipidemia combinata familiare • iper-colesterolemia poligenica • deficit di apo-lipo-proteina B-100	☞ iper-lipidemia primitiva • Iper-colesterolemia familiare • Iper-colesterolemia poligenica • deficit di apo-lipo-proteina B-100
☞ iper-lipidemia secondaria • diabete • ipo-tiroidismo • obesità • malattia epatica • anoressia nervosa	☞ iper-lipidemia secondaria • ipo-tiroidismo • sindrome nefrosica • malattia epatica • anoressia nervosa

9.5. Diagnosi di laboratorio delle iper-lipo-proteinemie

☞ Il laboratorio di analisi può fornire al clinico, in tempi brevi e con costi contenuti, informazioni sui valori di concentrazione dei principali lipidi plasmatici ai fini di un orientamento diagnostico e di eventuali opzioni terapeutiche

I principali esami di laboratorio relativi ai lipidi presenti nel siero consistono nel dosaggio di

- trigliceridi
- colesterolo totale
- frazione di colesterolo riferibile alle HDL
- con successivo calcolo della frazione riferibile alle LDL

Il dosaggio delle apo-lipo-proteine A e B100 può completare l'esame dell'assetto lipoproteico:

- le apo A sono presenti quasi esclusivamente nelle HDL ed il loro dosaggio riflette pertanto i livelli di queste lipo-proteine
- l’apo B100 è invece presente nelle VLDL, IDL e LDL

9.5.1. Colesterolo LDL, colesterolo HDL, trigliceridi, e malattie cardiovascolari

☞
- l'aumento dei livelli plasmatici di colesterolo-LDL rappresenta un importante fattore di rischio per l'insorgenza di aterosclerosi
- mentre livelli elevati di colesterolo-HDL rappresentano un forte indice di protezione dalle malattie cardiovascolari
- relativamente ai trigliceridi, oggi si ritiene che anch'essi rappresentino una condizione indipendente di rischio per l'insorgenza di aterosclerosi

Relazione tra il rapporto colesterolo totale / colesterolo HDL e quoziente di rischio di insufficienza cardiaca e coronarica in uomini di età compresa tra 50 e 70 anni

☞ Il quoziente di rischio è il rapporto tra l'incidenza nella sotto-popolazione identificata e l'incidenza nella popolazione di riferimento:
- un quoziente inferiore ad 1 significa protezione
- un quoziente>1 significa aumentato rischio

rapporto colesterolo totale / colesterolo HDL	corrispondente quoziente di rischio di cardiopatia coronarica
3.0	0.5
4.4	1.0
6.2	2.0
7.7	3.0
9.5	4.0

Valutazione dei livelli di colesterolo e trigliceridi (nella prevenzione primaria)

Tabella 9.6. Valutazione dei livelli di colesterolo e trigliceridi. Questa valutazione è soggetta a modificazioni sulla base di dati statistici sempre crescenti ed è quindi variabile nel tempo: quella presentata è quella attuale nel gennaio 2013

colesterolo totale:	(mg/dL)
desiderabile nell'adulto:	< 200
desiderabile nel giovane	< 180
borderline	200-239
elevato	> 240

trigliceridi:	(mg/dL)
desiderabile	< 150
borderline	150-199
elevato	200-499
molto elevato	> 500

colesterolo-LDL:	(mg/dL)
ottimale	< 100
quasi ottimale	100-129
desiderabile	< 130
borderline	130-159
rischio elevato	160-189
rischio molto elevato	> 190

colesterolo-HDL:	(mg/dL)
desiderabile nell'uomo	> 40
desiderabile nella donna	> 45

colesterolo LDL / colesterolo HDL:	
desiderabile	< 3:1

colesterolo totale / colesterolo HDL:	
desiderabile	< 5:1

9.6. Terapia delle iper-lipidemie

Tabella 9.7. Terapie delle iper-lipidemie. PPAR-α: peroxisome proliferator-activated receptor-α*; HMG CoA: idrossi-metilglutaril-coenzima A-reduttasi*

☞ dieta (mediterranea)	ridurre l'apporto quotidiano totale di lipidi
fibrati (attiva la PPAR-α)	ridurre il peso corporeo
acido nicotinico	ridurre l'apporto dietetico di colesterolo
inibitori dell'assorbimento del colesterolo	promuovere il consumo di fibre
resine che legano il colesterolo (legano gli acidi biliari nell'intestino)	sostituire l'apporto di acidi grassi saturi con quelli insaturi: mono– (olio di oliva) e poli– (olio di girasoli e soia)
statine (inibiscono HMG CoA reduttasi, idrossi-metilglutaril-coenzima A-reduttasi)	ridurre l'alcool

9.6.1. Iper-lipidemia e alimentazione

☞ Per evitare una eccessiva introduzione di acidi grassi saturi e colesterolo si raccomandano i *Therapeutic Lifestyle Changes (TLC)* con l'obiettivo di conformare la dieta ai seguenti parametri:

grassi saturi (< 7% dell'intero apporto calorico quotidiano)	carboidrati (50-60% - complessi da grano, frutta, verdura)
grassi poli-insaturi (fino al 10%)	fibre (20-30 g/d)
grassi mono-insaturi (fino al 20%)	proteine (15%)
grassi totali (25-35%)	calorie totali (bilanciata rispetto al consumo)
colesterolo (< 200 mg/d)	

9.6.2. Valori desiderabili di Colesterolo LDL in soggetti con differenti livelli di Rischio Cardiovascolare (nella prevenzione secondaria)

☞ Nella prevenzione secondaria (quindi in presenza di altri fattori di rischio importanti) i valori di riferimento per una terapia sono più bassi che nella prevenzione primaria

rischio lievemente aumentato	colesterolo <160 mg/dl
rischio moderatamente aumentato	colesterolo <135 mg/dl
rischio elevato	colesterolo <100 mg/dl
rischio molto elevato	colesterolo <70 mg/dl

9.7. Patologie cardio-vascolari oggetto di indagini di laboratorio



☞ Le principali patologie cardio-vascolari oggetto di indagini di laboratorio sono:

- *ipertensione*
- *trombosi venosa profonda*
- *infarto del miocardio*
- *insufficienza cardiaca*

A queste vanno aggiunte le

- *vasculiti*

malattie di prevalente competenza internistica

9.7.1. Ipertensione arteriosa sistemica 

Per una sintesi fisiopatologica vedi Barbieri (2014), capitolo 37

Definizione di ipertensione

La diagnosi di ipertensione è legata alla rilevazione di: pressione sistolica >140 mmHg o pressione diastolica >90 mmHg in almeno tre occasioni consecutive e con un intervallo temporale libero di almeno due settimane tra ciascuna misurazione

☞ In assenza di ulteriori specificazioni si intende per ipertensione: ipertensione arteriosa sistemica

- è una comune malattia cronica

si divide in:

- primitiva o essenziale (90%)
- secondaria (10%)

9.7.2. Valutazione del paziente iperteso

Tabella 9.8. Valutazione del paziente iperteso

malattia	*test* di laboratorio
ipertensione essenziale	
ipertensione associata al genere femminile	uso di contraccetivi orali, terapia sostitutiva in menopausa, ipertensione gravidica
ipertensione associata a farmaci	simpatico-mimetici, cortisonici, mineralcorticoidi, vasopressina, cocaina
stenosi dell'arteria renale	eco-doppler arterie renali, scintigrafia renale con test al captopril (test di funzione), angioTAC (tomografia assiale computerizzata dei vasi), renina
malattie renali croniche	creatinina, azotemia
rene policistico	ecografia, TAC
reninoma (neoplasia secernente renina)	renina, aldosterone urinario, potassiemia (ipo-), TAC
coartazione dell'aorta	eco-cardiogramma trans-toracico, trans-esofageo, RMN (risonanza magnetica nucleare), angioTAC
aldosteronismo primario	aldosterone urinario, potassiemia (ipo-)
iperplasia congenita delle surrenali con virilizzazione (F), pubertà precoce (M)	eccesso di deossicorticosterone secondario a deficit di 17-α-idrossilasi o di 17-β-idrossilasi
sindrome di Cushing	analisi ormonali

9.7.3. Trombosi venosa profonda

Per una sintesi fisiopatologica vedi Barbieri (2014), capitolo 36

☞ Comune
Maggiore incidenza quando sono presenti cause / condizioni congenite e/o acquisite

- trauma, immobilizzazione prolungata, intervento chirurgico, anticorpi anti-fosfolipidi, sindromi mielo-proliferative, gravidanza, post-parto
- mutazione del fattore V, mutazione protrombina G20210A, deficit proteina S, C, anti-trombina

Conseguenze cliniche: embolia e infarto polmonari

9.7.4. Valutazione di supposta trombosi venosa profonda ed embolia polmonare

Tabella 9.9. Valutazione del paziente con supposta trombosi venosa profonda ed embolia polmonare

test	svantaggi	commento
determinazione del D-dimero di fibrina	il risultato positivo deve essere validato da un'altra analisi	specifico prodotto della degradazione della fibrina stabilizzata l'utilizzo di un test ad elevata sensibilità ha un forte valore predittivo negativo
ultrasuoni (eco-doppler)	meno sensibile per le forme distali asintomatiche	procedura maggiormente utilizzata in prima battuta
TAC (tomografia assiale computerizzata)	utilizzo di mezzo di contrasto	di prima scelta se si esegue una valutazione anche dei campi polmonari
scintigrafia polmonare	utilizzo traccianti radioattivi	di prima scelta, alternativo alla TAC
venografia	invasiva, costosa, può predisporre a trombosi	*gold standard*

9.8. Il cuore

Per una sintesi fisiopatologica vedi Barbieri (2014), capitolo 31

☞ Analisi di laboratorio utili per la diagnostica delle malattie cardiache:

- marcatori biochimici di danno tissutale
- monitoraggio dei fattori di rischio cardio-vascolari
- marcatori biochimici e valutazione della funzionalità cardiaca
- analisi genetiche correlate a malattie rare (es.: QT lungo, sindrome di Brugada, etc.)

9.8.1. Principali patologie cardiache per cui è essenziale l'intervento del laboratorio

☞
- *Malattia ischemica coronarica*
- *Insufficienza cardiaca*

9.8.2. Definizione di infarto miocardico: III definizione universale (2012)

Definizione di infarto del miocardio

Criteri diagnostici per l'infarto miocardico acuto

Il termine di infarto miocardico acuto (MI) dovrebbe essere usato quando vi è evidenza di necrosi miocardica in un contesto clinico consistente con ischemia miocardica acuta. In queste condizioni ognuno dei seguenti criteri soddisfa la diagnosi di MI:

• Rilevazione di un incremento e/o di una caduta di valori di bio-marcatori cardiaci [preferibilmente la troponina cardiaca cTn] con almeno un valore superiore al 99° percentile del limite superiore del riferimento (URL) e con almeno uno dei seguenti:

- ◊ Sintomi di ischemia.
- ◊ Nuove o presunte nuove variazioni significative dell'onda tratto-ST-T (ST-T) o un nuovo blocco di branca sinistra (LBBB).
- ◊ Sviluppo di onde Q patologiche nell'ECG.
- ◊ Evidenze per immagini di una nuova perdita di miocardio vitale o una nuova anormalità localizzata nella motilità della parete.
- ◊ Identificazione di un trombo intra-coronarico all'angioplastica o all'autopsia.

• Morte cardiaca con sintomi suggestivi di ischemia miocardica e presunte nuove modificazioni ECG ischemiche o nuovo LBBB con morte sopraggiunta prima che si potessero determinare biomarcatori cardiaci o prima che i biomarcatori cardiaci potessero aumentare.

• L'infarto miocardico correlato con intervento coronarico percutaneo (PCI) viene definito arbitrariamente da una elevazione dei valori di cTn (>5 x 99° percentile URL) in pazienti con valori basali normali (≤99° percentile URL) o con un incremento dei valori di cTn >20% se i valori basali sono stabili o discendenti. In aggiunta è richiesta la presenza di o (i) sintomi suggestivi di ischemia miocardica o (ii) nuove modificazioni ischemiche dell'ECG o (iii) reperti angiografici consisenti con una complicazione procedurale o (iv) dimostrazione per immagini di una nuova perdita di miocardio vitale o una nuova anormalità localizzata nella motilità della parete.

• Trombosi dello stent associata ad infarto miocardico quando dimostrata da angiografia coronarica o autopsia nel contesto di ischemia miocardica e con un incremento e/o una caduta di valori di biomarcatori cardiaci con almeno un valore otre il 99° percentile URL.

• Infarto del miocardio correlato ad impianto di bypass delle arterie coronariche (CABG) è arbitrariamente definito da un innalzamento dei valori di biomarcatori cardiaci (>10 x 99° percentile URL) in pazienti con normali valori basali di cTn values (≤99° percentile URL). In aggiunta o (i) nuove onde Q patologiche o nuovo LBBB, o (ii) nuova occlusione di una arteria coronarica nativa o bypass coronarico documentata angiograficamente, o (iii) evidenza per immagini di una nuova perdita di miocardio vitale o una nuova anormalità localizzata di motilità della parete.

Criteri diagnostici per l'infarto miocardico pregresso

Ognuno dei seguenti criteri soddisfa la diagnosi di MI pregresso:

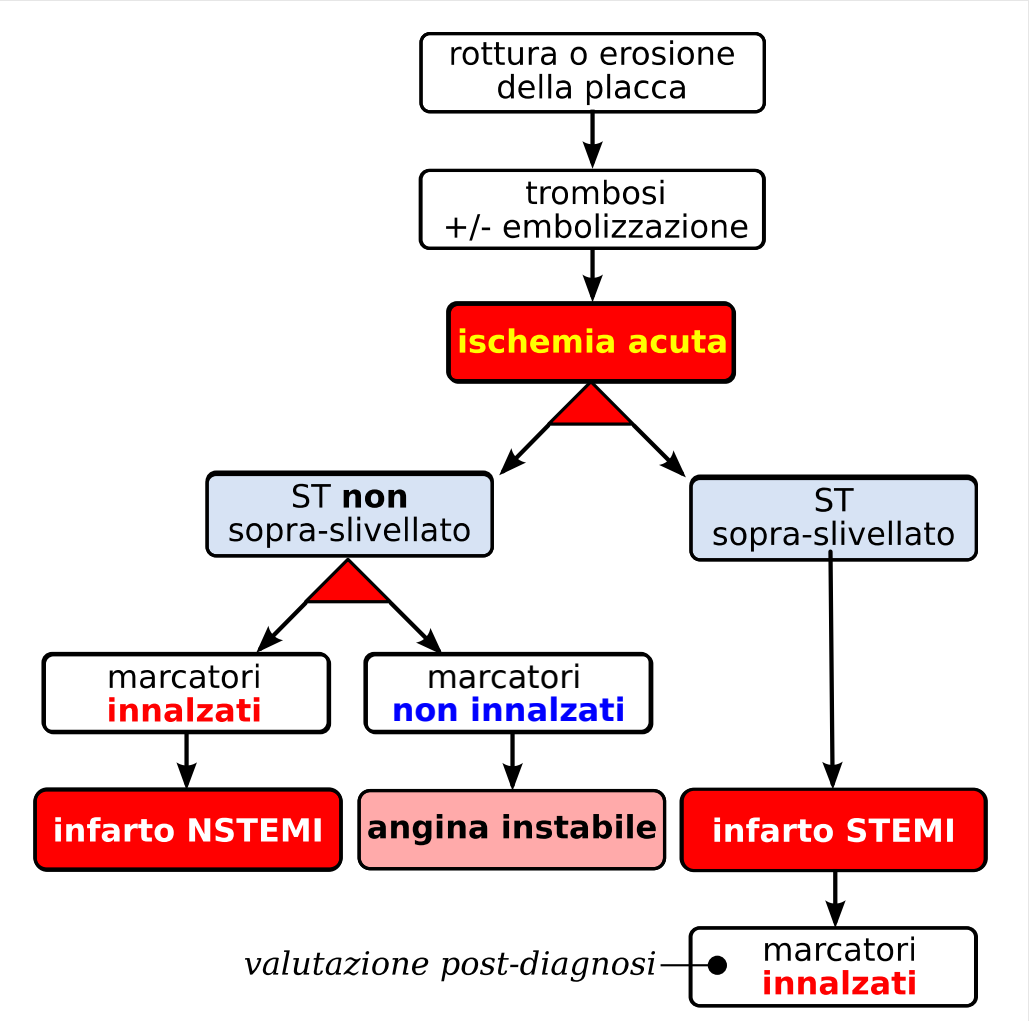
• Onde Q patologiche con o senza sintomi in assenza di cause non ischemiche

• Evidenza per immagini di una regione con perdita di miocardio vitale che è assotigliata e non si contrae, in assenza di cause non ischemiche

• Reperto anatomo-patologico di pregresso infarto miocardico

9.8.3. Sindromi Coronariche Acute

Fisiopatologia dell'infarto del miocardio



☞ Le diagnosi principali di sindrome coronarica acuta sulla base della presenza di:

- variazioni elettrocardiografiche
- presenza nel siero di marcatori

sono 3:

- angina instabile
- infarto del miocardio senza ST sopra-slivellato: NSTEMI (*non ST elevated myocardial infarction*)
- infarto del miocardio con ST sopra-slivellato: STEMI (*ST elevated myocardial infarction*)

Figura 9.7. Spettro di ACS (acute coronary syndrome, *sindrome coronarica acuta) in accordo al quadro ECG e ai marcatori di necrosi miocardica (saggio ad alta sensibilità per la troponina, hs-cTn), in pazienti che presentano dolore toracico acuto*

9.8.4. La cellula muscolare cardiaca

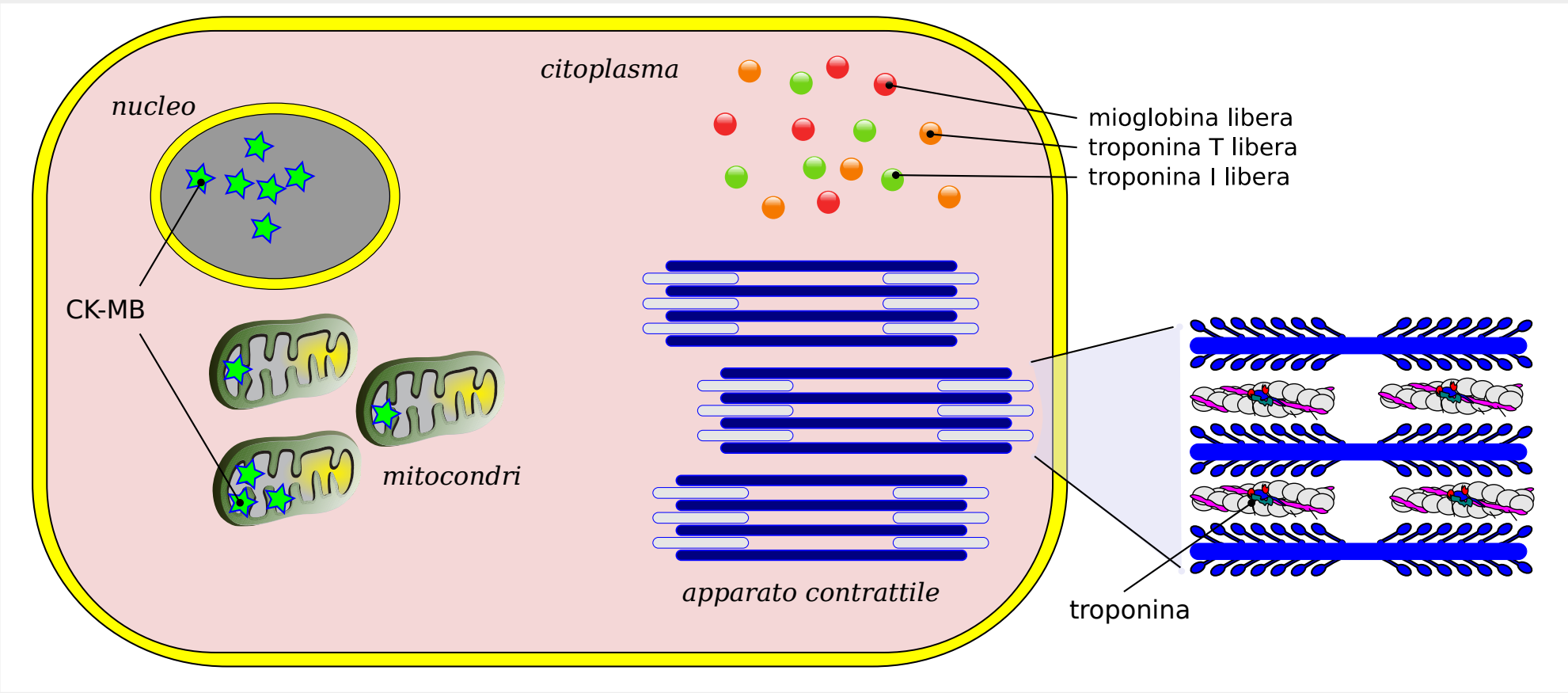


Figura 9.8. La localizzazione di alcuni marcatori macromolecolari nella cellula muscolare cardiaca. CK-MB: creatine kinase myocardial-brain

☞ Le dimensioni e la localizzazione subcellulare delle proteine cardiache riflette la modalità di comparsa temporale dei bio marcatori nella circolazione

9.8.5. I BIO-MARCATORI PER IL DANNO MIOCARDICO

Marcatori di danno cardiaco: rilascio, picco e durata

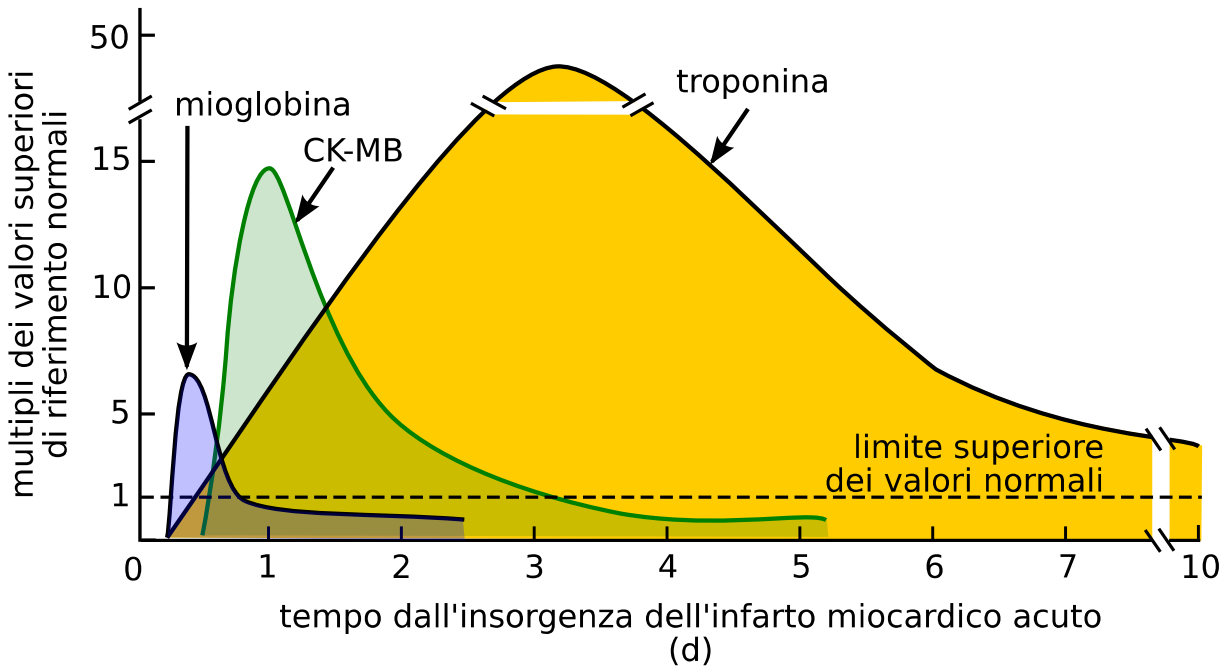


Figura 9.9. Marcatori di danno cardiaco: rilascio, picco e durata. CK-MB: creatin kinase myocardial-brain *(creatina chinasi miocardio-cervello)*

Dati da Cummins (2003)

9.9. Il marcatore unico: il paradigma della troponina 

☞ Un marcatore ideale dovrebbe:

- confermare o escludere un infarto del miocardio
- consentire una diagnosi rapida
- confermare un infarto del miocardio comparso diversi giorni prima del ricovero
- monitorare il successo della terapia trombolitica
- consentire la stratificazione del rischio in pazienti con sindrome coronarica acuta
- identificare la comparsa di eventi ischemici durante procedure di rivascolarizzazione chirurgica o mediante *stenting* o angioplastica

Troponine

- I filamenti del muscolo striato e cardiaco sono costituiti da:
  - actina
  - miosina
  - tropomiosina
  - Il complesso regolatore della troponina

- La troponina consiste di 3 subunità:
  - TnC (lega il Ca^{++})
  - TnT (lega la tropomiosina)
  - TnI (inibisce la contrazione quando non sono presenti Ca^{++} e TnC)

- Caratteristiche della troponina
  - complesso regolatore della contrazione muscolare striata
  - rilascio precoce dal pool citosolico
  - rilascio prolungato in seguito alla degradazione dei miofilamenti
  - isoforme distinte scheletrica e miocardica
  - elevata specificità per danno miocardico
  - sensibile a danno miocardico di minore entità

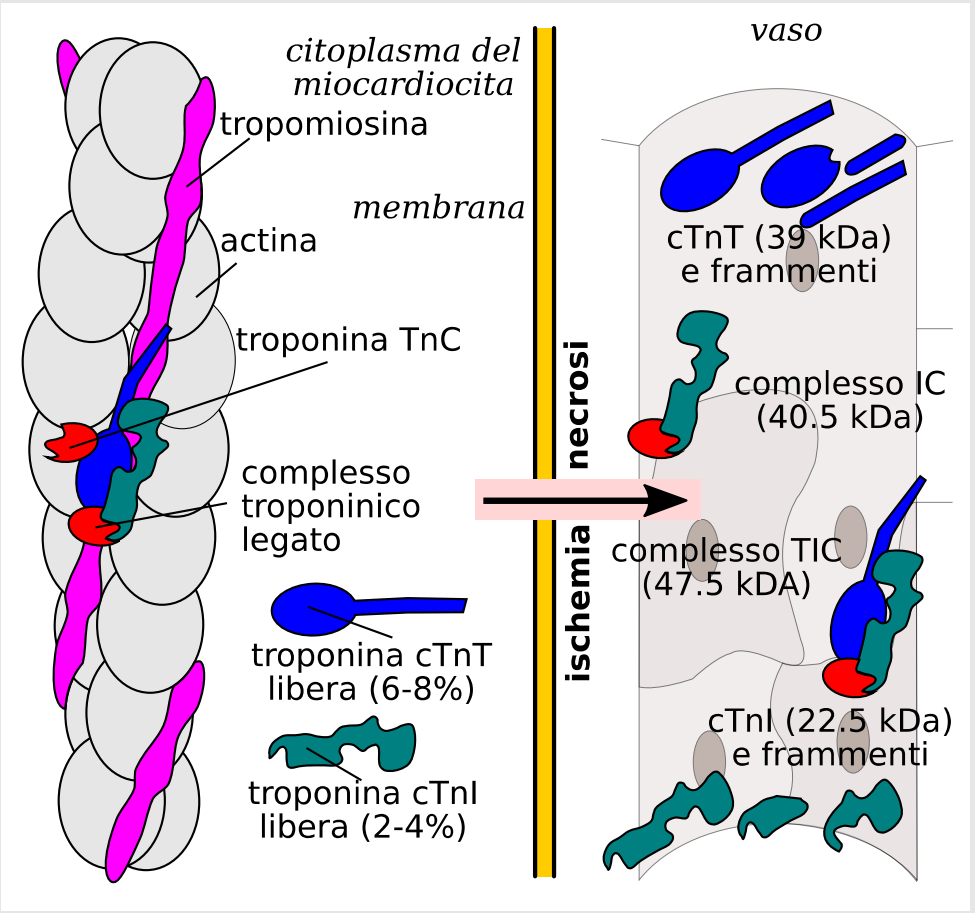


Figura 9.10. Il complesso delle troponine. Liberamente tratto da thejarvik_troponin

Il test ad alta sensibilità per le troponine (troponine cardiache ad alta sensibilità: hs-cTn)

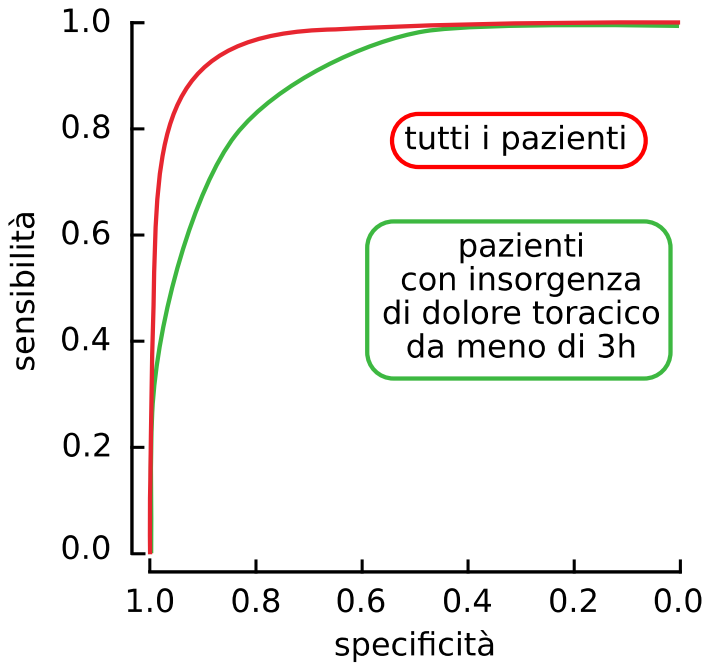
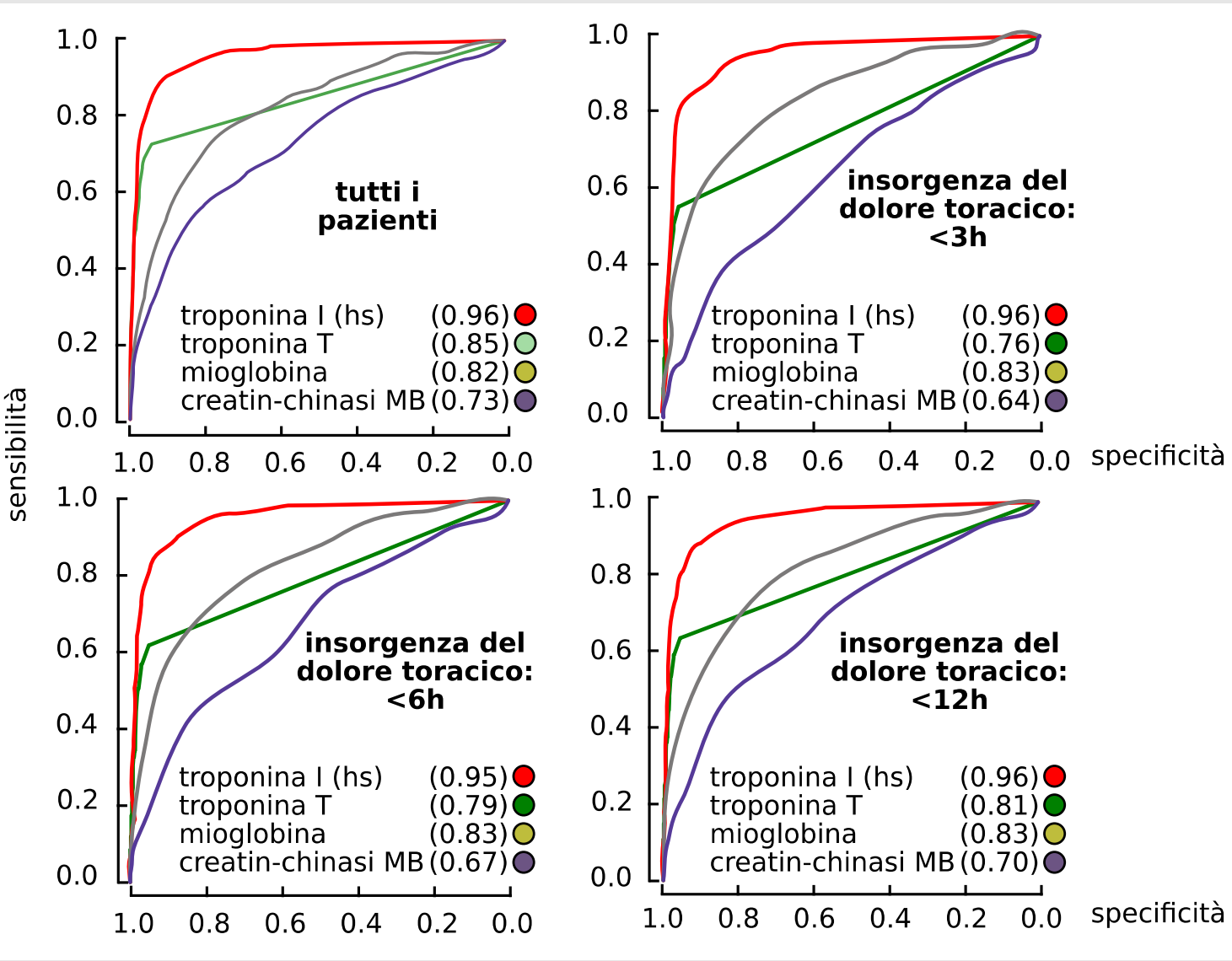


Figura 9.11. Performance diagnostica dei test ad alta sensibilità per le troponine. Dati da Reichlin (2009)

Nella figura si evidenzia che il singolo saggio di hs-cTn:

- *ha una eccellente sensibilità:*
  - ottimo per il *rule out* (esclusione diagnostica)
- *ha una relativa specificità per pazienti con insorgenza sintomatologica recente (sino 1 su 4 falsi positivi):*
  - problematico per il *rule in* (conferma diagnostica)



Razionale per l'uso di un marcatore unico

L'alta sensibilità permette una precoce diagnosi dell'IMA ed una migliore definizione della cinetica del marcatore, rilevando con più precisione le variazioni di concentrazione.

