

Lezione di Medicina di laboratorio del 06/11/08

Prof. Illiano – Biochimica Clinica

La medicina di laboratorio vi permette di fare un bilancio sulle funzioni di un organo e allora ci dobbiamo chiedere: quali sono le funzioni del fegato?

Il fegato svolge due funzioni:

- Detossificante
- Di sintesi

Per quanto riguarda la funzione detossificante, basti pensare al ruolo del fegato nel metabolismo dei pigmenti biliari; i pigmenti biliari sono dei prodotti di rifiuto, dei composti assolutamente di scarto e sono dei composti apolari, sono sostanze che hanno un' affinità a sciogliersi nei grassi sottocutanei, nei grassi del SNC...dove determinano danno;

Il fegato che cosa fa? Il fegato lega queste molecole con due residui di acido glicurónico che è un composto naturalmente polare e trasforma questo derivato glucuronato in una molecola idonea a viaggiare in un mezzo acquoso come la bile;

Per quanto riguarda i processi di sintesi, tutte le proteine che ritroviamo nel siero, quei 7grammi per cento ml che noi troviamo nel siero vengono tutti dal fegato tranne le immunoglobuline e quelle a carattere ormonale (insulina, ACTH ecc. ecc.), tutto il resto viene dal fegato (anche le proteine di fase acuta vengono dal fegato);

Quando arriva un paziente, dopo l'anamnesi e la visita, subito chiediamo una ricca lista di indici di laboratorio, molti dei quali ci permettono di valutare lo stato funzionale del fegato e dobbiamo sapere come interpretarli: (il prof. mostra dei reperti di laboratorio ed inizia a commentarli)

- Glucosio: c'entra il fegato ma molto da lontano in quanto interviene sia evitando che (la glicemia) aumenti troppo sia che diminuisca troppo;
- Urea: c'entra il fegato con l'urea? Certo che c'entra ma noi non lo mettiamo fra gli indici di funzionalità epatica perché quando viene meno la funzione di organizzare lo ione ammonio ad urea ci sono tante di quelle disfunzionalità che più del medico ci vuole il prete (!!!).
- La creatinina e la sideremia pure c'entrano con il fegato ma una considerazione a parte merita l'albumina ;

Il livello di albumina non è solo dovuto alla sintesi ma anche alla perdita: ad esempio nell'ustione, nel nefropatico, il fegato cerca di compensare la perdita di albumina; in presenza di una riduzione dell'albumina, quindi, bisogna chiedersi: fino a che punto il fegato è venuto meno nella sua attività biosintetica? È venuto meno rispetto alla iper-richiesta o rispetto ad una normale richiesta?

Poi ci sono le transaminasi che sono proteine ad attività enzimatica e sono indice di danno epatico: bisogna chiedersi fino a che punto, ognuna di esse, può essere indice di danno epatico;

Ora consideriamo la bilirubina: distinguiamo la bilirubina totale, la diretta (quella glicuronizzata) = perché si chiama diretta? Perché reagisce direttamente con un sale diazonico, un reagente chimico e si chiama reazione di reazione di Van den Berg ; quella indiretta, invece, si chiama così

perché non è glicuronizzata quindi non è solubile in acqua; come la solubilizziamo? la solubilizziamo in alcool con acetone e solo dopo di ciò la facciamo reagire con il sale di diazonico : per questo si chiama INDIRETTA;

la valutazione della bilirubina è sicuramente un utile elemento per valutare l'attività disintossicante del fegato; questa funzione può essere alterata ma, nonostante ciò, il fegato può essere in grado di provvedere in modo soddisfacente alle altre funzioni; ad esempio nelle forme congenite che prevedono un'alterazione della glucuronil-trasferasi, noi abbiamo una bilirubinemia totale aumentata, una forma indiretta aumentata, la forma diretta diminuita però le altre funzioni epatiche sono buone: l'albuminemia è buona, non ci sono segni di lisi cellulare ecc. ecc.

