



Corso di laurea in Infermieristica (0530)

Insegnamento: Scienze Biochimiche e biologiche

Modulo: Biochimica clinica e Biologia molecolare clinica

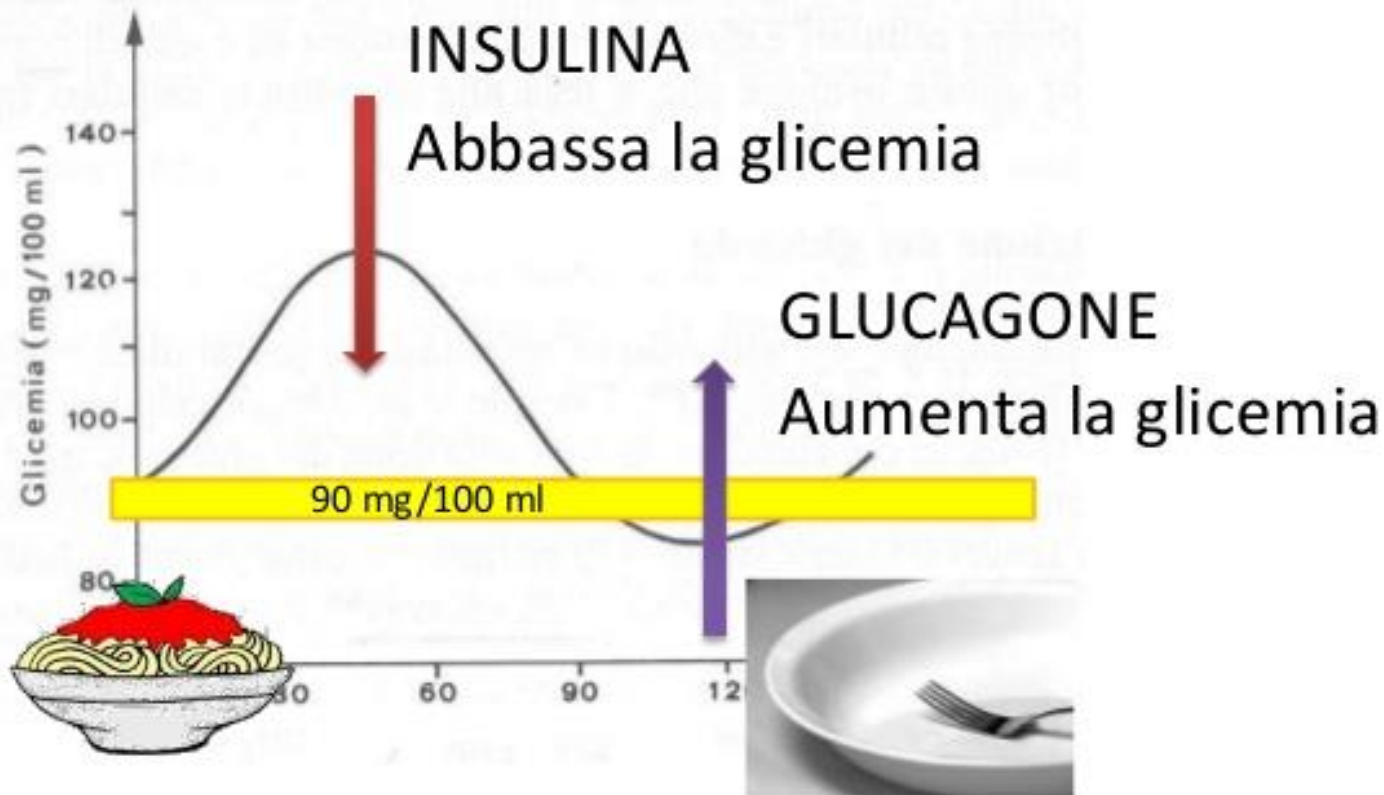
AVVERTENZA SULL'USO DEL MATERIALE DIDATTICO FORNITO AGLI STUDENTI

L'uso del materiale didattico fornito agli studenti deve essere considerato strettamente personale e la sua distribuzione deve essere in ogni caso autorizzata dal docente

ALCUNI MARKERS DI BIOCHIMICA CLINICA

GLICEMIA

ANDAMENTO DELLA GLICEMIA DOPO UN PASTO



a) Condizioni di sazietà: prevale l'insulina ed il suo effetto anabolico



b) Condizioni di digiuno: prevale il glucagone ed il suo effetto catabolico



Valori glicemici a DIGIUNO (mg/dl) *

IPOGLICEMIA	< 60
NORMALE	60-110
IPIERGLICEMIA	> 110
Diabete	>126



DOSAGGIO GLICEMIA

- Esame del sangue di **routine**
- Normalmente richiesta dal medico, anche per un semplice controllo dello stato di salute.
- Dosata in **condizioni:**
 - **di digiuno** (dalla sera prima, non di più, e anche da caffè, tè e sigarette)
 - **di riposo**
 - **evitare** nei giorni precedenti l'assunzione di farmaci in grado di alterare la concentrazione ematica del glucosio, in particolare i glucocorticoidi (cortisone)



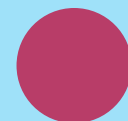
PERCHÉ SI ESEGUE L'ANALISI?

- Il diabete è una patologia caratterizzata da una **carenza** di insulina con conseguente **inutilizzo del glucosio presente nel sangue.**
- Il glucosio accumulatosi passa nelle urine (**glicosuria**)
- Vista l'incapacità di utilizzare normalmente il glucosio, l'organismo del diabetico ricorre ad altre fonti di energia: **lipidi e proteine** con conseguente aumento nel flusso ematico ed urinario di corpi chetonici



COME SI MISURA LA GLICEMIA

- Per **misurare la glicemia in laboratorio** si utilizza:
 1. **plasma** (parte fluida del sangue, cioè la parte priva della componente cellulare, ottenibile con l'aggiunta di anticoagulanti)
 2. **siero** (ciò che resta del plasma dopo la coagulazione)
- Può essere misurata anche su sangue «intero»
- E' leggermente **inferiore** al valore ottenuto su plasma/siero
- Volume occupato dalle emazie (ematocrito), nelle quali la concentrazione del glucosio è **inferiore**

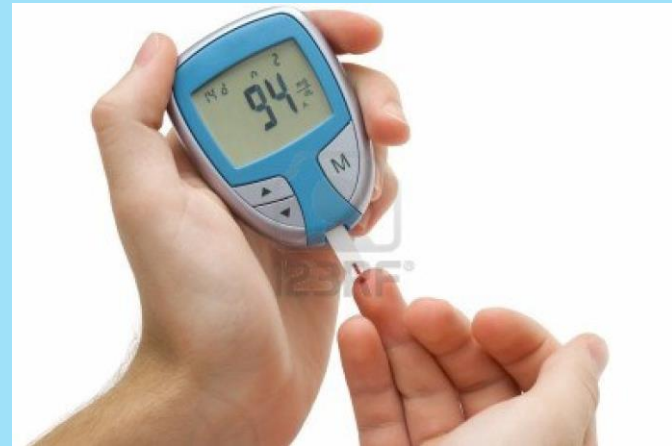
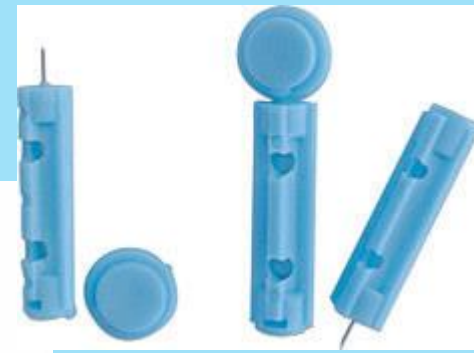


MISURA GLICEMIA

- **Unico metodo affidabile** per la misurazione della glicemia, soprattutto in vista della diagnosi di diabete mellito
→ **laboratorio**
- Si utilizza → principio enzimatico che riconosce in maniera specifica la molecola di glucosio.



