

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
"PARTHENOPE"**

corso di

Marcatori molecolari per lo sport

Docente del corso: Prof.ssa A. Alfieri



La biochimica clinica

- nello stato di salute
- nell'attività motoria



I PRINCIPALI MARCATORI BIOCHIMICO-CLINICI E MOLECOLARI UTILI :

- a) nel monitoraggio dello stato di salute e di miglioramento della salute anche in seguito a esercizio fisico al fine di poter meglio comprendere l'effetto dell'attività fisica sul soggetto;
- b) nell'accertamento del doping.



FLUIDI BIOLOGICI: IL SANGUE

IL SANGUE E' UN TESSUTO CONNETTIVO FLUIDO
(8% del peso corporeo)

ESSO FORNISCE ALLE CELLULE NUTRIENTI ED OSSIGENO

RIMUOVE I PRODOTTI DI RIFIUTO

PROVVEDE AL TRASPORTO DEGLI ORMONI PRODOTTI DAL
SISTEMA ENDOCRINO E DALLE CELLULE DEL SISTEMA
IMMUNITARIO

PROPRIETA' GENERALI DEL SANGUE

IL SANGUE E' COMPOSTO DA 2 PARTI:

PARTE LIQUIDA (55%): PLASMA

PARTE CORPUSCOLATA (45%): GR, GB, PIASTRINE

DENSITA' E' 1.054-1.060 g/ml

Il pH 7.35-7.45



In presenza di
anticoagulante

In assenza di
anticoagulante

PLASMA SANGUIGNO

E' COSTITUITO PER IL 90% DA ACQUA

SONO PRESENTI NEL PLASMA LE PROTEINE (7%); SALI MINERALI (0,9%); COMPONENTI NON PROTEICI (2%)

LA PROTEINA MAGGIORMENTE RAPPRESENTATA E' L'ALBUMINA (55%-65%)

LE GLOBULINE SONO UNA MISCELA DI PROTEINE DIVISE IN α , β , γ



PROTEINE SIERICHE E PLASMATICHE

In biochimica clinica quando si parla di proteine generalmente ci si riferisce alle proteine sieriche o plasmatiche.

Le proteine presenti nel plasma sono circa 60-80 gr/L, nel siero sono poco di meno per l'assenza del fibrinogeno.

La sintesi delle proteine del sangue è regolata da ormoni, quali il cortisolo e la tiroxina che stimolano la produzione di albumina, dallo stato nutrizionale e dalle condizioni generali di salute.

SEPARAZIONE PROTEINE PLASMATICHE

Le principali frazioni proteiche possono essere separate in base alla loro diversa velocità di migrazione in un campo elettrico (su gel di acetato di cellulosa o di agarosio) nel caratteristico tracciato a "cinque bande", che è poi sottoposto a lettura densitometrica.

Mediante elettroforesi è possibile separare l'albumina dalle globuline e, nell'ambito di queste ultime, distinguere diverse classi: α -1, α -2, β (β 1 e β 2) e γ -globuline.



Buono P. et al. “Attività fisica per la salute” Idelson-Gnocchi ed. Napoli, 2009

PROTEINE PLASMATICHE

L'albumina, è la più abbondante delle proteine plasmatiche

- E' sintetizzata dal fegato ed ha una vita media di circa 20 giorni.
- Il livello ematico dell'albumina è di 35-50 gr/L
- ✓ Svolge importanti funzioni di trasporto
- ✓ E' difficile riscontrare un aumento della sua concentrazione nel sangue (iperalbuminemia), mentre diverse sono le cause di una sua diminuzione (ipoalbuminemia) che si osserva per valori inferiori a 32 gr/L.

ALBUMINA

✓ L'ipoalbuminemia si osserva in caso di:

- a) perdita di albumina;
- b) apporto inadeguato di proteine con la dieta;
- c) diminuzione della sintesi epatica;
- d) aumentato catabolismo.

✓ L'iperalbuminemia (rara) è generalmente legata ad un fenomeno di disidratazione spesso evidente al termine di un allenamento o di una gara di lunga durata, dove l'atleta non è stato adeguatamente reidratato



GLOBULINE

LE α e β globuline SONO GLICOPROTEINE E LIPOPROTEINE

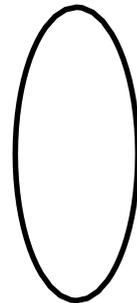
TRASPORTANO OLIGOSACCARIDI, LIPIDI, STEROIDI E
ORMONI

TRANSFERRINA E CERULOPLASMINA TRASPORTANO
FERRO E RAME

GLOBULINE

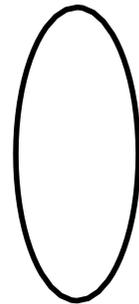
Nella banda α -1 comigrano l' α -1 fetoproteina e l' α -1antitripsina; quest'ultima è una importante proteina che svolge funzioni inibitoria nei confronti delle proteasi seriniche extracellulari.