Dopo 3 h dall'inizio del dolore, la hs-cTn ha già raggiunto la massima potenza diagnostica, mentre per gli altri parametri il valore dell'area sotto-curva continua a modificarsi anche dopo 12 h

La figura evidenzia anche la più bassa accuratezza diagnostica di CK-MB massa

*Figura 9.12. Accuratezza diagnostica. Dati da Keller (2009). Curve ROC (*receiver-operating-characteristics*) per la determinazione dei livelli basali di troponina I (saggio ad alta sensibilità), troponina T (saggio standard), mioglobina, creatin-chinasi CK-MB in relazione al tempo intercorso dall'insorgenza del dolore toracico acuto*

Valore predittivo negativo (rule out) e positivo (rule in)

Tabella 9.10. Performance *diagnostica per l'identificazione di infarto acuto del miocardio attraverso l'uso di determinazioni seriali di saggi ad alta sensibilità per la troponina I: hs-cTnI. Dati da Keller (2011). LoD:* lower detection limit *(limite inferiore di rilevazione)*

	all'ammissione		**ammissione + 3h**	
	>LoD	**>99mo percentile**	**>LoD**	**>99mo percentile**
sensibilità	100	82.3	100	98.2
specificità	35.3	92.1	1.9	90.4
valore predittivo positivo	30.8	75.1	22.7	74.7
valore predittivo negativo	100	94.7	100	99.4

☞ Il primo valore di hs-cTnI all'ammissione:

- ha valore predittivo negativo (*rule out*) buono
- ha valore predittivo positivo (*rule in*) non accettabile

☞ L'utilizzo di due valori in sequenza all'ammissione e dopo 3 h consente di valutare la presenza di una variazione nei valori di troponina

Si considerano indicativi di malattia ischemica coronarica variazioni superiori al 20/50% a seconda del valore di partenza (vedi *flow chart* in fig. 9.14)

- ha valore predittivo negativo (*rule out*) ottimo
- ha valore predittivo positivo (*rule in*) ottimo

Cause di falsi positivi

Tabella 9.11. Classificazione patogenetica dei tipi di potenziali meccanismi cause di elevazione della troponina (classificazione secondo White (2011))

tipo 1	necrosi dei miociti
tipo 2	apoptosi dei miociti
tipo 3	normale *turnover* dei miociti
tipo 4	rilascio cellulare di prodotti di degradazione proteolitica della troponina
tipo 5	aumentata permeabilità della parete cellulare
tipo 6	formazione e rilascio di estroflessioni citoplasmatiche (*blebs*)

☞

- Approssimativamente il 5-8 % della troponina I e della troponina T si trova libero nel citoplasma come parte di un pool a possibile rilascio rapido
- Il pool di troponina libera viene rilasciato per primo, indipendentemente dalla causa e dal tipo di danno miocardico
- Ci si aspetta che in presenza di un rilascio di troponina da questo pool, il rilascio stesso sia rapido, seguito da un calo altrettanto rapido dei livelli plasmatici troponina dovuto al *washout* (vedi Rimondini-Giorgini, 2013, capitolo 6.3.2) (l'emivita della troponina T e della troponina I nel sangue è di circa 2 h)
- Nel caso della necrosi dei miociti ci si aspetta un rilascio più prolungato (4-10 d) di troponina proveniente dalla degradazione progressiva delle miofibrille

Cinetica troponina risolve i falsi positivi (razionale)

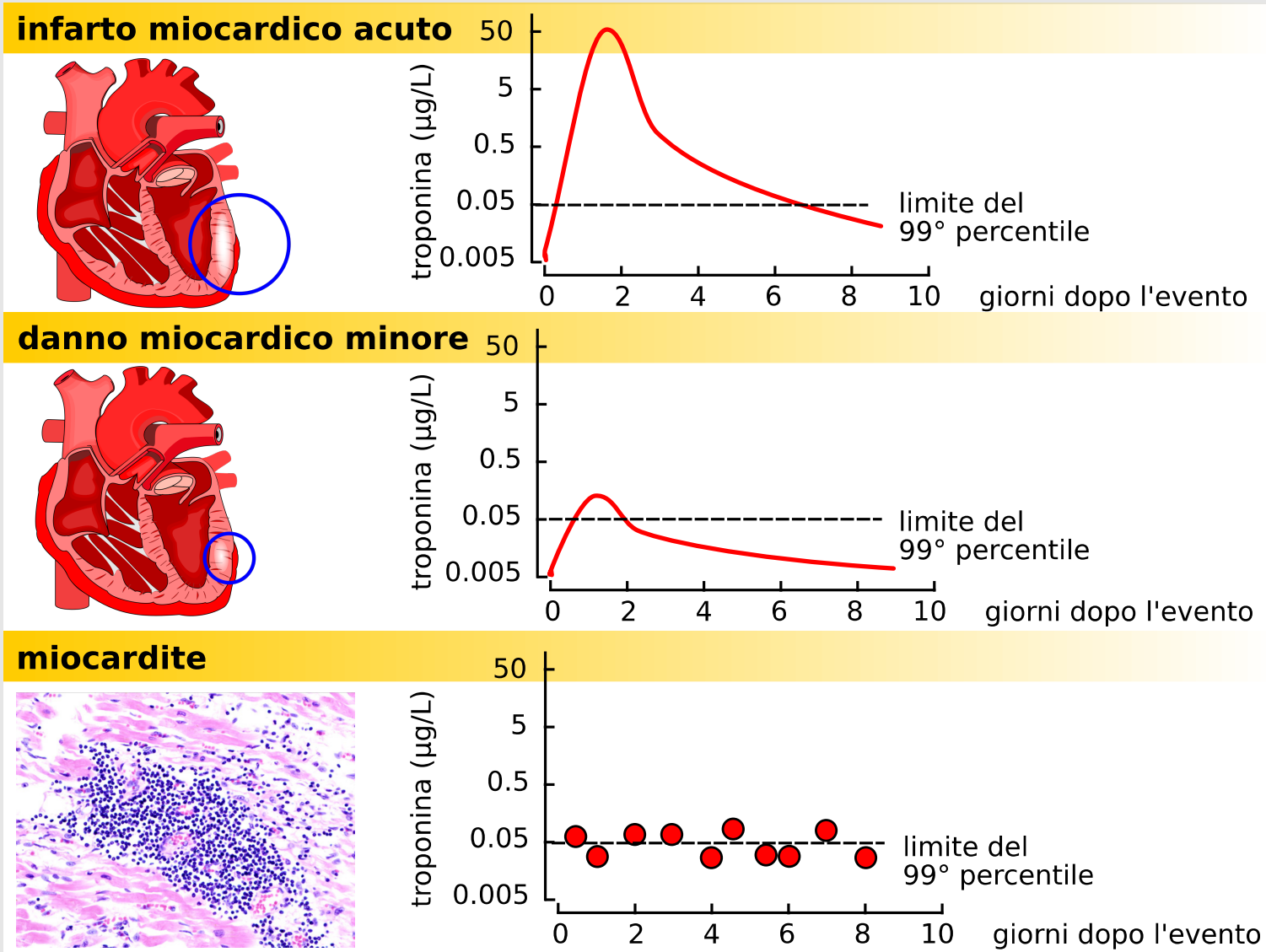


Figura 9.13. Rilascio di troponina dopo danno miocardico

Dati da Melanson (2007); immagine istologica di miocardite virale da en.wikipedia.org/wiki/...viral_myocarditis

- *nell'infarto miocardio acuto la troponina aumenta in maniera significativa al di sopra limite del 99° percentile (linea tratteggiata) per ore dall'insorgenza dei sintomi e quindi gradualmente diminuisce in alcuni giorni*
- *in danni miocardici minori, i livelli di troponina aumentano solo brevemente e di poco oltre il limite del 99° percentile*
- *nella miocardite la concentrazione di troponina rimane intorno al limite del 99° percentile o leggermente al di sopra di esso per periodi che variano da giorni a settimane senza significative variazioni di livello*

Flow chart: come utilizzare la troponina

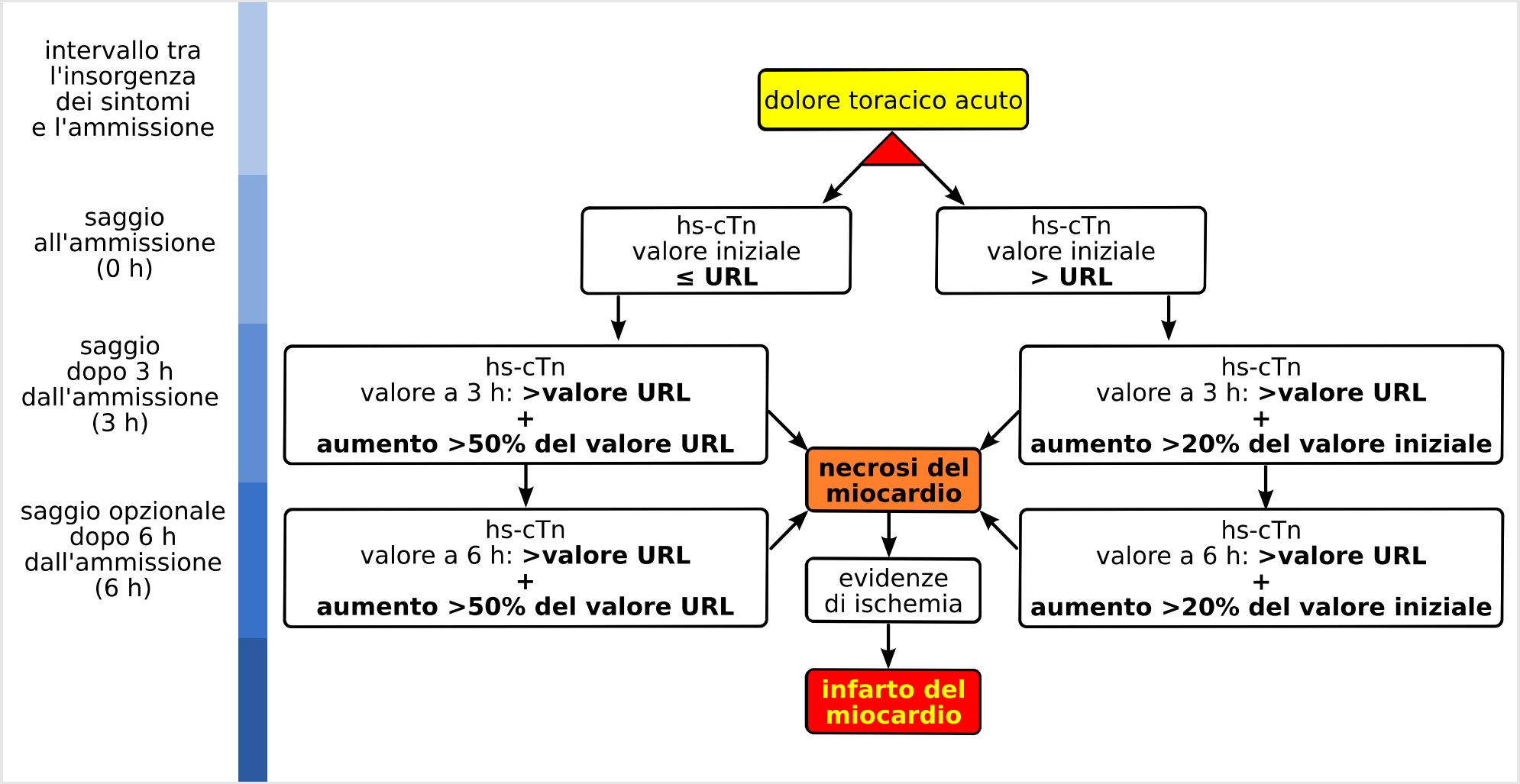


Figura 9.14. Come usare i test *ad alta sensibilità di IV generazione per la determinazione delle troponine cardiache: hs-cTn. Liberamente tratto da Thygesen (2012). URL:* upper reference limit*, 99° percentile superiore: i valori di URL per il saggio ad alta sensibilità per l'Area Vasta Romagna sono cTnI (troponina cardiaca I) = 56 ng/L, cTnT (troponina cardiaca T) = 14 ng/L (2013). I saggi ad alta sensibilità per la troponina T e per la troponina I hanno identico significato e potere diagnostico: sono liberamente alternativi*

Pseudo iper-troponinemia

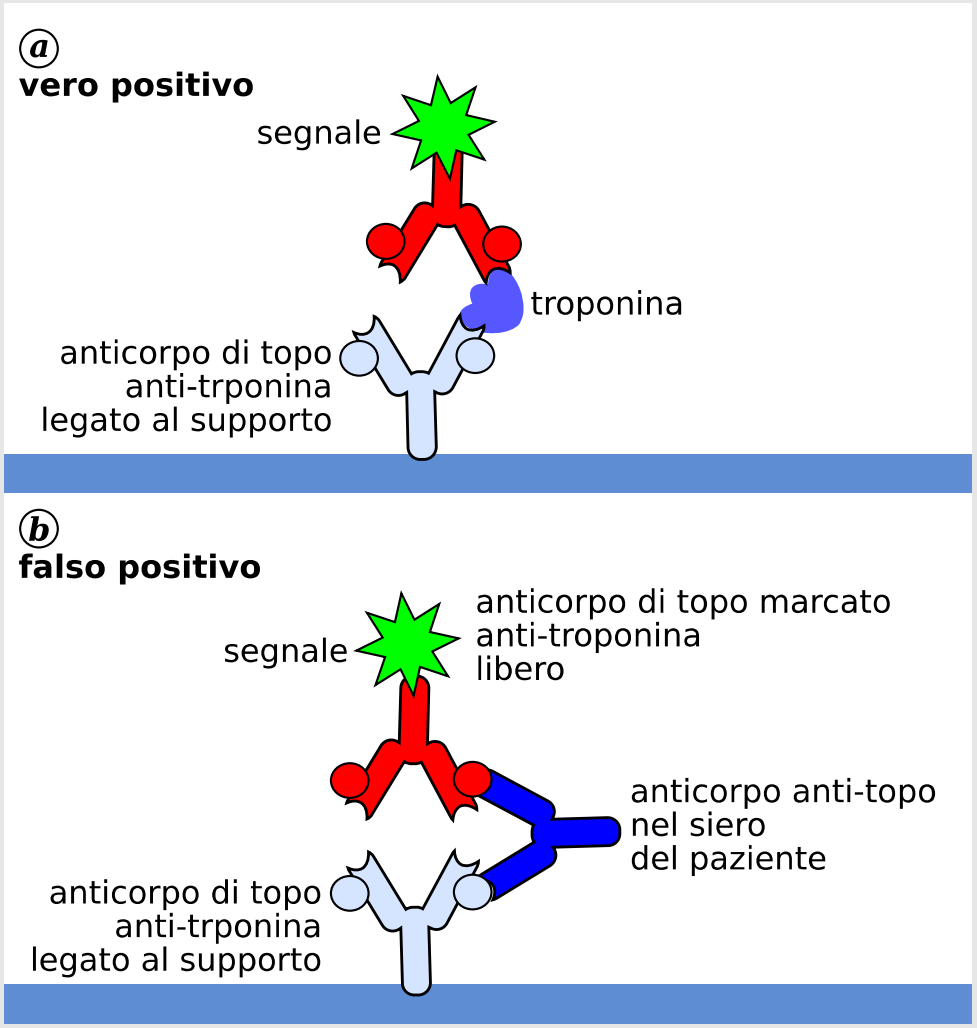


Figura 9.15. Pseudo iper-troponinemia. Liberamente tratto da Melanson (2007)

a) Vero positivo. L'anticorpo di topo anti-troponina fissato al sostegno lega le molecole di troponina nel siero del paziente. La troponina legata forma un sandwich *con anticorpi di topo marcati anti troponina dando un segnale proporzionale alla troponina nel siero del paziente*

b) Falso positivo. Anticorpi umani anti-topo presenti nel siero del paziente (HAMA: human anti-mouse antibodies*), indipendentemente dalla presenza di troponina formano un sandwich con l'anticorpo di topo rivelatore dando un segnale positivo anche in assenza di troponina*

9.10. Cause non ischemiche di innalzamento dei bio-marcatori cardiaci



☞ Le principali cause non ischemiche di innalzamento dei bio-marcatori cardiaci sono:

- miocardite / pericardite
- scompenso cardiaco (edema polmonare acuto, edema polmonare congestizio)
- ipertensione
- ipotensione (specialmente se associata ad aritmie)
- degenti critici (*shock*, diabete, insufficienza renale terminale)
- ipotiroidismo
- trauma cardiaco (defibrillazione)
- cardio–tossicità da chemioterapici (5-fluoro-uracile)

9.10.1. Insufficienza cardiaca

☞ L'insufficienza cardiaca è una sindrome complessa che consegue ad una malattia strutturale o funzionale cardiaca che limita in maniera significativa la capacità cardiaca di sostenere la circolazione fisiologica

- tasso di mortalità elevato (50% a 5 anni dalla diagnosi)
- 5% di tutti i ricoveri ospedalieri
- costo sociale elevato (circa un 1,700 milioni di euro/anno)

☞ Cause principali

- ischemia cardiaca (35-40%)
- ipertensione arteriosa
- obesità
- diabete mellito
- valvulopatie
- cardiomiopatie (principalmente quella dilatativa)

Peptidi natriuretici

☞ La determinazione dei livelli di peptidi natriuretici è di ausilio alla diagnosi dell'insufficienza cardiaca: il loro aumento è generalmente associato alla presenza di una insufficienza cardiaca

☞ **Peptide natriuretico atriale (ANP)**

- rilasciato dai miocardiociti atriali in risposta alla distensione della parete
- attività: promuove diuresi, eliminazione urinaria di sodio, vasodilatazione e inibisce l'asse renina–angiotensina
- i livelli circolanti di ANP sono aumentati nella insufficienza cardiaca congestizia e correlano con la gravità della malattia, con la prognosi e il compenso emodinamico del paziente

☞ **Peptide natriuretico cerebrale (BNP)**

- rilasciato dalle cellule ventricolari, ha azione sovrapponibile al ANP ma ha maggiore valore diagnostico e prognostico

☞ **Peptide di tipo C**

- rilasciato dalle cellule endoteliali, ha azioni sinergiche a ANP e BNP

9.11. Altre patologie vascolari per cui è essenziale l'intervento del laboratorio: le vasculiti

☞ Eterogeneo gruppo di malattie caratterizzate da infiammazione della parete vascolare

La classificazione si basa su:

- sintomatologia
- calibro del vaso colpito
- caratteristiche istologiche della lesione vascolare

Eventuale presenza di:

- anticorpi anti-proteinasi 3 dei neutrofili (anti-PR3)
- anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA: *anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*)
- anticorpi anti-mieloperossidasi (anti-MPO)

9.11.1. Valutazione del paziente con vasculite

Tabella 9.12. Valutazione del paziente con vasculite. ANCA: anti-neutrophil cytoplasmic antibodies *(anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili; +: positivo. Secondo la Chapel Hill Consensus Conference sulla nomenclatura delle vasculiti (Jannette 2012)*

malattia	vaso colpito	test di laboratorio
arterite temporale a cellule giganti	aorta, arterie di grosso e medio calibro	VES (velocità di eritro-sedimentazione) (elevata)
arterite di Takayasu	aorta, arterie di grosso e medio calibro	VES (elevata); indici di funzione renale
malattia di Kawasaki	arterie di grosso e medio calibro; arterie di piccolo calibro	A: causa infettiva e ANCA-negativo B: no causa infettiva e anti-MPO-ANCA+
poliarterite nodosa	arterie di grosso e medio calibro; arterie di piccolo calibro senza interessamento polmonare e renale	
granulomatosi di Wegener	piccole arterie e microcircolo	anti-PR3 ANCA+ (fase attiva della malattia) anti-MPO-ANCA+ (piccola quota dei pazienti)
sindrome di Churg-Strauss	piccole arterie e microcircolo	anti-MPO-ANCA+ eosinofilia
poli-angite microscopica	piccole arterie e microcircolo	anti-PR3 ANCA+ (alcuni pazienti) anti-MPO-ANCA+ (maggior parte dei pazienti) indici di funzionalità renale
porpora di Schonlein-Henoch	microcircolo	indici di funzionalità renale
vasculite crio-globulinemica essenziale	microcircolo	determinazione crio-globuline sieriche
angite leucocitoclasica cutanea	capillari e venule	secondaria a malattia autoimmune, neoplastica, processo infettivo, altra vasculite

9.12. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Barbieri, L., Strocchi, E. (2014) Lezioni di Patologia generale, III edizione digitale, Rimini, Campus di Rimini. ISBN 9788897617075 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3944/

Bonow, R.O., Mann, D.L., Zipes, D.P., Libby, R. (2012) Braunwald's Heart Disease. Elsevier, Philadelphia

Cummins, R. (2003) Biochemical markers in cardiac disease. Electronic publishing in http://ampath.co.za

Grech, E.D., Ramsdale, D.R. (2003) Acute coronary syndrome: unstable angina and infarction non-ST segment elevation myocardial. BMJ. 326, 1259-1261

Hoefner, D.M., Hodel, S.D., O'Brien, J.F., Branum. E.L., Sun, D., Meissner, I., McConnell, J.P. (2001) Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. Clin. Chem. 47, 266-274

Jennette, J. C., Falk, R. J., Bacon, P. A., Basu, N., Cid, M.C., Ferrario, F., Flores-Suarez, L.F., Gross, W.L., Guillevin, L., Hagen, E.C., Hoffman, G.S., Jayne, D.R., Kallenberg, C.G.M., Lamprecht, P., Langford, C.A., Luqmani, R.A., Mahr, A.D., Matteson, E.L., Merkel, P. A., Ozen, S., Pusey, C.D., Rasmussen, N., Rees, A.J., Scott, D.G.I., Specks, U., Stone, J.H., Takahashi, K., Watts, R.A. (2013) 2012 Revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. Arth. Rheum. 65, 1–11

Keller, T., Zeller, T., Peetz, D., Tzikas, S., Roth, A., Czyz, E., Bickel, C., Baldus, S., Warnholtz, A., Fröhlich, M., Sinning, C.R., Eleftheriadis, M.S., Wild, P.S., Schnabel, R.B., Lubos, E., Jachmann, N., Genth-Zotz, S., Post, F., Nicaud, V., Tiret, L., Lackner, K.J., Münzel, T.F., Stefan Blankenberg, S. (2009) Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. N. Engl. J. Med. 361, 868-877

Keller, T., Zeller, T., Ojeda, F., Tzikas, S., Lillpopp, L., Sinning, C., Wild, P., Genth-Zotz, S., Warnholtz, A., Giannitsis, E., Möckel, M., Bickel, C., Peetz, D., Lackner, K., Baldus, S., Münzel, T., Blankenberg, S. (2011) Serial Changes in Highly Sensitive Troponin I Assay and Early Diagnosis of Myocardial Infarction. JAMA 306, 2684-2693

Melanson, S.E.F., Tanasijevic, M.J., Jarolim, P. (2007) Cardiac troponin assays : a view from the clinical chemistry laboratory. Circulation 116, e501-e504

Panteghini, M., Apple, F.S., Christenson, R.H., Dati, F., Mair, J., Wu, A.H. (1999) Proposals from IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage (C-SMCD): recommendations on use of biochemical markers of cardiac damage in acute coronary syndromes. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 59 (suppl. 230), 103-112

Quehenberger, O., Armando, A.M., Brown, A.H., Stephen B. Milne, S.B., Myers, D.S., Alfred H. Merrill, A.H., Bandyopadhyay, S., Jones, K.N., Kelly, S., Shaner, R.L., Sullards, C.M., Wang, E., Murphy, R.C., Barkley, R.M., Leiker,, T.J., Raetz, C.R.H., Guan, Z., Laird, G.M., Six, D.A., Russell, D.W., McDonald, J.G., Subramaniam, S., Fahy, E., Denniset, E.A. (2010) Lipidomics reveals a remarkable diversity of lipids in human plasma. J. Lipid. Res. 51, 3299-3305

Quehenberger, O., Dennis, E.A. (2011) The Human Plasma Lipidome. N. Engl. J. Med. 365, 1812-1823Reichlin, T., Hochholzer, W., Bassetti, S., Steuer, S., Stelzig, C., Hartwiger, S., Biedert, S., Schaub, N., Buerge, C., Potocki, M., Noveanu, M., Breidthardt, T., Twerenbold, R., Winkler, K., Bingisser, R., Mueller, C. (2009) Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. N. Engl. J. Med. 36, :858-867

Thygesen, K., Alpert, J.S., Jaffe, A.S., Simoons, M.L., Chaitman B.R., White, H.D.: theWriting Group on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. (2012) Third universal definition of myocardial infarction. Eur. Heart J. 33, 2551-2567

Thygesen, T., Mair, J., Giannitsis, E., Mueller, C., Lindahl, B., Blankenberg, S., Huber, K., Plebani, M., M. Biasucci, L.M., Tubaro, M., Collinson, P., Venge, P., Hasin, Y., Galvani, M., Koenig, W., Hamm, C., Alpert, J.S, Katus, H., Allan S. Jaffe, A.S. the Study Group on Biomarkers in Cardiology of the ESC Working Group on Acute Cardiac Care (2012) How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. Eur. Heart J. 33, 2252–2257

White, H.D. (2011) Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis?. J. Am. Coll. Cardiol. 57, 2406-2408

Wu, A.H., Apple, F.S., Gibler, W.B., Jesse, R.L., Warshaw, M.M., Valdes, R. Jr. (2000) National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. Clin. Chem. 45, 1104-1121

Siti web

ampath.co.za_biochemical_markers_in_cardiac_disease1.ppt	*visitato il 15/11/2012*	*accessibile il 05/11/2013*
barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2012	*visitato il 26/04/2013*	*accessibile il 05/11/2013*
barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014	*visitato il 26/04/2013*	*accessibile il 05/11/2013*
emedicine.medscape.com	*visitato il 15/11/2012*	*accessibile il 05/11/2013*
nl.wikipedia.org_coronary_arteries	*visitato il 11/09/2012*	*accessibile il 05/11/2013*
rimondini-giorgini_barbieri_lezioni_di_farmacologia_generale_2013	*visitato il 26/04/2013*	*accessibile il 05/11/2013*



10. Medicina trasfusionale

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

10. Medicina trasfusionale....1
10.1. Medicina trasfusionale....3
10.1.1. La nascita della banca del sangue....4
10.1.2. Dal donatore al paziente trasfuso....5
10.1.3. La figura del donatore....6
10.2. Raccolta del sangue intero....8
10.3. Separazione ed utilizzo delle componenti del sangue intero....9
10.3.1. Sacca di globuli rossi concentrati e lavati....9
10.3.2. Plasma fresco congelato (PFC)....9
10.3.3. Crio-precipitato....10
10.3.4. Sacca di piastrine concentrate....10
10.4. Separazione ed utilizzo delle componenti del sangue intero....11
10.4.1. Componenti del sangue ottenuti per aferesi....11
10.4.2. Piastrine ottenute per aferesi....12
10.4.3. Granulociti....12
10.4.4. Derivati di Componenti del plasma....13
10.5. Test microbiologici/virologici....14
10.6. Test di compatibilità....15
10.7. Sistema AB0....16
10.7.1. Il sistema AB0....17
10.8. Sistema Rh....19
10.8.1. Test di Coombs....20
10.9. Altri gruppi sanguigni....21
10.9.1. Reazione di agglutinazione per determinare i gruppi AB0 e Rh....22
10.10. Prove pre-trasfusionali....23
10.10.1. Tipizzazione e screening pre-trasfusionale (type and screen)....23
10.10.2. Prove di compatibilità (cross-match)....24
10.11. Complicanze delle trasfusioni di sangue....26
10.11.1. Reazioni emolitiche....27
10.11.2. Reazione acuta emolitica trasfusionale (RAET)....28
10.11.3. Reazioni febbrili....31
10.11.4. Reazioni allergiche....32
10.11.5. Lesione acuta polmonare....33
10.11.6. Malattia del trapianto verso l'ospite (GVHD)....33
10.11.7. Plasmaferesi....34
10.11.8. Citaferesi....35
10.12. Principali fonti utilizzate....37



10.1. Medicina trasfusionale



☞ La medicina trasfusionale può essere divisa in tre branche:

- *banca del sangue*
- *raccolta, stoccaggio e utilizzo di cellule ematiche*
- *terapia*

☞ La banca del sangue comprende:

- raccolta
- stoccaggio
- analisi e controllo qualità di componenti ematici
- produzione di derivati e loro controlli di qualità

☞ La raccolta, stoccaggio e utilizzo di cellule ematiche comprende

- l'isolamento delle frazioni cellulari
- la conservazione delle cellule staminali

☞ La terapia trasfusionale comprende

- trasfusione di sangue intero
- trasfusione di componenti
- infusione di derivati

10.1.1. La nascita della banca del sangue



Figura 10.1. Bernard Fantus. Immagine di public domain *da: telesanterno.com, modificato*

Prima del 1937 le trasfusioni potevano avvenire da individuo a individuo, da braccio a braccio

Quando occorreva si cercava in tutta fretta un donatore, lo si sottoponeva ad un controllo forzatamente sommario, e quindi si procedeva alla trasfusione in tempo reale con elevati rischi

Nel marzo del 1937 Bernard Fantus, medico di origine ungherese, inventa la "banca del sangue", un sistema per poter conservare il sangue in laboratorio per almeno una decina di giorni

Fantus riesce a stabilire che portando la temperatura del sangue donato a 4 gradi la sua possibilità di conservazione aumenta considerevolmente

Questo consente di "mettere da parte" quantitativi di sangue, etichettati e controllati, da poter "spendere", senza sprechi, quando i reparti di chirurgia lo richiedono. Da questo meccanismo è sorta probabilmente l'idea di chiamare questo tipo di servizio "banca" del sangue (fu proprio Fantus a coniare e volere questo termine)

La prima banca-laboratorio di questo genere, attiva 24 ore su 24, fu creata da Fantus presso il Cook Country Hospital di Chicago

Le banche del sangue sul modello di quella ideata da Fantus si diffusero nel resto del mondo

Charles E. Huggins nel 1963 sperimentò con successo al Massachusetts General Hospital una nuova tecnica di congelamento del sangue (aggiungendovi glicerolo per salvaguardare gli eritrociti) che lo rende conservabile per un tempo teoricamente indefinito

Lo stesso Huggins perfezionò in seguito anche la tecnica dell'auto-emotrasfusione: in pratica la possibilità di costituire una scorta preventiva di sangue estratto nelle settimane precedenti dallo stesso individuo che deve sottoporsi poi ad un intervento chirurgico

10.1.2. Dal donatore al paziente trasfuso

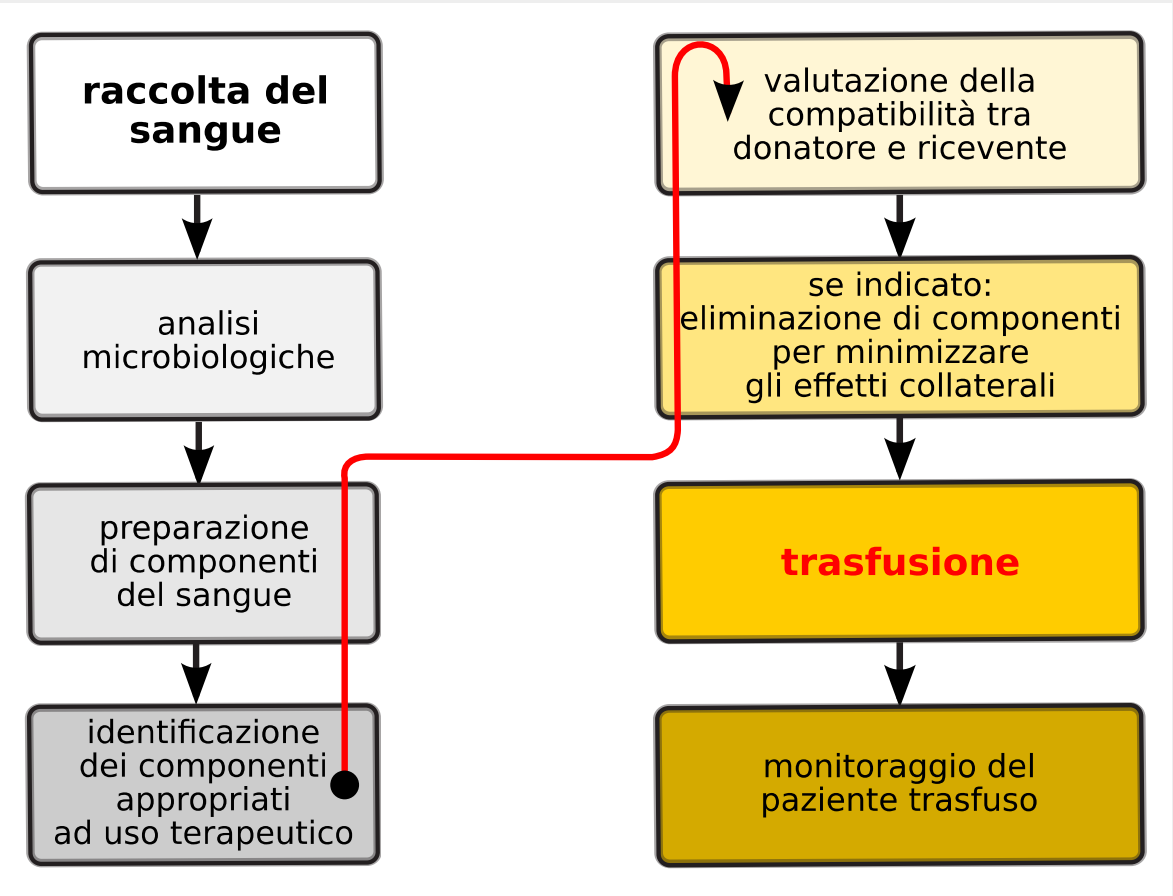


Figura 10.2. Flow-chart *della raccolta-trasfusione di sangue umano da donatore a ricevente*

Le procedure trasfusionali sono generalmente suddivise in due fasi temporalmente, spazialmente ed operativamente distinte:

- raccolta, controllo, elaborazione, e conservazione
- utilizzo clinico

Sono diversi i soggetti coinvolti:

- nella prima fase è coinvolto un soggetto sano volontario
- nella seconda fase è coinvolto un paziente
- fa eccezione la procedura di auto-emotrasfusione in cui i due soggetti coincidono