AUTOMONITORAGGIO



POCT

Dispositivi portatili (glucometri cosiddetti **POCT** = Point Of Care Technology)

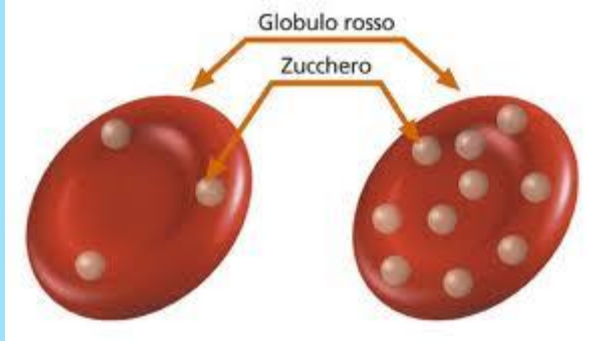
Usati in ambito: ospedaliero, per il monitoraggio extraospedaliero, a domicilio, per l'autocontrollo dei pazienti diabetici

Dosano la glicemia sul sangue intero ottenuto tramite una piccola puntura sul polpastrello di un dito della mano.

Alcuni POCT apportano automaticamente la correzione dei risultati in base al valore di ematocrito



Emoglobina glicata



- emoglobina glicosilata, *emoglobina A1c*, HbA_{1c} , $A1C$, Hb_{1c} , a volte anche $HbA1c$
- L'iperglicemia porta a un legame non enzimatico del glucosio ad un certo numero di proteine (glicazione), che virtualmente è irreversibile nelle condizioni fisiologiche.
- La concentrazione di proteina glicata è un indice del livello medio di glucosio ematico, durante il tempo di vita della proteina.

Emoglobina glicata

- Consente di valutare a grandi linee l'andamento della glicemia negli ultimi due o tre mesi.
- Esame **molto utile** per monitorare il controllo glicemico del paziente diabetico, recentemente rivalutato anche nella diagnosi della malattia.



Emoglobina glicata

- Il glucosio può legarsi in modo **irreversibile** ad una parte specifica dell'emoglobina, formando l' HbA_{1c} .
- La concentrazione viene espressa come **percentuale** dell'emoglobina totale.
- Tanto più alta è la concentrazione ematica di glucosio e tanto maggiore risulta la percentuale di HbA_{1c} .



Emoglobina glicata

- Tutte queste caratteristiche rendono l'**HbA_{1c}** un parametro molto più utile della comune glicemia nella diagnosi e nel monitoraggio del diabete.
- L' **HbA_{1c}** è espressione della glicemia media nel lungo periodo, non di un singolo momento.
- Non è soggetta a variazioni acute (come l'alimentazione del giorno precedente o lo stress da esame) e **non necessita** quindi di un preventivo digiuno di almeno otto ore.



Emoglobina glicata

- Prima del prelievo di sangue il paziente è **libero di mangiare e bere** secondo abitudini.
- La più tipica applicazione dell' **HbA_{1c}** rimane comunque la valutazione del controllo glicometabolico nel medio e lungo periodo.
- Diversi studi hanno dimostrato una stretta correlazione tra il grado di controllo glicemico, valutato in base ai livelli di **HbA_{1c}** , ed il rischio di sviluppo e progressione delle **complicanze croniche del diabete.**



Emoglobina glicata

○ Quindi:

l' HbA_{1c} è utilizzata sia come indice di glicemia media che come valutazione del rischio di sviluppare le complicanze del diabete.

○ Nel diabetico, **l'efficacia di un farmaco o di una terapia generica sono valutati attraverso l'influsso sui livelli di HbA_{1c}**



ESISTE UN VALORE IDEALE DI EMOGLOBINA GLICATA?

- Il valore *normale* di HbA_{1c} nella popolazione è compreso tra **il 4 ed il 5-6%**.
 - *In genere valori uguali o inferiori al 7% indicano un buon controllo glicemico.*
- Le attuali linee guida indicano che **l'obiettivo primario** delle terapie intraprese contro il diabete è quello di mantenere i livelli di HbA_{1c} a concentrazioni non superiori al 7%, meglio se sotto il **6,5%**.
- Nel caso tali valori sconfinino al di sopra dell'8% il trattamento deve essere prontamente rivalutato.



Emoglobina glicata

- Tanto **più alta** è la percentuale di **HbA_{1c}**, tanto maggiore è la probabilità:
 - di sviluppare le complicanze del diabete
 - di aggravare quelle già esistenti
- Tale relazione è valida soprattutto per quel che riguarda la nefropatia, la neuropatia e la retinopatia diabetica.
- **Il dosaggio avviene mediante elettroforesi, cromatografia (HPLC), immunoenzimatica.**



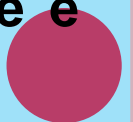


Biochimica clinica e Biologia molecolare
clinica



GLICOSURIA

- Al diabete è stato associato l'aggettivo **mellito** → le urine, proprio per la presenza di zucchero, sono **dolci** e, anticamente, l'assaggio costituiva l'unico modo per diagnosticare la malattia
- La presenza o l'assenza di glicosuria **non ha significato** nella diagnosi del diabete.
- Per ragioni storiche, numerosi controlli sulla salute, per motivi professionali o per altre ragioni, comprendono l'esame del glucosio urinario, che può **rivelare un diabete insospettato.**
- La possibilità di ottenere un **falso negativo** con questo esame è molto elevata.



Analisi che evidenziano alterazione funzionale del cuore

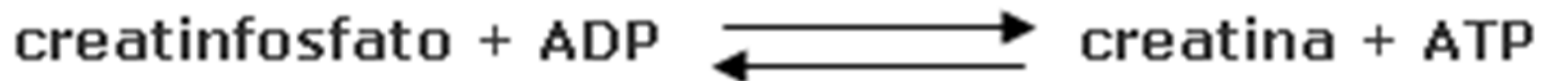


Enzimi cardiaci

- Quando le cellule del miocardio muoiono, si rompono e rilasciano all'esterno il contenuto citoplasmatico.
- Storicamente gli “enzimi cardiaci”, usati comunemente per diagnosticare l'infarto del miocardio, comprendono:
 1. La creatina chinasi (CK)
 2. Transaminasi
 3. Un isoenzima della lattato deidrogenasi (LDH).

Creatinchinasi (CK)

- Detta anche creatina fosfochinasi (CPK)
- **Enzima** presente in vari tessuti e cellule dell'organismo, specie nelle fibre muscolari scheletriche e cardiache
- Catalizza sia la conversione della creatina in fosfocreatina che la reazione inversa



- Nella prima reazione (freccia verso destra) si ha un immagazzinamento di energia

- **Nel corso di un esercizio fisico intenso e di breve durata, la creatinfosfato (o fosfocreatina) - accumulata durante il riposo - cede il proprio gruppo fosfato all'ADP, sintetizzando nuova ATP e mettendo così a disposizione nuova energia per la contrazione muscolare.**

Valori normali

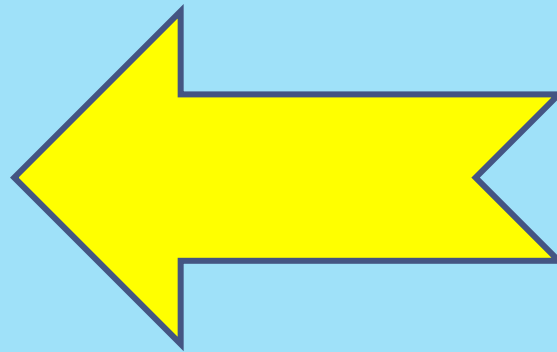
- **Uomo: 33-194U/L**
- **Donna: 35-143 U/L**

Creatinchinasi (CK)

- Poiché la creatinchinasi è presente in grandi quantità nelle **fibre muscolari**, un aumento della sua concentrazione nel sangue indica spesso un *danno al muscolo scheletrico o cardiaco*.
- **Tre diverse isoforme** di creatinchinasi presenti nel corpo umano → possibile diagnosticare a quale livello si è manifestato il danno, distinguendo, per esempio, *un infarto miocardico dal danno provocato dalla distrofia muscolare*.