Questa frazione proteica aumenta in gravidanza, nelle malattie infettive, nelle malattie infiammatorie croniche, nell'infarto del miocardio e nelle neoplasie



α -2 GLOBULINE

- ✓ Nella banda α -2 sono principalmente rappresentate l' α 2-macroglobulina, l'aptoglobina e l'eritropoietina.
- ✓ Durante l'attività fisica intensa e prolungata si può verificare una lieve emolisi intravascolare da sforzo, in questi casi, il legame dell'aptoglobina con l'emoglobina liberata dai globuli rossi, determina una riduzione dei livelli circolanti di aptoglobina libera.



β-GLOBULINE

✓ Tra le β-globuline sono rappresentate proteine di trasporto come alcune lipoproteine, la transferrina (deputata al trasporto del ferro), la ceruloplasmina (deputata al trasporto del rame), proteine destinate al trasporto di ormoni sessuali o steroidei.

✓ La diminuzione delle beta globuline rispetto ai valori normali può essere causata da: malattie congenite (lipoproteinemia congenita) o alterazioni della funzionalità dello stomaco o dell'intestino. L'aumento delle beta globuline si riscontra in gravidanza, o patologie epatiche



GAMMA-GLOBULINE

Nella banda gamma sono raccolte le immunoglobuline, proteine sintetizzate dalle plasmacellule in risposta a stimoli antigenici.

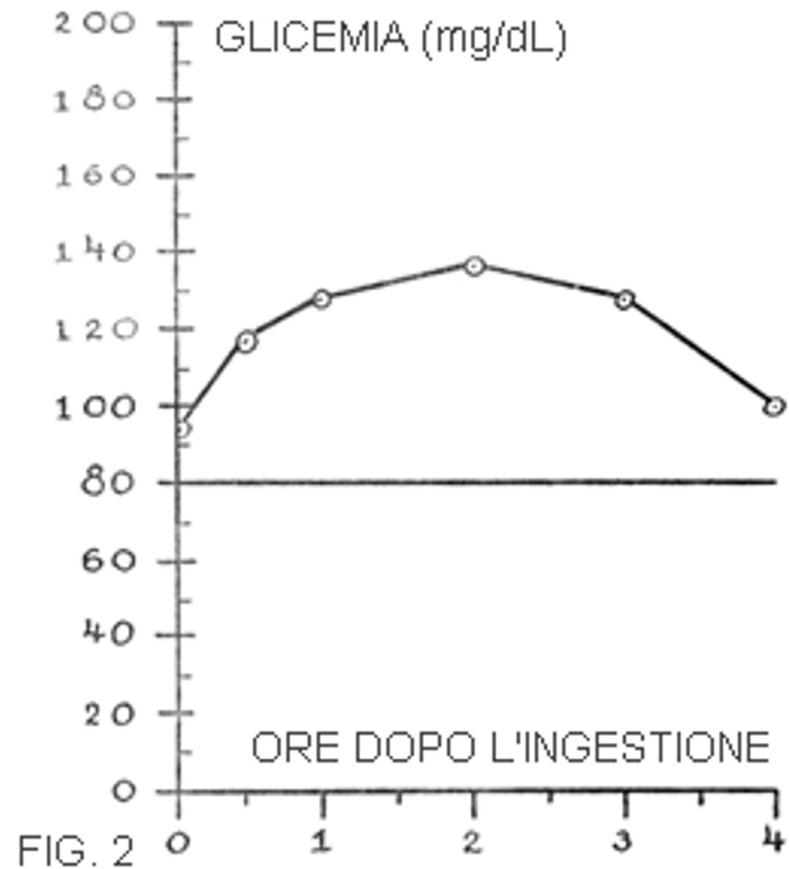
La diminuzione delle gamma globuline rispetto ai valori normali può essere dovuta a malnutrizione, alterazione della funzionalità renale, ustioni, farmaci immunosoppressori.