10.1.3. La figura del donatore

☞ A seconda della legislazione vigente i donatori di sangue sono volontari che possono o no essere retribuiti:

- in Italia i donatori non possono essere retribuiti

I donatori

- vengono identificati
- vengono registrati
- devono firmare il consenso informato per la raccolta dell'unità di sangue
- devono rendersi disponibili a sottoporsi ai test di laboratorio richiesti dalla legislazione vigente

---

☞ Sono in vigore norme che definiscono le condizioni secondo le quali un potenziale donatore può essere escluso permanentemente o temporaneamente dalle donazioni

---

☞ L'intervallo minimo tra una donazione di sangue intero e l'altra è di 90 giorni

La frequenza annua delle donazioni non deve essere superiore a

- 4 volte l'anno per gli uomini
- 2 volte l'anno per le donne

☞ ***Pool* di donatori**

I diversi componenti ematici (globuli rossi, piastrine e granulociti) e plasmatici sono preparati direttamente da una unità di sangue intero con tecniche di separazione e metodologie diverse

Di solito i derivati plasmatici, come l'albumina, le proteine plasmatiche, le immunoglobuline e i fattori della coagulazione sono isolati da pool plasmatici raccolti da migliaia di donatori

---

Tabella 10.1. Requisiti necessari in Italia per essere accettati come donatore

età:	compresa tra 18 anni e i 60 anni (per candidarsi a diventare donatori di sangue intero), 65 anni (età massima per proseguire l'attività di donazione per i donatori periodici), con deroghe a giudizio del medico
stato di salute:	buono
stile di vita:	nessun comportamento a rischio
peso:	più di 50 kg
frequenza cardiaca:	compresa tra 50-100 battiti/min (anche con frequenza inferiore per chi pratica attività sportive)
pressione arteriosa:	tra 110 e 180 mm di mercurio (sistolica o massima) tra 60 e 100 mm di mercurio (diastolica o minima)
concentrazione di emoglobina:	avere un tasso di emoglobina non inferiore a: 13.5 g/dL nell'uomo (ematocrito > 41%) 12.5 g/dL nella donna (ematocrito > 38%)
auto-esclusione: è doveroso auto-escludersi per chi abbia nella storia personale:	
assunzione di droghe; alcolismo; rapporti sessuali ad alto rischio di trasmissione di malattie infettive (es.: promisquità occasionali); epatite o ittero; malattie veneree in atto; positività al *test* per la sifilide; positività al *test* per l'AIDS (anti-HIV 1); positività al *test* per l'epatite B (HBsAg); positività al *test* per l'epatite C (anti-HCV); positività al *test* molecolare per il *West Nilus Virus* (WNV); rapporti sessuali con persone nelle condizioni incluse nell'elenco presente	

10.2. Raccolta del sangue intero

☞ Arruolamento dei volontari

Screening dei donatori potenziali attraverso:

- questionario
- analisi rapida mediante esame emocromo-citometrico per digito-puntura (emoglobina almeno 12.5 g/dL)
- visita medica (pressione, polso, auscultazione cuore-polmoni, palpazione epatica)
- esami periodici (ECG e Rx torace)

☞ Prelievo mediante veni-puntura in sacca sterile

- 450-500 mL di sangue intero (circa il 10% del volume di sangue totale di un individuo in buona salute del peso di 70 Kg)
- in citrato
- in circa 10 min

La sacca contiene sostanze (adenina, fosfato, destroso) che permettono la conservazione della sacca per 35-42 giorni a 1-6°C

☞ Al termine della raccolta, vengono allestite delle provette per le varie analisi microbiologiche



Figura 10.3.Una sacca di sangue: eritrociti concentrati. Immagine con licenza CCA-S A 3.0 U da wikimedia_commons

10.3. Separazione ed utilizzo delle componenti del sangue intero 

10.3.1. Sacca di globuli rossi concentrati e lavati

☞ Si ottiene per separazione dei globuli rossi (GR) dal plasma

- in alcuni casi i leucociti vengono rimossi per filtrazione (per evitare reazioni febbrili post-trasfusione)

Caratteristica:

- ematocrito (HCT) = 55- 80%

Indicazione:

- anemie sintomatiche (<7 g/dL)

Indispensabile:

- il rispetto della compatibilità AB0 e Rh
- il *cross-matching* prima della somministrazione

10.3.2. Plasma fresco congelato (PFC)

☞ Si ottiene per separazione della componente liquida dalla componente corpuscolata di sangue fresco non coagulante (in presenza di anti-coagulanti)

- viene congelato entro 8 h dalla raccolta della sacca

Indicazione:

- controllo di episodio emorragico imputabile a deficit di fattori della coagulazione

Indispensabile:

- solo il rispetto della compatibilità AB0

10.3.3. Crio-precipitato

☞ Si ottiene portando a 1-6°C il PFC (plasma fresco congelato)

- parte delle proteine plasmatiche non tornano in soluzione (sopratutto fibrinogeno): il precipitato che si ottiene viene raccolto e ricongelato; una sacca di crio-precipitato contiene almeno 150 mg di fibrinogeno in un volume inferiore a 25 mL

Indicazione:

- deficit da consumo di fibrinogeno (es.: coagulazione intra-vascolare disseminata, CID)

Consigliato:

- compatibilità AB0 preferibile ma non indispensabile

10.3.4. Sacca di piastrine concentrate

☞ Si ottiene per separazione delle piastrine da una unica sacca di sangue intero

- contiene almeno 5.5 x 10^{10} piastrine sospese in 40-60 mL di plasma
- la sacca è conservata a 20-24°C

Indicazioni:

- piastrino-penie da deficit di produzione o da perdita per emorragia
- piastrino-patie severe
- non efficace nelle piastrino-penie su base immunologica

Consigliato:

- consigliata la compatibilità AB0

10.4. Separazione ed utilizzo delle componenti del sangue intero

10.4.1. Componenti del sangue ottenuti per aferesi

Definizione di aferesi

L'aferesi (dal greco ἀφαίρεσις) è una tecnologia medica nella quale il sangue di un donatore/paziente viene passato attraverso un apparato che separa un particolare costituente e ritorna il rimanente in circolo

Citaferesi: aferesi di cellule ematiche

Plasmaferesi: aferesi di plasma o componenti plasmatici

☞ Per citaferesi si ottengono abitualmente:

- piastrine
- granulociti

Per plasmaferesi si ottengono abitualmente derivati plasmatici:

- fattore VIII concentrato
- fattore IX concentrato
- albumina
- immunoglobuline venose (IgG)
- immunoglobuline anti-Rh

10.4.2. Piastrine ottenute per aferesi

☞ Caratteristiche:

- ogni unità contiene almeno 3×10^{11} piastrine
- il prodotto ha un volume compreso tra 200 e 400 mL

Indicazioni:

- piastrino-penie da deficit di produzione o da perdita per emorragia
- piastrino-patie severe
- non efficace nelle piastrino-penie su base immunologica

Consigliato:

- consigliata la compatibilità AB0

10.4.3. Granulociti

☞ Indicazione:

- soggetti neutropenici con grave infezione non altrimenti controllabile

Indispensabile:

- compatibilità AB0 e Rh, *cross-matching* indispensabile (sono infatti presenti globuli rossi contaminanti)

10.4.4. Derivati di Componenti del plasma

Tabella 10.2. Componenti plasmatici frequentemente usati in terapia

componente plasmatico	indicazioni	
fattore VIII concentrato	• terapia della emofilia A	attualmente è disponibile una forma ricombinante
fattore IX concentrato	• terapia della emofilia B	attualmente è disponibile una forma ricombinante
albumina	• fluido sostitutivo in soggetti sottoposti a plasmaferesi • terapia sostitutiva in soggetti ipo-albuminemici • promuove la diuresi in pazienti con ascite non rispondente ai diuretici	
immunoglobuline venose (IgG)	• terapia sostitutiva in pazienti con gravi deficit della immunità umorale • trattamento di malattie autoimmuni selezionate (es.: porpora trombocitopenica autoimmune o idiopatica)	
immunoglobuline anti-Rh (frazione di IgG ad alto titolo per antigene D)	• somministrazione intra-muscolare a donne Rh-negativo per prevenire l'allo-immunizzazione in seguito al contatto con emazie Rh-positivo del feto	si somministra alla 28ª settimana di gestazione e poi entro 72 h dalla nascita del bambino Rh-positivo

10.5. Test *microbiologici/virologici*



☞ I *test* microbiologici/virologici utilizzati oggi (ottobre 2013) presso i laboratori dell'Area Vasta Romagna in conformità alle disposizioni di legge sono:

- *test* sierologico per la sifilide
- anticorpi anti-HIV1 e anti-HIV2 (*human immunodeficiency virus*) e saggio molecolare per RNA HIV-1
- anticorpi anti-HCV (*hepatitis C virus*) e saggio molecolare per RNA virale
- HBSAg (*hepatitis B surface antigen*) e anticorpi anti-core HB (*hepatitis B core antigen*)
- anticorpi anti-HTLV-1 e anti-HTLV-2 (*human T lymphocyte virus*)
- saggio molecolare per *RNA West Nilus Virus*
- anticorpi anti-CMV (citomegalovirus)
- *screening* batteriologici per preparati piastrinici
- *marker* epatici di danno cellulare

10.6. Test *di compatibilità*

☞ Sulla membrana eritrocitaria sono presenti diverse molecole in grado di evocare una risposta anticorpale

Tali antigeni possono essere di natura proteica (Rh), glico-proteica o glico-lipidica (AB0)

Dal punto di vista pratico la principale conseguenza della presenza di tali antigeni è legato alla possibilità che venga indotta una risposta anticorpale nei soggetti che ricevono trasfusioni non compatibili

☞ Gli antigeni di membrana eritrocitari costituiscono i gruppi sanguigni

Da un punto di vista clinico i gruppi sanguigni possono essere divisi in:

- sistema AB0
- sistema Rh
- altri antigeni

10.7. Sistema AB0

☞ Il sistema AB0 (leggasi abizero) fu scoperto dal patologo austriaco Karl Landsteiner nel 1900

- gli antigeni principali sono definiti A e B
- gli anticorpi prodotti sono detti iso-agglutinine anti-A e anti-B

Dall'età di sei mesi quasi tutti gli individui posseggono anticorpi naturali diretti verso gli antigeni A e/o B che non possiedono

La presenza di questi anticorpi dipende dall'esposizione verso antigeni ambientali

La specificità antigenica è dovuta ai diversi gruppi che possono essere legati al carbonio in posizione 3 di una molecola di galattoso posta terminalmente ad una catena di zuccheri associata alla ceramide della membrana eritrocitaria

Tabella 10.3. Il sistema AB0 in Italia. Dati da AVIS Forlì. Si noti che i valori per l'Italia meridionale sono significativamente difformi dalla media europea, al contrario dei valori riscontrati nel resto d'Italia

gruppo sanguigno	**genotipo**	**frequenza (% della popolazione)**				
		Italia				**Europa**
		settentrionale	**centrale**	**meridionale**	**media**	**media**
AB	$I^A I^B$	5	4	12	7	5
B	$I^B I^B$ oppure $I^B j$	11	12	28	17	15
A	$I^A I^A$ oppure $I^A j$	44	45	19	36	40
0	$j\,j$	40	39	41	40	40

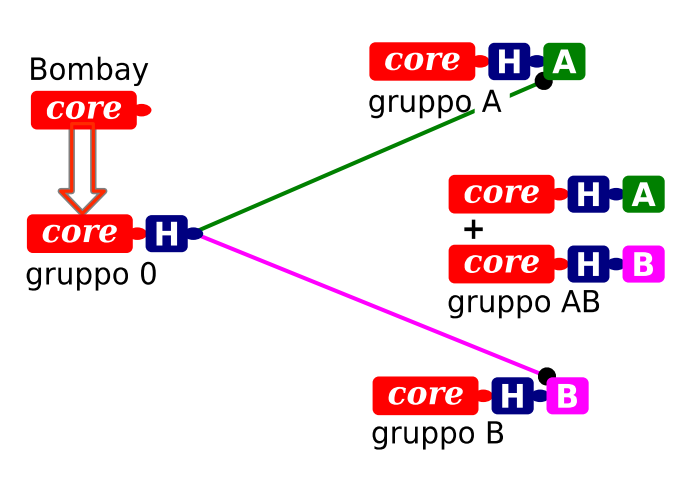
10.7.1. Il sistema AB0

☞ Il gruppo sanguigno AB0 (il più importante clinicamente) è caratterizzato dal complesso antigenico *ABH*

L'espressione fenotipica è sotto la dipendenza di tre geni:

- il *gene H* (transferasi H), presente in alta percentuale nell'uomo che, mediante il legame di un fucoso a un polisaccaride *core*, forma la molecola dell'antigene H
- gli individui che hanno sul secondo gene l'*allele A* (transferasi A) aggiungono alla sostanza H, la N-acetilgalattosammina, dando origine all'antigene A
- gli individui che hanno sul secondo gene l'*allele B* (transferasi B) aggiungono alla sostanza H, il galattoso dando origine all'antigene B

Figura 10.4. La struttura del sistema ABH. Da Barbieri (2012)



- gli individui che non hanno ne l'*allele A* ne l'*allele B* non possono modificare la sostanza H e appartengono al gruppo 0
- gli individui che non possiedono il *gene H*, non esprimono né l'antigene A né l'antigene B, sia in presenza di un *allele A*, *B*, o ambedue (fenotipo Bombay). Il siero di questi individui contiene anticorpi anti-A, anti-B e anti-H
- soggetti che non esprimono l'antigene A possiedono nel plasma anticorpi anti-A, soggetti che non esprimono l'antigene B possiedono anticorpi-anti-B
  Questi anticorpi sono IgM e sono rivolti verso strutture presenti comunemente in natura e non sono prodotti a seguito di un precedente contatto con antigeni eritrocitari

Tabella 10.4. Compatibilità AB0. Il gruppo 0 viene definito donatore universale, il gruppo AB viene definito ricevente universale

gruppo AB0 del paziente (ricevente)	iso-agglutinine presenti (plasma del ricevente)	donatore compatibile	donatore incompatibile
A	anti-B	A, 0	B, AB
B	anti-A	B, 0	A, AB
AB	nessuna	A, B, AB, 0	nessuno
0	anti-A, anti-B	0	A, B, AB

☞ Il gruppo 0 viene definito donatore universale, il gruppo AB viene definito ricevente universale

In realtà bisogna tener conto anche della compatibilità per il complesso antigenico Rh indicata con

- (+) Rh-positivo possedendo l'antigene Rh
- (-) Rh-negativo, non possedendo l'antigene Rh

Tabella 10.5. Compatibilità AB0/Rh. Il gruppo 0/Rh(-) viene definito donatore universale, il gruppo AB/Rh(+) viene definito ricevente universale

gruppo	puoi donare il sangue a:	puoi ricevere trasfusioni da:
A(+)	A(+), AB (+)	A(+), A(-), 0(+), 0(-)
B(+)	B(+), AB (+)	B(+), B(-), 0(+), 0(-)
AB(+)	AB (+)	tutti
0(+)	0(+), A(+), B(+), AB(+)	0(+), 0(-)
A(-)	A(+), A(-), AB(+), AB(-)	A(-), 0(-)
B(-)	B(+), B(-), AB(+), AB(-)	B(-), 0(-)
AB(-)	AB(+), AB(-)	A(-), B(-), AB(-), 0(-)
0(-)	tutti	0(-)

10.8. Sistema Rh

☞ Dopo l'AB0 è il gruppo ematico che ha maggiore rilevanza clinica

L'antigene più importante del gruppo è l'antigene D (presente nell' 85% nella razza caucasica), che è il più efficace nel determinare una risposta anticorpale una volta introdotto nell'organismo di un soggetto che ne è privo

Il sistema Rh comprende molti antigeni diversi (altri 4 importanti sono C, E, c, e)

Gli alleli che determinano l'espressione degli antigeni Rh sono ereditati in blocco come aplotipo

Le cellule dette Rh positive hanno sempre l'antigene D

☞ Negli individui Rh-negativi non sono naturalmente presenti gli anticorpi anti-Rh

Questi possono comparire dopo contatto con l'antigene D

L'evento che con maggior probabilità (50-70% dei casi) può generare l'immunizzazione è una trasfusione (grandi quantità di cellule non compatibili a contatto con il sistema immunitario dell'ospite) seguita dalla gravidanza con feto non compatibile (20% dei casi)

Gli anticorpi che si formano sono generalmente IgG e sono in genere in grado di attivare il complemento, ma a causa della relativa rarità degli antigeni sulla superficie del globulo rosso le molecole di anticorpo non riescono ad attivare la cascata del MAC (*membrane attack component*), perciò non si registra significativa emolisi intra-vascolare

I globuli rossi opsonizzati dal complemento vengono captati dalle cellule del sistema reticolo-endoteliale di fegato e milza e vengono distrutti per emolisi extra-vascolare

In vitro si osserva solo una modesta agglutinazione, poiché gli anticorpi si limitano a ricoprire le emazie. Per evidenziare la agglutinazione deve essere aggiunto un siero anti-immunoglobuline umane (siero di Coombs)

10.8.1. Test di Coombs

Vedi capitolo 3.7.3

☞ Il siero di Coombs è stato ottenuto da Coombs, Mournat e Race nel 1945 iniettando siero umano intero in conigli e ottenendo in questo modo anticorpi anti-siero umano

Attualmente il termine siero di Coombs si utilizza per definire un reagente che contiene anticorpi anti-immunoglobuline umane

---

☞ *Test* di Coombs diretto (*direct anti-globulin test*, DAT):

- cimenta il siero di Coombs su eritrociti lavati ottenuti da pazienti

Applicazioni principali:

- anemia emolitica autoimmune
- malattia emolitica neonatale (sugli eritrociti del neonato)

☞ *Test* di Coombs indiretto (*indirect anti-globulin test*, IAT):

- cimenta il siero di Coombs su eritrociti esprimenti gli antigeni in studio precedentemente incubati con il siero da testare

Applicazioni in *test* di *screening* anticorpale. Es.:

- trasfusioni
- *test* su gestante per valutare il rischio di malattia emolitica

10.9. Altri gruppi sanguigni

☞ Esistono numerosi complessi antigenici sulla membrana eritrocitaria

Gli antigeni di gruppo acquisiscono un significato clinico quando:

- sono in grado di indurre una risposta anticorpale in seguito a trasfusione;
- reagiscono con gli anticorpi e generano emolisi *in vivo*
- sono implicati nella malattia emolitica del neonato

I gruppi sanguigni di maggiore rilevanza clinica dopo i sistemi AB0 e Rh sono

- il sistema Kell
- il sistema Duffy
- il sistema Kidd

Reazioni anticorpali verso tali gruppi sono rare ma possono talvolta imporre la loro ricerca e identificazione

10.9.1. Reazione di agglutinazione per determinare i gruppi AB0 e Rh

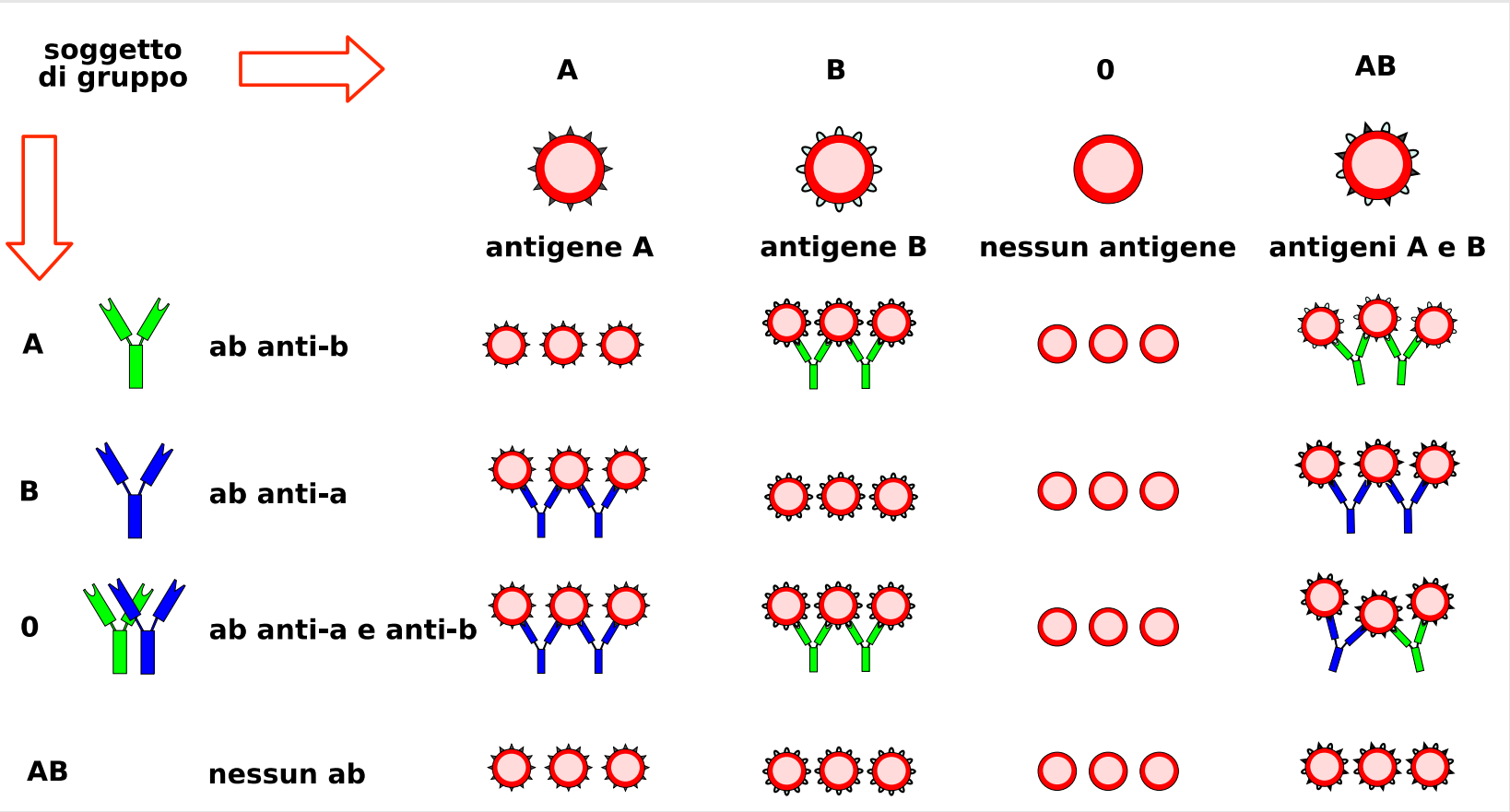


Figura 10.5. Sistema AB0: antigeni e relativi anticorpi agglutinanti

Da: Barbieri (2011)

10.10. Prove pre-trasfusionali

☞ Le prove pre-trasfusionali comprendono quella serie di indagini di laboratorio che devono essere eseguite prima di effettuare una trasfusione di sangue
2 approcci integrati:

- *tipizzazione e* screening *pre-trasfusionale* (type and screen)
- *prove crociate di compatibilità* (cross-match)

a queste prove devono essere associate

- *indagini volte a minimizzare i rischi infettivi associati alle trasfusioni*

10.10.1. Tipizzazione e *screening* pre-trasfusionale (*type and screen*)

☞ Nelle situazioni in cui la somministrazione di sangue, pur non essendo prevista, può rendersi necessaria, è indicato allestire delle prove di tipizzazione e *screening*. Con queste prove il centro trasfusionale:

- determina il fenotipo AB0 e Rh del paziente
- esegue la ricerca di anticorpi nel suo siero mediante IAT (*indirect anti-globulin test*) eseguito su due tipi di eritrociti di gruppo 0 con fenotipo antigenico noto

☞ Se la ricerca degli anticorpi è negativa, viene eseguita una ricerca informatizzata delle unità compatibili presenti in emoteca (*computer cross match*) che devono essere disponibili nel momento in cui le condizioni del paziente potrebbero richiedere la trasfusione

Viene anche conservato un campione di sangue del paziente per eseguire prove crociate di compatibilità

- se diventa necessario possono essere effettuate delle prove parziali di reattività crociata in circa 15 min

Se la ricerca degli anticorpi è positiva devono essere eseguite le prove di compatibilità crociata

10.10.2. Prove di compatibilità (cross-match)

☞ Prima di eseguire una trasfusione le cellule del donatore e il siero del ricevente vengono sottoposti alle cosiddette prove crociate di compatibilità per verificarne la compatibilità sierologica

Per confermare la compatibilità AB0 e Rh si può utilizzare il *cross match* in soluzione fisiologia con centrifugazione immediata verificando l'assenza di agglutinazione

Quando lo *screening* anticorpale del ricevente è risultato positivo è necessario identificare l'anticorpo per saggiare la compatibilità trasfusionale

- si utilizza il *test* indiretto dell'anti-globulina (IAT) eseguito su un pannello di 10 diversi tipi di eritrociti esprimenti antigeni diversi
- verifica immediata della agglutinazione
- segue una incubazione delle emazie del donatore con il siero del ricevente a 37°C per 15-30 min per dare la possibilità agli anticorpi di interagire tra loro
- seguita dallo IAT
- se non vi è agglutinazione le cellule da trasfondere saranno giudicate compatibili

Prove di compatibilità: *flow chart*

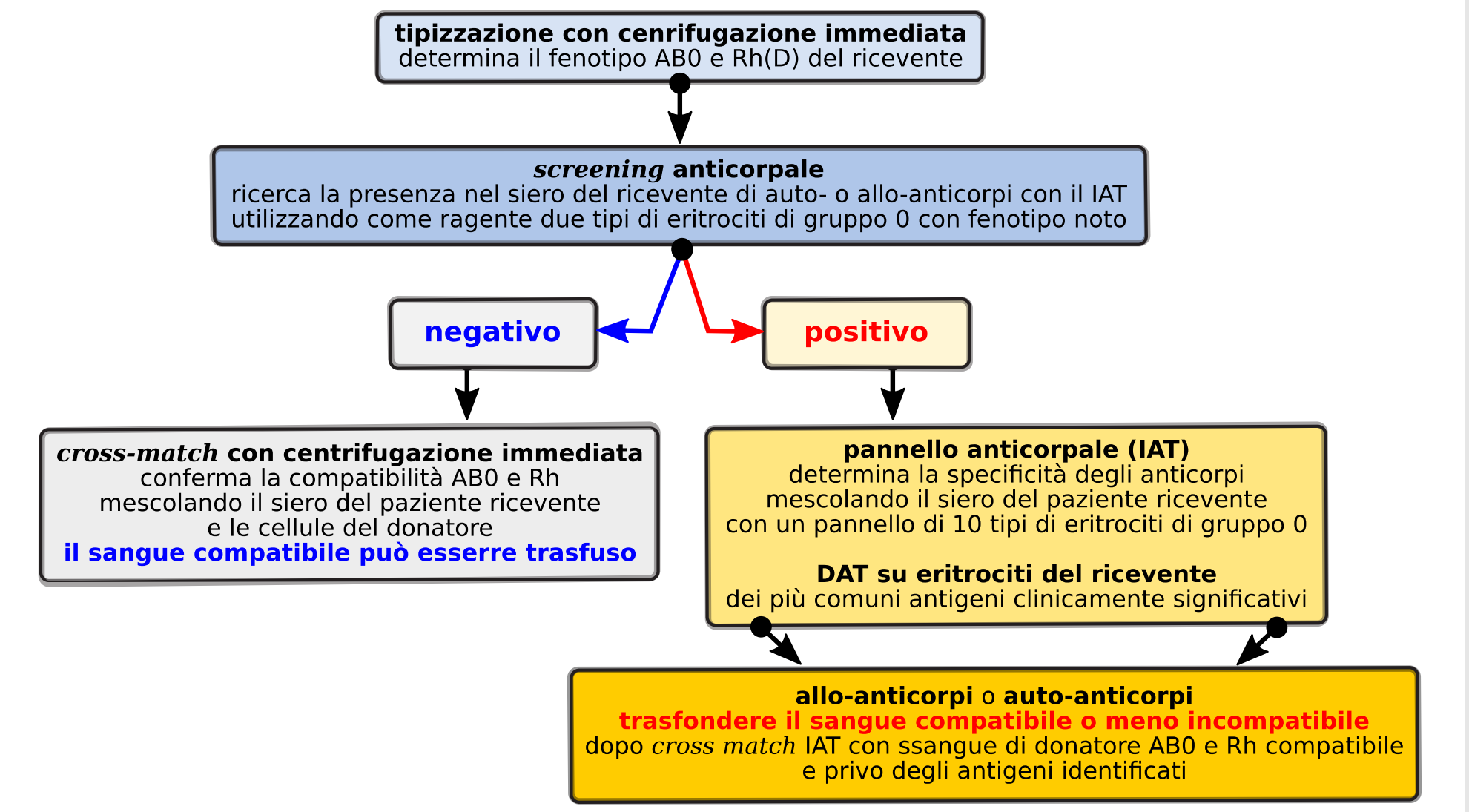


Figura 10.6. Prove di compatibilità. Flow-chart. *IAT:* indirect anti-globulin test*; DAT:* direct anti-globulin test

10.11. Complicanze delle trasfusioni di sangue

Tabella 10.6. Complicanze delle trasfusioni di sangue

cause	reazioni Immediate	reazioni tardive
non mediate da anticorpi	• emolitiche, settiche, circolatorie • aggregati e infiltrati polmonari • metaboliche: coagulopatia, tossicità da citrato • ipotermia • iper-kaliemia	• infezioni virali, batteriche • infestazioni parassitarie • sovraccarico marziale (eccesso di ferro)
mediate da anticorpi	• reazioni emolitiche acute: trasfusione incompatibile • reazioni non emolitiche: febbrili, orticarioidi, anafilattoidi, danno polmonare acuto da trasfusione	• allo-immunizzazione: malattia del trapianto verso l'ospite, porpora post-trasfusionale • alterazioni della risposta immunitaria

10.11.1. Reazioni emolitiche

☞ L'emolisi dei GR del donatore o del ricevente (di solito del primo) durante o dopo una trasfusione può derivare da:

- incompatibilità AB0/ Rh
- incompatibilità plasmatica
- da GR emolizzati o fragili (es.: per sovra-riscaldamento del sangue conservato o per contatto con inappropriate soluzioni per infusione endovenosa)
- infusioni di soluzioni non isotoniche

La reazione è gravissima quando i GR di donatore incompatibile sono emolizzati da un anticorpo nel plasma del ricevente

10.11.2. Reazione acuta emolitica trasfusionale (RAET)

☞ L'incompatibilità AB0 è la più frequente causa di reazione acuta emolitica trasfusionale (RAET)

Anche anticorpi contro antigeni di gruppo diversi da quelli AB0 possono anche causare la RAET

☞ Le condizioni più comuni in cui si verificano RAET sono:

- un'errata etichettatura del campione pre-trasfusionale al momento della raccolta
- la mancata identificazione del corretto ricevente immediatamente prima della trasfusione sono

Queste condizioni non sono legate ad errori analitici

Quindi, per indagare una sospetta RAET, uno dei primi *test* da eseguire è il ricontrollo degli identificativi del campione e del paziente

Se c'è qualsiasi confusione concernente il tipo AB0 di un paziente, in caso di emergenza assoluta, devono essere trasfusi concentrati di eritrociti di tipo 0, fino a quando la discrepanza non sia stata risolta

Evoluzione delle reazioni emolitiche trasfusionali



☞ La gravità della RAET dipende

- dal grado di incompatibilità
- dalla quantità di sangue somministrato
- dalla velocità di somministrazione
- dallo stato funzionale dei reni, del fegato e del cuore

Fase acuta

- Una fase acuta si sviluppa:
  - di solito entro circa 1 h dall'inizio della trasfusione
  - a volte tardivamente
  - a volte durante o immediatamente dopo la trasfusione

- L'esordio è in genere acuto; il paziente può lamentare malessere e ansietà oppure può non avvertire alcun disturbo
  - può accusare difficoltà respiratoria, febbre e brividi, arrossamento al volto e forte dolore soprattutto nella regione lombare
  - possono comparire i segni dello *shock*, con polso debole e frequente, cute fredda e sudata, dispnea, caduta della PA, nausea e vomito
  - può comparire Hb (emoglobina) libera nel plasma e nelle urine; in maniera corrispondente, i livelli di aptoglobina sono molto bassi o non misurabili
  - seguono innalzamento della bilirubina sierica e ittero clinico

- Le RAET possono anche manifestarsi nel corso di anestesia generale
  - in tal caso la quasi totalità dei sintomi è mascherata
  - l'unico segno può essere rappresentato da un'emorragia irrefrenabile dalla sede dell'incisione chirurgica o dalle mucose, causata dalla induzione di una sindrome da coagulazione intra-vascolare disseminata (CID)

Fase post-acuta

☞ Dopo la fase acuta si possono avere diversi sviluppi:

- nessun disturbo ulteriore
- oliguria transitoria con lieve iperazotemia, seguita da un completo recupero della funzione renale
- oliguria più persistente e quindi, talora, anuria e uremia, con morte in 5-14 d, se il paziente non viene precocemente trattato

La prognosi dipende soprattutto dalla gravità della reazione

La guarigione è in genere segnata dal ripristino della diuresi con eliminazione delle scorie azotate trattenute.