3 isoenzimi CK-CPK

- **CK-BB**: cervello
- **CK-MB**: cuore
- **CK-MM**: muscolatura scheletrica e cardiaca



CK-MB - Creatinchinasi MB

• I valori di CK-MB si **elevano** in presenza di:

- danno del muscolo cardiaco come l'infarto acuto del miocardio
- trauma
- intervento chirurgico a carico del cuore
- distrofia muscolare, esercizio fisico vigoroso

- **Piccole quantità** di CK-MB sono state riscontrate anche in tessuti diversi dal miocardio →
 - muscolo scheletrico (specialmente nella zona pelvica prostatica)
 - utero
 - polmone
 - milza
 - intestino tenue
- **non è possibile ritenerlo marker specifico al 100%.**

CK-MB - Creatinchesinasi MB

- Per accertarsi che l'aumento sierico della CK-MB sia effettivamente legato ad un danno cardiaco → importante valutarne i valori in **un contesto generale**, che tenga conto anche dei livelli **totali** di creatinchesinasi o di altri marker dell'infarto di danno cardiaco.
- Importante la valutazione **dell'andamento temporale**, vale a dire il *tempo di comparsa dell'aumento sierico di CK-MB rispetto all'esordio dei sintomi.*
- ***Dopo infarto del miocardio, l'enzima CK-MB:***
 - ❑ *può essere individuato già dopo **tre ore** dall'inizio della necrosi*
 - ❑ *raggiunge **valori massimi** tra le 18 e le 24 ore successive all'evento*
 - ❑ *si **normalizza** nel giro di 36-72 ore.*

CK-MB - Creatinchinasi MB

- La **sensibilità** diagnostica della CK-MB per quanto riguarda l'infarto miocardico:
 - ❑ è quindi decisamente **bassa** se il dosaggio viene effettuato entro **tre** ore dall'inizio della sintomatologia anginosa
 - ❑ **Aumenta** in modo significativo col trascorrere del tempo
 - ❑ raggiungendo il **100%** tra le 8 e le 12 ore successive all'evento.

Significato analisi CK



❖ Risultato superiore al normale: PATOLOGICO

l'innalzamento evidenzia un problema relativo ai muscoli e potrebbe essere dovuto ad un problema cardiaco

Ma poiché è enzima presente in tutti i muscoli, non solo nel cuore, se si sospetta un disturbo di questo organo, il medico consiglierà di svolgere l'esame della CK-MB per eliminare ogni dubbio.

❖ Risultato inferiore al normale:

valore che non ha alcun rilievo dal punto di vista medico.

Significato analisi CK-MB

- Valore **più alto** → l'alterazione interessa il cuore.
- Valore nella **norma** ma l'analisi del CPK è alterata (perché elevata):
deve essere indagata con altri esami di approfondimento una malattia che non interessa il cuore, ma altri muscoli (come, per esempio, la distrofia muscolare oppure, più semplicemente, può capitare alle persone che dopo una prolungata **inattività** fisica iniziano ad andare in palestra sottoponendo i muscoli ad uno stress intenso)

Kit per la determinazione del CK MB nel siero

Metodo UV con immunoinibizione della frazione M - IFCC

PRINCIPIO

Un anticorpo è incorporato nel reagente del CK. Questo anticorpo si lega con la sub-unità M del CK MB inibendola. Ciò significa che nel siero in esame verrà misurato solo l'attività della sub-unità B. Moltiplicando per un fattore 2 questa attività, si ottiene l'attività della CK MB nel siero.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

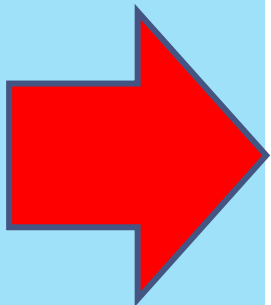
- R1** Tampone imidazolo pH 7.20 100.0 mmol/l; magnesio acetato 10.0 mmol/l; anticorpo CK-M
- R2** N-Acetilcisteina 20.0 mmol/l; ADP 2.0 mmol/l; AMP 5.0 mmol/l; NADP 2.0 mmol/l; Glucosio 20.0 mmol/l; diadenosine 5 fosfato 10.0 μ mol/l; EDTA 2.0 mmol/l; creatin fosfato 29.0 mmol/l; HK \geq 3500 U/l; G6P-DH \geq 2000 U/l;
- R3** Siero di controllo. Sciogliere con acqua distillata con il quantitativo riportato in etichetta.

CAMPIONI

- Siero non emolizzato.]

NOTE

- I campioni devono essere analizzati immediatamente o conservati, protetti dalla luce e dall'aria, per 2 giorni a 2-8 °C o 1 mese a -20 °C.
- Non utilizzare campioni emolizzati poiché l'emolisi può aumentare la concentrazione del CK-MB a causa del rilascio di adelinatochinasi.
- Il metodo misura anche CK-BB isoenzimi presenti nel siero singolarmente o con immunoglobuline (macro-CK). L'attività degli isoenzimi è irrilevante. Tuttavia, se è presente una significativa attività di CK-BB l'attività del CK-MB potrebbe essere sovrastimata.

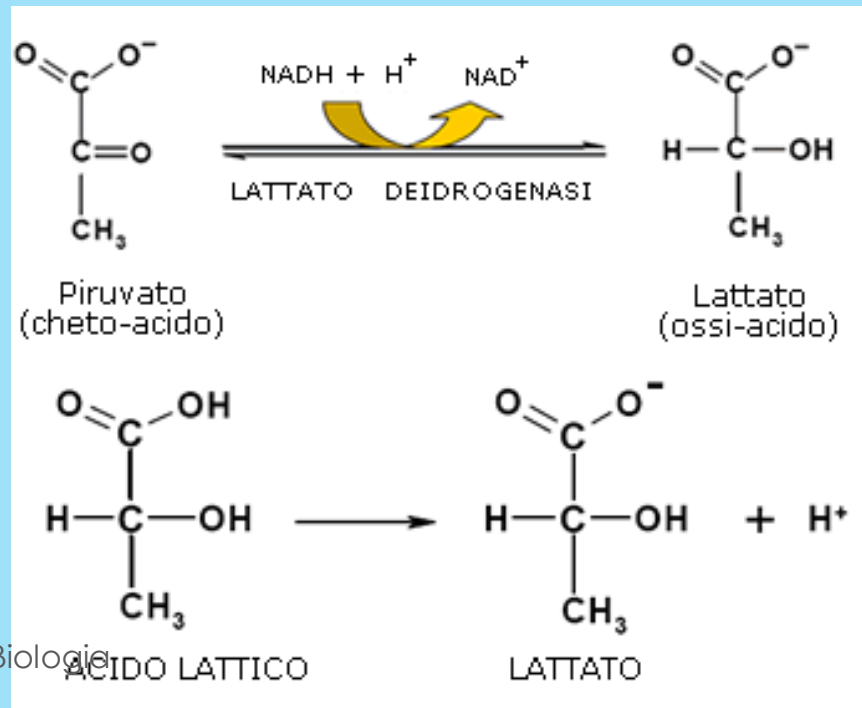




- Biochimica clinica e Biologia molecolare clinica

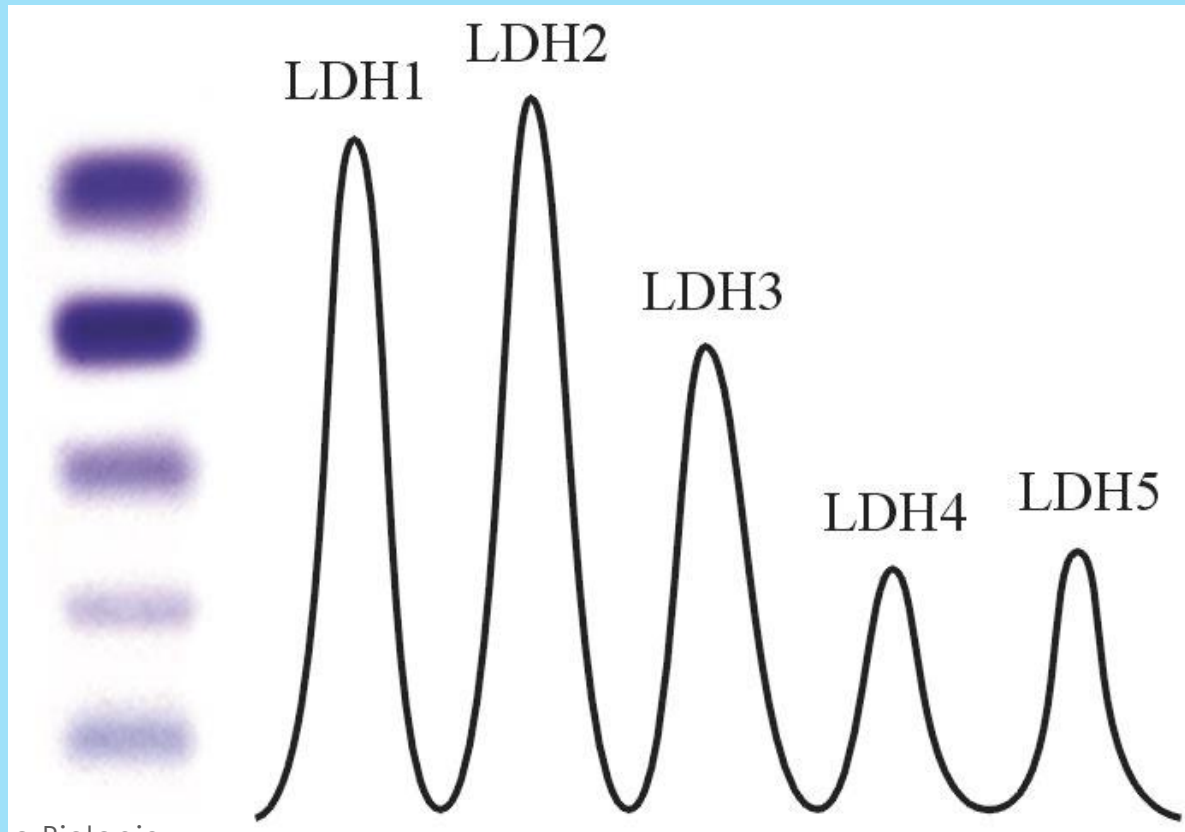
Lattico-deidrogenasi

- Lattato deidrogenasi - LDH
- enzima citoplasmatico con un'ampia distribuzione nei tessuti
- Catalizza la reazione di riduzione del piruvato in lattato