ora, quando la funzione epatica viene compromessa o per cause epatiche o per cause extra-epatiche, come si comportano gli altri parametri? Questo è il punto perché queste analisi le dovete valutare e confrontare tutte insieme;

allora, quando trovate aumentata la bilirubinemia totale si manifesta l'ittero, in particolare, si ha ittero quando la bilirubinemia totale passa dal valore normale di 1mg/dl ad un valore di 5mg/dl o superiore ad esso: deve aumentare di cinque volte;

quando un paziente è itterico bisogna andare a valutare anche le altre funzioni epatiche e vedere anche se altri organi sono interessati, ad esempio gli indici di funzionalità pancreatici (amilasi e lipasi pancreatiche) in quanto le vie biliari e le vie escretrici pancreatiche convergono e, quando c'è un ristagno biliare (i sali biliari sono detergenti, come i saponi...il prof. si chiede retoricamente perché non vendano i Sali biliari come saponi visto che funzionano come emulsionanti grassi!), i sali biliari emulsionano i grassi che noi ingeriamo ma, se stanno a contatto con le cellule, emulsionano i grassi delle nostre membrane cellulari quindi agiscono nei confronti delle cellule dei condotti escretori prima e delle cellule pancreatiche poi: ecco perché le complicanze pancreatiche rappresentano una delle principali conseguenze del ristagno biliare;

quindi dobbiamo andare a vedere la lipasi, l'amilasi e poi la fosfatasi alcalina che è un enzima che si trova nelle ossa ma anche sull'epitelio delle vie biliari e sulle membrane delle cellule epatiche: quando aumenta la bilirubina andiamo a vedere se aumenta anche la fosfatasi alcalina;

la lattico deidrogenasi (LDH) è un enzima ubiquitario, quindi, anche epatico: esistono i vari isoenzimi, c'è la forma isoenzimatica epatica della lattico-deidrogenasi;

anche la colinesterasi è un marker di funzionalità epatica, solo gli epatociti formano questa proteina insomma; se non ci sono difetti congeniti, tuttavia, la riduzione della colinesterasi la troviamo quando l'ammalato è più morto che vivo!

Ora osserviamo i rapporti che ci stanno fra questi parametri: partiamo dai pigmenti biliari. I pigmenti biliari possono aumentare per cause epatiche (per difetto di coniugazione), per cause extra-epatiche (nel caso di emolisi), possono aumentare per cause post-epatiche (per esempio in caso di calcolosi delle vie biliari, cancro della testa del pancreas ecc. ecc). Quali sono le differenze? Le differenze sono notevolissime soprattutto per quanto riguarda i livelli dei pigmenti biliari; i livelli più alti si hanno nei casi di ostruzione delle vie biliari, di calcolosi o cancro della testa del pancreas: in questi casi ritroviamo una bilirubina totale altissima con una notevole componente della forma diretta; in tal caso bisogna andare a verificare immediatamente se i markers della funzionalità pancreatici sono compromessi o meno;

Nella causa epatica c'è un modesto aumento della bilirubina totale ed indiretta ; nelle cause pre-epatiche, dovute principalmente ad iperemolisi, oltre ai segni acuti dell'iperemolisi (Hb urinaria, LDH che aumenta notevolmente, la scomparsa

dell'aptoglobina) si ha un aumento della bilirubinemia totale con un aumento della quota indiretta= in questo caso l'insufficienza del fegato è solo relativa al superlavoro che gli viene richiesto;

quando c'è un aumento dell'urea non è colpa del fegato ma quando c'è un aumento della bilirubina c'è qualcosa da andare a guardare a livello epatico; ad esempio, se assumiamo un aumento della bilirubina diretta, voi che andreste a vedere? Andrei a vedere perché si formano più pigmenti biliari in quanto un aumento della bilirubina diretta indica un fegato in buona salute, riesce a smaltire i pigmenti biliari (= riesce a coniugare tutto l'eccesso di pigmenti biliari), andrei a vedere, quindi, l'emocromo, andando a verificare se ci sono segni di poichilocitosi, di una iperemolisi insidiosa, andrei a cercare un aumento della LDH (segno di danno cellulare);

chi è mi dice se c'è una iperemolisi insidiosa o no? È l'aptoglobina: bisogna vedere se c'è un'alterazione dell'aptoglobina;