□L'aumento delle gamma globuline può essere dovuto ad epatite, cirrosi epatica, infezioni batteriche, malattie causate da parassiti (per esempio la tenia), malattie autoimmuni, tumori, assunzione di droghe (tossicodipendenza).



Glicemia

Concentrazione di glucosio nel sangue



VR: 70-100mg /dL
3.9-5.6 mmol/L

Glicemia omeostasi

ORMONE IPOGLICEMIZZANTE



INSULINA

abbassa la concentrazione del glucosio ematico

ORMONI IPERGLICEMIZZANTI



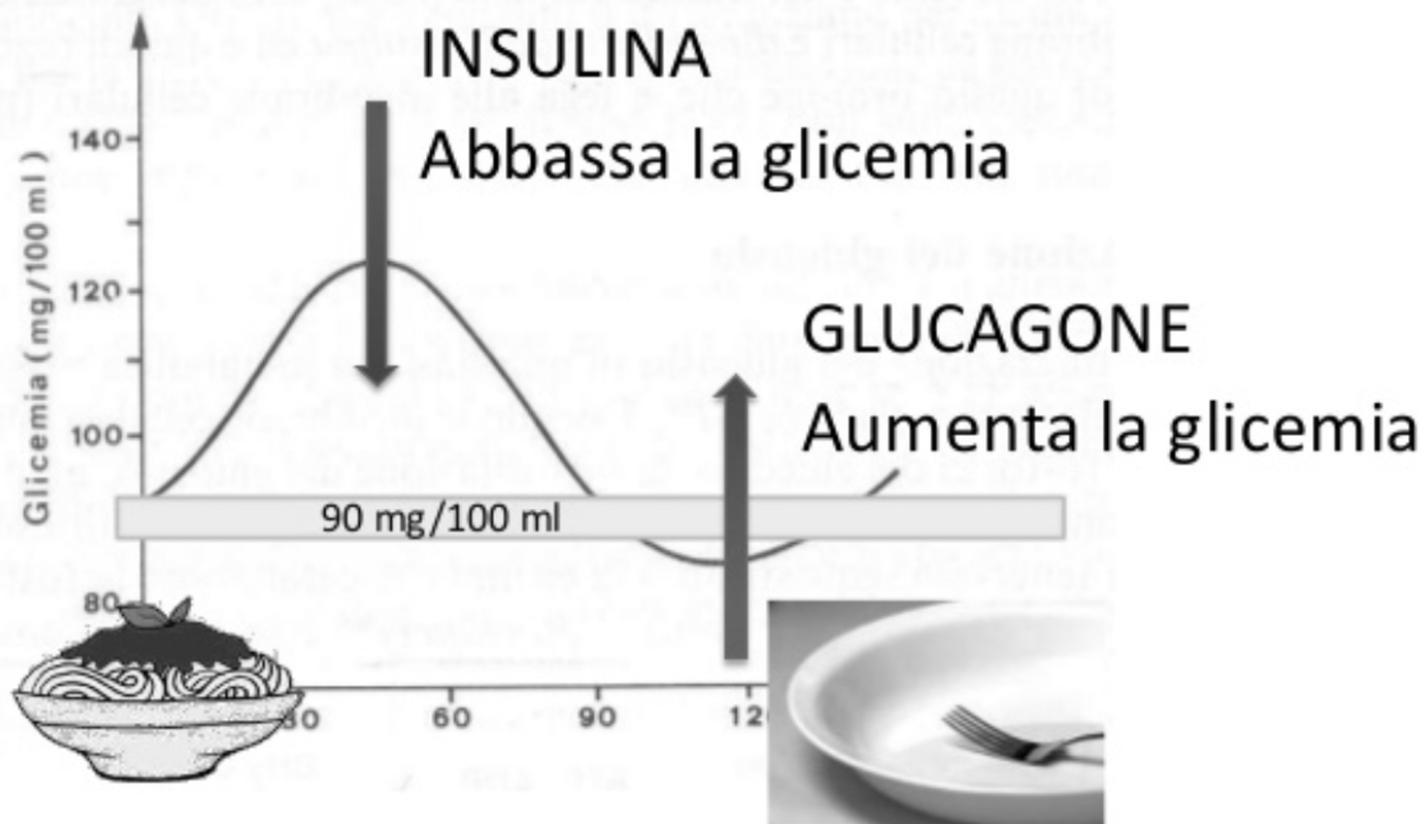
GLUCAGONE ED
ORMONE DELLA
CRESCITA (GH)

aumentano la concentrazione in condizioni fisiologiche

GLUCOCORTICOIDI
E ADRENALINA

aumentano la concentrazione in situazioni patologiche (digiuno protratto e stress).