È raro un danno renale consistente e irreversibile

Una prolungata oliguria e lo *shock* sono cattivi segni prognostici

10.11.3. Reazioni febbrili

☞ Reazioni febbrili sono caratterizzate da

- brividi
- febbre con aumento della temperatura corporea di 1°C
- talora cefalea e dolore lombare

Poiché la febbre e i brividi sono anche segni prodromici di una grave reazione emolitica trasfusionale, tutte le reazioni febbrili debbono essere investigate

---

☞ Anticorpi diretti contro l'HLA (*human leukocyte antigen*) leucocitario possono comparire in:

- individui poli-trasfusi
- multipare (donne con multiple gravidanze pregresse)

Questi anticorpi, nelle trasfusioni successive, possono reagire con i leucociti trasfusi, provocando disturbi durante o poco dopo la trasfusione

In caso di recidiva di questi disturbi a seguito di una trasfusione successiva (perfettamente compatibile pre gli antigeni eritrocitari), per le eventuali ulteriori trasfusioni è necessario utilizzare eritrociti appositamente filtrati per la rimozione dei leucociti

---

☞ Talora, reazioni febbrili possono essere generate da citochine rilasciate dai leucociti durante la conservazione, particolarmente nei concentrati piastrinici

La rimozione dei leucociti (GB) prima della conservazione previene questa complicanza

---

☞ Risposte con febbre modesta di solito necessitano solo di di un antipiretico prima della futura trasfusione

Circa un ricevente su otto avrà esperienza di una reazione febbrile ad una seconda trasfusione

I riceventi che sperimentano più di una reazione febbrile devono essere trattati con prodotti ematici depleti di GB

10.11.4. Reazioni allergiche



☞ Sono frequenti le reazioni allergiche del paziente verso un componente ignoto del sangue del donatore, di solito dovute ad allergeni presenti nel plasma del donatore o, meno spesso, ad anticorpi provenienti da un donatore allergico

- queste reazioni si manifestano in genere con una modesta sintomatologia caratterizzata da orticaria, edema, talora vertigine e cefalea, durante o subito dopo la trasfusione
- sintomi meno frequenti sono la dispnea, i rumori respiratori da broncospasmo e l'incontinenza secondaria a uno spasmo generalizzato della muscolatura liscia
- raramente si può avere *shock* anafilattico)

☞ In un paziente con una storia di allergie o con un precedente episodio di reazione trasfusionale allergica è opportuno somministrare un antistaminico come profilassi appena prima o all'inizio della trasfusione

- *n.b.: i farmaci non devono mai essere diluiti con il sangue*

☞ Se si manifesta una reazione allergica, bisogna sospendere immediatamente la trasfusione

Un antistaminico controlla di norma i casi di moderata gravità e può essere ripresa la trasfusione

Nei casi più gravi (es.: *shock* anafilattico in un paziente con deficit di IgA) è necessario ricorrere a:

- adrenalina
- cortisonici

Si inizia immediatamente un'indagine per le reazioni trasfusionali, sospendendo nel frattempo ogni ulteriore trasfusione sino a completamento dell'indagine stessa

---

10.11.5. Lesione acuta polmonare



☞ Una lesione acuta polmonare legata alla trasfusione (LAPT) rappresenta una complicanza insolita

- è causata da anticorpi anti-leucociti nel plasma del donatore che agglutinano e degranulano i leucociti del ricevente nel polmone
- si sviluppano sintomi respiratori acuti e un RX del torace presenta un caratteristico aspetto di edema polmonare non cardiogeno

Una terapia di supporto generale porta, di solito, alla ripresa senza sequele permanenti

10.11.6. Malattia del trapianto verso l'ospite (GVHD)



☞ La malattia del trapianto verso l'ospite (g*raft versus host disease*, GVHD) è causata di solito dall'innesto di linfociti immuno-competenti provenienti da un midollo osseo trapiantato in un paziente immuno-depresso

Tuttavia, anche un piccolo numero di linfociti vitali presenti in componenti da trasfondere può replicarsi spontaneamente sino a raggiungere un numero tale da causare la GVHD nei pazienti immuno-depressi

La GVHD può verificarsi occasionalmente in pazienti immunocompetenti qualora essi hanno ricevuto sangue da un donatore omozigote per l'aplotipo HLA (di solito un parente stretto) per il quale il paziente è eterozigote

Una prevenzione efficace per questi pazienti a rischio consiste nell'irradiare tutte le componenti ematiche che si intendono trasfondere

- irradiando con dose opportuna si induce un blocco replicativo da danno al DNA nelle cellule capaci di replicazione (linfociti), senza uccidere le cellule terminali (eritrociti, granulociti, piastrine) incapaci di replicazione

l'irradiazione preventiva è necessaria quando

- il sangue da trasfondere si ottiene da un parente di primo grado
- si trasfondono componenti HLA-correlati, escluse le cellule staminali

10.11.7. Plasmaferesi

Definizione di plasmaferesi

La plasmaferesi è la rimozione di un componente plasmatico dal sangue

☞ La plasmaferesi terapeutica è eseguita utilizzando un separatore cellulare per estrarre il plasma del paziente, mentre i GR sono restituiti in un fluido che sostituisce il plasma (es.: albumina al 5% in soluzione fisiologica)

- componenti plasmatici indesiderati sono rimossi in questo processo
- la quota rimanente del plasma viene infusa nuovamente nel paziente

☞ La plasmaferesi terapeutica assomiglia alla dialisi, eccetto per il fatto che rimuove sostanze legate alle proteine, il che invece non avviene con la dialisi. Il cambio di un volume rimuove circa il 66% di tali componenti

Indicazioni per la plasmaferesi sono:

- il plasma del paziente contenente una sostanza patogenetica nota
- la plasmaferesi rimuove questa sostanza più rapidamente del tempo impiegato dall'organismo per produrla (in caso di sostanza endogena)

Es.:

- la plasmaferesi può essere usata come coadiuvante nella terapia immuno-soppressiva o citotossica nel trattamento iniziale di processi auto-immuni rapidamente progressivi

Un nuovo metodo di filtrazione plasmatico per la rimozione del complesso colesterolo-lipoproteine a bassa densità, tramite plasmaferesi è stato di recente approvato negli USA

☞ Rimuovendo rapidamente i componenti plasmatici indesiderati (es.: crio-globuline, anticorpi anti-membrana basale glomerulare), la plasmaferesi dà tempo ai farmaci di manifestare i loro effetti

La plasmaferesi terapeutica spesso è ripetuta

10.11.8. Citaferesi 

Definizione di citaferesi

La citaferesi è la rimozione di un componente cellulare dal sangue

Citaferesi terapeutica

☞ La citaferesi terapeutica è spesso usata per eliminare gli eritrociti malati consentendo una contemporanea sostituzione con eritrociti sani

- nei pazienti con anemia falciforme (durante la gravidanza, in caso di interventi chirurgici, in presenza di frequenti e gravi crisi falciformi). La citaferesi fa raggiungere livelli di HbS < 30% senza il rischio di un'aumentata viscosità dovuta a un aumentato HTC (ematocrito)
- in pazienti con trombocitosi grave. La citaferesi è efficace nella trombocitosi, poiché le piastrine non vengono ripristinate così velocemente come gli eritrociti. Uno o due trattamenti aferetici possono ridurre il numero delle piastrine a un livello di sicurezza
- in pazienti con leucocitosi (cito-riduzione) nella leucemia acuta e cronica. La leucoaferesi terapeutica può rimuovere con alcune procedure chilogrammi di sovranatante (*buffy coat*) e spesso riduce la leucostasi e la splenomegalia. Tuttavia, la riduzione della conta dei globuli bianchi in sé stessa può essere relativamente irrilevante e solo temporanea

Citaferesi non terapeutica

☞ Altri usi dei separatori cellulari includono:

- la raccolta di cellule staminali periferiche per trapianto di midollo autologo o ricostituzione di midollo osseo allogenico (alternativa al trapianto di midollo osseo)
- la raccolta di linfociti per utilizzo in terapia anti-neoplastica (immunoterapia adottiva)

Complicanze della aferesi (plasmaferesi e citaferesi)

☞ Le complicanze della plasmaferesi e della citaferesi sono molto simili

Può crearsi una falsa impressione di sicurezza perché l'aferesi è ben tollerata dai donatori sani

Sebbene relativamente sicure, queste procedure presentano molti rischi di lieve entità e alcuni più seri:

- la procedura non può essere effettuata senza un eccellente accesso vascolare, di solito doppio (entrata e uscita), che richiede il posizionamento di un catetere endovenoso, di uno *shunt* o di una fistola artificiale
- il citrato usato come anticoagulante può causare manifestazioni di diminuzione del calcio sierico ionizzato.
- la sostituzione del plasma con una soluzione non colloidale (es.: soluzione fisiologica) produce inevitabilmente modificazioni dell'equilibrio idrico-salino
- la re-infusione di soluzioni colloidali, che sono preferite al PFC (plasma fresco congelato) a motivo della minore incidenza di reazioni e di malattie trasmesse tramite trasfusione, possono ridurre le immunoglobuline e i fattori della coagulazione sino a livelli eccessivamente bassi

La maggior parte delle complicanze può essere trattata con stretta osservazione del paziente e delle procedure, ma si sono verificate ugualmente alcune gravi reazioni, così come alcuni decessi

10.12. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2011) Lezioni di Patologia generale, I edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617006 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3067/

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012) Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Calorini., L. (2007) Insufficienza del sistema eritrocitario. In: Spector, T.D., Axford, J.S. (trad. it. Calorini, L., Tombaccini, D.) Introduzione alla patologia generale. II ed. Casa editrice Ambrosiana, Milano. Pp 248-268

Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T. (1999) Robbins pathologic basis of disease. VI ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia

Dzieczkowski , J.S., Anderson, K.C. (2008) Transfusion biology and therapy. In: Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Fantus, B. (1938) The therapy of the Cook county hospital. J. Am. Med. Ass. 111, 317-321

Longo, D.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XVII ed. Mc Graw Hill, New York. Pp. 707-713

Lakhani, S.R., Dilly, S.A., Finlayson, C.J., Dogan, A. (2003) Basic pathology. An introduction to the mechanisms of disease. III ed. Arnold, London

Rubin, R., Farber, J.L. (1994) Pathology. II ed. Lippincott, Philadelphia

Tombaccini, D. (2007) Immunoematologia: i gruppi sanguigni e le reazioni trasfusionali. In: Spector, T.D., Axford, J.S. (trad. it. Calorini, L., Tombaccini, D.) Introduzione alla patologia generale. II ed. Casa editrice Ambrosiana, Milano. Pp 269-285

Siti web

avis.it	*visitato il 08/07/2011*	*accessibile il 31/01/2014*
barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014	*visitato il 31/01/2014*	*accessibile il 31/01/2014*
dondusang.net	*visitato il 08/07/2011*	*accessibile il 31/01/2014*
telesanterno.com/16-marzo-1937-un-chirurgo-americano-inventa-una-"banca"-per-salvare-vite-umane-0316	*visitato il 08/07/2011*	*accessibile il 31/01/2014*
pasteurbarnardeco.wordpress.com	*visitato il 08/07/2011*	*accessibile il 31/01/2014*
wikipedia.org_blood_transfusion	*visitato il 07/11/2011*	*accessibile il 31/01/2014*
wikipedia.org_Coombs_test	*visitato il 17/09/2012*	*accessibile il 31/01/2014*







11. Il laboratorio nelle malattie respiratorie

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

(vedi singoli sotto-capitoli)

11. Il laboratorio nelle malattie respiratorie.....1
11.1. Anatomia funzionale del polmone.....3
11.1.1. Funzione.....4
11.1.2. Principali malattie respiratorie.....5
11.1.3. Alterazioni degli scambi respiratori.....6
11.2. Emogasanalisi - EGA.....7
11.2.1. Emogasanalisi arteriosa.....7
11.2.2. EGA: valori di riferimento.....8
11.3. pH ematico.....9
11.3.1. Acidosi-alcalosi versus acidemia-alcalemia.....9
11.3.2. Classificazione.....10
11.3.3. Risposte compensatorie.....11
11.3.4. Bilancio degli ioni idrogeno.....12
11.4. Analisi di fluidi respiratori.....19
11.4.1. Analisi del versamento pleurico.....19
11.4.2. Analisi del lavaggio bronco-alveolare.....19
11.5. Sindrome da distress respiratorio neonatale.....20
11.5.1. Diagnosi prenatale.....20
11.6. Principali fonti utilizzate.....21





Per una sintesi della fisiopatologia respiratoria vedi Barbieri (2012)

11.1. Anatomia funzionale del polmone

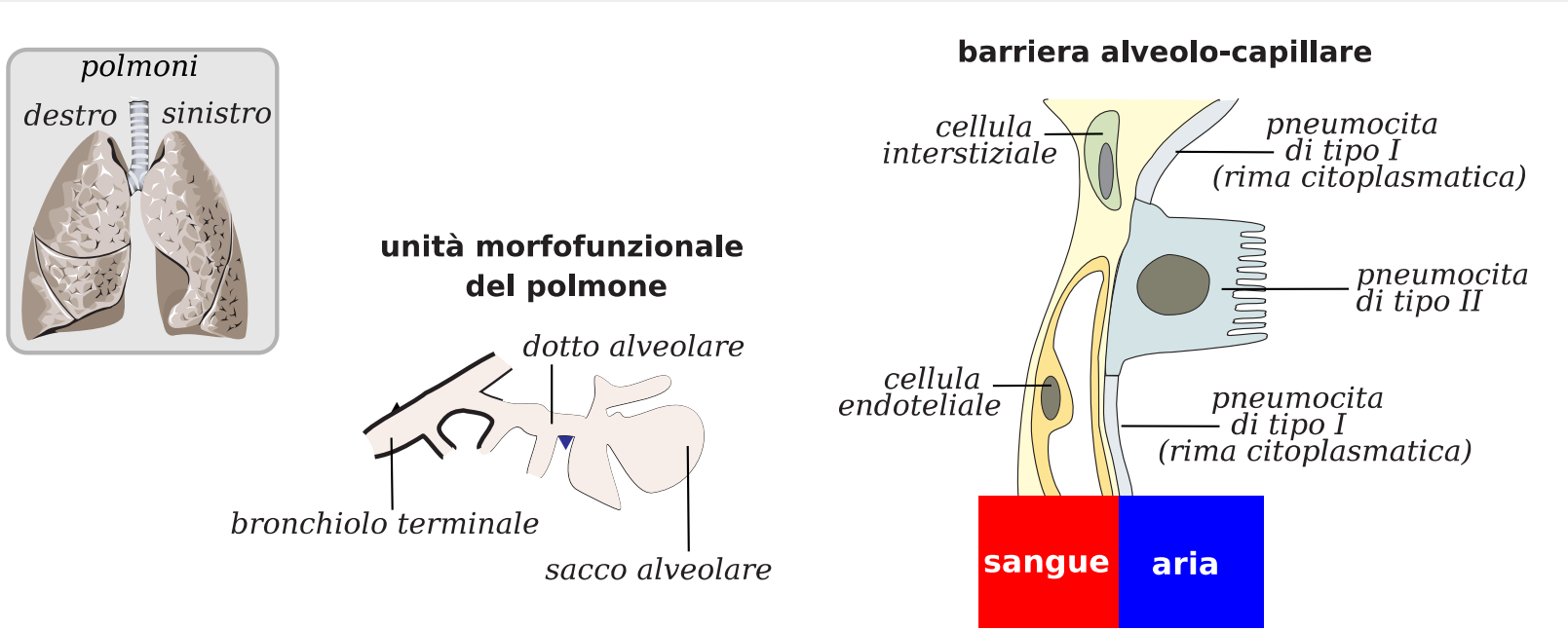


Figura 11.1. Anatomia morfo-funzionale del polmone. Da Barbieri (2012)

- *La circolazione polmonare è caratterizzata da una doppia irrorazione: dall'arteria polmonare (sangue venoso) con ritorno nelle vene polmonari-atrio sn. (piccolo circolo) e dalle arterie bronchiali, (sangue arterioso dall'aorta) con ritorno nella vena cava superiore (grande circolo)*
- *A causa delle continue depressioni e compressioni dovute agli atti respiratori, grandi quantità di liquidi escono continuamente dal letto vascolare polmonare e si riversano attraverso l'interstizio negli alveoli. Da qui un efficiente sistema di drenaggio rimuove il liquido non utilizzato per umidificare l'aria in ingresso, liquido contenente tutto ciò che ha dilavato dagli alveoli (polveri fini, batteri, virus, etc), fagocitato o no dai macrofagi alveolari, e lo porta attraverso l'interstizio verso i linfatici*
- *I linfonodi loco-regionali polmonari (bronchiali, ilari) ricevono quindi costantemente tutti gli antigeni che abbiano raggiunto gli alveoli e sono in grado di montare, quando il caso, una opportuna risposta immunitaria*

11.1.1. Funzione

☞ Funzione respiratoria

- trasportare l'ossigeno atmosferico al sangue ed espellere l'anidride carbonica dal sangue all'atmosfera
- questo scambio di gas si realizza in un compartimento specializzato, gli alveoli
- gli alveoli sono piccole sacche a contatto con il sangue capillare; qui l'ossigeno viene diffuso nel sangue, si lega all'emoglobina per essere trasportato sino al cuore attraverso le vene polmonari e quindi ai tessuti
- il sangue povero di ossigeno refluo dai tessuti arriva attraverso l'arteria polmonare fino ai polmoni per attivare il processo di ossigenazione

☞ Funzione ormonale

- sito principale di azione dell'enzima interstiziale ACE (*angiotensin converting enzyme*, enzima di conversione dell'angiotensina) che proteoliticamente trasforma (tra gli altri substrati) l'angiotensina I nella potente angiotensina II

☞ Funzione immunitaria

- sito di ingresso di molteplici antigeni ambientali diffusi per via aerea
- i linfonodi loco-regionali polmonari (bronchiali, ilari) ricevono costantemente tutti gli antigeni che abbiano raggiunto gli alveoli
- gli antigeni entrati per via aerea vengono affrontati dal sistema immunitario locale con risposte sia locali che sistemiche

11.1.2. Principali malattie respiratorie

- *Malattie degli spazi respiratori*
  - asma
  - bronchite
  - enfisema
  - edema polmonare acuto
- *Malattie del compartimento vascolare*
  - embolia
  - ipertensione polmonare
- *Malattie dell'interstizio*
  - sarcoidosi
  - pneumoconiosi
  - pneumopatie interstiziali
- *Malattie infettive*
- *Neoplasie*

11.1.3. Alterazioni degli scambi respiratori

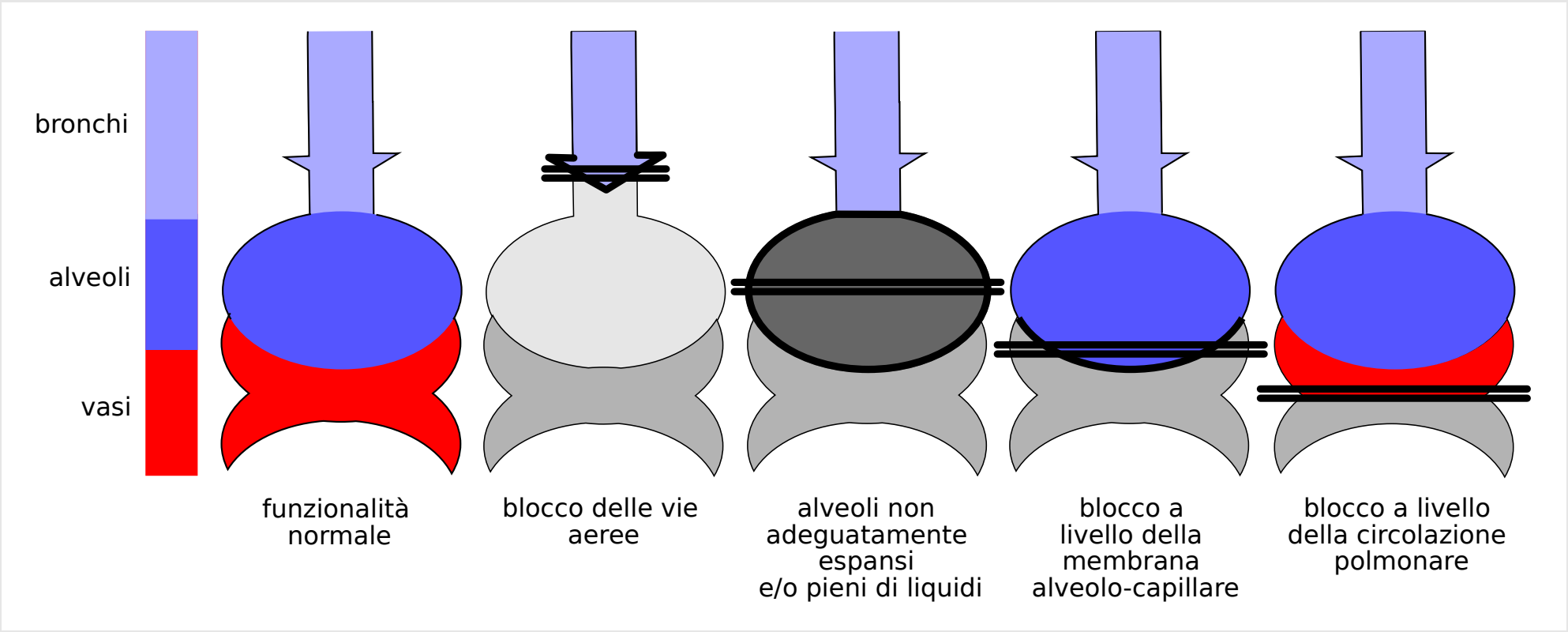


Figura 11.2. Meccanismo di alterazione degli scambi respiratori

11.2. Emogasanalisi - EGA



☞ Si tratta dell'analisi, effettuata attraverso un particolare apparecchio di laboratorio (emogas-analizzatore), di un campione di sangue arterioso o venoso allo scopo di determinare nel paziente

- alcuni parametri respiratori
- l'equilibrio acido-base

☞ È un esame fondamentale per valutare l'efficienza del sistema respiratorio

Il campione di sangue può essere prelevato

- al lobo dell'orecchio o al dito (emogasanalisi capillare)
- da un'arteria periferica del braccio o a livello femorale (emogasanalisi arteriosa)

11.2.1. Emogasanalisi arteriosa

☞
- Permette il riconoscimento della riduzione di ossigeno o dell'aumento di anidride carbonica che si verifica nell'insufficienza respiratoria
- Il prelievo arterioso è più doloroso di un prelievo venoso, ma fornisce informazioni indispensabili in caso di patologia respiratoria grave

11.2.2. EGA: VALORI DI RIFERIMENTO

Tabella 11.1. EGA: valori di riferimento

analita	valori normali	interpretazione
P_aO_2 (pressione parziale dell'ossigeno arterioso)	11-13 kPa 75-100 mmHg	P_aO_2 bassa indica che il paziente non sta ossigenando correttamente ed è ipossiemico (n.b.: un paziente può essere ipossiemico con una P_aO_2 non ridotta) P_aO_2 < 60 mm Hg: indicazione per ossigeno-terapia P_aO_2 < 26 mm Hg: paziente a rischio di morte: ossigenazione immediata
SpO_2 (saturazione di ossigeno)	> 95%	La percentuale di emoglobina legata all'ossigeno, in associazione con la concentrazione di emoglobina indica la quantità di ossigeno trasportato
P_aCO_2 (pressione parziale dell'anidride carbonica arteriosa)	4.7-6.0 kPa 35-45 mmHg	P_aCO_2 elevata indica ipo-ventilazione (raramente disturbo metabolico): acidosi respiratoria (o ipercapnia metabolica) P_aCO_2 ridotta indica iper-ventilazione: alcalosi respiratoria o ipo-capnia
pH $[H^+]$	7.38-7.44 35–45 nmol/L	pH < 7.38; $[H^+]$ >45 nmol/L: paziente acidemico pH > 7.44; $[H^+]$ < 35 nmol/L: paziente alcalemico
HCO_3^- (bicarbonato)	22–26 mEq/L	$[HCO_3^-]$ variata indica un problema metabolico $[HCO_3^-]$ ridotta indica acidosi metabolica $[HCO_3^-]$ elevata indica alcalosi metabolica
BE (*base excess*) (basi in eccesso)	−2 +2 mmol/L	valore calcolato, utile nella diagnosi differenziale
Hb (emoglobina)		concentrazione di emoglobina, in associazione con la percentuale di emoglobina legata all'ossigeno indica la quantità di ossigeno trasportato
altri elettroliti		contribuiscono a definire il quadro idro-elettrolitico

11.3. pH ematico

Per una sintesi sulla fisiologia e sulla fisiopatologia dell'equilibrio acido base vedi Barbieri (2014) amsacta.unibo.it/3944 (fisiologia dell'equilibrio acido-base) e amsacta.unibo.it/3944 (fisiologia dell'equilibrio acido-base)

Definizione di acidosi

L'acidosi è un disturbo che tende ad aggiungere acidi o a rimuovere basi dai liquidi dell'organismo

Definizione di alcalosi

L'alcalosi un disturbo che tende a rimuovere acidi o aggiungere basi dai liquidi dell'organismo

11.3.1. Acidosi-alcalosi *versus* acidemia-alcalemia

☞ Dato che processi compensatori (sistemi tampone, etc.) possono minimizzare o prevenire una variazione della concentrazione di ioni idrogeno del plasma in presenza di una variazione importante di acidi o basi, alcuni autori preferiscono usare i termini acidemia e alcalemia per indicare quelle situazioni in cui il pH plasmatico è alterato in modo apprezzabile

☞ I valori normali del pH ematico sono compresi tra 7.38 e 7.44

- acidemia: pH < 7.38
- alcalemia: pH > 7.44

Acidosi ed alcalosi possono entrambe essere di tipo metabolico o di tipo respiratorio a seconda del sistema di regolazione che è coinvolto maggiormente nella generazione dello squilibrio

11.3.2. Classificazione

☞ La classificazione delle alterazioni dell'equilibrio acido-base si basa sulla misurazione delle variazioni a carico del sistema bicarbonato-acido carbonico, il sistema tampone più importante sia perché quantitativamente il più significativo, sia perché ha una componente volatile eliminabile in grandi quantità per far fronte alla produzione di acidi da parte del nostro metabolismo (20,000 meq al giorno)

Poiché i sistemi tampone intra- ed extra-cellulari sono funzionalmente collegati, la misurazione del sistema del bicarbonato plasmatico fornisce utili informazioni su tutti i sistemi tampone dell'organismo

La relazione tra i vari elementi del sistema dei bicarbonati viene descritta dall'equazione:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$$

☞ Le alterazioni respiratorie sono quelle in cui la primitiva alterazione è a carico della CO_2

Le alterazioni metaboliche dell'equilibrio acido-base sono quelle in cui la primitiva alterazione riguarda la concentrazione del bicarbonato

- *alterazioni metaboliche sono quelle in cui l'alterazione primitiva è nei parametri a dx. nella reazione*
- *alterazioni respiratorie sono quella in cui l'alterazione primitiva è nella CO_2 (parametro a sn.)*

☞
- acidosi metabolica
- alcalosi metabolica
- acidosi respiratoria
- alcalosi respiratoria
- disturbi misti

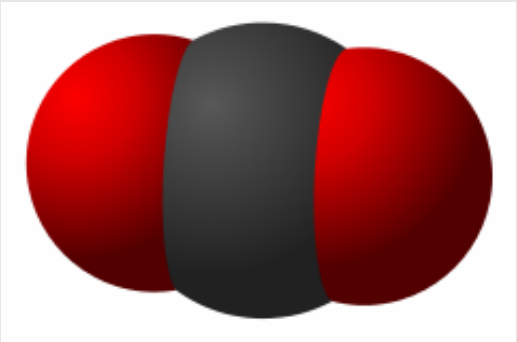


Figura 11.3. Anidride carbonica o biossido di carbonio: CO_2. Da Barbieri (2012)

11.3.3. Risposte compensatorie

☞ Uno dei maggiori problemi nella valutazione delle alterazioni dell'equilibrio acido-base deriva dalla contestuale presenza delle risposte compensatorie

- polmonari
- renali

Il rene ed il polmone sono deputati alla regolazione dell'equilibrio acido-base e ciascuno può compensare eventuali

- *insufficienze polmonari*
- *insufficienze renali*
- *squilibri metabolici*

con aumentata o diminuita produzione di acidi o basi

☞ Il tratto digerente rappresenta il terzo eliminatore di acidi o basi, ma solamente in caso di malfunzionamento:

- *le grandi quantità di acidi (stomaco) e di basi (pancreas) che vengono secreti nel lume ogni giorno vengono in condizioni normali completamente riassorbite*

L'eliminazione intestinale di acidi o basi va vista quindi come una perdita patologica non regolata

11.3.4. Bilancio degli ioni idrogeno

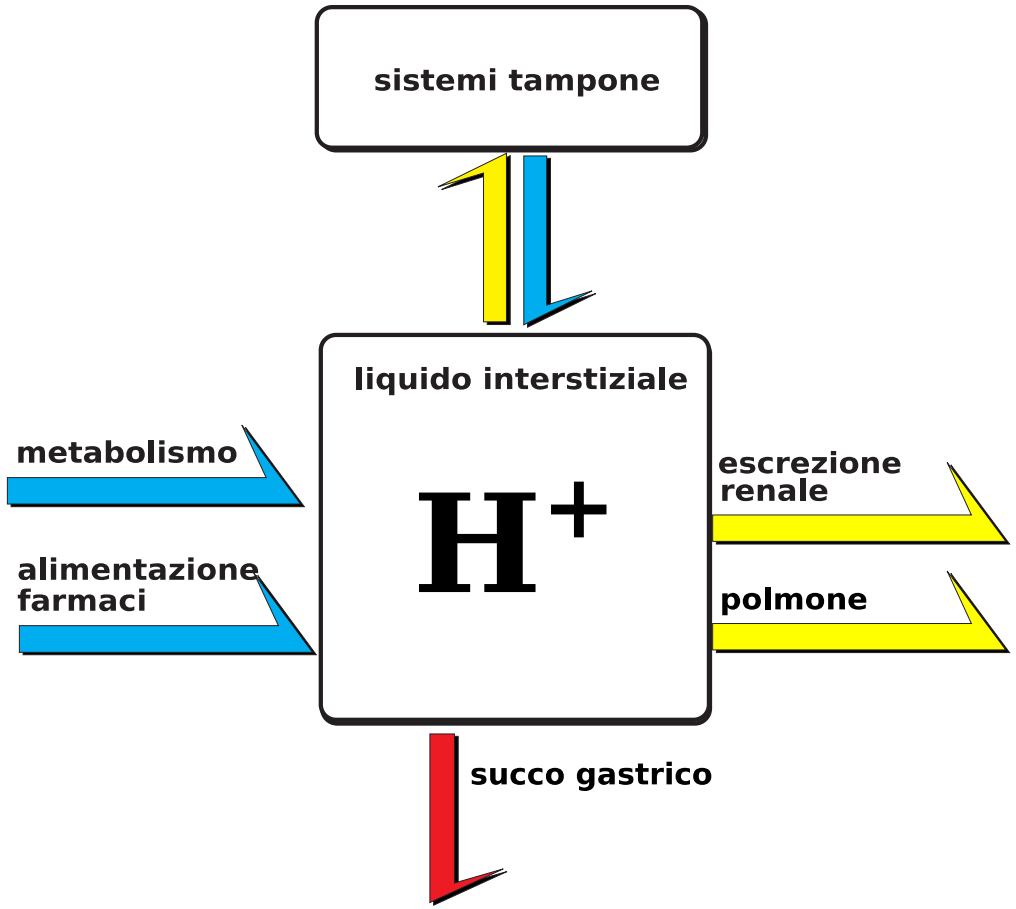


Figura 11.4. Bilancio dell'idrogeno. Da Barbieri (2012)

- Sebbene la concentrazione di ioni idrogeno liberi nei liquidi corporei sia bassa, i protoni sono così reattivi che anche minime variazioni di concentrazione influenzano reazioni enzimatiche e processi fisiologici
- Una difesa immediata nei confronti di cambiamenti del pH è rappresentata dai sistemi tampone che possono accettare o donare protoni istantaneamente in risposta a cambiamenti dell'acidità dei liquidi corporei
- La regolazione del pH dipende in ultima istanza dai polmoni e dai reni

Acidosi respiratoria

☞ Alterazione dell'equilibrio acido base caratterizzato da un primitivo aumento della P_aCO_2, eventuale riduzione del pH arterioso (acidosi respiratoria con acidemia), e da secondario aumento dei bicarbonati (compenso renale)

Cause diverse: tra le malattie respiratorie ricordiamo le malattie polmonari che determinano grave compromissione degli scambi gassosi (con EGA arteriosa: $P_aCO_2 > 44$ mmHg)

- BPCO (broncopatia cronica ostruttiva) grave
- edema polmonare acuto

Acidosi metabolica

☞
- scompensata (chetoacidosi)
- ipossia tissutale (acido lattico)
- intossicazione da metanolo (acido formico)
- diarrea
- fistole, drenaggi intestinali

Gap anionico: gli anioni non misurati

Gli anioni non misurati (gap anionico) vengono calcolati sottraendo la somma delle concentrazioni di bicarbonato e di cloruro dalla concentrazione del sodio e del potassio; il valore normale è di 8-16 mmol/L

([Na^+] +[K^+]) – ([Cl^-] + [$HCO3^-$]) = *gap* anionico

Le proteine plasmatiche con cariche elettriche negative, soprattutto l'albumina, contribuiscono per la maggior parte al *gap* anionico

In condizioni normali gli anioni fosfato, solfato e gli acidi organici contribuiscono in grado minore agli anioni non misurati

Quando l'acidosi metabolica è dovuta ad aumentata produzione acida o a insufficienza renale, il *gap* anionico è di solito aumentato

Nell'acidosi da aumentata produzione di acidi, l'aumentato *gap* anionico è dovuto all'accumulo nel plasma delle forme anioniche dei vari acidi (acido acetoacetico o acido lattico) che vengono prodotti più velocemente di quanto non possano essere metabolizzati o escreti

Nell'insufficienza renale, il *gap* anionico aumenta poiché gli anioni fosfato, solfato e gli acidi organici non sono escreti efficacemente