vediamo un altro esempio: abbiamo un aumento della bilirubinemia totale e della bilirubinemia indiretta; andiamo a vedere tutto il resto e notiamo che è tutto più o meno normale (proteine totali normali, l'albumina pure è buona, il rapporto albumina/globulina certamente è superiore a 1; (c'è un modesto aumento di AST e ALT (una cosa importante è il rapporto ALT/AST che se è inferiore a 1 è compatibile con un fatto patologico cronico), la colinesterasi inizia a diminuire (valore normale: 5400 – 13200 U/I), la fostatasi alcalina è una proteina di membrana ed è indice di danno cellulare (valore normale: negli adulti da 50 a 190 U.I./L).

a questo punto il Prof. confronta i reperti laboratoristici di due pazienti:

la bilirubinemia è espressione della funzione detossificante del fegato: se nel primo paziente ho una bilirubinemia di 2.16 mg/dl e nel secondo ho una bilirubinemia di 1.08 mg/dl vuol dire che il primo paziente è più compromesso del secondo; (entrambi sono compromessi ma il primo più del secondo);

le proteine plasmatiche ci informano, invece, sulla funzione di sintesi del fegato: può essere compromesso o per aumento di perdite o per ridotta sintesi;

valutando le proteine nel sangue bisogna chiedersi quanto durano nel sangue: l'alanina transaminasi, l'aspartato transaminasi, quanto durano nel sangue? l'albumina quanto dura nel sangue? qual è l'attualità di questo segnale?

Le albumine durano nel sangue circa venti giorni, tre settimane, quindi, se per un motivo qualunque, il fegato smettesse di sintetizzare le albumine, io devo aspettare 15 giorni per osservare la caduta del valore delle albumine sotto il 50% e lo stesso vale per l'alanina-transaminasi (l'alanina-transaminasi dura almeno 48 ore, due giorni);

Alla luce di tali considerazioni, necessitiamo di un parametro più attuale per valutare la funzionalità epatica, ossia, un valore che diminuisca rapidamente quando la funzione epatica viene meno;

Il Prof. mostra un quadro laboratoristico: si ha aumento della bilirubinemia totale, aumento della bilirubinemia sia diretta che indiretta, proteine totali ridotte, non c'è danno epatico e l'albumina è buona: a cosa vi fa pensare? Ad un'associazione di una iperemolisi in presenza di un fegato che ha una funzione costitutivamente alterata mentre nella sintesi dell'albumina funziona bene;

Altro esempio: aumento della bilirubinemia totale, l'ALT e l'AST sono aumentate e non poteva essere diversamente (!) perché con questa quantità di bilirubina per forza le membrane risultano essere digerite (e in questo caso mancano i valori della lipasi e dell'amilasi che, in questi casi, sono assolutamente indispensabili) ed in questo paziente

l'albumina è ancora buona proprio per quello che dicevamo prima: il pz sta ancora sfruttando il lavoro del fegato fatto nelle settimane precedenti;
Il Prof. passa in rassegna, rapidamente, una serie di reperti di laboratorio per farci familiarizzare con i valori normali e patologici nei diversi reperti;

Se vogliamo trarre delle conclusioni:

- Funzione detossificante: l'abbiamo vista molto bene;
- Funzione di sintesi: l'albumina ecc. ecc.
- Funzione di danno cellulare: transaminasi, LDH, fosfatasi alcalina, gamm GT ecc. ecc.

C'è qualche altro indice di sintesi che bisogna richiedere? La protrombina, una proteina che nel sangue dura poco, che ha una vita media bassa: rappresenta un indice di attualità della funzione epatica; la protrombina ha una vita media inferiore a 12 ore;

In un paziente che ha un ittero ostruttivo si ritrova sicuramente la protrombina diminuita perché se è ittero ostruttivo il pz ha difficoltà ad assorbire i grassi quindi non assorbe la vit. K;

Per quanto riguarda l'attività biosintetica, quindi, l'indice di INR, che vi dà il tempo di protrombina, è un dato importantissimo che vi dà l'attualità della funzionalità epatica (la funzionalità epatica in questo momento!);

Un altro dato è rappresentato dall'attività transaminasica che, di per sé, non è specifica del fegato (transaminasi non significano fegato! Possono significare tutto);