ANDAMENTO DELLA GLICEMIA DOPO UN PASTO





ALTERAZIONI DEL METABOLISMO DEI CARBOIDRATI

Si classificano in base alla glicemia

- **IPERGLICEMIA:** si ha quando il livello ematico di glucosio a digiuno si eleva sopra i 110mg/dl. (Diabete mellito, insufficienza epatica)
- **IPOGLICEMIA:** si ha quando il livello ematico di glucosio a digiuno è inferiore sotto i 70 mg/dl. (carenze ormonali, disordini genetici)
- **GLICOSURIA:** glucosio nelle urine si ha quando viene superata la soglia renale per il glucosio (160-180 mg/dl)

DIAGNOSI

GLICEMIA A DIGIUNO >126 mg/dl

GLICEMIA DOPO 2 H DAL CARICO DI GLUCOSIO ≥ 200 mg/dl

Emoglobina glicata (HbA1C) = 48 mmol/(6.5%)

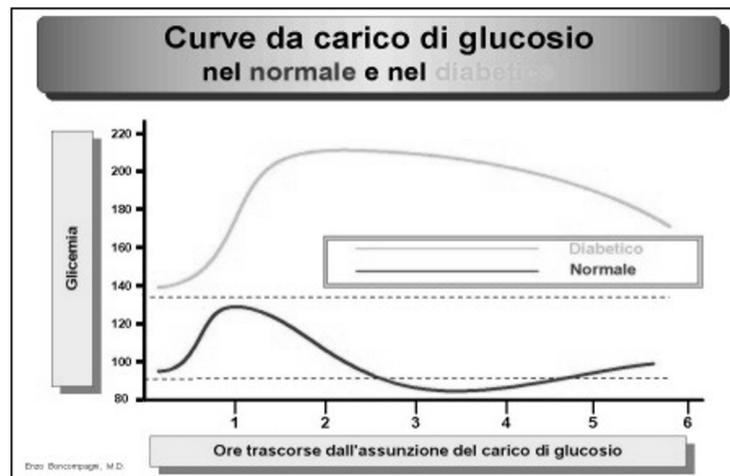
Tali valori dovranno essere riconfermati in giorni differenti

Valore casuale di Glicemia ≥ 200 mg/dl in presenza di altri sintomi quali poliuria, polidipsia, perdita di peso

DIAGNOSI

Quando la glicemia a digiuno è compresa tra 100 e 125 mg/dl si parla di alterata glicemia a digiuno (IFG), una condizione che può essere considerata di pre-diabete rappresentando un fattore di rischio per lo sviluppo di diabete e di malattie cardiovascolari.

Per un corretto inquadramento dei pazienti con IFG si procede con il test da carico di glucosio orale OGTT. Il test si va effettuato somministrando 75 g di glucosio anidro al paziente.



Al paziente vengono prelevati campioni di sangue venoso a tempi diversi:

al tempo zero (T0) e dopo l'assunzione di glucosio ogni 30 minuti T30, T60, T90 e T120.

Su tali campioni viene valutata la glicemia: un valore a T120 maggiore di 200 mg/dl è indicativo di diabete.