Lattico-deidrogenasi

- Tetramero con sub-unità appartenenti a due diversi tipi che, combinandosi fra loro in modo vario, danno origine a cinque diversi isoenzimi:



Lattico-deidrogenasi

- 1. LDH1** → prevalente nel **miocardio**, nei globuli rossi, nel rene e nelle cellule germinali
- 2. LDH2** → prevalente nel **miocardio** e nei globuli rossi, oltre ad essere concentrato nei globuli bianchi e nei reni (dov'è presente in concentrazioni inferiori rispetto a LDH1)
- 3. LDH3** → prevalente nei polmoni e in altri tessuti
- 4. LDH4** → muscolo scheletrico, fegato (dov'è presente in concentrazioni inferiori rispetto a LDH5), nei linfonodi e nei globuli bianchi
- 5. LDH5** → caratteristico nel fegato e nel muscolo scheletrico.

Lattico-deidrogenasi

- Questa **specificità tissutale** rende il dosaggio della LDH di grande interesse clinico per valutare la sede di un ipotetico danno tissutale.
- **Ad esempio:**
 - ❑ in condizioni normali, LDH1 prevale sulla LDH2,
 - ❑ mentre dopo un infarto del miocardio, LDH2 tende a prevalere.
- Dopo un infarto, rispetto alle transaminasi ed alla creatina chinasi, i valori di lattato deidrogenasi **aumentano più tardivamente** (24-72 ore) e raggiungono valori massimi entro 3-4 giorni, per poi tornare alla normalità nell'arco di qualche settimana.
- Grazie a questa caratteristica il dosaggio della lattato deidrogenasi consente una **diagnosi tardiva** di infarto miocardico, a volte superato dal paziente senza quasi accorgersene.

Lattico-deidrogenasi

- Nonostante l'ampia presenza nei tessuti, la **LDH è presente nel sangue in concentrazioni molto basse.**
- I livelli di LDH totale aumentano sensibilmente in tutte le situazioni in cui si produce un generico danno tissutale irreversibile (**necrosi**) con conseguente perdita del contenuto citoplasmatico.
- Per ottenere ulteriori indizi clinici sugli organi o tessuti coinvolti è necessario valutare **parametri ematici additivi**, e/o affidarsi alla valutazione delle singole isoforme.

Lattico-deidrogenasi

VALORI DI
RIFERIMENTO

125 - 243

UNITÀ DI
MISURA

UI/L

INTERMEDICAL

LDH
Chetico UV.

CE LDH

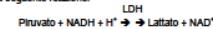
Determinazione quantitativa della lattato deidrogenasi (LDH)

I/D

Conservare a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la riduzione del piruvato a lattato, con conseguente ossidazione di NADH, formando NAD, come dalla seguente reazione:



La velocità di decremento della concentrazione di NADH, misurata per via fotometrica, è proporzionale alla attività di LDH presente nel campione.

SIGNIFICATO CLINICO

LDH è un enzima cellulare con una vasta distribuzione nei tessuti, principalmente nel rene, pancreas, fegato e prostata. La misura dell'attività della LDH viene utilizzata nella diagnosi e nel trattamento delle malattie epatobiliari come ostruzione biliare, cirrosi e tumori del fegato.

REAGENTI

R1 Tampone	Imidazolo Piruvato	65 mmol/L 0.6 mmol/L
R2 Substrato	NADH	0.18 mmol/L

PREPARAZIONE

Soluzioni di lavoro (WR):
Sciogliere (→) una tavoletta di Substrato R2 con 3 mL di Tampone R1.
Agitare delicatamente per omogeneizzare la soluzione.
Stabilità: 5 gg. a 2-8°C o 24 ore a T.A. (15-25°C).

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Tutti i componenti del kit sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservati ben chiusi a 2-8°C, protetti dalla luce e se si evitano contaminazioni durante l'uso.
Non usare tavolette che appaiono spezzate.
Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.

Segnali di deterioramento dei reagenti:

-presenza di particelle e torbidità;

-assorbimento del bianco (A) a 340 nm > 0 -

MATERIALE ADDIZIONALE

-Spettrofotometro o colorimetro che misuri a 340 nm.
-Bagno termostatico a 25°C, 30°C o 37°C (± 0.1°C).
-Cuvette con cammino ottico di 1 cm.
-Attrezzatura generale di laboratorio.

CAMPIONI

Siero fresco. Non usare come anticoagulante l'ossalato perché inibisce l'enzima. Non usare campioni emolizzati. LDH è stabile 2 gg. a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

1. Condizioni operative:

Lunghezza d'onda: 340 nm

Cuvette: cammino ottico 1 cm

T. costanti: 25°C/30°C/37°C

2. Azzerare lo strumento contro acqua dist. o aria.

3. Pipettare in cuvetta:

	25-30°C	37°C
WR (mL)	3.0	3.0
Campione (µL)	100	50

4. Mescolare, aspettare 1 minuto.
5. Leggere l'Ass. Iniziale (A) del campione, far partire il cronometro e leggere le assorbenze ad intervalli di 1 minuto per 3 minuti.
6. Calcolare il ΔA per minuto (ΔA/min).

CALCOLI

A 25 o 30°C

ΔA/min. x 4525 = U/L di LDH

A 37°C

ΔA/min. x 9690 = U/L di LDH

Unità: una unità internazionale (IU) è la quantità di enzima che trasforma 1 µmol di substrato in 1 minuto in condizioni standard. La concentrazione è espressa in unità per litro di campione (U/L).

Fattori di conversione a diversa temperatura
In dipendenza della temperatura di lavoro, correggere i risultati moltiplicando per i seguenti fattori:

Temperatura di lavoro	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.33	1.92
30°C	0.75	1.00	1.43
37°C	0.52	0.70	1.00

CONTROLLO QUALITÀ

Si consiglia di utilizzare dei sieri di controllo per monitorare le performance del procedimento.

Se i valori dei controlli sono al di fuori del range definito, controllare lo strumento, i reagenti e la tecnica per determinare i problemi. Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire un proprio schema di Controllo di Qualità e le azioni correttive se i controlli non rientrano nei limiti di tollerabilità.

VALORI DI RIFERIMENTO

25°C 30°C 37°C
120-240 U/L 160-320 U/L 230-460 U/L

Questi valori sono orientativi, ciascun laboratorio dovrebbe stabilire un proprio intervallo di riferimento.

CARATTERISTICHE DEL METODO

1. Range di misura: dal limite di detezione di 5.5 U/L al limite di linearità di 1453 U/L. Se i valori ottenuti sono superiori al limite di linearità, diluire il campione 1/2 con NaCl 9 g/L e moltiplicare il risultato per 2.

2. Precisione:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Media (U/L)	336	541	343	551
SD	3.81	5.52	4.68	6.66
CV (%)	1.13	1.02	1.36	1.21

3. Sensibilità diagnostica: 1 U/L = 0.00030 ΔA/min.

4. Accuratezza: i risultati ottenuti con i reagenti di questo kit (y) non mostrano differenze sistematiche se comparati con altri reagenti in commercio (x).

I risultati ottenuti usando 50 campioni danno i seguenti risultati:

Coefficiente di correlazione (r): 0.99

Equazione di regressione: y = 1.0031x + 0.8372

I risultati ottenuti dipendono dall'analizzatore usato.