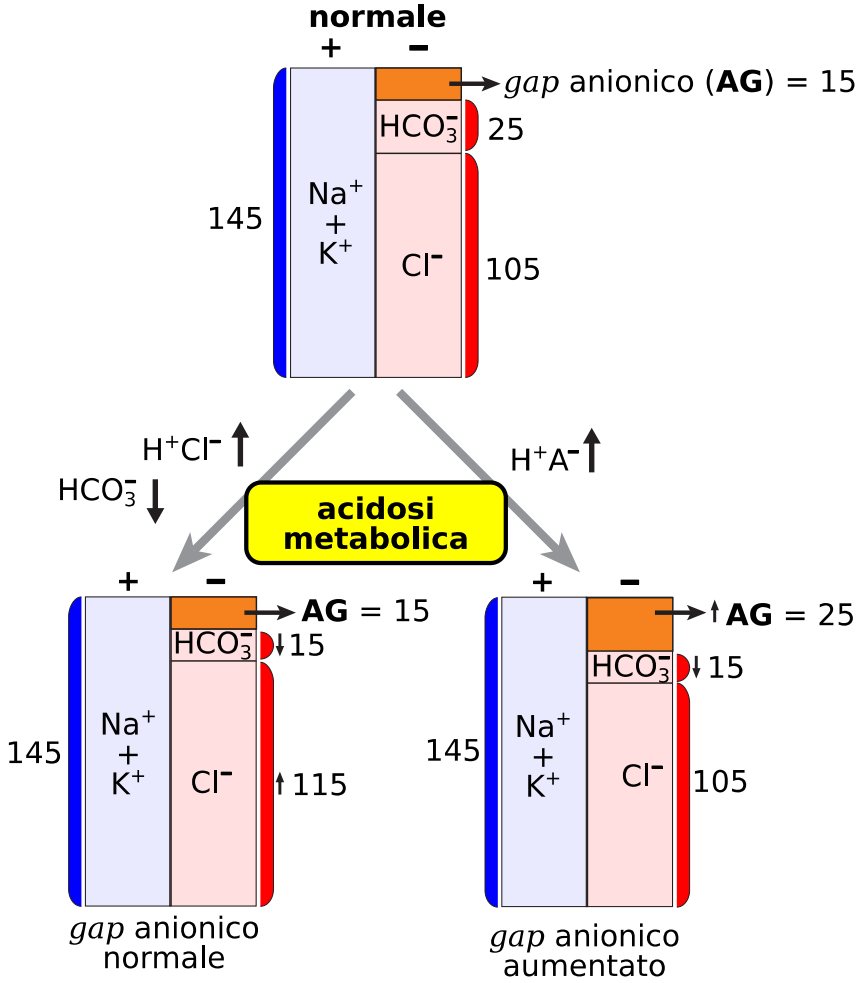


Figura 11.5. Gap *anionico. Colonne grigie a sn. i cationi, colonne rosa a dx. gli anioni,* gap *anionico in arancione. I valori indicati si intendono in mmol/L. Da Barbieri (2012)*

Classificazione delle acidosi metaboliche

Tabella 11.2. Acidosi metaboliche: classificazione in base al gap *anionico*

aumentato *gap* anionico	
aumentata produzione di acidi	
chetoacidosi	chetoacidosi diabetica chetoacidosi alcolica chetoacidosi dovuta al digiuno
acidosi lattica secondaria a insufficienza circolatoria o respiratoria	associata a disturbi complessi farmaci difetti enzimatici agenti tossici: (salicilati, glicole etilenico, metanolo)
insufficienza renale	
normale *gap* anionico (iper-cloremico)	
disfunzione renale tubulare	acidosi tubulare renale ipo-aldosteronismo diuretici "risparmiatori di potassio"
perdita di alcali	diarrea inibitori dell'anidrasi carbonica produzione di HCl (cloruro di ammonio, amminoacidi cationici)

Alcalosi respiratoria

☞ Alterazione dell'equilibrio acido-base caratterizzata da

- una primitiva riduzione della P_aCO_2 nei fluidi corporei, eventuale aumento del pH (alcalosi respiratoria con alcalemia)
- riduzione secondaria dei bicarbonati (compenso renale)

☞ L'iper-ventilazione conduce a ipo-capnia

Cause di iper-ventilazione:

- sepsi
- anemia grave
- ipossia
- pneumopatie
- compenso respiratorio dell'acidosi metabolica
- disturbi neurologici (psicosi ansiogene)
- intossicazione da salicilati
- insufficienza epatica

Alcalosi metabolica: patogenesi

☞ L'alcalosi metabolica è frequente sopratutto come effetto collaterale di interventi medici

Di seguito una classificazione essenziale dell'alcalosi metabolica non complicata

associata a deplezione di volume (cloro)	vomito o drenaggio gastrico terapia diuretica
alcalosi post-ipercapnica	
associata a iper-corticosurrenalismo	sindrome di Cushing iper-aldosteronismo primitivo
grave deplezione di potassio	
introduzione eccessiva di alcali	acuta sindrome "*milk-alkali*" (assunzione eccessiva di presidi anti-acidi associati a latte in persone sofferenti di gastriti croniche iper-acidosiche)

Patogenesi dell'alcalosi metabolica nel vomito: alcalosi metabolica da vomito protratto

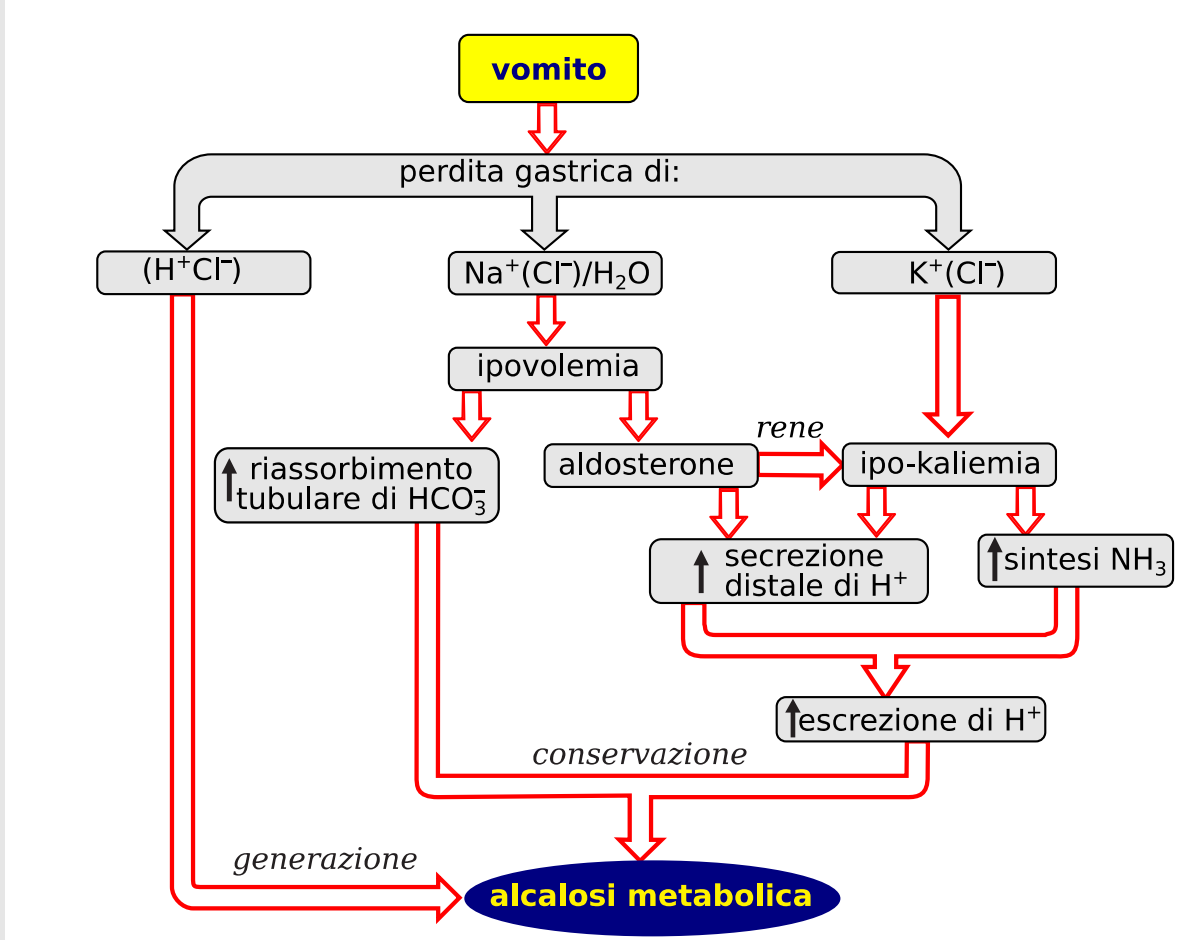
Figura 11.6. Patogenesi dell'alcalosi respiratoria da vomito. Da Barbieri (2012)

Nel vomito protratto si hanno perdite di tre tipi:

- volume
- idrogenioni
- potassio ioni

Ciascuno di questi eventi ha una importanza nella patogenesi dell'alcalosi metabolica conseguente a vomito protratto

Speso una semplice re-idratazione può essere sufficiente a dare avvio ad un efficace compenso



11.4. Analisi di fluidi respiratori

11.4.1. Analisi del versamento pleurico

☞ Prelievo mediante toracentesi Il fluido può essere costituito da:

- trasudato (plasma ultrafiltrato a bassa concentrazione proteica, di composizione simile al liquido interstiziale normale)
- essudato (elevata concentrazione proteica; sostanzialmente plasma filtrato attraverso capillari danneggiati)

Cause versamenti pleurici trasudatizi:

- scompenso cardiaco congestizio

Cause versamenti pleurici essudatizi:

- embolia e infarto polmonare
- infezioni polmonari
- traumi
- neoplasie

11.4.2. Analisi del lavaggio bronco-alveolare

☞ Si esegue in caso di:

- infezioni da ventilazione assistita
- neoplasie
- malattie interstiziali
- monitoraggio post-trapianto

11.5. Sindrome da distress *respiratorio neonatale*



☞ La principale patologia respiratoria del neonato pre-termine è la sindrome del *distress* respiratorio, o malattia delle membrane ialine

- è associata a incompleto sviluppo polmonare
- è causata da deficit del surfattante, che determina insufficienza respiratoria progressiva fino all'esaurimento degli scambi di ossigeno e anidride carbonica

11.5.1. Diagnosi prenatale

☞ Determinazione nel liquido amniotico dopo la 30ª settimana di gestazione del surfattante

il rapporto surfattante / albumina aumenta progressivamente durante la gravidanza in relazione alla progressiva maturazione del polmone

- > 55 mg di surfattante / g di albumina = indice di maturità polmonare

in alternativa

- rapporto lecitina/sfingomielina > 2

11.6. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012), Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.cib.unibo.it/3437/

Davenport, H. W. (1963) The abc of acid/base chemistry. IV ed. Chicago University, Chicago

DuBose, T.D.Jr. (2008) Acidosis and alkalosis. In: Fauci, A.S., Braunwald, E., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XVII ed. Mc Graw Hill, New York. Pp. 287-296

Laffey, J.G., Kavanagh, B.P. (2002) Hypocapnia. N. Engl. J. Med. 347, 43-53

Levinsky, N.J. (1991) Acidosis and alkalosis. In: Wilson, J.D., Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Petersdorf, R.G., Martin, J.B., Fauci, A.S., Root, R.K. (eds.) Harrison's principles of internal medicine. XII ed. McGraw Hill, New York. Pp. 289-295

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2012	*visitato il 26/04/2013*	*accessibile il 31/01/2014*
barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014	*visitato il 31/01/2014*	*accessibile il 31/01/2014*









12. Analisi del liquido cefalo-rachidiano

I edizione ebook

Luigi Barbieri, Gianandrea Pasquinelli

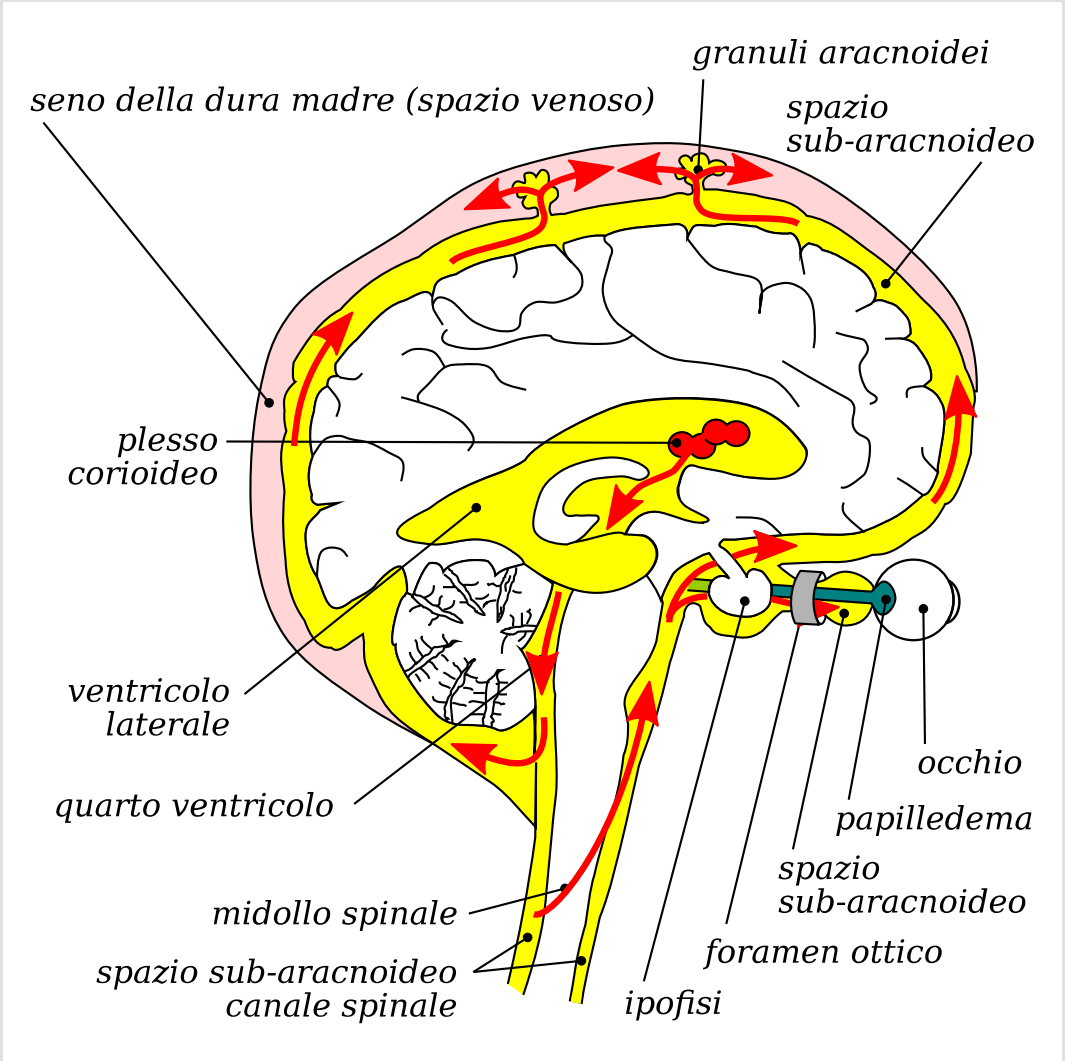
 (vedi singoli sotto-capitoli)

12. Analisi del liquido cefalo-rachidiano.....1
12.1. Il liquido cerebro-spinale.....3
12.1.1. Fisiologia del CSF.....4
12.1.2. La puntura lombare (rachicentesi) ed i rischi connessi alla rimozione di CSF.....5
12.1.3. Procedura standard di raccolta del liquor.....6
12.1.4. Anormalità nella quantità, pressione e composizione del CSF: cause principali.....7
12.2. Valutazione del liquor.....8
12.2.1. Valutazione macroscopica.....8
12.2.2. Esame microscopico.....10
12.2.3. Analisi biochimica di componenti del fluido cerebro-spinale valutati di routine.....12
12.2.4. Valori tipici di componenti del fluido cefalo-rachidiano nelle meningiti.....14
12.3. Principali fonti utilizzate.....15





12.1. Il liquido cerebro-spinale



Definizione di liquido cerebro-spinale

Il liquido cerebro-spinale (o cefalo rachidiano; CSF da cerebral-spinal fluid*) è un liquido extra-cellulare che si trova nei ventricoli, negli acquedotti e negli spazi sub-aracnoidei del sistema nervoso centrale*

Il liquido cerebro-spinale (CSF):

- viene prodotto dai plessi corioidei nei quattro ventricoli cerebrali
- entra nello spazio sub-aracnoideo
- fluisce intorno al cervello ed al midollo spinale
- viene assorbito nel sistema venoso attraverso strutture unidirezionali: i granuli aracnoidei o villi aracnoidei

Il CSF si trova anche intorno al nervo ottico ed in caso di aumentata pressione può dare origine a papilledema, segno osservabile dall'esterno

Figura 12.1. Circolazione del liquido cerebro-spinale. Liberamente tratto da ihrfoudation.org

12.1.1. Fisiologia del CSF

☞ Il liquido cefalo-rachidiano (o fluido cerebro spinale, *cerebral spinal fluid* CSF) rappresenta uno dei tre principali componenti dell'encefalo oltre ai vasi ed al cervello stesso

In condizioni normali esiste una relazione bilanciata tra i volumi e le pressioni tra CSF, vasi e massa cerebrale

Poiché il cranio nell'adulto è inestensibile un aumento di volume di uno dei componenti si riflette automaticamente nella compressione degli altri

- es.: se il cervello aumenta di volume, comprime contestualmente i vasi ed il sistema degli acquedotti intra-cerebrali, determinando una diminuzione della perfusione ematica ed un aumento della pressione del CSF (ipertensione endocranica)

☞ Il CSF ha svariate funzioni; tra queste:

- protezione meccanica del cervello all'interno della scatola cranica funzionando come un “cuscino”
- trasporto di nutrienti
- trasporto di prodotti del metabolismo cerebrale da eliminare altrove

---

☞ Poiché

- il CSF viene prodotto dai plessi corioidei che generano circa 400-500 mL/d di liquido
- il volume totale del CSF in ogni dato momento è di circa 90-150 mL nell'adulto

deriva che:

- il CSF viene ricambiato totalmente 3-4 volte al giorno
- la pressione viene mantenuta costante se il volume di CSF prodotto è pari al volume di CSF allontanato e corrisponde a 90-180 mm H_2O in condizioni di prelievo standard

---

12.1.2. La puntura lombare (rachicentesi) ed i rischi connessi alla rimozione di CSF

☞ Per l'analisi chimico-clinica e biologico-clinica del CSF è necessario anzitutto procurarsi un campione di esso

Il CSF è più complicato da ottenere di altri fluidi corporei e richiede procedure ben delineate

- per lo più si utilizza la puntura lombare (metodo più sicuro)

Altri metodi per la raccolta del CSF vengono usati solo raramente, per indicazioni particolari

- puntura della cisterna o di un ventricolo
- rimozione attraverso un presidio già inserito nel CSF (es.: *shunt* o drenaggio ventricolare)

☞ La puntura lombare benché venga ritenuta generalmente sicura comporta alcuni rischi. Tra questi:

- cefalea post puntura lombare: circa un terzo dei paziente sperimenta caratteristica cefalea dovuta a perdita di CSF nei tessuti circostanti; dura da alcune ore ad alcuni giorni, e può essere accompagnata da nausea, vomito e vertigini
- dolori del dorso: dolori o indolenzimenti alla parte bassa del dorso, il dolore può irradiare verso il basso e posteriormente agli arti inferiori
- emorragie: in presenza di difetti coagulativi o terapie anti-coagulanti
- ernia del tronco encefalico: in presenza di aumento della pressione intra-cranica dovuto alla presenza di masse intra-craniche
- perdita di CSF dal sito di prelievo dopo il termine

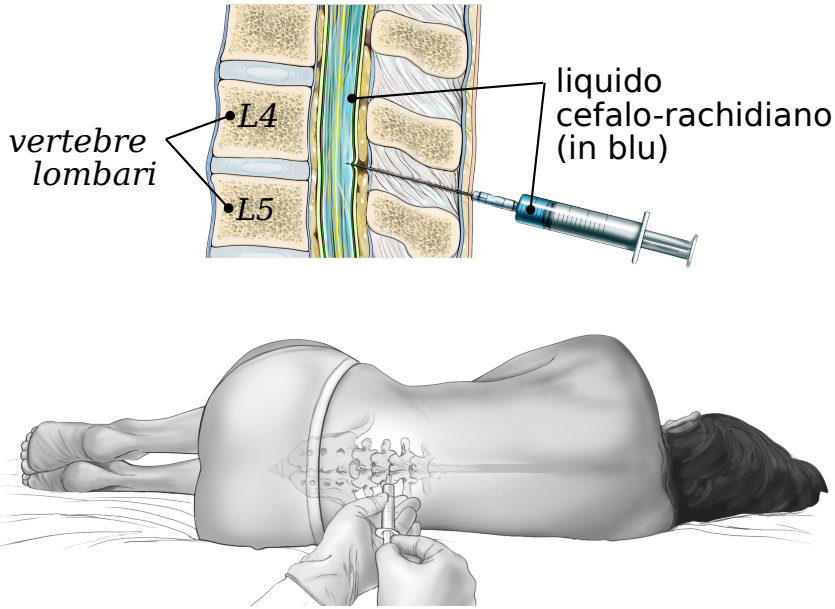


Figura 12.2. Puntura lombare. Liberamente tratto da una immagine public domain *di Winslow, T. (2007) da: uchospitals.edu*

della procedura

12.1.3. Procedura standard di raccolta del liquor

☞ Si tratta di una procedura medica

In sequenza:

- misurare la pressione
- raccolta per caduta spontanea in 3 provette di polipropilene sterile vuote (tappo rosso): non aspirare mai
- massimo prelievo 20 mL: raccomandato 2 mL per provetta
- inviare immediatamente ad analizzare

☞ Ruolo dell'infermiere

- informare il paziente che il dolore sordo e costante presente nella sede della rechicentesi può durare alcuni giorni
- prima della puntura lombare assicurarsi di aver effettuato il prelievo venoso di sangue per valutazioni sieriche contestuali
- dopo la puntura lombare, lasciare il paziente sdraiato senza cuscino per ridurre la cefalea post-rachicentesi
- controllare che dalla sede della puntura lombare non fuoriesca ne liquor (rachirraggia) ne sangue
- mantenere medicazione compressiva per 24 h
- controllare che il paziente non manifesti segni neurologici: cefalea significativa, vomito, formicolio alle gambe

12.1.4. Anormalità nella quantità, pressione e composizione del CSF: cause principali

☞ Molte sono le patologie encefaliche e cerebrali che danno alterazioni del CSF

Tra queste:

- neoplasie maligne
- encefaliti (es.: encefalite WNE, *west Nile encephalitis*; encefalite EEQ, *eastern equine encephalitis*)
- encefalopatia epatica
- infezione cerebrale
- flogosi cerebrale
- meningite ad eziologia tubercolare, da altri batteri, da virus, da miceti
- sindrome di Reye (rara sindrome multi-sistemica a genesi varia, esclusivamente infantile)

12.2. Valutazione del liquor

☞ Si effettuano:

- valutazione macroscopica visivamente
- valutazione microscopica
- valutazione biochimica

12.2.1. Valutazione macroscopica

☞ Si valuta:

- pressione del liquor all'apertura
- aspetto del liquor
- colore del liquor



Figura 12.3. Aspetto di liquor normale. Liberamente tratto da una immagine di Heilman, J. (2009) con licenza Creative Commons Attribution 3.0 Unported da: en.wikipedia.org

Pressione all'apertura

☞ Valore normale 90-180 mm H_2O in condizioni di prelievo standard (sino a 250 mm in pazienti obesi)	● >250 mm H_2O: il valore è diagnostico di ipertensione intra-cranica conseguenza di meningite, emorragia intra-cranica e tumori ● <90 mm H_2O: il valore è indicativo di disidratazione, collasso cardio-circolatorio e perdita di liquor

Aspetto e colore normale

☞ Aspetto limpido ad acqua di roccia, incolore

Aspetti e colorazioni patologici principali

☞ Torbido, bianco, associato ad aumento del numero delle cellule e delle proteine	Diagnosi: meningite batterica
☞ Ematico, di colore rosa-rosso	Diagnosi: emorragia subaracnoidea anche su base traumatica
☞ Xanto-cromico, di colore giallo	Diagnosi: presenza di bilirubina in eccesso (es.: si sviluppa 12 h dopo una emorragia sub-aracnoidea, con un picco a 2-4 d, e può persistere per 2-4 settimane)

12.2.2. Esame microscopico

☞ L'esame microscopico deve essere eseguito subito dopo la rachicentesi per evitare la lisi cellulare spontanea a temperatura ambiente

La lettura viene eseguita in opportune camere previa colorazione con il colorante May-Grünewald-Giemsa

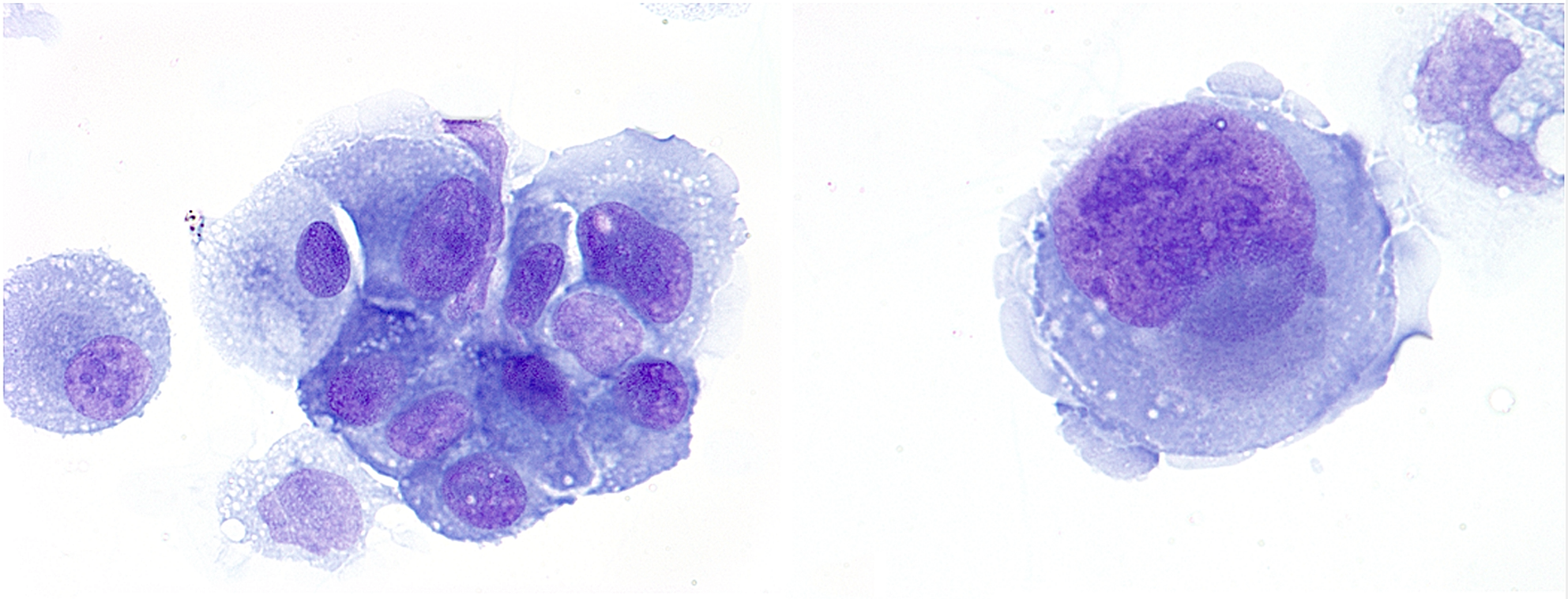


Figura 12.4. Citologia di CSF. A sn.: nidi di cellule tumorali anaplastiche con nuclei eccentrici ovali, cromatina grossolana, nucleoli prominenti; a dx: singole cellule giganti maligne. Liberamente tratto da una immagine con licenza creative commons 2.0 da archive.biomedcentral.com, originariamente da Bilic (2005)

Tabella 12.1. Cellule normali e patologiche repertabili nel liquor

	valori normali	valori patologici
eritrociti	assenti	La loro presenza è indicativa di emorragia cerebrale
leucociti	<5 cellule/mm^3	L'aumento dei leucociti è indice di una infezione
	62% linfociti 36% monociti	L'aumento selettivo dei linfociti è associato a meningite virale, tubercolare, da miceti e da parassiti; si osserva anche in malattie a base immunitaria (es.: sclerosi multipla, sindrome di Guillain-Barré)
	2% neutrofili	L'aumento dei neutrofili è associato a meningiti batteriche, amebiche, fasi iniziali di quelle virali, tubercolari, e micotiche, ascessi cerebrali, empiema sub-durale, emorragia sub-aracnoidea ed intra-cerebrale, attacchi epilettici convulsivi, materiale estraneo (es.: mezzo di contrasto, chemioterapici), infarto cerebrale, tumori metastatici
	rari eosinofili	L'aumento degli eosinofili è associato ad infestazioni parassitarie (es.: *Tenia solium*, *Schistosoma sp., Fasciola hepatica), infezioni micotiche (es.: Coccidioides immitis)*
cellule neoplasche	assenti	Reperto di cellule leucemiche e di linfoma (più frequente), cellule di tumori primitivi cerebrali o di metastasi da carcinoma (più raro)

12.2.3. Analisi biochimica di componenti del fluido cerebro-spinale valutati di *routine*

☞ I valori normali possono variare leggermente nei diversi laboratori

Anche gli analiti ed i *marker* biologici esaminati di routine, possono variare da laboratorio a laboratorio

☞ L'esame del liquor va sempre fatto in rapporto con l'esame del plasma: immediatamente prima della puntura lombare va sempre eseguito un prelievo di sangue venoso concorrente

Le proteine fisiologiche del liquor

☞ Le proteine fisiologiche del liquor derivano:

- (80%) dal plasma
- (20%) da sintesi cerebrale

☞ L'albumina (da sintesi epatica) raggiunge il liquor per filtrazione passiva per cui ha una concentrazione sempre inferiore a quella plasmatica concorrente:

- rapporto liquorale/plasmatico <6.5

Tabella 12.2. Valori normali e patologici di componenti del fluido cefalo-rachidiano

analita	valori normali	valori patologici
osmolalità	• 280-300 mosm/L	
glucoso	• 45-80 mg/dL • rapporto liquorale/plasmatico 0.6	• diminuzione del glucoso: meningite batterica, tubercolare, fungina, amebica • aumento del glucoso: diabete
proteine totali	• 0.15-0.45 g/L • indice dell'albumina (rapporto liquorale/plasmatico x10^3) valore normale <9 • indice delle IgG (rapporto liquorale/plasmatico x10^3) valore normale 3-8.7	• aumento dell'indice dell'albumina è indicativo di alterazione della barriera emato-encefalica • aumento dell'indice dell'albumina è dovuto ad una alterazione della barriera emato-encefalica o esprime una sintesi intra-tecale di IgG (es.: sclerosi multipla)
bande oligo-clonali	• 0 o 1 banda elettroforetica non presente in campione concorrente di siero del paziente	• presenti nel CSF e assenti nel siero nella sclerosi multipla (diagnostico)
proteine specifiche	• lattico deidrogenesi (40 u/L)	• presenza di β-amiloide e proteine τ (Alzheimer) • presenza della proteina 14-3-3 (malattie da prioni) • presenza della proteina mielinica basica (sclerosi m.) • lattico deidrogenasi (utile per differenziare un traumatismo da puntura iatrogena (normale) da una emorragia intra-cranica (elevata))
antigeni da patogeni anticorpi anti-patogeni, acidi nucleici virali o batterici comuni	• assenti	

12.2.4. Valori tipici di componenti del fluido cefalo-rachidiano nelle meningiti

Tabella 12.3. CSF nella meningite. Dati da: globalrph.com/cerebrospinal_fluid

analita od altro componente	meningite batteria	meningite micotica	meningite da tbc	meningite virale
numerosità cellulare	• elevata >500/µL leucociti con predominanza di neutrofili)	• variabile (10-1000 cel./µL predominanza di linfociti)	• variabile (10-1000 cel./µL predominanza di linfociti)	• <100 cel./µL • stadi precoci: neutrofili • poi: linfociti
batteri	• coltura positiva	• coltura negativa	• coltura positiva per AFB	• coltura negativa
funghi	• coltura negativa	• coltura positiva	•	• coltura negativa
glucoso	• normale-fortemente ridotto (<40 mg/dL)	• ridotto (<40 mg/dL)	• ridotto (<40 mg/dL)	• normale (>40 mg/dL)
proteine totali	• aumento marcato >250 mg/dL	• aumento moderato/marcato • 25-500 mg/dL	• aum. moderato/marcato • 50-500 mg/dL	• aum. moderato • <100 mg/dL
pressione	• elevata	• variabile	• variabile	• normale

12.3. Principali fonti utilizzate

Bilic, M., Welsh, C.T., Rumboldt, Z., Hoda, R.S. (2005) Disseminated primary diffuse leptomeningeal gliomatosis: a case report with liquid based and conventional smear cytology. CytoJournal 2, e16

Noback, C., Strominger, N.L., Demarest, R.J., Ruggiero, D.A. (2005) The human nervous system. Humana Press, New York

Siti web

archive.biomedcentral.com	visitato il 05/11/2013	accessibile il 31/01/2014
cytojournal.com	visitato il 05/11/2013	accessibile il 31/01/2014
en.wikipedia.org/wiki/File:4_vials_of_human_cerebrospinal_fluid	visitato il 30/10/2013	accessibile il 31/01/2014
globalrph.com/cerebrospinal_fluid.htm	visitato il 15/05/2013	accessibile il 31/01/2014
ihrfoundation.org/intracranial/hypertension/info/C16	visitato il 15/05/2013	accessibile il 31/01/2014
imagebank.hematology.org	visitato il 30/10/2013	accessibile il 31/01/2014
nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003369.htm	visitato il 31/05/2012	accessibile il 31/01/2014
uchospitals.edu	visitato il 15/05/2013	accessibile il 31/01/2014





13. I marcatori tumorali

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

(vedi singoli sotto-capitoli)

13. I marcatori tumorali....1
13.1. Marcatori tumorali....3
13.1.1. La storia....3
13.1.2. Classificazione....4
13.2. Marcatori prodotti dalle neoplasie....5
13.2.1. Prodotti onco-fetali....5
13.2.2. Enzimi....7
13.2.3. Ormoni e loro metaboliti....7
13.2.4. Proteine plasmatiche....9
13.2.5. Antigeni tumore-associati....10
13.3. Marcatori prodotti dall'ospite....11
13.3.1. Utilizzo dei marcatori tumorali in patologia umana....11
13.4. Sensibilità e specificità dei marcatori tumorali....12
13.5. Associazioni di marcatori con provata validità diagnostica....13
13.5.1. Esempi di impiego dei marcatori tumorali per lo screening in gruppi di pazienti selezionati....14
13.5.2. I marcatori tumorali nel management del paziente neoplastico....14
13.5.3. Quando debbono essere dosati i marcatori tumorali ?....15
13.6. Marcatori citogenetici....16
13.7. Principali fonti utilizzate....18