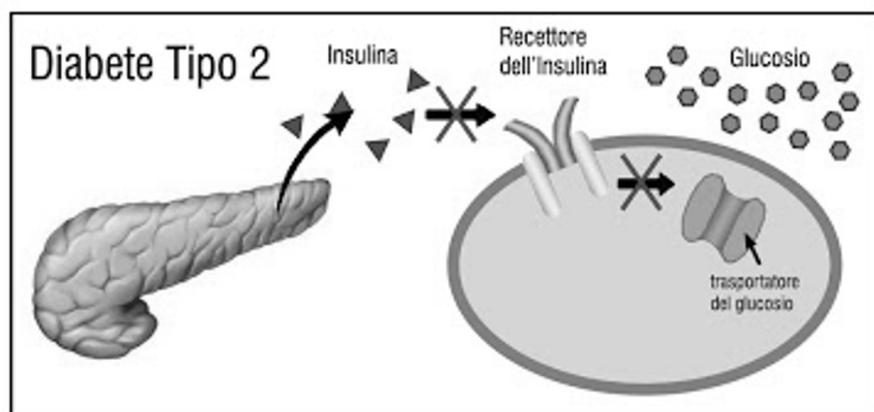
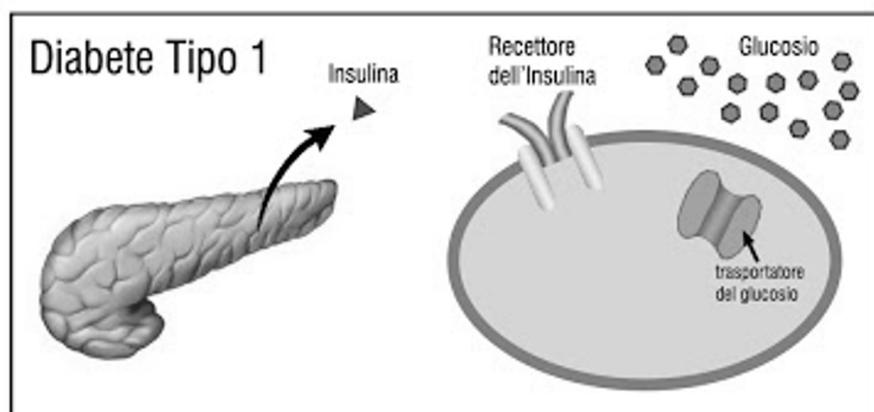
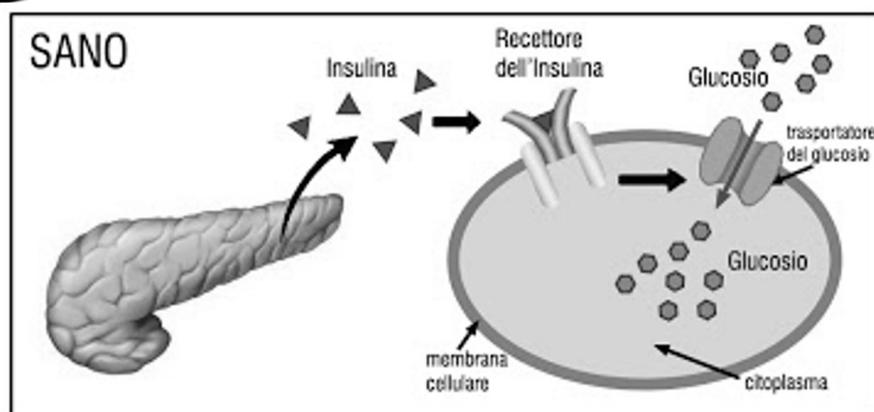
Emoglobina glicata (HbA1c)

L'emoglobina glicata viene prodotta in una reazione chimica non enzimatica a seguito dell'esposizione dell'emoglobina ad alte concentrazioni di glucosio ematico.

La quantità di emoglobina glicata è direttamente proporzionale ai livelli plasmatici di glucosio .

L'importanza di questo parametro è data dal fatto che questo risente della storia glicemica del paziente negli ultimi 120 giorni (la vita media dei globuli rossi): per queste caratteristiche tale parametro può essere utilizzato sia per la diagnosi che per il monitoraggio di un paziente diabetico.

Si fa diagnosi di diabete in presenza di valori di emoglobina glicata $\geq 48\text{mmol}$



	Diabete di tipo 1	Diabete di tipo 2
Età all'esordio	< 20 anni	> 30 anni
Esordio	Brusco; spesso severo con chetoacidosi	Graduale; di solito subdolo; spesso asintomatico
Peso corporeo	Nella norma	Sovrappeso
Genetica (genitori o fratelli/sorelle diabetici)	< 20%	> 60%
Gemelli monozigoti	50% concordanti	90% concordanti
Associazione con HLA	Presente	Assente
Anticorpi anti cellule insulari	Presenti	Assenti
Lesioni insulari	Insulite precoce Atrofia e fibrosi tardive	– Fibrosi e amiloidosi
Cellule β	Numero marcatamente ridotto	Numero normale o lievemente ridotto
Insulinemia	Marcatamente ridotta	Elevata o nella norma
Clinica	Somministrazione controllata e costante di insulina	Dieta, esercizio fisico, somministrazione di ipoglicemizzanti orali, insulina



PARTE CORPUSCOLATA DEL SANGUE

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO O EMOCROMO

Tra gli esami di laboratorio è quello maggiormente richiesto per una valutazione generale sullo stato di salute di un individuo.