Tempi enzimatici

Enzimi	Tempo di comparsa	Picco	Valore normale
CPK	6-8 h	24-30 h	3-4 giorni
CPK-MB	4-6 h	18-24 h	36-48 h
AST (GOT)	8-12 h	24-48 h	3-5 giorni
LDH	24-48 h	4-5 giorni	8-15 giorni

Marcatore cardiaci

Alanina aminotransferasi
Aspartato aminotransferasi
Lattato deidrogenasi (LDH)

né precoci
né specifici (presenti anche
in altri organi)

La creatinfosfochinasi (CK)

3 isoforme: CK-MM, CK-MB,
CK-BB

La mioglobina (MG)

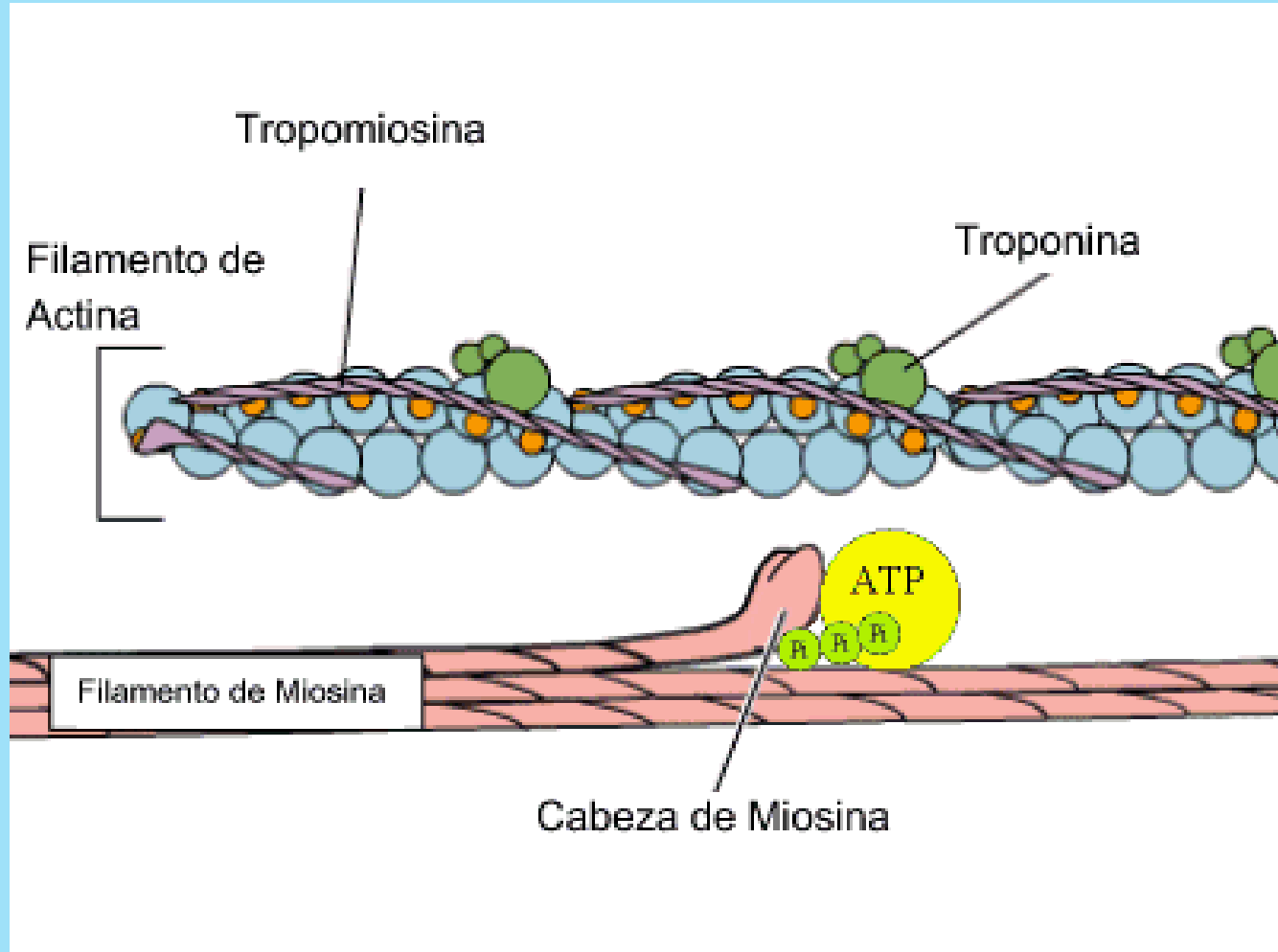
marker precoce (rilasciato
dopo 1 o 2 ore)
non è specifico

Mioglobina

- **Più precoce** marker di danno cardiaco a comparire in circolo: già dopo 2 ore dall'insulto ischemico.
- Alta sensibilità
- Bassa specificità (cellule muscolari e cardiache)
- Il suo incremento deve essere associato al dosaggio della **troponina**
- L'incremento dei suoi valori nel sangue dura circa 24 ore (poi torna normale)

Troponine (Tn)

- Complesso proteico che regola la contrazione muscolare



- La troponina **non è un marcatore precoce** della necrosi miocardica,
- E' **molto più specifico** della mioglobina (che aumenta anche in corso di traumi muscolari).
- Aumenti della troponina si riscontrano **anche in patologie cardiache non ischemiche**, quali il trauma cardiaco, la cardiotossicità da chemioterapici

- Esistono isoforme T e I → specifiche per il miocardio.
- Le sequenze amminoacidiche delle isoforme scheletrica e cardiaca di TnT e TnI sono infatti sufficientemente diverse per poter essere differenziate utilizzando anticorpi monoclonali specifici
- Analizzando le Tn è possibile rivelare infarti di dimensioni inferiori rispetto a quelli osservabili con gli altri marcatori cardiaci

- Troponina I: inferiore a 10 µg/l
- Troponina T: inferiore a 0.1 µg/l

Troponina: il più importante biomarcatore utilizzato per la diagnosi dell'infarto.

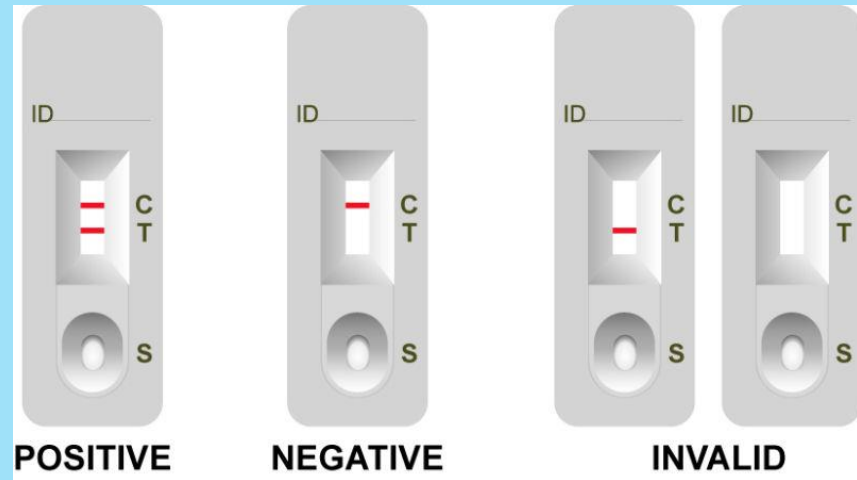
L'introduzione dei metodi ultrasensibili ha permesso nuove possibilità di diagnosi e prevenzioni delle malattie cardiovascolari.

Troponina I cardiaca (cTnI) Kit test rapido



Determinazione della troponina

➤ nel siero o nel plasma



➤ nella saliva

Studio 2013: sono stati inclusi 30 pazienti con infarto e 28 individui sani. Nei pazienti con infarto le concentrazioni di troponina sia nel siero che nella saliva erano molto più alte rispetto ai controlli.