13.1. Marcatori tumorali 

Definizione di marcatori tumorali

I marcatori tumorali possono essere definiti come segnali biochimici presenti nei fluidi biologici di soggetti affetti da neoplasia maligna e/o in cellule o tessuti che sono in corso di trasformazione maligna o già trasformati

Nel caso specifico delle neoplasie, per segnale biochimico si intende un composto chimico, o una serie di essi, la cui presenza o quantità può essere posta in relazione con la presenza della neoplasia

13.1.1. La storia

☞ Nel 1847 Sir Bence Jones descrivendo una proteina urinaria in pazienti con mieloma identificò il primo marcatore tumorale

In realtà, lo studio dei marcatori tumorali è iniziato solo oltre un secolo più tardi con l'avvento delle tecniche immunometriche, capaci di rivelare nei liquidi biologici concentrazioni anche molto basse di analiti

I primi studi suscitarono grande interesse e fecero nascere grosse aspettative sulla possibilità di identificare marcatori tumore-specifici che consentissero la diagnosi precoce delle neoplasie

Purtroppo però i marcatori tumorali non hanno soddisfatto queste aspettative, in quanto si sono dimostrati indici diagnostici caratterizzati da

- bassa specificità
- bassa sensibilità

13.1.2. Classificazione

- *marcatori tumorali presenti nei fluidi biologici o umorali (buona accessibilità)*
  - marcatori prodotti dalle cellule neoplastiche
  - marcatori prodotti dall'ospite
- *marcatori tumorali espressi sulle cellule neoplastiche (scarsa accessibilità)*
  - marcatori nucleari
  - marcatori citoplasmatici
  - marcatori di superficie
- *marcatori tumorali localizzati localizzati nella matrice extra-cellulare (scarsa accessibilità)*
  - fattori di crescita
  - metallo-proteinasi

Marcatori tumorali umorali

- *marcatori prodotti dalla neoplasia*
  - prodotti onco-fetali
  - enzimi
  - ormoni o loro metaboliti
  - proteine plasmatiche
  - antigeni tumore-associati

- *marcatori prodotti dall'ospite*
  - fosfatasi alcalina
  - idrossiprolina urinaria

13.2. Marcatori prodotti dalle neoplasie

13.2.1. Prodotti onco-fetali

☞ I principali prodotti onco-fetali utilizzati in diagnostica umana sono:

- CEA (*carcino-embryonic antigen*, antigene carcino-embrionale)
- AFP (α1-fetoproteina)

CEA (*carcino-embryonic antigen*, antigene carcino-embrionale)

☞ Il CEA (antigene carcino-embrionale)

- è prodotto durante le prime 6 settimane di vita embrionale dalle cellule del tratto intestinale, dal fegato e dal pancreas
- è un complesso di diverse glicoproteine appartenenti alla super-famiglia delle immunoglobuline ed, in particolare, a quelle coinvolte nel processo di riconoscimento cellulare
- a livello embrionale tali proteine svolgono un ruolo fondamentale nella regolazione della crescita e del differenziamento cellulare

☞ La produzione del CEA è comunque continua (anche se in misura minima) durante tutta la vita, per cui bassi livelli di questa proteina possono essere riscontrati anche in soggetti sani

I livelli plasmatici di CEA possono aumentare soprattutto nel siero di pazienti con:

- carcinomi del colon
- carcinomi della mammella
- carcinomi del polmone
- carcinomi degli organi urogenitali

AFP (α1-fetoproteina)

☞ La AFP (α1-fetoproteina)

- è una α1-globulina
- viene sintetizzata nel sacco vitellino e, a partire dal 4° mese, dal fegato fetale
- dall'8° mese la sua concentrazione sierica decresce rapidamente, contestualmente alla aumentata produzione di albumina

☞ I valori continuano a diminuire dopo la nascita fino ad assestarsi intorno ai 20 ng/mL a partire dal primo anno di vita

L'AFP può aumentare soprattutto nel siero dei pazienti con:

- epato-carcinomi
- tumori germinali del testicolo e dell'ovaio
- carcinomi embrionali del testicolo
- teratomi e terato-carcinomi del testicolo e dell'ovaio

13.2.2. Enzimi

☞ I principali enzimi utilizzati in diagnostica oncologica umana sono:

- NSE (*neuron-specific enolase*, enolasi neurono-specifica): marcatore di neoplasie derivate da cellule nervose e neuro-endocrine
- PAP (*prostatic acid phosphatase*, fosfatasi acida prostatica): elevato in caso di tumori della prostata
- LDH (*lactic dehydrogenase*, lattico deidrogenasi): elevato nella leucemia linfoblastica acuta, nel sarcoma di Ewing e nel seminoma. Elevato anche in alcune patologie non-neoplastiche: anemie emolitiche

13.2.3. Ormoni e loro metaboliti

☞ I principali ormoni o loro metaboliti utilizzati in diagnostica oncologica umana sono:

- HCG (*human chorionic gonadotropin*, gonadotropina corionica)
- CT (calcitonina)
- VMA (*vanilmandelic acid*, acido vanilmandelico)
- OVA (*omovanilic acid*, acido omovanilico)
- 5-HIAA (*5-hydroxy-indolacetic acid*, acido 5-idrossi-indolacetico)

HCG (gonadotropina corionica)

☞ HCG (gonadotropina corionica): ormone prodotto durante la gravidanza dal tessuto sinciziotrofoblastico ed utilizzato come test di gravidanza

può aumentare nel siero di pazienti con

- corion-carcinoma
- tumori delle cellule germinali del testicolo e dell'ovaio

CT (calcitonina)

☞ CT (calcitonina): ormone prodotto dalle cellule C (para-follicolari) della tiroide; può aumentare nel siero di pazienti con

- carcinoma midollare della tiroide

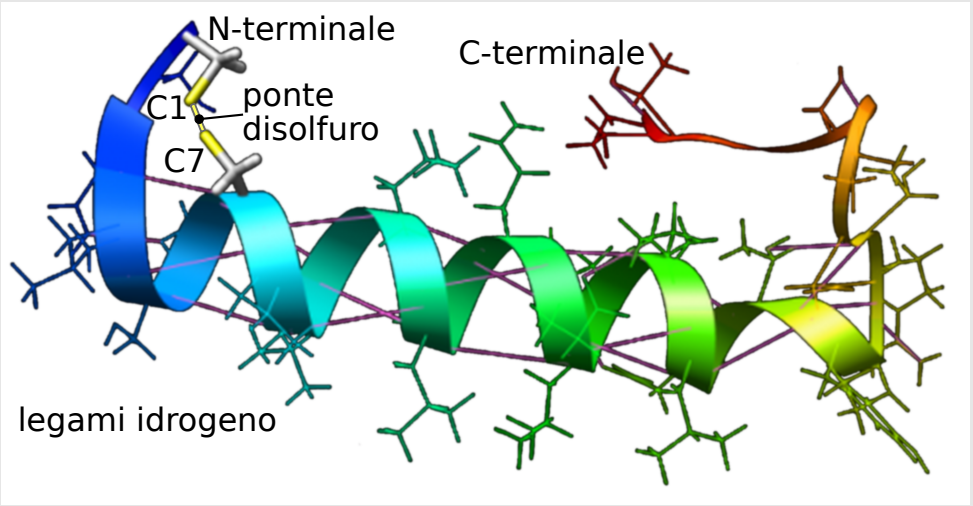


Figura 13.1. Calcitonina. Liberamente tratto da pdb 2GLH, Andreotti (2006)

VMA (acido vanilmandelico) e OVA (acido omovanilico)

☞ VMA (acido vanilmandelico) e OVA (acido omovanilico): sono i metaboliti urinari delle catecolamine, prodotte caratteristicamente dai

- tumori della midollare del surrene (feocromocitomi e neuroblastomi)

5-HIAA (acido 5-idrossi-indolacetico)

☞ 5-HIAA (acido 5-idrossi-indolacetico): metabolita urinario della serotonina, prodotta dai

- tumori carcinoidi

13.2.4. Proteine plasmatiche

Tabella 13.1. Marcatori tumorali: le proteine plasmatiche

proteina	possibile aumento in caso di:
ferritina	• linfomi • carcinomi del tratto gastroenterico • carcinomi della mammella • carcinomi del testicolo
β2 microglobulina	• mielomi
TG (tireoglobulina)	• carcinomi follicolari della tiroide
Para-proteine (immunoglobuline monoclonali)	• mielomi • linfomi • leucemie linfatiche croniche
citocheratine (TPA; TPS, CYFRA 21-1) filamenti intermedi delle cellule epiteliali	• tumori di origine epiteliale

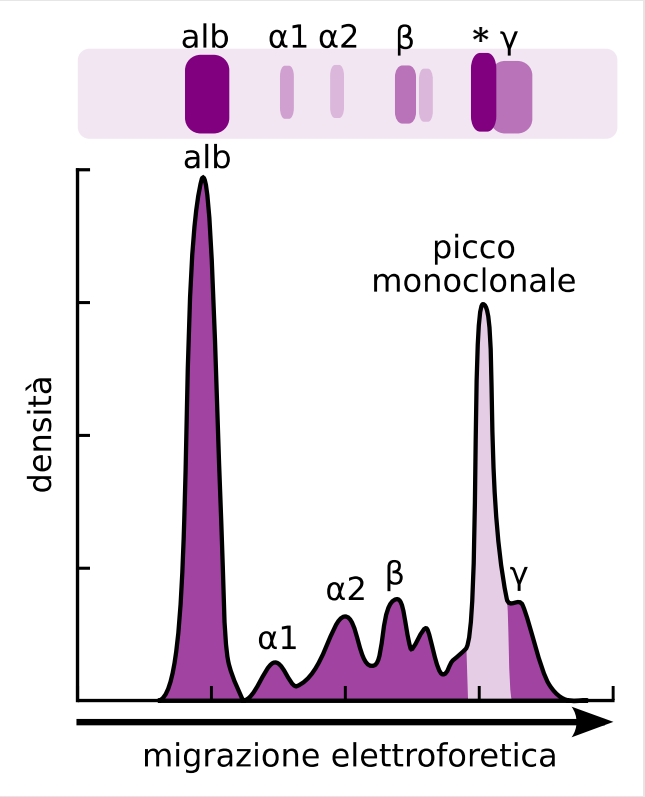


Figura 13.2. Tracciato elettroforetico dimostrante la presenza di una immunoglobulina monoclonale

13.2.5. Antigeni tumore-associati

Tabella 13.2. Marcatori tumorali: gli antigeni tumore-associati. Le conoscenze nel campo dei bio-marcatori tumorali è in continua evoluzione e pertanto il seguente elenco ha valore esclusivamente esemplificativo

antigene	possibile aumento in caso di:
☞ **PSA (*prostatic-specific antigen*, antigene prostatico specifico)** glicoproteina prodotta esclusivamente dalle cellule epiteliali della prostata; mantiene solubile il liquido seminale	• patologie prostatiche
☞ **CA-125 (*cancer antigen* 125)**	• carcinomi dell'ovaio (più frequente)
☞ **CA-15.3 (*cancer antigen* 15.3)**	• neoplasie della mammella (più frequente)
☞ **CA-19.9 GICA (*cancer antigen* 19.9) o GICA (*gastro-intestinal cancer antigen*)**	• carcinomi del pancreas (più frequente)
☞ **CA-72-4 (*cancer antigen* 72-4)**	• carcinoma gastrico
HR2/*neu* (*recettore per il fattore di crescita epiteliale*)	• carcinoma della mammella

13.3. Marcatori prodotti dall'ospite

Per una trattazione più esauriente dei concetti di sensibilità e specificità si rimanda al capitolo 1

13.3.1. Utilizzo dei marcatori tumorali in patologia umana

Fosfatasi alcalina (ALP, *alkaline phosphatase*)

☞ Si distinguono 4 forme iso-enzimatiche organo specifiche:

- epatica
- ossea
- placentare
- intestinale

- *n.b.: la forma ossea aumenta in tutte le lesioni ossee che producono uno stimolo riparativo e quindi una attivazione degli osteoblasti*

Idrossiprolina urinaria

☞ Un aumento dell'idrossiprolinuria si associa a qualunque processo stimoli il *turnover* del collageno

Es.:

- osteopatia
- collagenopatia
- metastasi ossee

Dato che l'escrezione urinaria di idrossiprolina dipende dalla funzionalità renale, per una diagnosi corretta l'idrossiprolinuria dovrebbe essere valutata assieme alla creatininemia

13.4. Sensibilità e specificità dei marcatori tumorali



☞ Un marcatore tumorale, per essere effettivamente applicato come *test* di *screening*, dovrebbe avere una sensibilità almeno superiore al 75% (capacità di identificare almeno 75 soggetti malati su 100) ed una specificità almeno del 95% (non più del 5% di falsi positivi): attualmente, nessun marcatore tumorale ha questi requisiti

Condizioni non neoplastiche in cui si possono riscontrare elevate concentrazioni di marcatori tumorali

Tabella 13.3. Condizioni patologiche non neoplastiche in cui possono osservare elevate concentrazioni di marcatori tumorali. Le conoscenze nel campo sono in continua evoluzione per cui i dati riportati hanno valore didattico esemplificativo

condizione clinica	marcatore	condizione clinica	marcatore
gravidanza	AFP, HCG, MCA, CA-125	ascite, versamenti pleurici	CA-125
ciclo mestruale	CA-125	endometriosi	CA-125
alcool, fumo	CEA, TPA	pancreatite	CA-19.9, CA-50, CA-125
terapia marziale, trasfusioni	ferritina	nefropatia cronica	CEA, TPA
liposuzione	CA-19.9, CA-50	tireopatie	TG
catetere vescicale	PAP, PSA	ipertrofia prostatica	PSA, PAP
epatopatia cronica	CEA, TPA, MCA, CA-15.3, CA-19.9, CA-50	affezioni respiratorie	CA-15.3, MCA, CEA, TPA
ittero	CEA, TPA, CA-19.9, ferritina	malattie reumatiche	CA19-9
psoriasi	SCC	diabete	CA19-9, CA-50

☞ Pertanto al momento i marcatori tumorali non possono costituire elementi primari per la diagnosi di un tumore, ma la loro principale utilità nella medicina clinica consiste nel confermare il sospetto diagnostico; a questo scopo debbono essere valutati in termini quantitativi e in associazione a marcatori affini

13.5. Associazioni di marcatori con provata validità diagnostica

Tabella 13.4. Associazioni di marcatori tumorali con provata validità diagnostica. Le conoscenze nel campo sono in continua evoluzione per cui i dati riportati hanno valore didattico esemplificativo

neoplasia	marcatore	neoplasia	marcatore
carcinoma del polmone non a piccole cellule	CEA, TPA, SCC	carcinoma del polmone a piccole cellule	NSE; epidermoide: CYFRA 21-1
carcinoma della mammella	CA-15.3, MCA, TPA, TPS	carcinoma della cervice	SCC
carcinoma della prostata	PSA, PAP, TPA, TPS, CA-50	carcinoma dell'utero	SCC, CEA, TPA
carcinoma del colon-retto	CEA, CA19-9, CA-242, TPA	carcinoma della vescica	TPA, CEA
carcinoma del pancreas	CA-19.9, CA-195, CA-50	carcinoma del rene	TPA, MCA
carcinoma dello stomaco	CEA, CA-19.9, CA-50, CA-72.4	tumori germinali del testicolo e dell'ovaio	AFP, HCG
carcinoma della tiroide	TG, CT, TPA	feocromocitomi	catecolammine, VMA, HOV
carcinoma dell'ovaio	CA-125, AFP, HCG	neuroblastomi	NSE
mielomi	β2 microglobulina, proteina di Bence Jones	metastasi ossee	ALP, idrossiprolina urinaria, calciuria
linfomi	ferritina, para-proteine	metastasi epatiche	CEA, ALP
epato-carcinoma	AFP		

13.5.1. Esempi di impiego dei marcatori tumorali per lo *screening* in gruppi di pazienti selezionati



- *AFP + ecografia epatica in pazienti cirrotici*
- *CEA + ricerca di sangue occulto nelle feci in familiari di pazienti con carcinoma del colon*
- *CT (calcitonina) in familiari di pazienti con carcinoma midollare della tiroide*
- *PSA + esplorazione rettale e/o ecografia trans- rettale in soggetti affetti da una sintomatologia riferibile alle basse vie urinarie ("prostatismo") o con una familiarità per il carcinoma della prostata*

13.5.2. I marcatori tumorali nel *management* del paziente neoplastico

- Una interpretazione più moderna dei marcatori tumorali, condivisa ormai dalla maggior parte degli oncologi clinici, prevede il loro impiego non tanto nella diagnosi ma piuttosto nel *management* del paziente neoplastico
- Studi recenti hanno dimostrato che la valutazione dinamica dei marcatori tumorali eseguita dopo l'atto terapeutico può offrire importanti informazioni sulla evoluzione della malattia, prima che questa si manifesti clinicamente

13.5.3. Quando debbono essere dosati i marcatori tumorali ?

- *Prima di ogni atto terapeutico:*
  - come dato di riferimento
  - per ausilio diagnostico
  - per ausilio alla stadiazione
  - come parametro prognostico
- *Dopo l'atto terapeutico:*
  - per lo studio della cinetica di scomparsa
  - per la diagnosi precoce di recidiva
  - per il monitoraggio della terapia nella malattia avanzata

Applicazioni future dei marcatori tumorali

- identificazione nei fluidi biologici di sequenze oncogeniche specifiche per la diagnosi di neoplasie occulte
- identificazione nei fluidi biologici di anticorpi diretti contro prodotti di oncogeni o geni onco-soppressori per la diagnosi di neoplasie occulte
- identificazione di cellule metastatiche circolanti mediante valutazione dell'espressione di geni che codificano per marcatori tumorali
- identificazione di micro-metastasi per una più corretta stadiazione della malattia

13.6. Marcatori citogenetici

Tabella 13.5. Traslocazioni nelle neoplasie umane: leucemie e linfomi. Le conoscenze nel campo sono in continua evoluzione per cui i dati riportati hanno valore didattico esemplificativo

tipo di neoplasia	**traslocazione**	**geni coinvolti**	
leucemia mieloide cronica	(9;22)(q34;q11)	bcr 22q11	Ab1 9q34
leucemie acute (mieloidi e linfoidi)	(4;11)(q21;q23) (6;11)(q27;q23)	AF4 4q21 AF6 6q27	MLL 11q23 MLL 11q23
linfoma di Burkitt	(8;14)(q24;q32)	c-myc 8q24	IgH 14q32
linfoma a cellule mantellari	(11;14)(q13;q32)	CyclinD 11q13	IgH 14q32
linfoma follicolare	(14;18)(q24;q21)	bcl-2 18q21	IgH14q32
leucemia linfoblastica acuta a cellule T	(8;14)(q24;q11) (10;14)(q24;q11)	c-myc 8q24 T Hox 11 10q24	TCR-a 14q11 TCR-a 14q11
tumori di Ewing	(11;22)(q24;q12)	FLI-1 11q24	EWS 22q12

Tabella 13.6. Traslocazioni e trascritti chimerici nei sarcomi. PNET: primitive neuro-ectodermal tumour*, tumore primitivo neuro-ectodermico. Dati da Lazar (2006). Le conoscenze in materia sono in continuo avanzamento: la tabella ha solo valore didattico-esemplificativo*

tipo di neoplasia	**variazione citogenetica**	**geni coinvolti**	
sarcoma di Ewing/PNET	t(11;22)(q24;q12)	*EWSR1*	*FLI-1*
	t(11;22)(q22;q12)	*EWSR1*	*ERG*
	t(7;22)(p22;q12)	*EWSR1*	*ETV1*
	t(2;22)(q33;q12)	*EWSR1*	*FEV*
	t(17;22)(q12;q12)	*EWSR1*	*E1AF*
	inv(22)	*EWSR1*	*ZSG*
tumore desmoplastico a piccole cellule rotonde	t(11;22)(p13;q12)	*EWSR1*	*WT1*
condro-sarcoma mixoide extra-scheletrico	t(9;22)(q22;q12)	*EWSR1*	*CHN*
	t(9;17)(q22;q11)	*RBP56*	*CHN*
	t(9;15)(q22;q11)	*CHN*	*TCF12*
sarcoma a cellule chiare	t(12;22)(q13;q12)	*EWSR1*	*ATF1*
rabdomio-sarcoma alveolare	t(2;13)(q35;q14)	*PAX3*	*FKHR*
	t(1;13)(p36;q14)	*PAX7*	*FKHR*
liposarcoma mixoide	t(12;16)(q13;p11)	*CHOP*	*TLS*
	t(12;22)(q13;q12)	*EWSR1*	*CHOP*
sarcoma sinoviale	t(X;18)(p11;q11)	*SSX1*	*SYT*
		SSX2	*SYT*
fibroblastoma a cellule giganti	t(17;22)(q22;q13)	*COL1A1*	*PDGFB*
fibroblastoma congenito	t(12;15)(p13;q25)	*ETV6*	*NTKR3*

13.7. Principali fonti utilizzate

Andreotti, G., Mendez, B.L., Amodeo, P., Morelli, M.A., Nakamuta, H., Motta, A. (2006) Structural determinants of salmon calcitonin bioactivity: the role of the Leu-based amphipathic alpha-helix. J.Biol.Chem. 281, 24193-24203

Lazar, A., Abruzzo, L.V., Pollock, R.E., Lee, S., Czerniak, B. (2006) Molecular diagnosis of sarcomas: chromosomal translocations in sarcomas. Arch. Pathol. Lab. Med. 130, 1199–1207

Tomlins, S.A. Rhodes, D.R., Perner, S., Dhanasekaran, S.M., Mehra, R., Sun, X.W., Varambally, S., Cao, X., Tchinda, J., Kuefer, R., Lee, C., Montie, J.E., Shah, R.B., Pienta, K.J., Rubin, M.A., Chinnaiyan, A.M.(2005) Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. Science 310, 644-648

Siti web

rcsb.org/pdb_2GLH *visitato il 15/05/2013* *accessibile il 15/05/2013*





14. Appendice 1: emostasi fisiologica

I edizione ebook

Gianandrea Pasquinelli, Luigi Barbieri

 (vedi singoli sotto-capitoli)

14. Appendice 1: emostasi fisiologica....1
14.1. Il processo emostatico fisiologico....3
14.1.1. Funzioni dell'emostasi normale....3
14.1.2. Formazione del tappo emostatico: schema riassuntivo....4
14.1.3. Emostasi primaria e secondaria....6
14.1.4. Localizzazione della coagulazione....6
14.1.5. Principali attori dell'emostasi....6
14.2. Emostasi primaria....7
14.2.1. Caratteristiche generali delle piastrine o trombociti....9
14.2.2. Fenomeni piastrinici....11
14.2.3. Adesione piastrinica....11
14.2.4. L'attivazione delle piastrine adese....12
14.2.5. Aggregazione piastrinica....13
14.3. Emostasi secondaria....14
14.3.1. La cascata coagulativa....15
14.3.2. I fattori della coagulazione....16
14.3.3. Fattori vitamina K-dipendenti....17
14.3.4. Formazione della fibrina polimerizzata....19
14.3.5. Via intrinseca....20
14.3.6. Via estrinseca....20
14.3.7. Via comune: la formazione della fibrina....21
14.3.8. Ruolo della trombina....23
14.4. Inibitori della coagulazione....24
14.4.1. Sostanze ad azione anticoagulante....25
14.5. Fibrinolisi....26
14.6. Principali fonti utilizzate....29



14.1. Il processo emostatico fisiologico 

Definizione di emostasi

L'emostasi è il processo che blocca lo stravaso di sangue a seguito di un danno vascolare

Definizione di coagulazione

La coagulazione è il processo attraverso il quale il sangue passa, in un organismo vivente, dallo stato liquido allo stato solido

14.1.1. Funzioni dell'emostasi normale

☞ L'emostasi normale è il risultato di una serie di processi controllati con precisione e svolge tre funzioni:

- mantenere attivamente il sangue in uno stato fluido senza coaguli nei vasi normali
- riparare le continue fisiologiche micro-lesioni alla parete endoteliale dei vasi dovute allo scorrimento stesso del sangue senza provocare una coagulazione massiva con blocco della circolazione
- indurre la formazione rapida di un tappo emostatico (coagulazione) localizzato nel sito di una rottura del vaso, bloccando la fuoriuscita del sangue (emorragia)

☞ In caso di alterazione dell'omeostasi vasculo-ematica tre sono i fenomeni principali che avvengono nei vasi:

- la vasocostrizione reattiva
- la formazione del coagulo (coagulazione)
- l'attivazione del sistema di riparazione

14.1.2. Formazione del tappo emostatico: schema riassuntivo

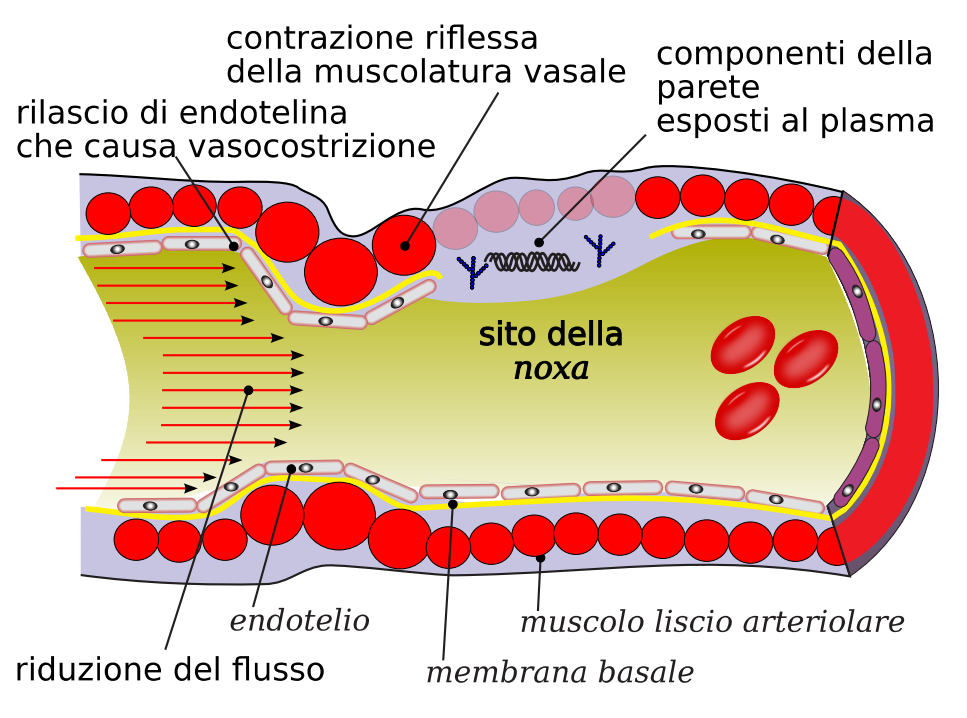


Figura 14.1. Vasocostrizione

Dopo un danno vascolare, fattori neuro-umorali locali inducono una vasocostrizione momentanea che riduce il flusso di sangue e la conseguente emorragia

Liberamente tratto da Cotran (1999)

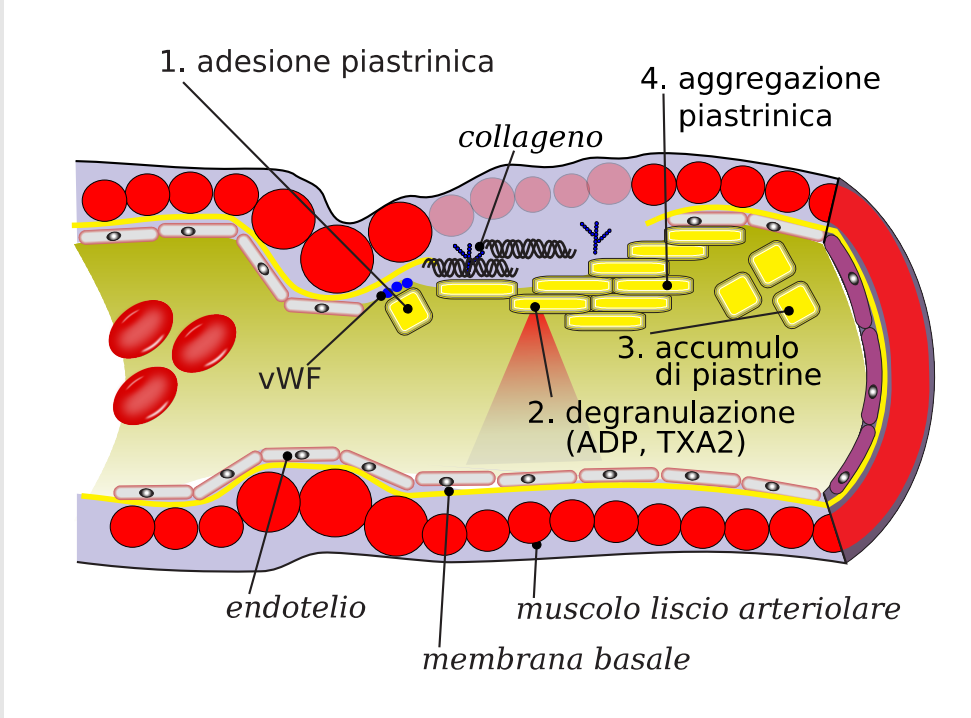


Figura 14.2. Emostasi primaria (piastrinica)

Le piastrine aderiscono alla matrice extra-cellulare esposta attraverso il vWF (fattore di von Willebrand); si attivano, si modificano si degranulano. ADP (adenosina di fosfato) e trombossano (TX) A2 rilasciati provocano un'ulteriore aggregazione piastrinica formando il tappo emostatico primario

Liberamente tratto da Cotran (1999)

continua nel quadro seguente

continua dal quadro precedente

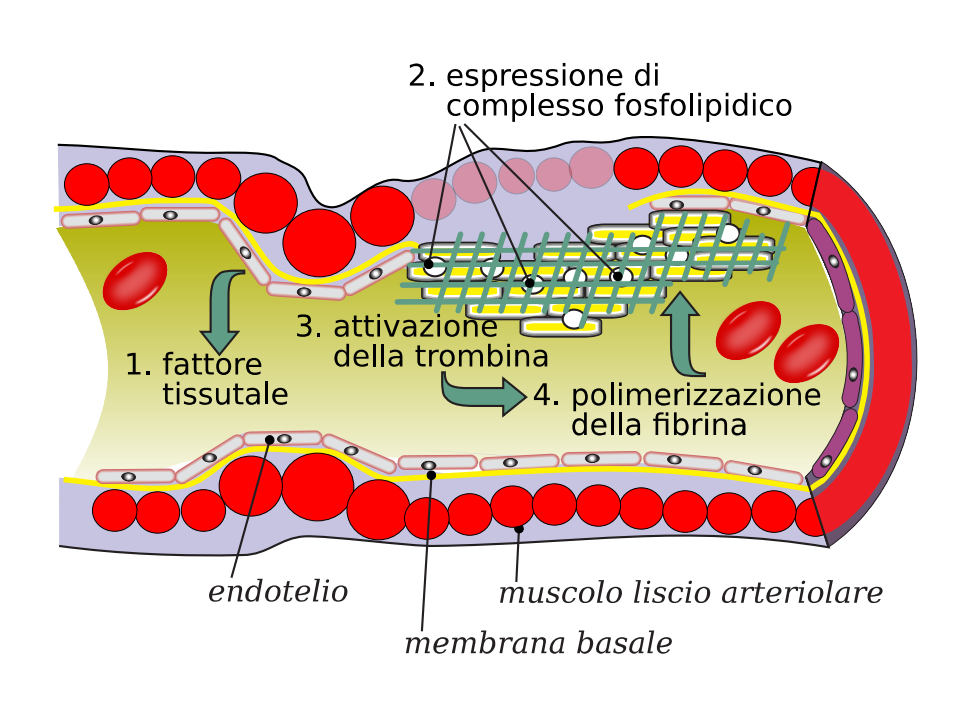


Figura 14.3. Emostasi secondaria

Attivazione locale della cascata della coagulazione con polimerizzazione della fibrina

cementazione delle piastrine in un tappo emostatico secondario definitivo

Liberamente tratto da Cotran (1999)

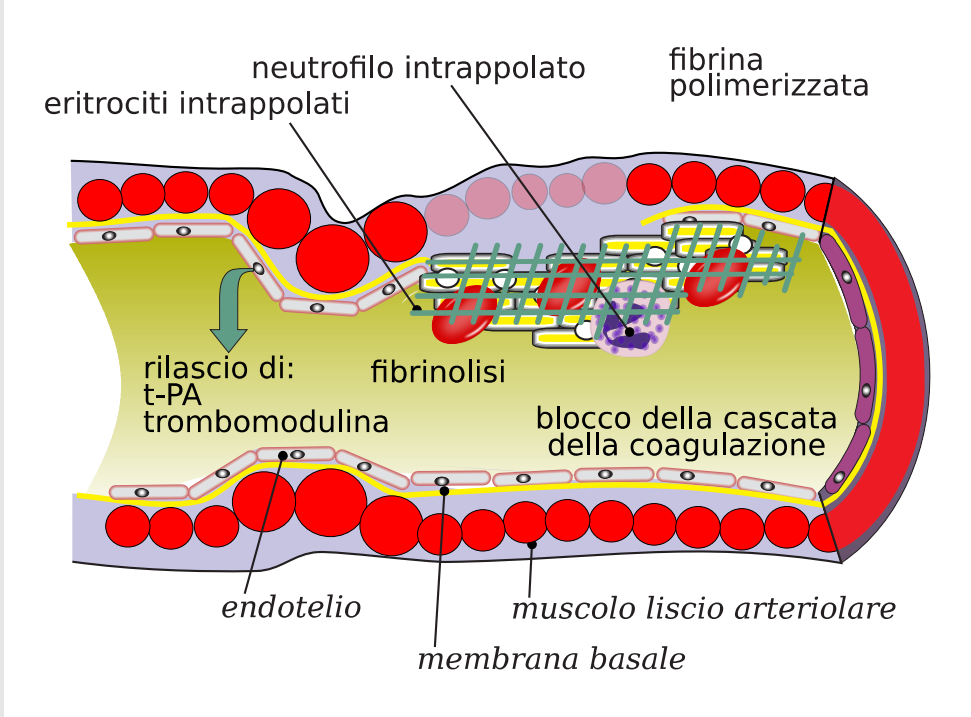


Figura 14.4. Trombo e fenomeni anti-trombotici

Meccanismi contro-regolatori (anti-trombotici) come il rilascio di attivatore del plasminogeno (t-PA) (fibrinolitico)

trombomodulina (proteina integrale di membrana espressa sulle cellule endoteliali che interferisce con la cascata della coagulazione in multipli siti)

limitano il processo emostatico

Liberamente tratto da Cotran (1999)