Oggi viene eseguito grazie all'utilizzo di analizzatori automatici

Generalmente tale esame viene eseguito su prelievo ematico trattato con l'anticoagulante

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO O EMOCROMO

Un emocromo completo è strutturato in tre compartimenti, che attualmente comprendono i seguenti parametri:

- 1) conta dei globuli rossi (GR), ematocrito (Ht), concentrazione dell'emoglobina (Hb), volume cellulare medio (MCV), contenuto emoglobinico eritrocitario medio (MCH), concentrazione emoglobinica eritrocitaria media (MCHC) ed ampiezza di distribuzione del volume eritrocitario (RDW)
- 2) conta dei globuli bianchi (GB) e formula leucocitaria;
- 3) conta piastrinica



ESAME EMOCROMOCITOMETRICO



PARTE CORPUSCOLATA DEL SANGUE GLOBULI ROSSI

GLOBULI ROSSI (ERITROCITI)

**SONO CELLULE ANUCLEATE NEL CUI INTERNO E'
CONTENUTA L'EMOGLOBINA (Hb)**

HANNO UNA VITA MEDIA DI CIRCA 120 gg



MORFOLOGIA DEI GR

HA UNA FORMA DI DISCO TONDEGGIANTE CON
COLORAZIONE ROSA MAGGIORMENTE INTENSA
ALLA PERIFERIA

IPOCROMIA-RIDUZIONE DEL CONTENUTO DI
EMOGLOBINA DEGLI ERITROCITI CON COLORAZIONE
PALLIDA



GLOBALI ROSSI-MORFOLOGIA



CARATTERISTICHE DEI GR

IL NUMERO DI GR PRESENTI NEL SANGUE DI UN SOGGETTO MASCHIO ADULTO E' $4,5-6 \times 10^6 / \text{mm}^3$

IL NUMERO DI GR PRESENTI NEL SANGUE DI UNA DONNA ADULTA E' $4,0-5 \times 10^6 / \text{mm}^3$

ALLA NASCITA VARIA DA 4 A $6,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$

UNA CARENZA DI GLOBULI ROSSI SI DICE ANEMIA



GR-DIMENSIONI



DISTRIBUZIONE MASSA SANGUIGNA

GR

FUNZIONE

TRASPORTARE OSSIGENO AI TESSUTI PERIFERICI ED ANIDRIDE CARBONICA DERIVANTE DAL METABOLISMO CELLULARE AI POLMONI.

ORIGINE

DAL MIDOLLO OSSEO EMOPOIETICO A PARTIRE DA CELLULE IMMATURE CHIAMATE ERITROBLASTI: NUMEROSE SOSTANZE COME FERRO, VITAMINA B12 ED ACIDO FOLICO SONO FONDAMENTALI PER LA COMPLETA MATURAZIONE DEI GR.



EMOGLOBINA

E' UNA PROTEINA CONIUGATA COSTITUITA DA UNA PARTE PROTEICA (GLOBINA) (2α e 2β)

DA UNA PARTE CONTENENTE FERRO (EME) - L'EME E' COSTITUITO DA 4 GRUPPI PIRROLICI TENUTI INSIEME DA UN ATOMO DI FERRO



DOSAGGIO DELL'EMOGLOBINA

- Il dosaggio dell'emoglobina ci fornisce dati sulla capacità di trasportare ossigeno ai tessuti
- Nei maschi adulti la concentrazione nel sangue è 12-17 gr/dl
- Nelle donne in età fertile 12-16 gr/dl

(EMATOCRITO HT)

L'EMATOCRITO (Ht) ESPRIME IN TERMINI PERCENTUALI IL VOLUME OCCUPATO DAI GR SUL VOLUME TOTALE DI SANGUE

V.N. DONNA 35-47%

V.N. UOMO 40-50%

V.N. NEONATO 44-62%

AUMENTA NELLE POLIGLOBULIE

DIMINUISCE NELLE ANEMIE E NELL'EMODILUIZIONE

DAL NUMERO DI GR E DAI VALORI DI HT ED HB
È POSSIBILE RICAVARE I QUATTRO INDICI
ERITROCITARI MCH, MCHC, MCV, RDW

MCH-contenuto medio di emoglobina

Hb/GR; V.N. 27-34pg

Ipocromici: MCH inferiore a 25 pg

Normocromici: MCH 27-34 pg

Ipercromici: MCH maggiore di 34 pg

**MCHC-concentrazione emoglobinica globulare media che indica
il livello di saturazione di Hb della massa eritrocitaria**