DANNO MIOCARDICO:

Marcatori biochimici

VECCHI

- CPK totale
- AST
- LDH
- CK totale



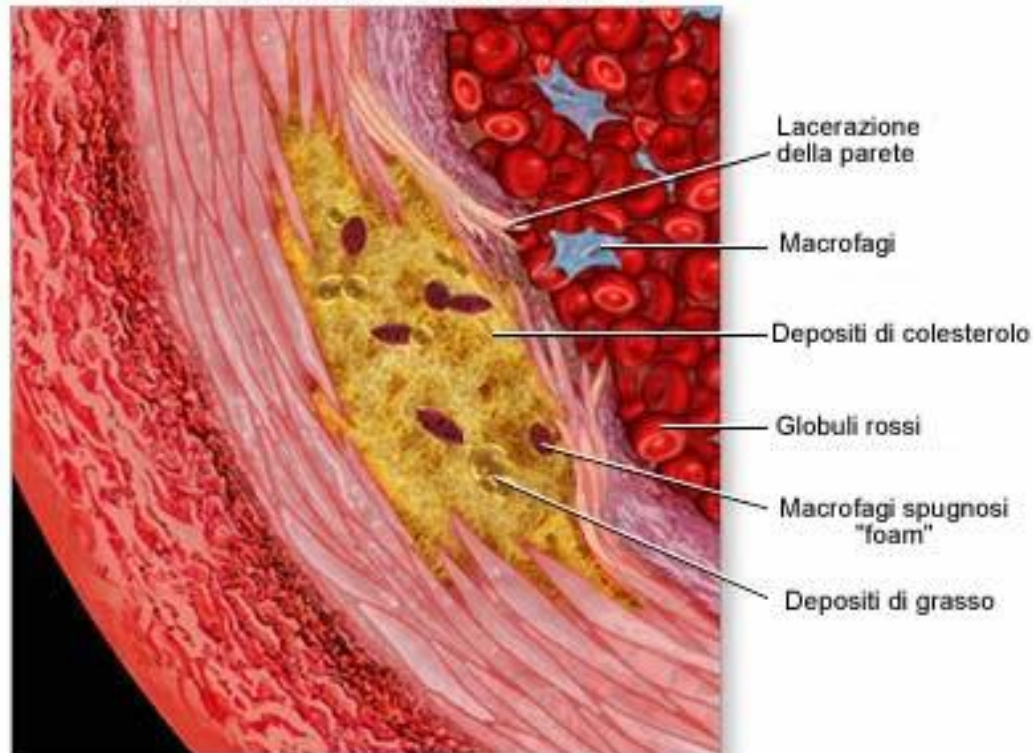
ATTUALI

- Mioglobina
- CK-MB
- Troponina

● COLESTEROLO

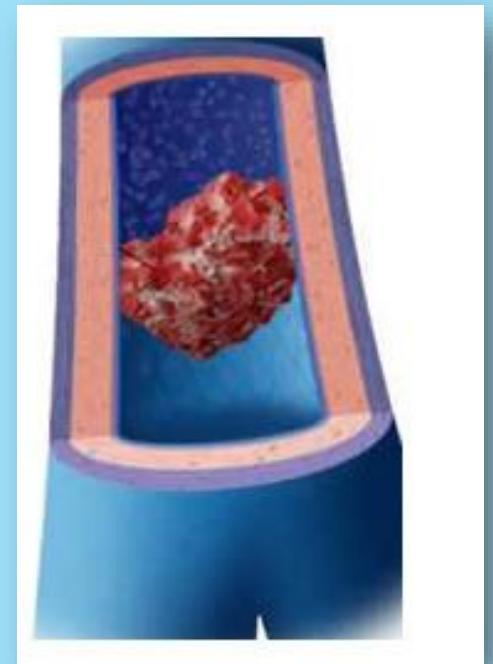
● TRIGLICERIDI

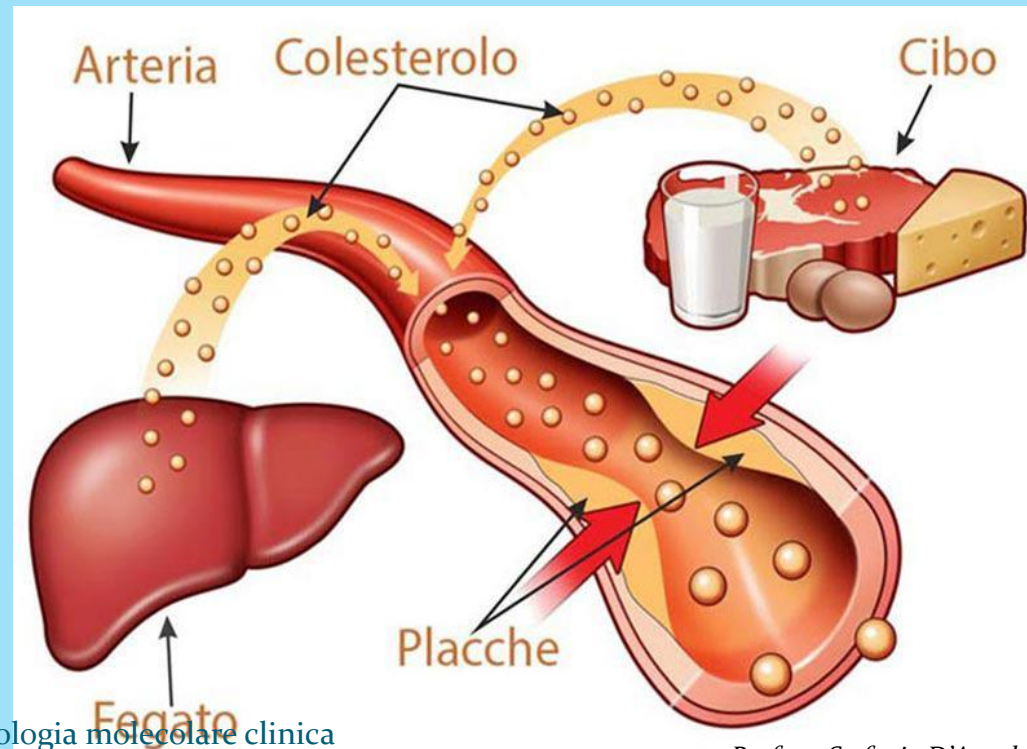
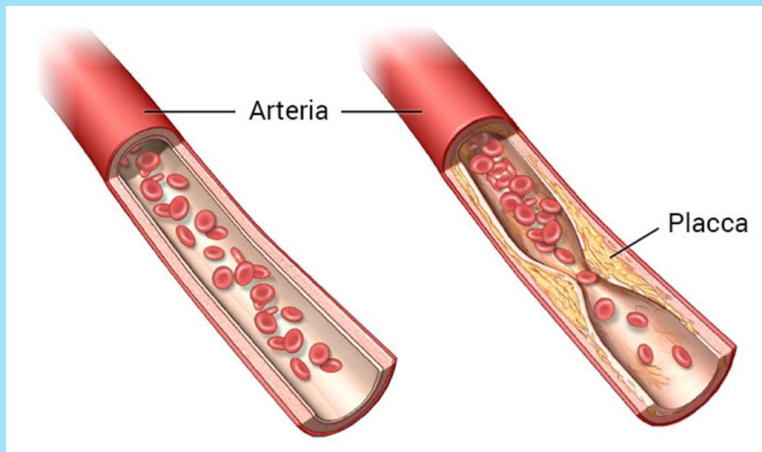
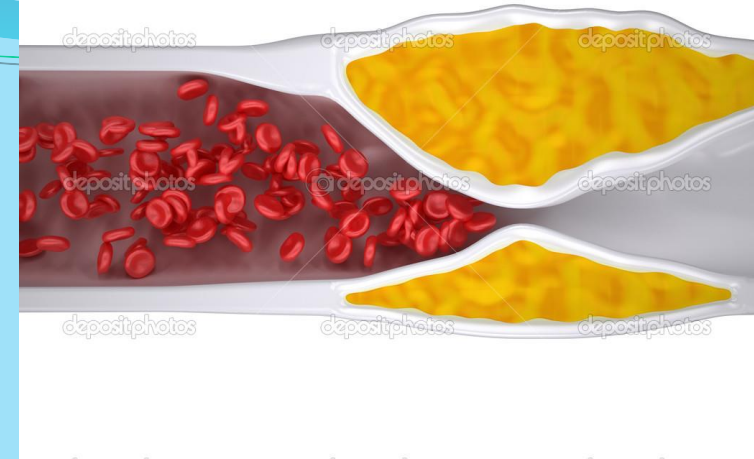
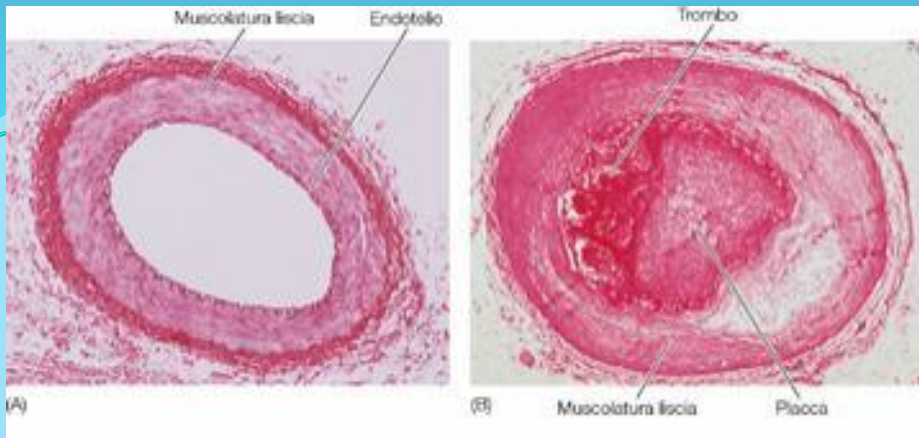
Sezione di un'arteria coronaria