14.1.3. Emostasi primaria e secondaria

☞ Il processo emostatico inizia quando il sangue viene a contatto con sostanze diverse da quelle presenti sulla superficie endoteliale delle pareti dei vasi: è costituito da una fase primaria e da una fase secondaria

- l'emostasi primaria consiste nella rapida formazione di un agglomerato di piastrine, chiamato tappo emostatico primario, nella zona della lesione; avviene in pochi secondi ed è fondamentale per arrestare la fuoriuscita di sangue dai vasi capillari e dalle venule e per riparare le micro-lesioni
- l'emostasi secondaria porta, per attivazione del sistema della coagulazione, alla formazione della fibrina, i cui filamenti rafforzano il tappo emostatico primario, dando origine al tappo emostatico secondario; richiede alcuni minuti ed è importante soprattutto per bloccare la fuoriuscita del sangue dai vasi di calibro maggiore

14.1.4. Localizzazione della coagulazione

☞ La coagulazione del sangue è un fenomeno che deve essere innescato da una emergenza

Evolutivamente premia il fatto che il suo innesco non sia tanto dovuto ad una azione positiva, che richiede l'integrità del sistema di innesco stesso, ma dalla cessata funzione di un sistema inibitorio danneggiato

Là dove si verifica un danno quindi cessa localmente di funzionare il sistema di blocco della coagulazione e questa si avvia, mentre dove il danno non c'è essa è inibita attivamente: la coagulazione è auto-limitata ai siti danneggiati

14.1.5. Principali attori dell'emostasi

☞ L'emostasi sia fisiologica che patologica dipende da tre componenti principali che insieme danno origine al fenomeno della coagulazione:

- la parete vascolare
- le piastrine
- la cascata dei fattori plasmatici della coagulazione

14.2. Emostasi primaria

☞ L'emostasi primaria è caratterizzata dalla formazione del tappo emostatico primario, costituito principalmente da piastrine (dette anche trombociti)

La reazione piastrinica viene attivata dal contatto delle piastrine stesse con la matrice extra-cellulare esposta a seguito della perdita di cellule endoteliali

La reazione piastrinica può essere schematizzata in tre fasi principali:

- adesione
- attivazione
- aggregazione

Figura 14.5. Morfologia delle piastrine

Sn.: al microscopio ottico, striscio di sangue colorato con ematossilina/eosina

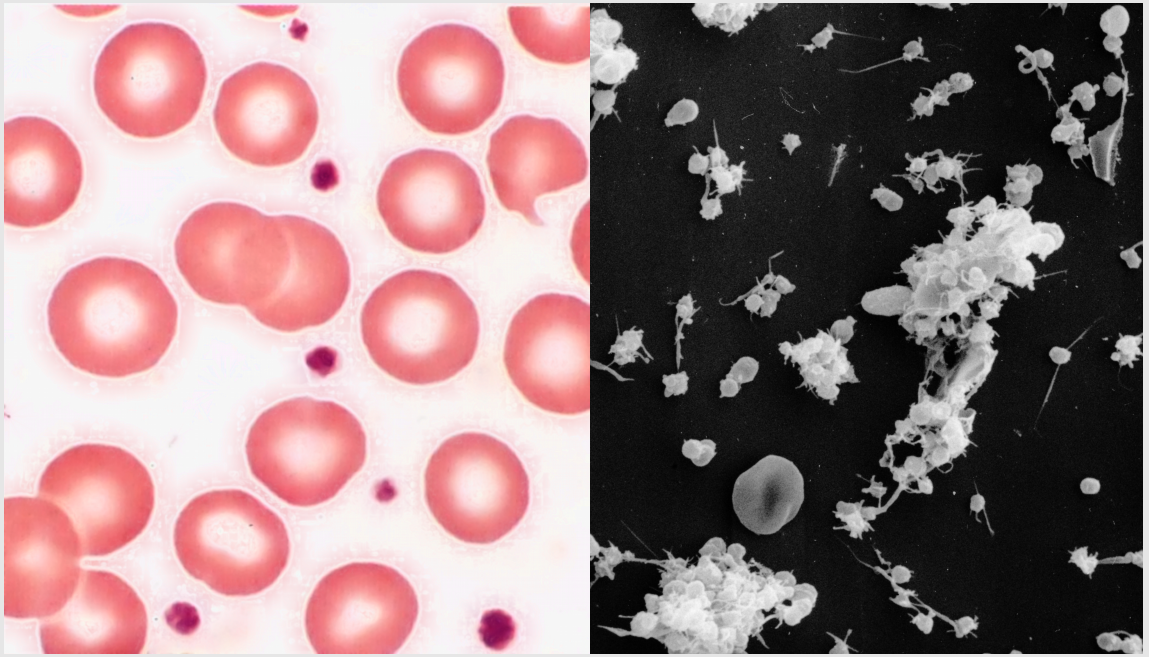
Figura 14.6. Morfologia delle piastrine, microfotografia al microscopio elettronico scansione

Piastrine normali umane attivate per contatto su una superficie di vetro

L'immagine illustra le varie fasi di attivazione delle piastrine; a riposo le piastrine hanno una forma discoidale; in seguito ad attivazione esse emettono sottili proiezioni citoplasmatiche, trasformandosi così in cellule dendritiche; si osservano piccoli aggregati piastrinici (microtrombi)

Immagine elaborata da un originale di G. Pasquinelli

Da Pasquinelli (2014)



Morfologia al microscopio elettronico a scansione di elementi del sangue

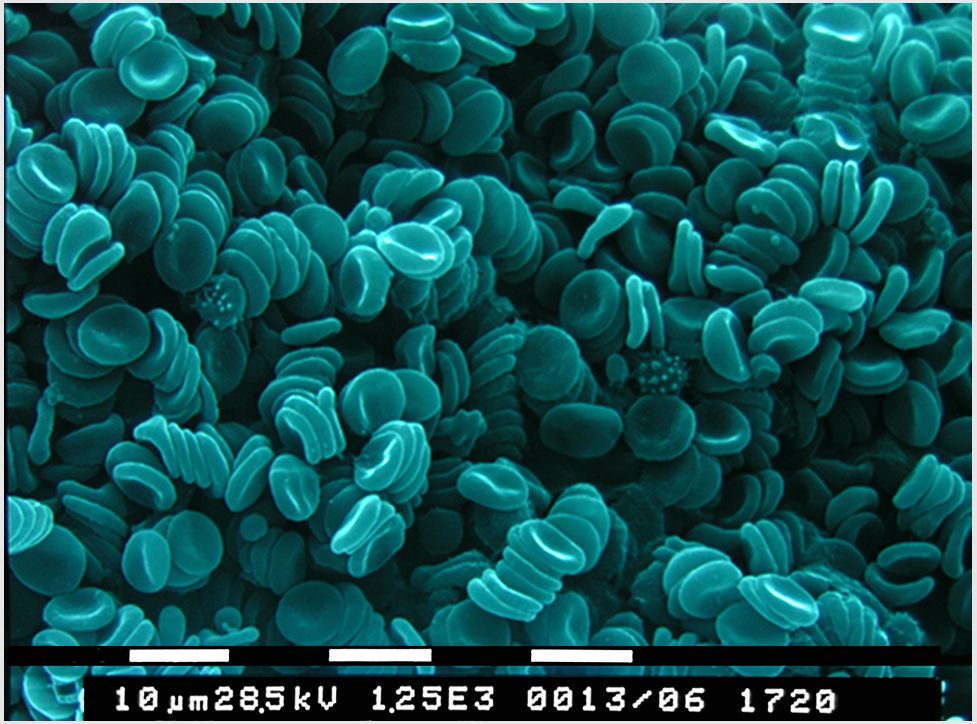


Figura 14.7. Morfologia al microscopio a scansione di eritrociti. Immagine elaborata da un originale di G. Pasquinelli

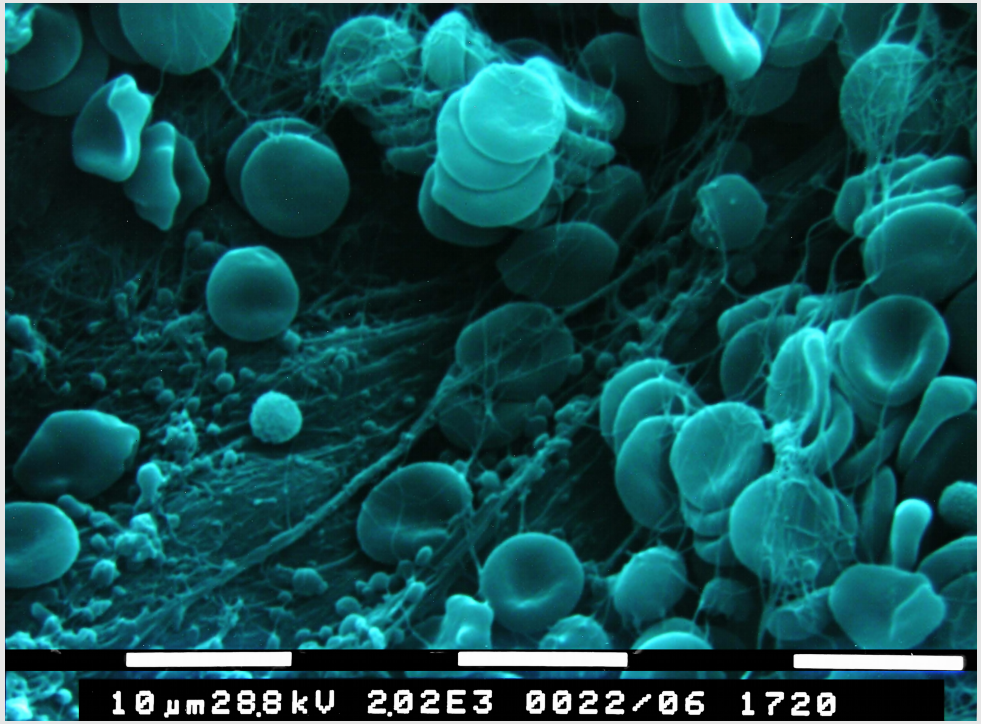


Figura 14.8. Morfologia al microscopio a scansione di eritrociti, piastrine e fibrina. Immagine elaborata da un originale di G. Pasquinelli

14.2.1. Caratteristiche generali delle piastrine o trombociti

☞ Derivazione

- frammentazione dei megacariociti: sono costituite da porzioni di citoplasma con strutture annesse circondati da membrana citoplasmatica

☞ Numero

- tra 150,000 e 400,000 per mm^3

☞ Distribuzione

- 2/3 circolanti ed 1/3 sequestrato in un pool splenico
- vita media: 10-12 d, dopo di che si ha la rimozione da parte dei fagociti mononucleati del sistema reticolo-endoteliale particolarmente nella milza: patologie spleniche si associano a variazioni piastriniche

☞ Morfologia

- diametro tra 1 e 4 µm e spessore 1 µm
- presenza di un sistema canalicolare aperto: costituito dalla membrana plasmatica tri-laminare che, invaginandosi profondamente all'interno della cellula, aumenta notevolmente la superficie di contatto con l'ambiente esterno; il sistema è avvolto da un un glico-calice contenente specifiche glicoproteine recettoriali (Gp)
- presenza di un sistema tubulare denso: costituito dal reticolo endoplasmatico liscio derivato da quello del megacariocito di origine, in stretto contatto con il sistema canalicolare aperto, all'interno del quale si svolgono funzioni biochimiche fondamentali quali il trasporto del calcio ed il metabolismo dell'acido arachidonico e dell'AMP ciclico
- presenza di un complesso sistema citoscheletrico costituito da microtubuli e microfilamenti localizzati principalmente nella regione equatoriale
- presenza di granuli: corpi densi (o granuli δ) e granuli α

Contenuto dei granuli piastrinici

☞ I corpi densi (granuli δ) contengono:

- calcio
- fosforo
- ATP/ADP
- serotonina

☞ I granuli α contengono:

- proteine adesive: vWF (fattore di von Willebrand), fibronectina, trombospondina
- fattori della coagulazione: fibrinogeno, fattore V, HMWK (*high molecular weight kininogen*, chininogeno ad alto peso molecolare)
- inibitori della fibrinolisi: PAI-1 (*platelet-activator inhibitor*, inibitore dell'attivatore delle piastrine), α2-anti-plasmina
- sostanze ad azione anti-eparinica: β-tromboglobulina, fattore piastrinico 4
- modulatori di crescita: PDGF (platelet *derived growth factor*, fattore di crescita derivato dalla piastrine), TGF-β (*transforming growth factor*, fattore di crescita trasformante)

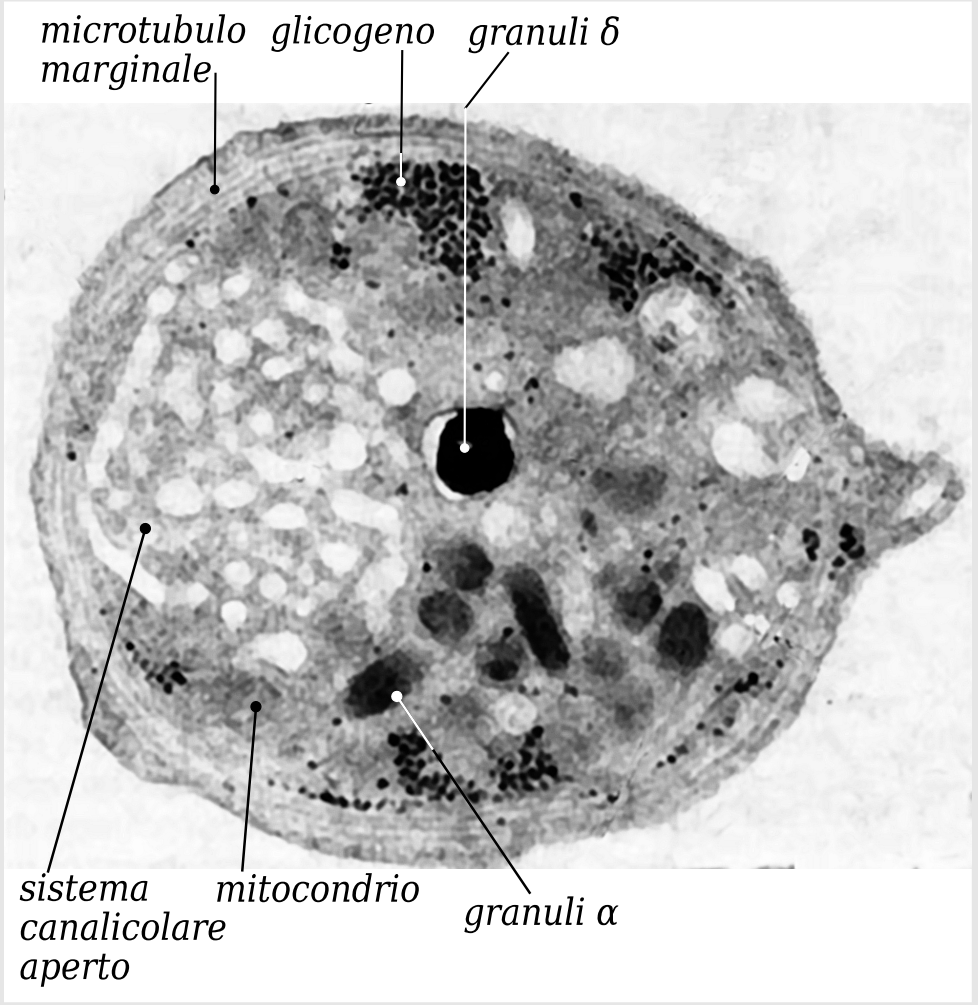


Figura 14.9. Morfologia delle piastrine. Immagine di public domain *al microscopio elettronico a trasmissione*

14.2.2. Fenomeni piastrinici

☞ Le piastrine giocano un ruolo centrale nell'emostasi normale

Quando circolano normalmente sono dei discoidi lisci ricoperti da membrana ed esprimono un certo numero di recettori glicoproteici della famiglia delle integrine alla loro superficie

Le piastrine contengono due tipi di granuli specifici contenenti mediatori della coagulazione e della flogosi

Dopo danno vascolare le piastrine incontrano la matrice extra-cellulare: collageno, proteoglicani, fibronectina

☞ Ne conseguono tre reazioni principali:

- adesione e modificazione di forma
- secrezione
- aggregazione

14.2.3. Adesione piastrinica

☞ L'adesione piastrinica è fortemente condizionata dal fattore di von Willebrand

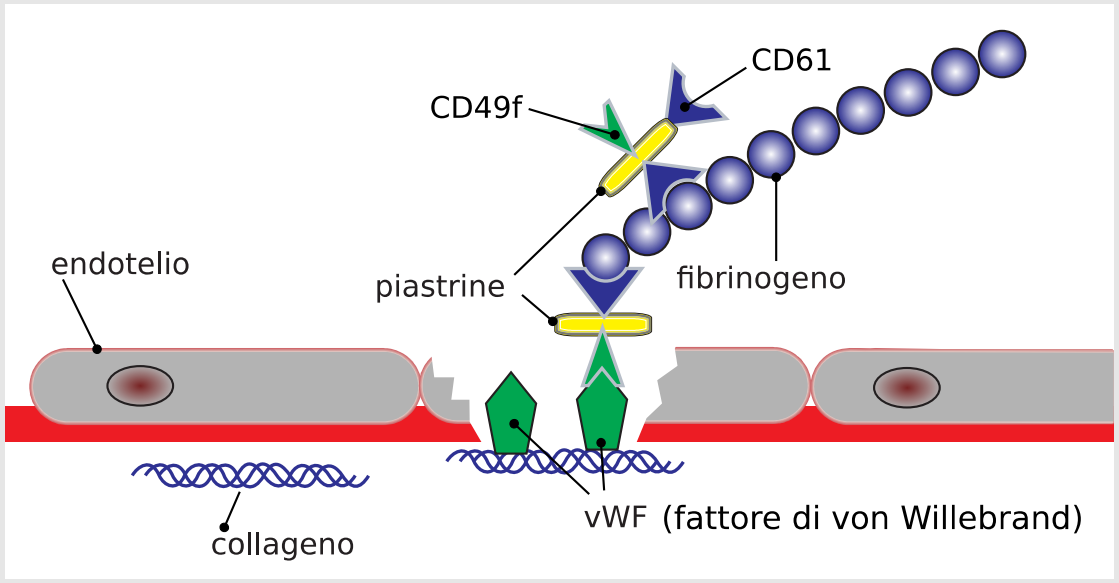


Figura 14.10. Adesione piastrinica: il fattore di von Willebrand

vWF: fattore di von Willebrand; CD49f o Gp IIb/IIIa; CD61 o Gp IIb/IIIa

Liberamente tratto da Cotran (1999)

14.2.4. L'attivazione delle piastrine adese

☞ L'attivazione delle piastrine è indotta dal contatto di collagene, trombossano A2 (TXA2) e trombina con specifici recettori della membrana piastrinica

L'attivazione ha come esito la liberazione di una serie di sostanze contenute nei granuli piastrinici o neosintetizzate dalle piastrine stesse:

- molecole ad attività vasocostrittrice e/o pro-aggregante (serotonina, TXA2, ADP, Ca^{++})
- fattori della coagulazione (fibrinogeno, fattore V)
- inibitori della fibrinolisi (PAI-1 (*platelet-activator inhibitor*), α2-anti-plasmina)

In questa fase si ha anche l'espressione in superficie del complesso fosfolipidico (FP3) che fornisce il sito di nucleazione critico per il legame del calcio e dei fattori della coagulazione

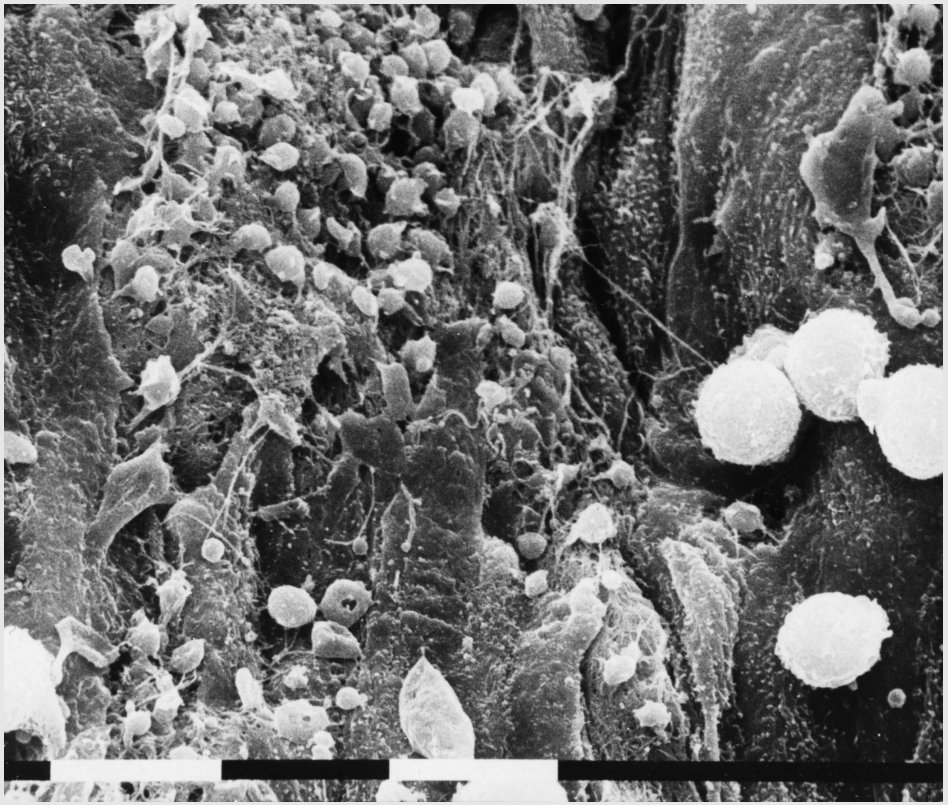


Figura 14.11. Parete arteriosa con lesione denudante endoteliale

Nelle zone di esposizione del sub-endotelio sono presenti piastrine aderenti e colte in varie fasi di attivazione; alla periferia della lesione si osservano numerosi leucociti richiamati sul sito della lesione

La barra indica segmenti di 10 µm

Immagine al microscopio elettronico a trasmissione di Gianandrea Pasquinelli, Alma Mater Università di Bologna

14.2.5. Aggregazione piastrinica

Ruolo dell'ADP



☞ L'aggregazione piastrinica è mediata principalmente dall'ADP liberato dai corpi densi

- l'ADP modifica infatti la conformazione del complesso recettoriale glicoproteina (Gp) IIb/IIIa, rendendolo in grado di legare il fibrinogeno
- Alcuni farmaci, clopidogrel e ticlopidina, inibiscono il recettore piastrinico che lega l'ADP, limitando l'aggregazione
- Il fibrinogeno è un cofattore importante di questa fase in quanto si interpone a ponte tra i complessi GpIIb/IIIa consentendo la formazione di grandi aggregati piastrinici; il legame tra fibrinogeno e complessi recettoriali GpIIb/IIIa viene poi stabilizzato dal *cross-linking* della trombospondina liberata dai granuli delle piastrine

Ruolo del trombossano TXA2

☞ Il trombossano A2 (TXA2) è

- un potente agente vasocostrittore
- un importante attivatore della aggregazione piastrinica

I trombossani derivano dalla via ciclo-ossigenasica del metabolismo dell'acido arachidonico che si libera dalla membrana delle piastrine per azione delle fosfolipasi attivate dal legame tra ADP e lipidi di membrana

L'enzima ciclo-ossigenasi viene inibito dall'acido acetilsalicilico e da tutti gli altri farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS)

L'inibizione della sintesi di TXA2 da parte di questi farmaci è una causa comune di sanguinamento nei pazienti trattati e rappresenta il presupposto per l'azione di alcuni farmaci antiaggreganti piastrinici

14.3. Emostasi secondaria

☞ A seguito del danno vascolare, le cellule endoteliali sintetizzano fattori che, in sinergia con fattori piastrinici, attivano la cascata coagulativa

☞ La cascata coagulativa culmina con formazione della trombina che riconosce selettivamente come substrato il fibrinogeno (proteina plasmatica solubile) trasformandolo in polimero insolubile: la fibrina

Trombina e fibrina consolidano il tappo emostatico piastrinico formando il tappo emostatico secondario, conferendogli stabilità e resistenza alle sollecitazioni pressorie

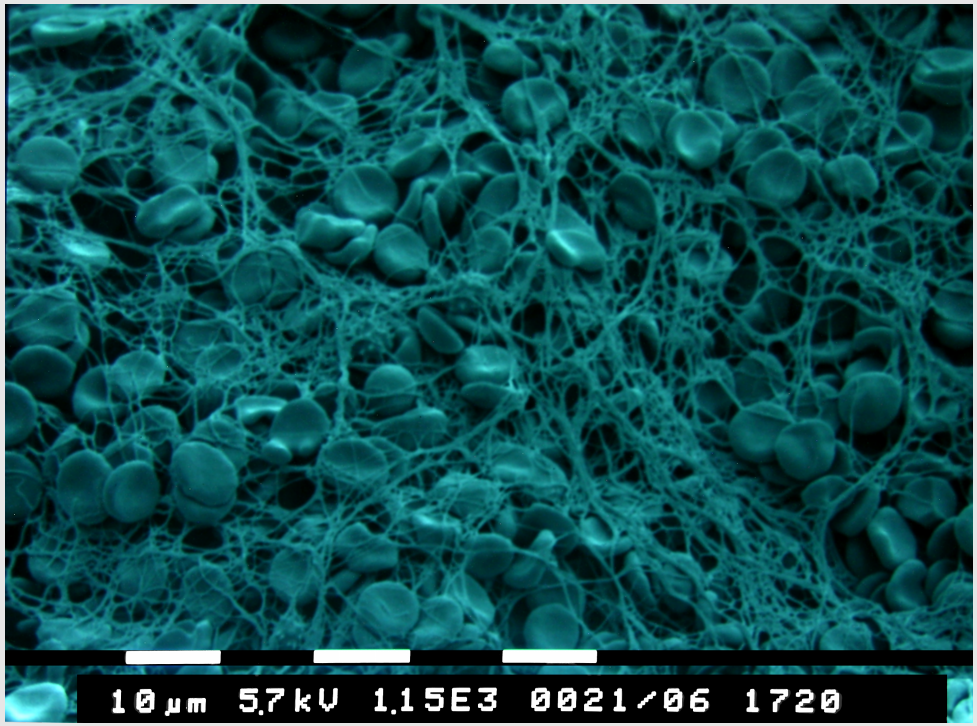


Figura 14.12. Morfologia al microscopio a scansione di coagulo con eritrociti, piastrine e fibrina. Immagine elaborata da un originale di G. Pasquinelli

14.3.1. La cascata coagulativa

☞ I fattori plasmatici della coagulazione (denominati con numeri romani da I a XIII) costituiscono una cascata di enzimi che si attivano e si inattivano in sequenza

In condizioni normali la velocità di questa cascata è relativamente ridotta ma non assente: quindi la vita media dei fattori della coagulazione è generalmente bassa (da alcune ore ad alcuni giorni)

La velocità di questa cascata di reazioni viene accelerata in modo esponenziale dal danno tissutale con produzione di forme attive dei fattori, denominate dalla lettera a

☞ Si possono distinguere due vie principali di attivazione della coagulazione: intrinseca ed estrinseca che innescano una via finale comune

☞ La cascata coagulativa consiste in una serie di conversioni di pro-enzimi inattivi in enzimi attivi secondo il seguente schema:

- *un enzima (il fattore attivato) agisce su un substrato (il fattore successivo nella forma non attiva) in presenza di un cofattore che accelera la reazione*

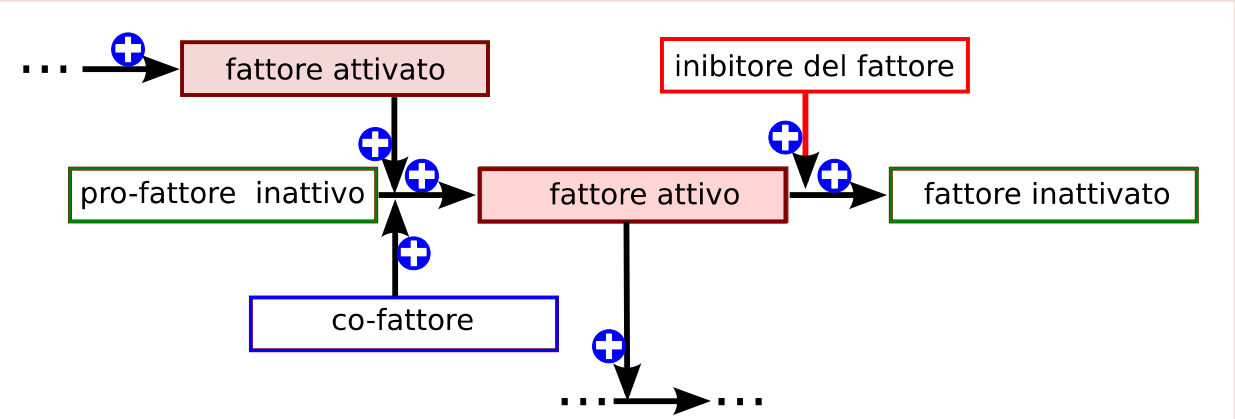


Figura 14.13. Schema processo di attivazione a cascata dei fattori della coagulazione

I 3 componenti basilari di uno step della cascata coagulativa

un enzima (il fattore attivato)

substrato (il fattore successivo nella forma non attiva)

un cofattore che accelera la reazione

sono assemblati sul complesso fosfolipidico (FP3) espresso sulla superficie delle piastrine e tenute assieme dagli ioni calcio

14.3.2. I FATTORI DELLA COAGULAZIONE

Tabella 14.1. Fattori della coagulazione: caratteristiche principali. HMWK: high molecular weight kininogen

fattore	denominazione	emivita (h)	concentrazione plasmatica (mg/100mL)	percentuale richiesta per l'emostasi	peso molecolare (kDa)
I	fibrinogeno	90	200-400	30	340
II	protrombina	60	20	40	70
III	fattore tissutale				46
V	pro-accelerina o fattore labile	18	0.5-1	10-15	330
VII	pro-convertina	6	0.2	5-10	48
VIII	fattore anti-emofilico A	14	0.05-0.15	10-40	300
IX	fattore anti-emofilico B (di Christmas)	25	0.3-0.4	10-40	54
X	fattore di Stuart	40	0.6-0.8	10-15	55
XI	precursore plasmatico della tromboplastina	50	0.4	20-30	180
XIII	fattore stabilizzante la fibrina	96	2.5	1-5	320
XII	fattore di Hageman	55	0.3	0	75
HMWK	chininogeno ad alto peso molecolare	168	0.7	0	110
PK	precallicreina (fattore di Fletcher)		0.15-0.5	0	85

14.3.3. Fattori vitamina K-dipendenti

☞ I fattori II, VII, IX e X sono chiamati vitamina K-dipendenti in quanto necessitano della vitamina K per svolgere la loro azione biologica

☞ I fattori vitamina K-dipendenti sono sintetizzati nel fegato

- una carbossilasi vitamina K-dipendente catalizza un'unica modificazione post-traduzionale che aggiunge un secondo gruppo carbossilico a determinati residui di acido glutammico
- a coppie, questi residui di acido carbossi-glutammico legano il calcio
- consentendo ai fattori suddetti di ancorarsi ai fosfolipidi piastrinici carichi negativamente e di poter svolgere, quindi, la loro funzione

Carbossilazione dell'acido glutammico

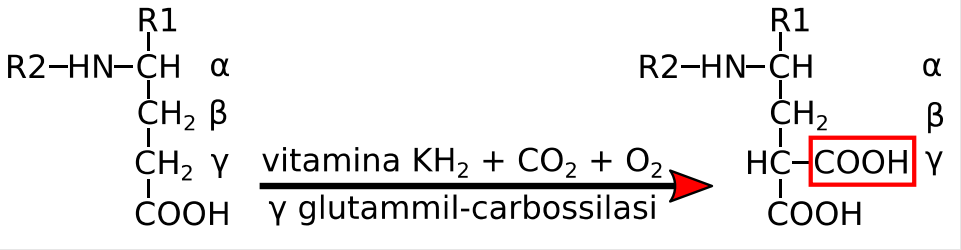


Figura 14.14. Carbossilazione dell'acido glutammico. La vitamina K agisce da substrato per l'enzima γ-glutammil-carbossilasi che catalizza l'aggiunta di un gruppo carbossilico al carbonio dell'acido glutammico presente nei precursori dei fattori vitamina K dipendenti; R1 e R2 rappresentano gli altri amminoacidi della sequenza

Da Pasquinelli (2013)