Hb/Ht x100; V.N. 31-36%

DAL NUMERO DI GR E DAI VALORI DI HT ED HB
È POSSIBILE RICAVARE I QUATTRO INDICI
ERITROCITARI MCH, MCHC, MCV, RDW

MCV-volume globulare medio
 $Ht \times 1000 / GR$; V.N. 80-97 fL
VN $70-100 \mu m^3$

Microcitici: MCV inferiore a 80 fL

Normocitici: MCV= 80-97 fL

Macrocitici : MCV maggiore di 97 fL

(aumenta negli sport di resistenza e sovrallenamento)

RDW-ampiezza di distribuzione del volume eritrocitario
che esprime il grado di eterogeneità delle dimensioni degli
eritrociti informandoci sulla presenza di globuli rossi di
differenti dimensioni (anisocitosi)
VN 11-14%

RETICOCITTI (RET)

SONO GR GIOVANI IN GRADO DI SINTETIZZARE L'Hb
(sono anch'essi privi di nucleo ma conservano i ribosomi)

Con una particolare colorazione (blu cresile brillante) i ribosomi precipitano sotto forma di una sostanza granulosa e filamentosa "reticolare"

V.N. 0.5 -1.5% (in rapporto al numero di eritrociti)

AUMENTANO IN CASO DI IPERATTIVITA' ERITROPOIETICA
(EMORRAGIA, TRATTAMENTO CON EPO)

CARATTERISTICHE DEI GB

QUESTE CELLULE SONO DI DIMENSIONI MAGGIORI RISPETTO AGLI ERITROCITI E PRESENTANO UN NUCLEO

V.N. DI GB PRESENTI IN UN SOGGETTO ADULTO 4.000-10.000x mm^3

V.N. NEONATO 9000-25000x mm^3

SI PARLA DI LEUCOCITOSI SE IL NUMERO E' SUPERIORE AI VALORI MASSIMI

LEUCOPENIA SE IL NUMERO E' INFERIORE AI VALORI MINIMI



FUNZIONE DEI GB

**HANNO FUNZIONE DI DIFESA DELL'ORGANISMO
DALLE INFEZIONI**

UN NUMERO DI GB ELEVATO E' INDICE DI INFEZIONE

**PER SCOPI DIAGNOSTICI SI RICORRE ALLA CONTA
DIFFERENZIALE DEI GB**

MORFOLOGIA DEI GB

IN BASE A DIFFERENTE COLORAZIONE I GB SI SUDDIVIDONO IN:

LINFOCITI	20-45%	}	AGRANULOCITI
MONOCITI	3-10%		

I GRANULOCITI SI SUDDIVIDONO IN:

NEUTROFILI	40-70%
EOSINOFILI	0-6%
BASOFILI	0-1.5%



GRANULOCITA

neutrofilo

eosinofilo

AGRANULOCITA
linfocita



PIASTRINE

SONO PIU' PICCOLE DEI GR E NON HANNO NUCLEO

IL NUMERO DI PIASTRINE PRESENTI NEL PLASMA
DI UN SOGGETTO SANO E' 250.000-400.000x mm^3

CONTENGONO CEFALINA COINVOLTA NEI PROCESSI DI
COAGULAZIONE DEL SANGUE



PIASTRINE





ANEMIA

E' LA CONDIZIONE IN CUI SI VERIFICA UNA DIMINUIZIONE DEL CONTENUTO DI EMOGLOBINA AL DI SOTTO DEI VALORI MINIMI NORMALI

PER LA VALUTAZIONE DI ANEMIA SI DEVE TENER CONTO DI:
Hb, Ht, NUMERO DEI GR



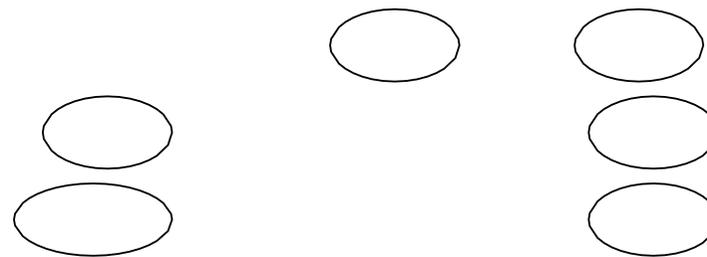
CLASSIFICAZIONE DELLE ANEMIE

NORMOCITICHE- MCV NORMALE

MICROCITICHE- MCV INFERIORE ALLA NORMA

MACROCITICHE- MCV SUPERIORE ALLA NORMA

INDICI ED ANEMIA





EFFETTI SULL'ORGANISMO DELLO STATO ANEMICO

- RIDOTTO APPORTO DI OSSIGENO AI TESSUTI
- AUMENTO DELLA GITTATA SISTOLICA E DELLA FREQUENZA CARDIACA
- AUMENTO DELLA VELOCITA' DI CIRCOLO CON AUMENTATA QUANTITA' DI SANGUE CHE ARRIVA AI TESSUTI



CLASSIFICAZIONE FISIOPATOLOGICA DELLE ANEMIE



ANEMIA MEDITERRANEA

L'anemia mediterranea, detta anche microcitemica è il nome con il quale viene conosciuta l'eterozigosi per la β -talassemia, una malattia genetica autosomica recessiva.

Nella malattia, detta talassemia major o anche morbo di Cooley) è assente la sintesi delle due catene di beta-globina che, assieme a due catene alfa, costituiscono l'emoglobina.

Ciò comporta un eccesso di catene alfa che si accompagna a danno alle membrane eritrocitarie, eritropoiesi inefficace, anemia emolitica grave. La sopravvivenza dipende dalle trasfusioni.

- Nell'anemia mediterranea (portatori del tratto talassemico) si ha ridotta sintesi della catena beta; la condizione è asintomatica con modesta anemia ipocromica microcitica ed emoglobina superiore a 10g/dl.

ANEMIA FALCIFORME

- L'ANEMIA FALCIFORME E' UNA MALATTIA GENETICA AUTOSOMICA RECESSIVA
- E' CARATTERIZZATA DA ERITROCITI CON STRUTTURA A FORMA DI FALCE
- L'EMOGLOBINA ALTERATA E' DETTA EMOGLOBINA S
- E' DOVUTA ALLA SOSTITUZIONE SULLA CATENA β DI UN Glu CON Val



ANEMIA FALCIFORME

ANEMIA FALCIFORME

Questa caratteristica forma a falce assunta dai globuli rossi li rende spigolosi e facilmente aggregabili. Ciò rappresenta un grosso ostacolo al normale transito degli eritrociti all'interno dei vasi sanguigni.

Le cellule falciformi, inoltre, sono più fragili di quelle normali e vanno facilmente incontro ad emolisi, determinando una grave forma anemica.

Le conseguenze dell'anemia falciforme sono quindi legate all'aumento della viscosità ematica, alla riduzione della quantità di ossigeno disponibile per i tessuti e alla comparsa di fenomeni vaso-occlusivi.



ANEMIA FALCIFORME



ANEMIA SIDEROPENICA

E' UN'ANEMIA IPOCROMICA, MICROCITICA

CAUSA E' RIDOTTA SINTESI EMOGLOBINICA DA SCARSA
DISPONIBILITA' DI FERRO

E' LA FORMA PIU' FREQUENTE DI ANEMIA

PREVALE NELLE DONNE IN ETA' FERTILE, NEI BAMBINI
PER CARENZE DIETETICHE, NELL'ETA' SENILE,
IN ALCUNE DISCIPLINE SPORTIVE A SEGUITO DI DIETE
TROPPO RESTRITTIVE



ANEMIA SIDEROPENICA



METABOLISMO DEL FERRO

FERRO

La pratica sportiva incrementa le perdite giornaliere di ferro

Nei fondisti e maratoneti le perdite di ferro con feci e sudore sono 2-3 volte superiori ai livelli presenti nei sedentari

La prevalenza di deficienza di ferro è maggiore tra le donne (in USA, ad esempio, è pari al 20% tra le giovani donne ed aumenta fino al 25-35% tra le donne che praticano sport) (*Sinclair LM et al, 2005*)



ANEMIA SIDEROPENICA: EZIOPATOGENESI

INDAGINI DI LABORATORIO

Emocromo (sangue)

Hb ridotta

MCV- ridotto fino a 60-70 μm^3

MCHC-ridotta fino al 20%

GR-microcitici

Indagini su siero

Fe sierico-ridotto

Ferritina-diminuita

TIBC- aumentata per aumento della quota di transferrina libera



ESAME EMOCROMOCITOMETRICO N

REFERTO ANEMIA