- **Aterosclerosi**: malattia data dalla presenza di ateromi
- **Ateromi**: formazioni ostruttive concettualmente simili ai trombi, ma formate da elementi diversi come **colesterolo**, macrofagi, **lipidi** e cristalli di calcio.
- L'ateroma (o placca aterosclerotica) è definibile come: una degenerazione delle pareti arteriose dovuta al deposito di placche formate essenzialmente da grasso e tessuto cicatriziale.

- Quando la parete superficiale della placca aterosclerotica si rompe, si ha formazione di un **coagulo**, proprio come succede quando ci procuriamo una ferita.





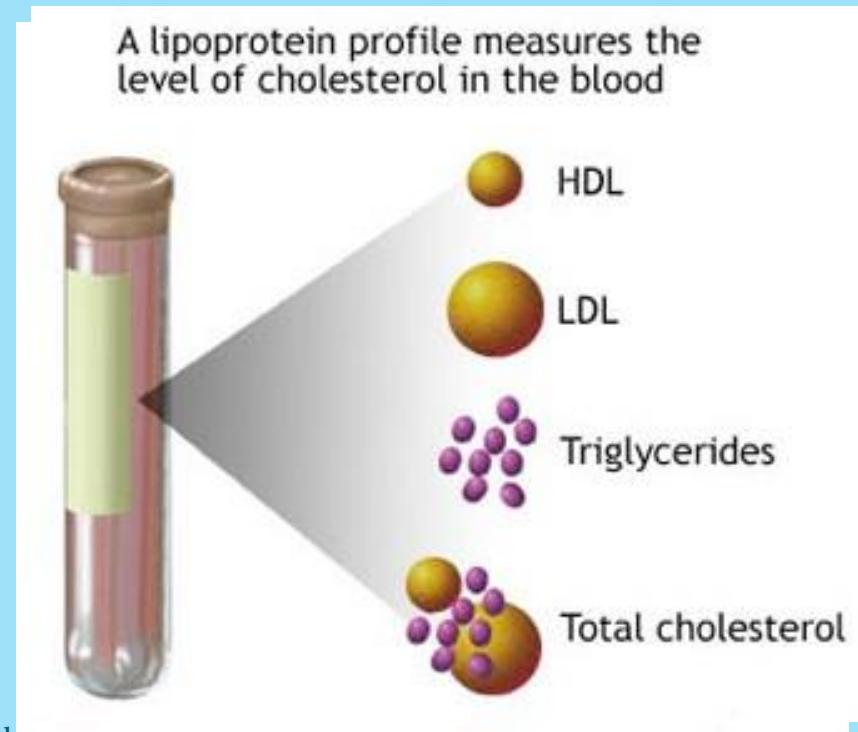
Colesterolo

- ❑ La maggior parte (95%) ottenuta per sintesi **endogena** (1-2 grammi al giorno)
- ❑ Sotto il controllo del sistema endocrino (da parte della tiroide e delle gonadi, in particolare) e in funzione dell'apporto alimentare
- Tutte le cellule del corpo umano sono in grado di **sintetizzare** colesterolo → prevalentemente nelle cellule epatiche che lo trasferiscono al sangue → trasportato in tutto l'organismo
- In parte viene metabolizzato ad acido colico e in tale forma escreto nella bile.
- ❑ Una piccola parte introdotta con **la dieta** (50 mg/die vegetariani; 500 mg/die alimentazione occidentale)
- Una **dieta** a base di alimenti ricchi di colesterolo rallenta la sua sintesi endogena, così come una dieta carente ne stimola la produzione.

Le lipoproteine plasmatiche

**Macromolecole derivanti dalla
combinazione di proteine con lipidi di
varia natura:**

- ❖ **colesterolo**
- ❖ **esteri del colesterolo**
- ❖ **fosfolipidi**
- ❖ **trigliceridi**



Colesterolo e aterosclerosi

Il **colesterolo** e, in particolare, i suoi **esteri** → da tempo riconosciuti come un'importante componente della placca ateromatosa.

- Anomalie del metabolismo ed eccessi dietetici contribuiscono allo sviluppo dell'aterosclerosi.
- Dimostrata una **correlazione positiva** tra il tasso di colesterolo totale e l'incidenza di malattie vascolari e di cardiopatie coronariche in particolare.
- La determinazione della colesterolemia → importante nella valutazione globale **dell'assetto lipidico**, soprattutto da quando si è stati in grado di differenziare la quota veicolata delle lipoproteine ad alta densità (colesterolo HDL) da quelle a bassa densità (colesterolo LDL).
- Il **colesterolo HDL** si oppone alla tendenza delle LDL di depositarsi nella parete arteriosa, ed è chiamato infatti "**spazzino delle arterie**".



HDL

- Lipoproteine ad **alta densità**
- Secrete nel sangue da fegato e intestino.
- Deputate al trasporto del colesterolo dai tessuti periferici al fegato (attuano il cosiddetto trasporto inverso del colesterolo).
- Marker noto per essere un importantissimo "termometro" del rischio cardiovascolare.
- A tali valori è legata la probabilità teorica di subire una malattia correlata all'aterosclerosi, come :
 1. angina pectoris
 2. infarto miocardico
 3. ictus

molto sinteticamente:

- **HDL** → il "colesterolo buono" perché mentre circolano nel sangue raccolgono, incorporano e asportano il colesterolo presente sulla parete dei vasi devono essere in quantità **superiore a 40 mg/dl**
- **LDL**, il «colesterolo cattivo»; si infiltrano più facilmente nelle pareti vascolari depositandosi sotto il tessuto che riveste la superficie interna dei vasi sanguigni (l'endotelio) dando inizio alla formazione della placca aterosclerotica. Contengono una quantità relativamente alta di colesterolo e trigliceridi.

Devono rimanere al di **sotto dei 160 mg/dl** e nei pazienti ad alto rischio sotto i 100 mg/dl

- **VLDL**, presenti nel sangue in piccole quantità e particolarmente nocive.



Colesterolo "Buono" - HDL

Le **HDL** prelevano il colesterolo dalle pareti delle arterie, ostacolando la formazione delle placche aterosclerotiche. Ecco perché il colesterolo **HDL** è comunemente detto "buono".