Ciclo della vitamina K

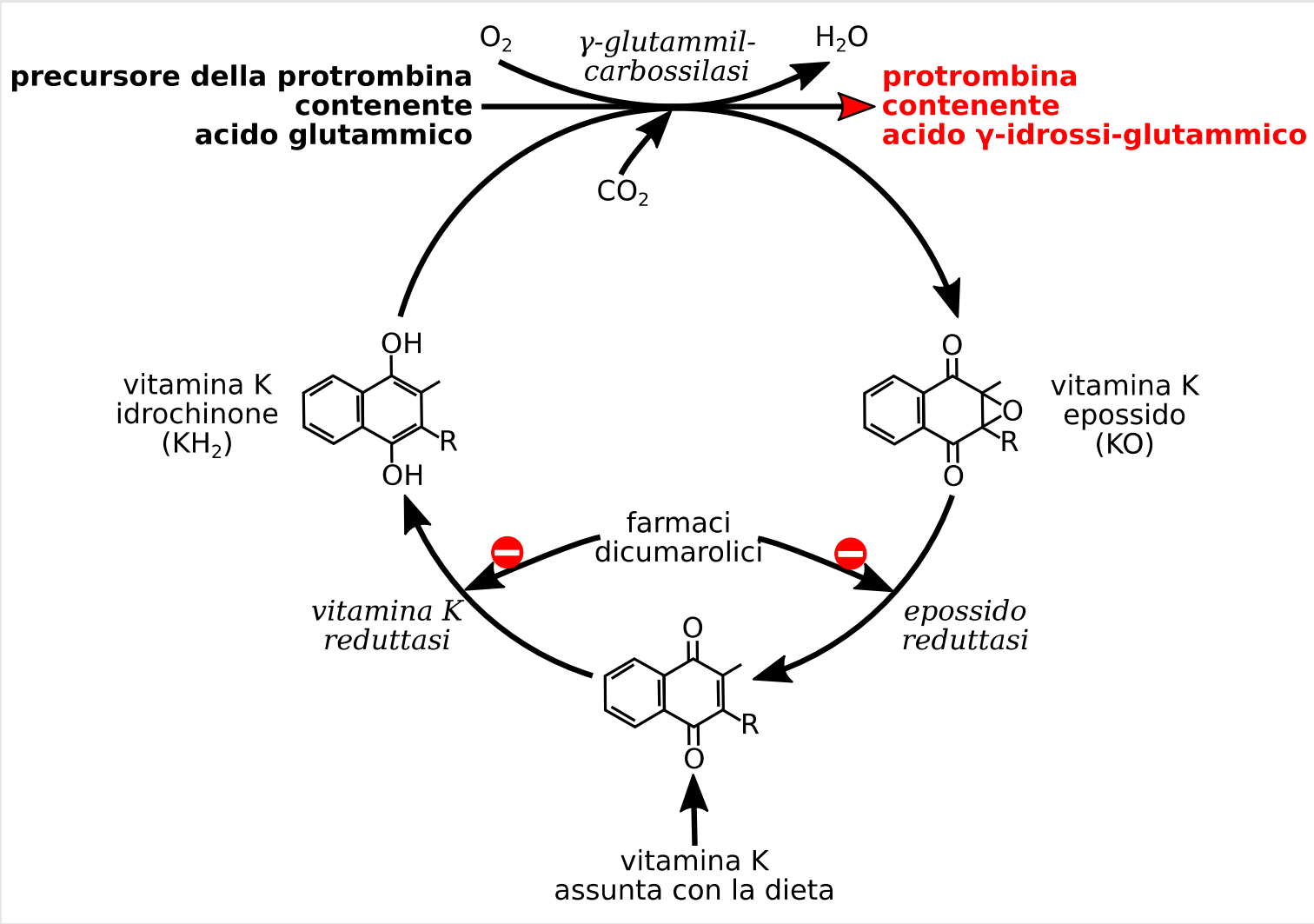


Figura 14.15. Il ciclo della vitamina K e la protrombina come esempio di proteina accettrice di unità mono-carboniosa

Da Pasquinelli (2013)

14.3.4. Formazione della fibrina polimerizzata

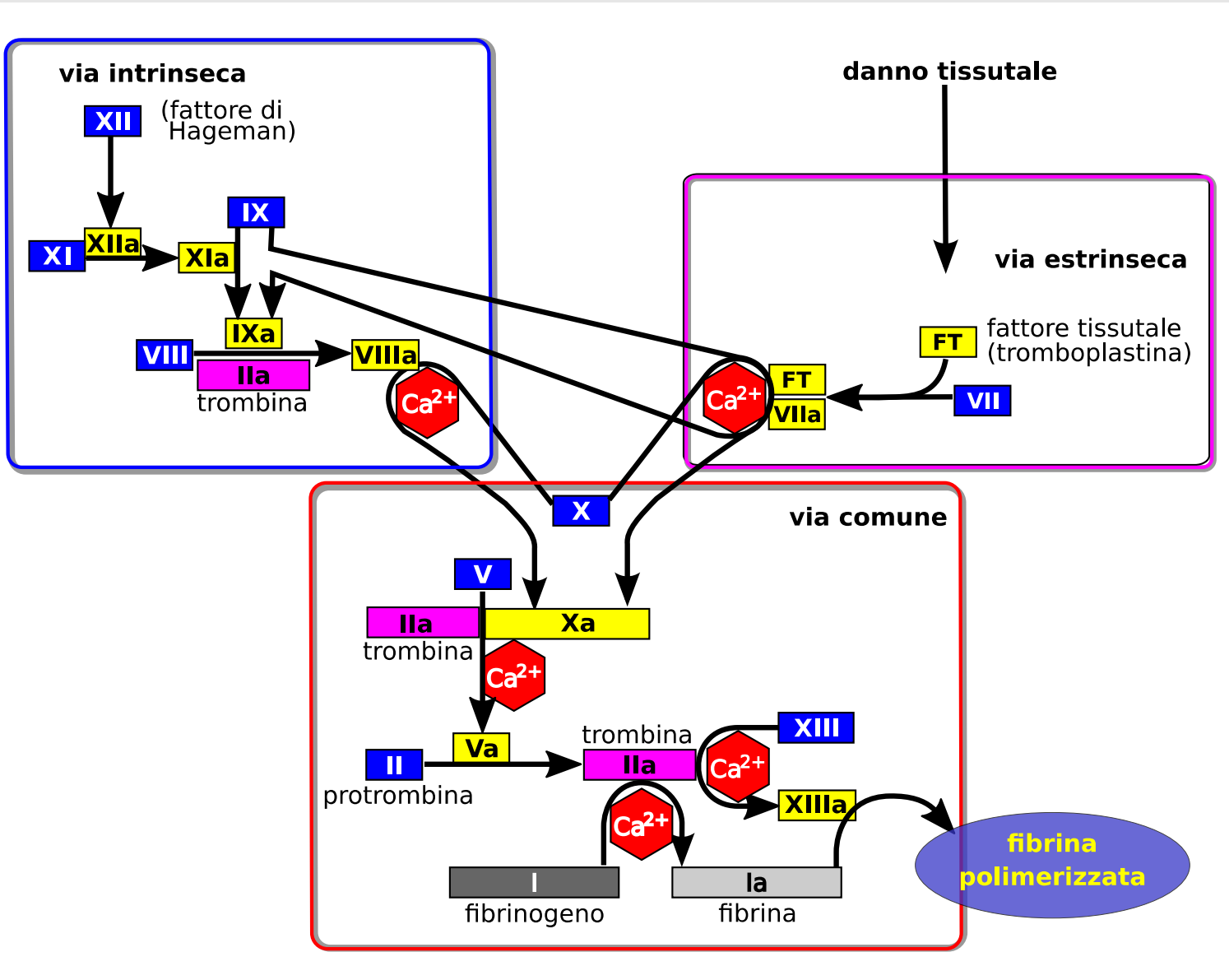


Figura 14.16. Schema della coagulazione

Due sono le vie di attivazione della trombina, l'enzima finale della coagulazione, la via intrinseca e la via estrinseca che hanno una parte terminale in comune (via comune)

Il substrato della trombina è il fibrinogeno

Il prodotto finale della coagulazione è la fibrina

14.3.5. Via intrinseca

☞ La via intrinseca della coagulazione

- è chiamata così perché i fattori che la compongono sono sempre circolanti nel sangue
- viene attivata quando il sangue incontra una superficie anomala diversa dalla membrana della cellula endoteliale (fanno eccezione alcuni distretti capillari fenestrati in cui cellule non epiteliali si affacciano direttamente sulla corrente ematica, come quello epatico, splenico, midollare osseo, ed anche distretti derivati dalla neo-angiogenesi nell'ambito di neoplasie maligne, particolarmente di origine connettivale, che hanno strutture anomale)
- la formazione del coagulo attraverso questa via richiede alcuni minuti
- questa via inizia con l'attivazione del fattore XII di Hageman

14.3.6. Via estrinseca

☞ La via estrinseca della coagulazione

- viene attivata dal danno tissutale con la liberazione di un fattore tissutale (componente strutturale dei tessuti, normalmente non in contatto con il plasma) che forma un complesso con il fattore VIIa attivando così il fattore X di Stuart
- questa via conduce alla formazione del coagulo in un tempo valutabile in pochi secondi

14.3.7. Via comune: la formazione della fibrina

☞ Dopo l'attivazione del fattore X (di Stuart), le vie intrinseca ed estrinseca convergono in una via comune che porta alla formazione della trombina, l'ultimo enzima della cascata che agisce sul fibrinogeno (substrato ultimo) producendo fibrina (prodotto ultimo)

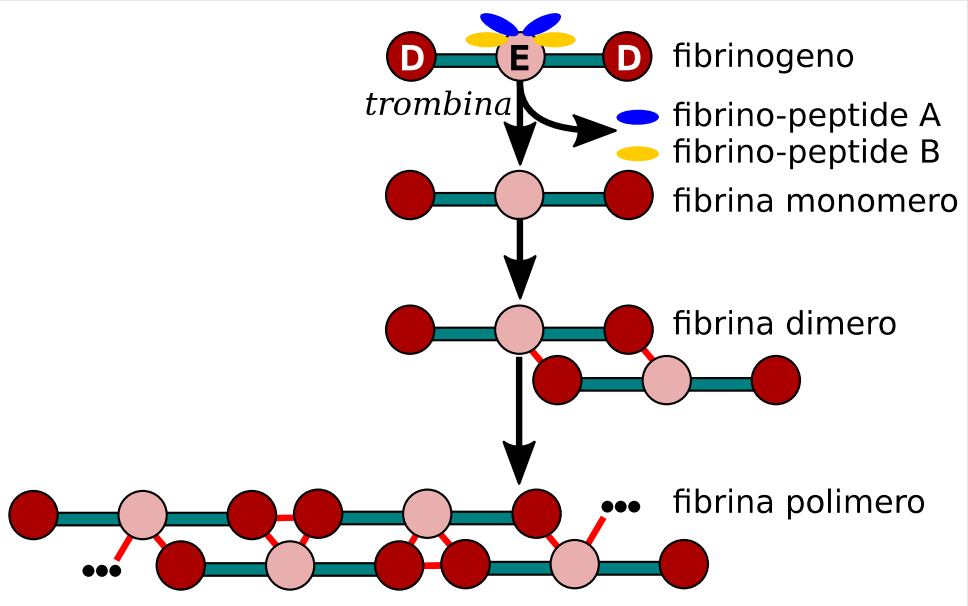
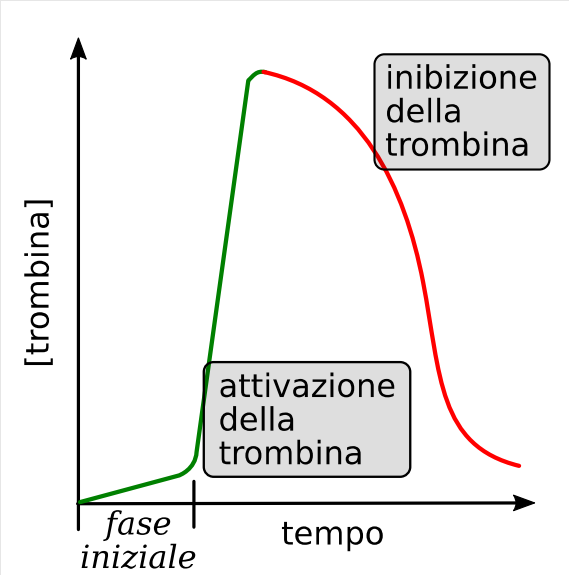


Figura 14.17 (a sn.). Formazione della fibrina

Il fattore XIII (FSH: fibrin stabilizing factor*) e gli ioni calcio stabilizzano i polimeri di fibrina con formazione di legami covalenti tra due dominii D adiacenti e tra i dominii D ed E*

Figura 14.18 (a dx.). Auto-regolazione del processo trombinico

Liberamente tratto da Tripodi (2011)



☞ La formazione di fibrina porta a due effetti:

- *la formazione di un tappo emostatico*
- *l'attivazione della flogosi con conseguente avvio della riparazione*

Eventi sulla superficie fosfolipidica delle piastrine

Il complesso iniziale di reazione consiste in

- enzima: il fattore IXa
- substrato: fattore X
- un acceleratore della reazione: fattore VIIIa
- ioni calcio che tengono insieme i componenti del complesso e sono essenziali per la reazione

Il fattore attivato Xa diviene parte di un secondo complesso:

- enzima: il fattore Xa
- substrato: il fattore II protrombina
- acceleratore della reazione il fattore Va
- ioni calcio che tengono insieme i componenti del complesso e sono essenziali per la reazione

Il prodotto finale è il fattore IIa (trombina)

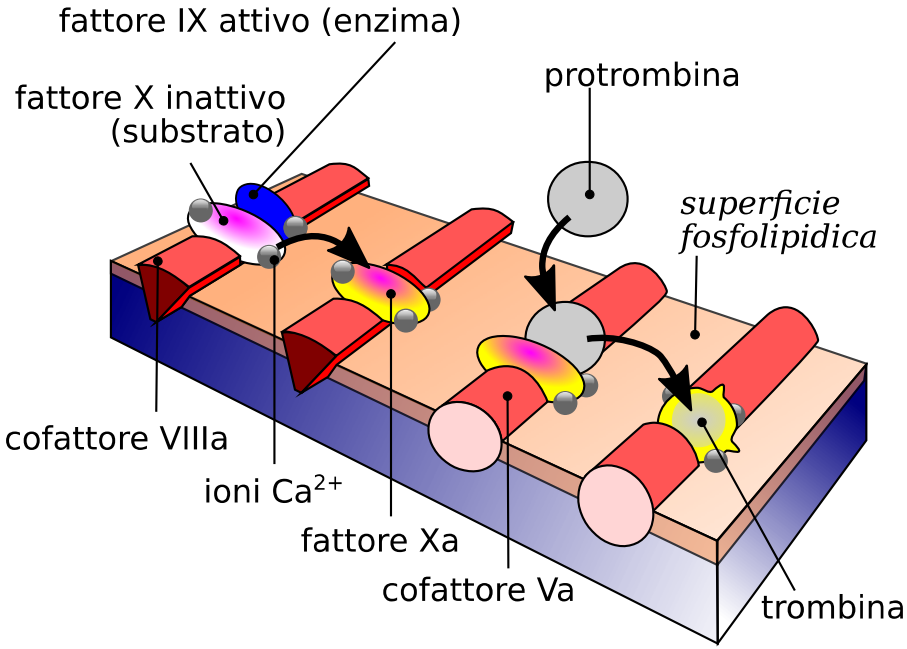
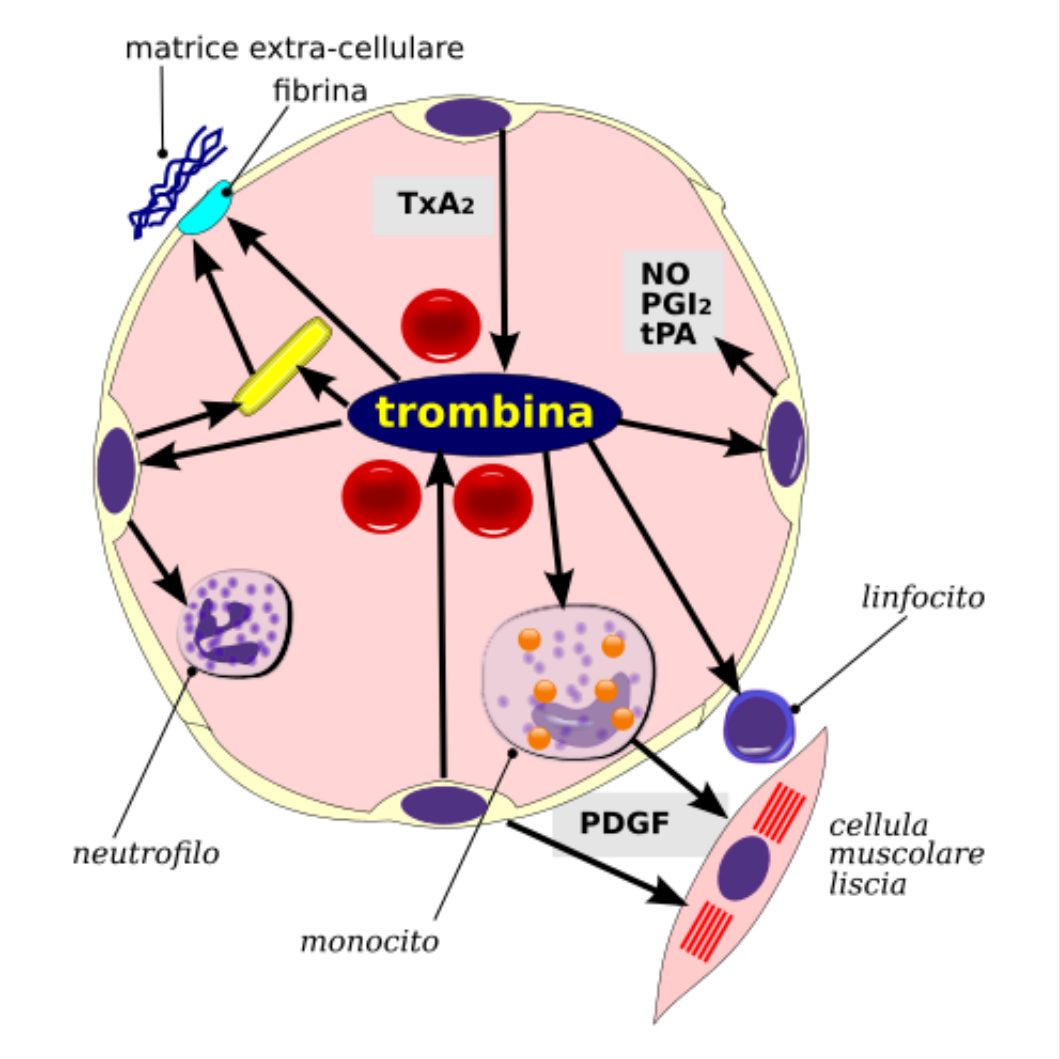


Figura 14.19. Eventi sulla superficie delle piastrine
Liberamente tratto da Mann (1984)

14.3.8. Ruolo della trombina

Figura 14.20. Ruolo della trombina nell'emostasi e nell'attivazione cellulare. Tx: trombossano; PG: prostaglandina; tPA: attivatore tissutale del plasminogeno; PDGF: platelet derived growth factor *(fattore di crescita derivato dalle piastrine). Liberamente tratto da Cotran (1999)*



Oltre ad un ruolo critico nel

- *generare la fibrina polimerizzata*

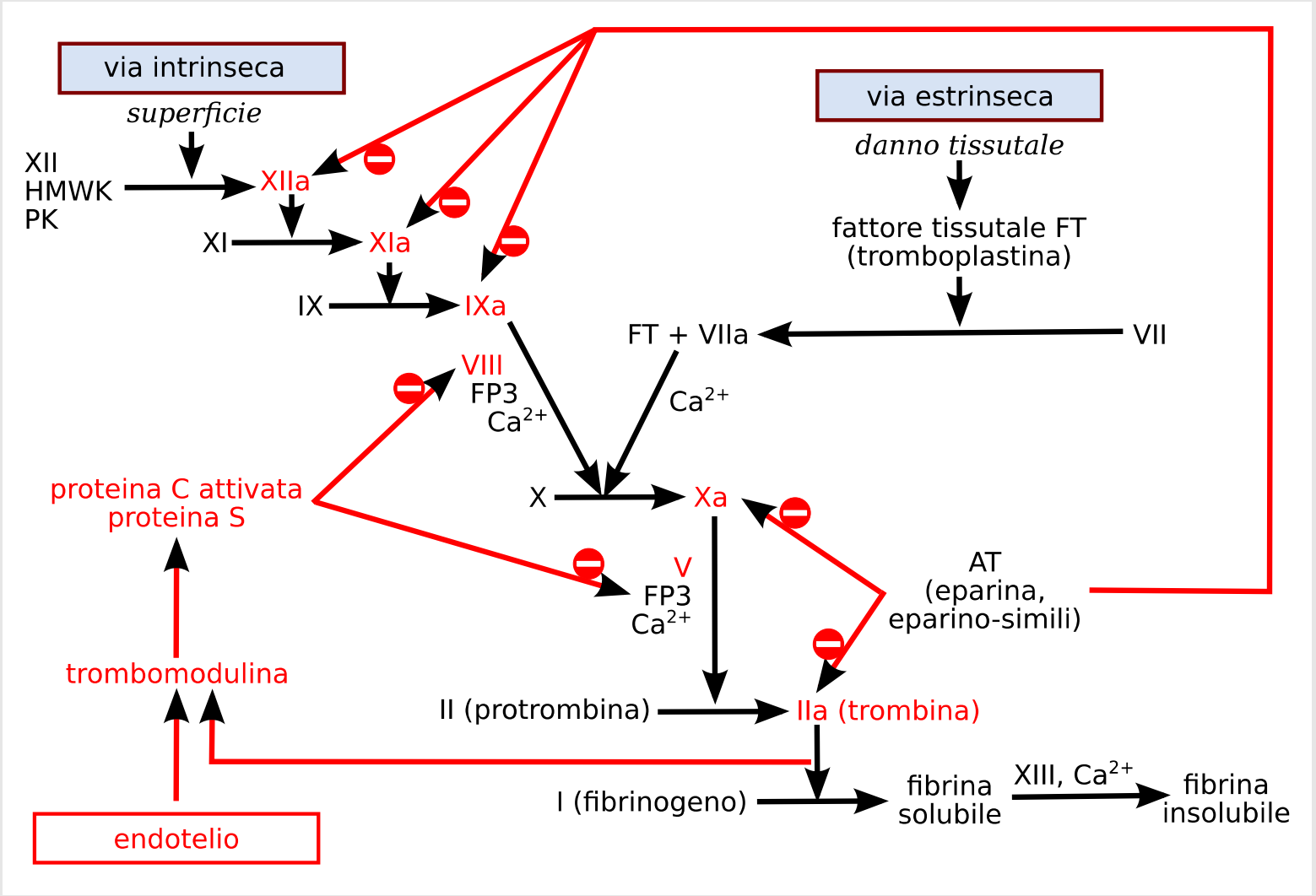
La trombina:

- *induce direttamente l'aggregazione e la secrezione piastrinica*
- *attiva l'endotelio che a sua volta genera molecole di adesione leucocitaria, ed una varietà di mediatori:*
  - fibrinolitici: tPA (attivatore del plasminogeno tissutale)
  - vasoattivi: NO, PGI_2
  - citochine: PDGF (platelet *derived growth factor*)
- *attiva direttamente cellule infiammatorie mononucleate*

14.4. Inibitori della coagulazione

Figura 14.21. Inibitori della coagulazione

Praticamente ogni singolo passaggio del processo coagulativo può venire controllato dalla produzione di specifici inibitori



14.4.1. Sostanze ad azione anticoagulante

Tipi di sostanze anticoagulanti

☞ Al di fuori del circolo il sangue può essere mantenuto liquido rimuovendo tutto il fibrinogeno oppure aggiungendo sostanze anticoagulanti

Si distinguono due gruppi di sostanze ad azione anticoagulante:

- sostanze chelanti il calcio, che di fatto sottraggono il calcio alla cascata coagulativa
- inibitori della trombina

Sostanze chelanti il calcio

Tabella 14.2. Utilizzo delle sostanze chelanti il calcio. Diverse molecole ad attività anticoagulante vengono utilizzate per impedire la formazione del coagulo in vitro *a seconda del tipo di analisi che si vuol compiere. VES: velocità di eritro-sedimentazione; EDTA: acido etilendiamminotetracetico*

sostanza	caratteristiche peculiari	utilizzo	codice colore
citrato	azione reversibile non tossico	trasfusioni determinazione della VES conta delle piastrine quantificazione dei fattori della coagulazione	provetta con tappo blu chiaro
fluoruro di sodio		glicemia	provetta con tappo grigio per glicemia contenente inibitore della glicolisi
EDTA	azione irreversibile soluzione di sali di Na e K	emocromo	provetta con tappo viola/lavanda
eparina	esalta l'attività dell'anti-trombina	non può essere usata per emocromo perché induce aggregati di leucociti e piastrine	provetta con tappo verde

14.5. Fibrinolisi 

☞ Il sistema fibrinolitico è una cascata proteasica che conduce alla formazione di plasmina (anche detta fibrinolisina)

- *la plasmina idrolizza la fibrina*

☞ La cascata fibrinolitica è strettamente controllata da

- fattori che portano alla sua attivazione
- fattori che ne rallentano la velocità

La funzione della plasmina è duplice:

- bloccare l'espansione indefinita dell'evento coagulativo
- sciogliere piccoli coaguli insorti senza una forte pressione pro-coagulativa limitando gli eventi coagulativi efficaci alle situazioni realmente significative

L'attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA)

☞ L'affinità di t-PA (attivatore tissutale del plasminogeno) per la fibrina lo rende un efficientissimo agente terapeutico in quanto indirizza l'attività fibrinolitica sui coaguli di recente formazione

☞ L’importanza del t-PA per la fibrinolisi è confermata dal successo delle terapie con t-PA ricombinante nell’infarto miocardico acuto, dove la somministrazione sistemica di questo composto è in grado di riaprire la coronaria occlusa dal trombo, riducendo l’estensione e la gravità dell’infarto

Il sistema fibrinolitico ed i suoi attivatori ed inibitori

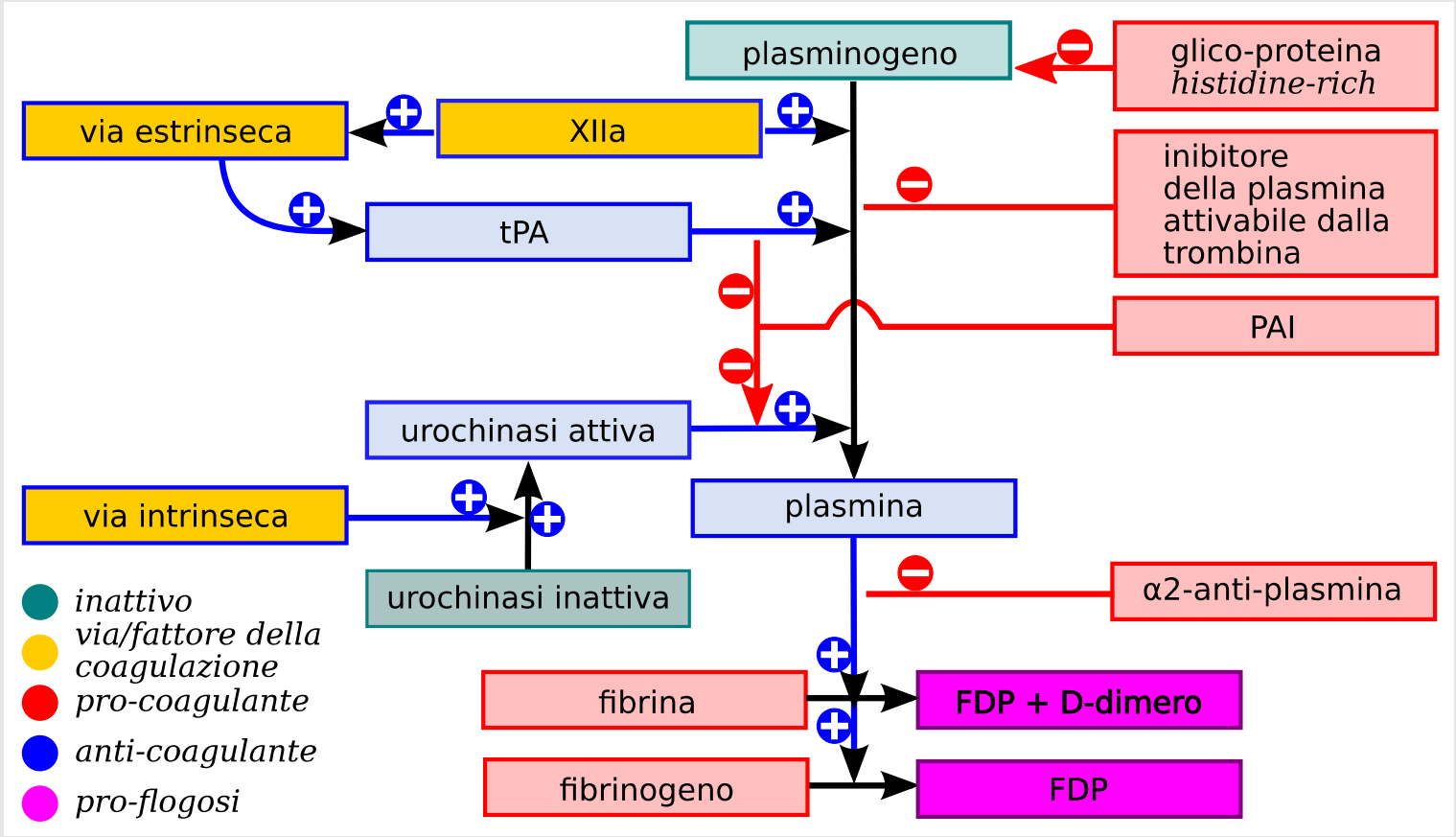


Figura 14.22. Il sistema fibrinolitico ed i suoi attivatori ed inibitori

Via estrinseca: via estrinseca della coagulazione; via intrinseca: via intrinseca della coagulazione; tPA: tissue plasminogen activator *(attivatore tissutale del plasminogeno); PAI:* plasminogen-activator inhibitor *(inibitore dell'attivatore del plasminogeno); FDP:* fibrin degradation products *(prodotti di degradazione della fibrina); XIIa: fattore XII di Hageman attivato. Liberamente tratto da Tripodi (2011)*

Il PAI è prodotto dalle cellule endoteliali e dalle piastrine

La plasmina

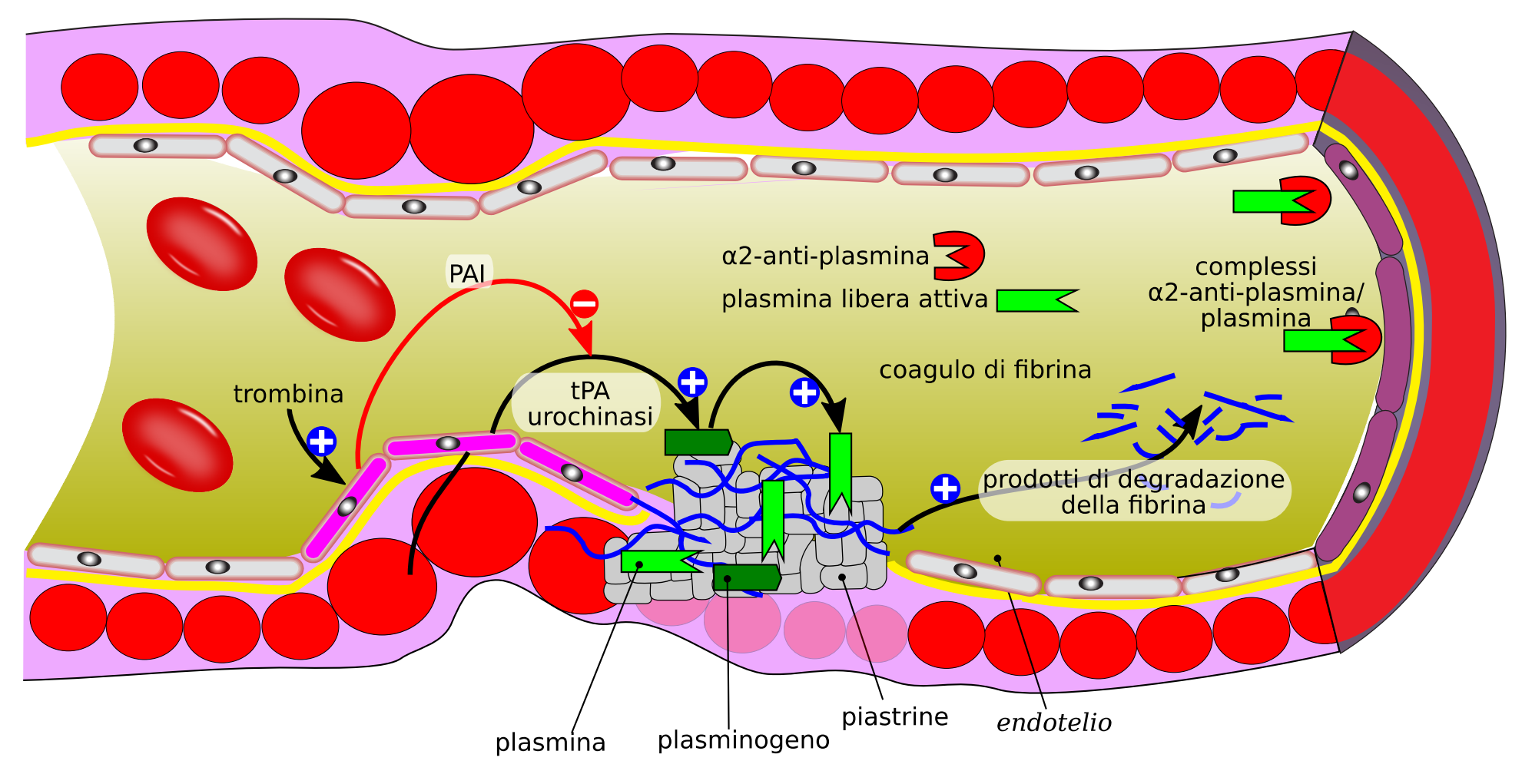


Figura 14.23. La plasmina e la sua regolazione. PAI: plasminogen activator inhibitor *(inibitore dell'attivatore del plasminogeno); tPA:* tissue plasminogen activator *(attivatore tissutale del plasminogeno)*

14.6. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Strocchi, E. (2012), Lezioni di Patologia generale, II edizione digitale, Rimini, Polo Scientifico Didattico di Rimini. ISBN 9788897617020 pubblicata all'indirizzo http://amsacta.unibo.it/3437/

Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T. (1999) Robbins pathologic basis of disease. VI ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia

Kumar, V., Fausto, N, Abbas, A., Aster, J. (2009) Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. VIII ed. Elsevier Saunders, Philadelphia

Mann, K.G. (1984) The biochemistry of coagulation. Clin. Lab. Med. 4, 207-220

Ross, R. (1999) Atherosclerosis. an inflammatory disease. N. Engl. J. Med. 340, 115-126

Siti web

barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2012	*visitato il 25/09/2012*	*accessibile il 31/01/2014*
barbieri_strocchi_lezioni_di_patologia_generale_2014	*visitato il 31/01/2014*	*accessibile il 31/01/2014*









Finito di comporre in Rimini nel mese di gennaio 2014