Le AST sono localizzate nel citoplasma e nella membrana mitocondriale mentre le ALT si trovano solo nel citoplasma: le ALT, pertanto, escono prima e, uscendo prima, hanno sempre un rapporto maggiore : $ALT / AST > 1$;

cosa rende l'attività transaminasica patognomonica di danno epatico per quanto riguarda l'alanina transaminasi? Il livello, la quantità. Quando la quantità è alta, 500, 600, 700 UI/l, è solo il fegato che può darvi valori così elevati: perché? Perché l'epatocita ha una concentrazione di ALT superiore a quella di qualsiasi altra cellula del nostro organismo; perché il fegato investe tanto nell'esprimere questa proteina? Perché questa proteina serve al fegato per la neoglicogenesi: l'alanina è sintetizzata ex novo nel muscolo e serve a trasportare l'azoto e le strutture di carbonio nel fegato per produrre glucosio ed urea;

perché nelle forme croniche c'è il paradosso dell'aumento delle AST? Perché questo rapporto si inverte? (nell'alcolismo ecc. ecc...);

le transaminasi hanno bisogno del piridossal fosfato per funzionare, il piridossal fosfato è il fattore limitante nelle forme croniche; tuttavia, il piridossal fosfato non è limitante per tutti nella stessa maniera perché l'AST ha una maggiore affinità per il piridossal fosfato che non l'ALT; quando c'è piridossal fosfato a sufficienza, allora, possono funzionare entrambe le proteine ma quando il piridossal fosfato è carente le condizioni non sono uguali per queste due proteine enzimatiche: l'AST si trova in una condizione migliore perché ha una maggiore affinità: l'inversione del rapporto, quindi, non è dovuto alla maggiore o minore quantità ma al fatto che le AST funzionano meglio = si osserva un'attività dell'AST superiore a quella delle ALT;

perché nelle forme croniche il piridossal fosfato è limitante?

per due motivi:

- Assorbiamo meno vit. B6 ;
- Ne riusciamo a fosforilare di meno, riusciamo a formare meno piridossalfofosfato;

Vediamo che l'aumento dell'urea si accompagna all'aumento della creatinina; che cos'è la creatinina? È un prodotto che deriva non enzimaticamente dalla creatina; che cos'è la creatina? È una componente che ritroviamo in grandi quantità nel muscolo in quanto è necessaria per la contrazione muscolare: c'è un tutto un ciclo;

la creatin-fosfato è scissa e libera energia che serve ad accorciare le nostre proteine contrattili; quando noi contraiamo un muscolo consumiamo creatin-fosfato e liberiamo creatina; come si ricarica questa molecola? Si ricarica a spese dell'ATP; non tutta la creatina viene riciclata, una parte di creatina sfugge a questo controllo e si trasforma in creatinina (Prof: "andatevi a rivedere questa reazione della creatina...acido acetil e qualcosa..."): la creatinina viene eliminata con le urine: viene solamente filtrata, non viene né riassorbita né secreta nei tubuli, pertanto, diviene espressione di funzione glomerulare. Addirittura ci dice quanti di quei due milioni di glomeruli sono ancora funzionanti = se aumenta la creatinina nelle urine c'è un danno al rene;

il valore dell'urea è un valore accessorio: un aumento di urea nel sangue, che si accompagna ad una creatinina normale, non chiama in causa il rene; al contrario, un livello normale di urea, associato un aumento di creatinina nel sangue, certamente chiama in causa il rene perché la creatinina è indice di una funzione glomerulare: in condizioni normali, se non ci sono fatti improvvisi, eccessivi (ad esempio, se si fa uno sforzo fisico la creatinina aumenta), la quantità di creatinina è costante ed è legata alla massa muscolare del soggetto (la quantità di creatinina che hai adesso è uguale a quella che avrai fra due mesi) e, se la massa muscolare non varia in modo brusco, la quantità di creatinina si mantiene costante (si riduce con l'età);

La creatinina è marker della filtrazione glomerulare:la filtrazione glomerulare non è tutto ma senza filtrazione glomerulare non succede niente;

Ora, rapidamente: quali sono i fattori che regolano la filtrazione glomerulare?

