

Comprende versione  
ebook



Marcello Ciaccio • Giuseppe Lippi

# Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio

II edizione

Con il patrocinio di





Marcello Ciaccio • Giuseppe Lippi

# Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio

II edizione



MARCELLO CIACCIO e GIUSEPPE LIPPI  
Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio – II edizione  
Copyright © 2018, EdiSES S.r.l. – Napoli

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0  
2022 2021 2020 2019 2018

*Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata*

*A norma di legge è vietata la riproduzione, anche parziale,  
del presente volume o di parte di esso con qualsiasi mezzo.*

L'Editore

*L'Editore ha effettuato quanto in suo potere per richiedere  
il permesso di riproduzione del materiale di cui non è tito-  
lare del copyright e resta comunque a disposizione di tutti  
gli eventuali aventi diritto*

*Progetto grafico e Fotocomposizione:*  **curvilinee**

*Stampato presso la*  
Tipolitografia Sograte S.r.l.  
Zona Ind. Regnano – Città di Castello (PG)

*Per conto della*  
EdiSES S.r.l. – Piazza Dante, 89 – Napoli  
Tel. 081/7441706-07 Fax 081/7441705

www.edises.it

info@edises.it

ISBN 9788833190129

*Ad Anna Maria,  
figlia adorata,  
unico "motore" della mia vita,  
dedico questo Libro,  
piccolo segno di un amore infinito.*

*Marcello Ciaccio*



# Presentazione

Nel mondo accademico sono stati pubblicati negli ultimi due decenni diversi trattati e manuali descrittivi dei principali aspetti del complesso disciplinare e culturale perseguiti dalla Medicina di Laboratorio e dalla Biochimica Clinica nel proprio iter scientifico e nell'importante attività in favore delle Scienze Mediche a livello Clinico.

In realtà, è solo da poco più di un ventennio che la Medicina di Laboratorio e le sue principali branche hanno ricevuto, come discipline a sé stanti, l'accesso ai curricula del Corso di Studio in Medicina e Chirurgia, nonché a quelli delle lauree triennali delle Scienze Sanitarie. Ciò a favore del personale che, giustamente, ormai anche in Italia viene formato nelle varie filiere di attività sanitaria che affiancano i Medici per la cura, l'assistenza e anche per gli aspetti preventivi della stessa Medicina.

Nonostante il fervore, anche in campo editoriale, di cui accennavo all'inizio, quando sono stato officiato dagli Autori/Coordinatori di questo nuovo volume, sono stato molto lieto di accettare la richiesta di presentarlo, in quanto sento una duplice motivazione di incitamento a svolgere questo privilegiato compito. La prima motivazione è stata dettata dal nome e dal valore professionale e accademico dei due Autori/Coordinatori, che conosco da anni, e con cui v'è ottima amicizia personale legata soprattutto a sentimenti di stima e di elevata considerazione accademica. L'attenzione è stata incrementata e avvalorata dal "parterre" veramente notevole degli altri Autori dei capitoli del libro, per la verità tutti validi Colleghi, nonché tutti esperti nel settore di studio e di attività, motivo per il quale sono stati coinvolti nella stesura dello stesso volume. La seconda motivazione, se possibile ancor più interessante, è dovuta alla validità del contenuto, in quanto forse, per lo meno a giudicare dalle mie conoscenze, si tratta di un volume che per la prima volta approccia con insistenza, prevalentemente, il problema della Medicina di Laboratorio con forti sottolineature dal punto di vista delle finalità medico-cliniche. Quest'ultime, infatti, rappresentano l'essenza finale del portato della Disciplina, o meglio dell'area disciplinare che essa è tenuta a svolgere nell'ambito della Medicina Clinica. In altre parole, e per essere più specifici e diretti su questa valutazione, il taglio che il manuale vuole dare non è tanto e non solo la descrizione delle metodologie analitiche che vengono quotidianamente adoperate nei laboratori *ad hoc* e non tanto e non solo la descrizione fisiopatologica dei vari tessuti e organi colpiti eventualmente da alterazioni morbose, ma soprattutto il diretto e più specifico legame o derivazione dei composti biologici individuati e/o dosati nei liquidi e tessuti dell'uomo con la possibilità di diagnosi, *follow-up* e terapia per la loro valenza nella decisione clinica susseguente.