Colesterolo "Cattivo" - LDL

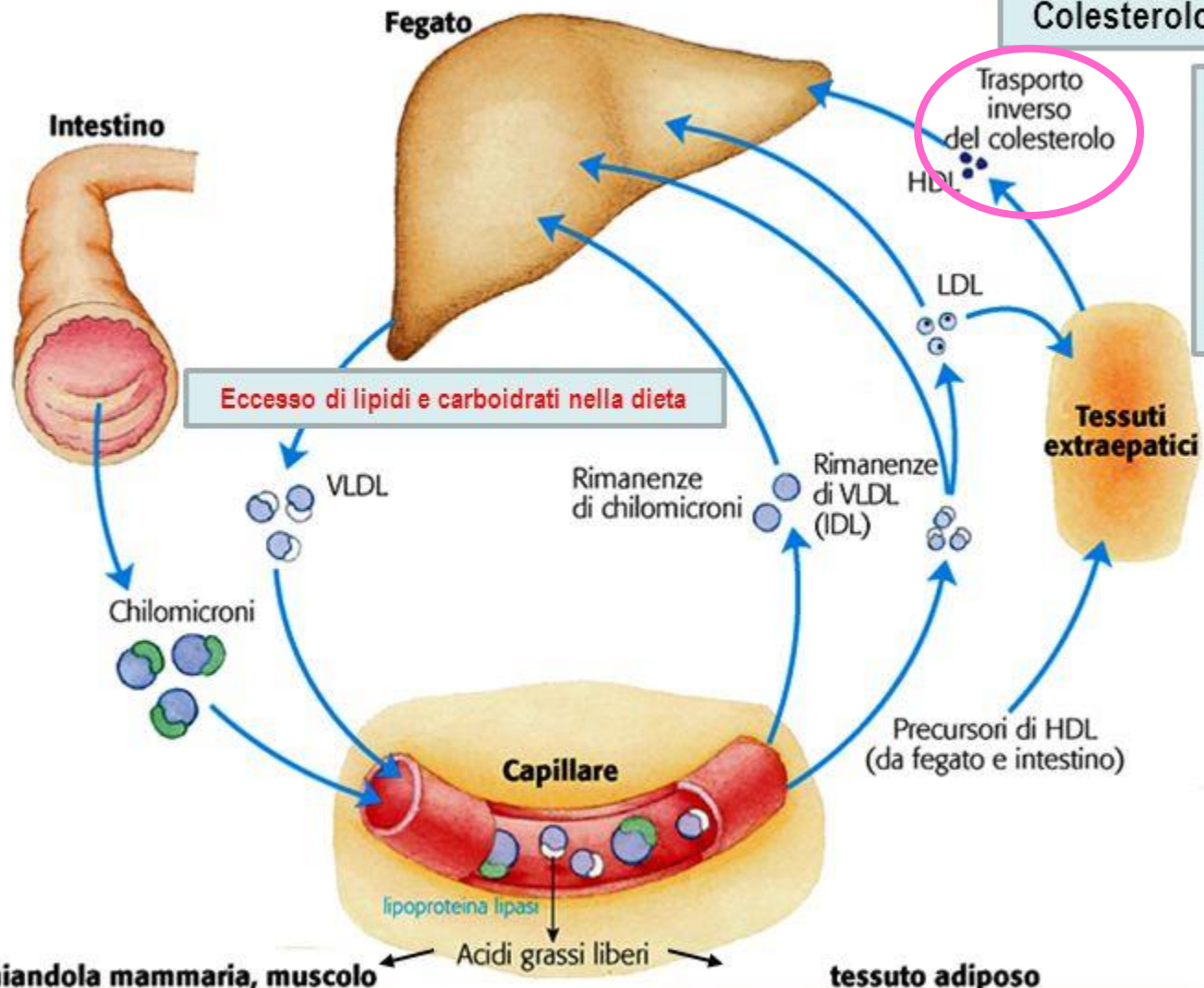
Le **LDL**, al contrario, depositano il colesterolo in eccesso sulle pareti delle arterie, favorendo così la formazione delle placche. Per questo, il colesterolo **LDL** è definito "cattivo".

Trasporto del colesterolo e altri lipidi (2)

Colesterolo "cattivo" associato alle LDL

Colesterolo "buono" associato alle HDL

Il colesterolo LDL in eccesso viene rimosso dalle HDL, altrimenti si deposita sulle pareti delle arterie (**aterosclerosi**)



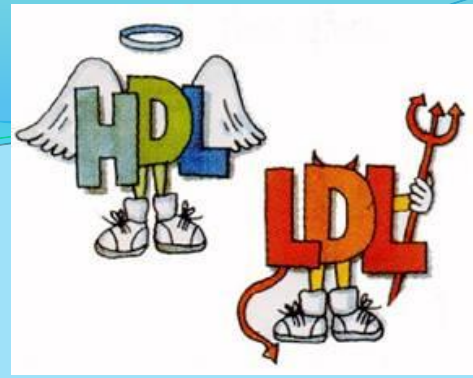
Eccesso di lipidi e carboidrati nella dieta

Ghiandola mammaria, muscolo
Utilizzati come fonte di energia

Riserva sotto forma di gocce lipidiche



Diagnosi



- Un elevato livello di colesterolo (> 200 mg/dl) \rightarrow necessità di determinare le concentrazioni nel plasma o nel siero:
 - lipoproteine a bassa densità (**LDL**) \rightarrow un livello alto **non va bene**
 - lipoproteine ad alta densità (**HDL**) \rightarrow un livello alto **va bene**
- Per la determinazione di **colesterolo totale e HDL** \rightarrow anche campioni **non a digiuno**
- Per la misura dei **trigliceridi** \rightarrow meglio campione a **digiuno**, perché i grassi alimentari ingeriti di recente (entro le precedenti 8-10 ore) potrebbero condizionare il livello dei trigliceridi.
- Il calcolo del colesterolo **LDL** prevede la misurazione dei **trigliceridi** e si consiglia un campione a **digiuno** (dati discordanti)

Valori di Riferimento per la Persona Sana:

1. colesterolo totale: inferiore a 200 mg/dl
2. colesterolo HDL (buono): maggiore di 40 mg/dl
3. trigliceridemia: compresa tra 50 e 170 mg/dl
4. colesterolo LDL (cattivo): inferiore a 160 mg/dl
5. indice di rischio

Dosaggio del colesterolo

- **semplice prelievo di sangue**
- Un pasto recente non sempre influisce sull'esito dell'esame, ma **altera** certamente il risultato dell'esame dei trigliceridi, indagine che in genere è eseguita insieme all'esame del colesterolo.
- I **farmaci** non alterano l'esito dell'analisi.
- Il consiglio → osservare una dieta equilibrata, senza eccessi, nelle due settimane che precedono l'esame.

- Attualmente, il **rischio cardiovascolare è divenuto** un argomento complesso, sapendo che è influenzato da numerosissimi fattori.
- Un tempo, in ambito clinico, l'attenzione si focalizzava soprattutto sui valori di colesterolo totale.
- Oggi viene data maggiore importanza al *colesterolo HDL e al suo rapporto con la frazione LDL*.
- Trigliceridi, glicemia, omocisteina e markers dell'infiammazione (come es. la proteina C reattiva) hanno assunto un importante significato nell'intento di definire il rischio cardiovascolare in un'ottica globale.

Indice di rischio cardiovascolare:

COLESTEROLO TOTALE / HDL =
5 (uomo); 4,5 (donna)

- *il valore del colesterolo totale considerato da solo come valore assoluto assume una rilevanza parziale: ciò che conta è l'indice di rischio cardiovascolare.*

Trigliceridi

Perché si esegue l'analisi?

L'aumento della trigliceridemia, insieme al colesterolo LDL → legato al rischio di aterosclerosi, in cui placche lipidiche si depositano sulle pareti dei vasi sanguigni impedendo il corretto flusso ematico.

Come si effettua il dosaggio dei trigliceridi?

- Il metodo di ricerca si basa sull'uso delle **lipasi** che scindono i trigliceridi in acidi grassi e glicerolo.
- Il glicerolo è trasformato in glicerolo-3-fosfato in presenza di ATP e glicerolchinasi.
- Il glicerolo-3-fosfato prodotto è ossidato a diidrossiacetonfosfato ed **acqua ossigenata**.
- Il dosaggio di quest'ultima con la perossidasi ci dà un cromoforo bruno rilevabile allo **spettrofotometro**

La trigliceridemia

I fattori che condizionano la trigliceridemia sono:

1. l'apporto lipidico alimentare
 2. la velocità con la quale i lipidi vengono sottratti al sangue dal fegato e dal tessuto adiposo.
- rilevabile con un semplice esame del sangue.
 - I valori sono influenzati dalla dieta, dal sesso, dall'età e dalla metodica adottata nell'esecuzione dell'esame e **variano fra 50 e 170 mg/dl.**
 - Nel caso si riscontrino valori superiori al limite massimo si parla di iper-trigliceridemia.

- Prima del prelievo si consiglia di **evitare** il consumo di alcolici per 24 ore e di cibo per 12 ore (si dovrebbe assumere solo acqua)
- L'ultimo pasto prima del prelievo dovrà essere **piuttosto leggero** onde evitare un risultato falsato verso l'alto
- E' opportuno informare i sanitari preposti all'esame nel caso si stiano assumendo **farmaci** o sostanze che possono alterare i risultati sia verso l'alto (cortisonici, estrogeni.....) che verso il basso (eparina, niacina, vitamina C.....).
- L'esame va ripetuto nel caso in cui i valori riscontrati siano troppo elevati rispetto alla norma; in tale evenienza si dovrà osservare un digiuno di 15 ore anziché di 12.