Per parlare della filtrazione glomerulare dobbiamo considerare la struttura del glomerulo che è costituito da:

- capsula di Bowmann con i suoi due foglietti, uno viscerale e l'altro parietale;
- arteriola afferente che si sfiocca nella rete mirabile del Malpighi;
- arteriola efferente che è di calibro minore rispetto a quella afferente: il calibro minore è di fondamentale importanza affinché il sangue venga "spremuta" e venga filtrato;

La velocità della filtrazione glomerulare (GFR) è dovuta al coinvolgimento di diverse forze, alcune positive ed altre negative:

$$GFR = k (P_{cg} - \pi_{cg}) - (P_{cb} - \pi_{cb})$$

la forza positiva è data dalla pressione idrostatica esistente nei capillari glomerulari(P_{cg}); questa va ridotta delle pressione oncologica esistente nei capillari glomerulari (π_{cg}); la loro differenza algebrica di solito è positiva e rappresenta la forza attiva alla quale va sottratta la pressione idrostatica esistente nella capsula di Bowmann (P_{cb}); andrebbe sottratta anche la pressione oncologica dovuta alle proteine nella capsula di Bowmann (π_{CB}) ma, siccome nella capsula di

Bowmann non ci sono proteine, questa forza negativa non esiste; il tutto va moltiplicato per una costante k (costante di flusso, costante di filtrazione) che dipende da due cose fondamentalmente:

- o dalla superficie filtrante (che a sua volta dipende dallo strato di capillari) [non dimenticate che il Malpighi ha visto solo i capillari ma oggi, con il miglioramento dei mezzi ottici, sappiamo che esistono anche delle cellule particolari, mioepitelioidi, che costituiscono il mesangio, che può essere uno strato più o meno attivo, per cui questi capillari possono essere più o meno strozzati; questo mesangio viene modulato nella sua funzione da fatti endocrini, da fatti patologici: la costante di filtrazione, pertanto, può cambiare; in condizioni normali la forza attiva spinge la filtrazione, la forza attiva è di 17 mmHg: per giustificare 180 litri di filtrato glomerulare giornaliero ci vorrebbe una pressione di altissimo livello invece viene mantenuta con una pressione di 17 mmHg: sono dei capillari veramente speciali;

Quando aumenta la creatinina significa che c'è un problema a livello della filtrazione glomerulare e bisogna chiedersi quale componente della filtrazione è alterata; ad esempio, in un paziente in stato di shock si avrà una riduzione della pressione di filtrazione, così come anche nel caso in cui si verifichi una ostruzione renale (per qualunque motivo);

Quando trovate un paziente che ha una creatinina al limite (il valore normale è di 1.2 mg/100 ml), ad un valore di 1.4 mg/100 ml può essere un valore normale (perché, essendo dipendente dalla massa muscolare, se il soggetto è un palestrato, può essere un valore normale [in tal caso è utile confrontare il valore attuale con il valore di misurazioni precedenti]) oppure può esserci una condizione patologica; un soggetto ha 0.7 mg/100 ml, poi fa un incidente automobilistico e viene nefrectomizzato, si dimezza il numero di nefroni e la creatinina aumenta ad 1.2 – 1.3 mg/100 ml.

che significa clearance? È una parola inglese per dire epurazione;

se ho una sostanza che si forma costantemente ed è solo filtrata (non viene riassorbita né secreta) alla concentrazione di 1mg/mL e in un'ora ne trovo nelle urine 10 mg io posso dire che sono stati epurati 10 mL di sangue;

$$\text{clearance} = \frac{\text{concentrazione urinaria} \times \text{Volume urinario}}{\text{Concentrazione plasmatica}}$$

Questa è la misura del numero dei glomeruli funzionanti;

Non si utilizza l'urea perché dipende da numerosi fattori, dieta ecc. ecc. e la concentrazione dell'urea può cambiare;

Il Prof. ricorda che ci sono dei cibi particolarmente ricchi di creatinina (carne bollita, brodo di carne...) quindi, quando si fanno queste misurazioni bisogna avvertire il pz di non mangiare questi cibi.