Ecco, quindi, che specialmente se si aggiunge l'aspetto della prevenzione, si possono in diversi casi raggiungere finalità di ottimo valore clinico e quindi di grande valore aggiunto nel campo della terapia. Si fa qui riferimento sia alla prevenzione detta **secondaria**, data dalla diagnosi più precoce possibile – e qui si deve tener presente che, mentre nella diagnostica per immagini sono necessarie alcune centinaia di migliaia di cellule

alterate per poter discriminare il sano dal putativo ammalato con i metodi sempre più sensibili, in Medicina di Laboratorio il numero delle molecole rivelatrici di malattie potrebbe, e lo è in alcuni casi, essere rilevabile, ai fini discriminatori tra patologia e fisiologia, perfino attraverso l'analisi su *single cell*, oggi ormai alle frontiere delle tecnologie – sia alla prevenzione della **Medicina Predittiva** – dove il ritrovamento di *single one-base mutation* a livello di DNA della linea geminale può significare aumento di rischio del verificarsi di una patologia importante, per esempio un tumore, e che, attraverso le metodologie di ultima generazione, rende possibile, con elevatissimo grado di sensibilità analitica e di conseguenza sensibilità diagnostica, effettuare una procedura di *follow-up* preventivo che diminuisca fortemente il rischio di ritardo diagnostico, e addirittura consente procedure sia mediche sia chirurgiche dirette a prevenire l'insorgenza della stessa patologia.

La Medicina di Laboratorio è stata detta, forse un po' scherzosamente o forse anche con un po' di presunzione, l'unica branca della Medicina che svolge "il ruolo della Medicina Interna", oggi sempre più dotata di "complessivo sentore di obsolescenza" a causa della "invasività" della medicina specialistica suddivisa in tante branche che appaiono spesso come compartimenti stagni a volte poco comunicanti tra di loro. Solo la diagnostica a tutto campo nell'uomo, e in particolare la Medicina di Laboratorio, riesce a far visualizzare una Medicina più personalizzata, cioè tesa all'analisi complessiva della persona umana, che presenta a volte alterazioni patologiche non prevedibili con un semplice esame obiettivo o anche con una sintomatologia che interessa un certo organo o apparato. Manca cioè la visione olistica dell'individuo in fase di malattia non conclamata, che è l'unica a dare l'idea della vera Medicina personalizzata dell'individuo in esame e che, in svariate occasioni, proprio la Medicina di Laboratorio consente di offrire al medico curante.

Il volume non manca ovviamente di sottolineare in capitoli specifici gli elementi essenziali di metodologie operative e di sistematiche di laboratorio diagnostico, che devono essere presenti nell'operatività nonché nell'interpretazione dei dati di laboratorio per essere significativamente utili alla valutazione clinica.

Ogni lavoro eccellente, come è questo trattato di Ciaccio e Lippi, non può essere definito tale se colui che lo presenta non vi trova qualche pecca. Per evitare questo, mi permetto di rilevare che forse un maggiore approfondimento della Biologia Molecolare Clinica lo avrebbe arricchito di una parte un po' atipica ma indispensabile oggi per un laboratorio dedicato ad adiuvarne la clinica nel modo più moderno e attuale.

Auguro di tutto cuore a quest'opera un grande successo e un'ampia diffusione con la speranza altresì che, in aggiunta agli studenti del Corso di Studio, come ho accennato all'inizio, anche gli operatori sanitari, gli specializzandi e i Medici che vogliono aggiornarsi in questo ampio settore della Medicina abbiano la possibilità di leggere e, soprattutto, studiare i capitoli di questo volume. Questo permetterebbe loro di meglio aggiornarsi e attrezzarsi alle modernità delle conoscenze mediche nella tipologia della Diagnostica di Laboratorio, quelle conoscenze cioè che la ricerca scientifica ha portato anche in modo rilevante e concreto allo stesso tempo all'attenzione dei Colleghi impegnati nel lavoro clinico.

*Francesco Salvatore*

Professore Emerito di Biochimica Umana  
Membro dell'Accademia delle Scienze (detta dei XL), Roma

# Prefazione II edizione

La prima edizione del Trattato pubblicato appena un anno fa ha avuto un notevole successo e considerato lo sviluppo e le novità inerenti la disciplina si è ritenuto opportuno, anziché fare una ristampa della prima edizione, preparare una seconda edizione caratterizzata da un aggiornamento di tutti i capitoli e arricchita con importanti e nuovi argomenti.

In particolare, sono stati inseriti capitoli relativi ad argomenti specifici, quali gli “Itteri”, i “Disordini idro-elettrolitici”, le “Ipoglicemie”, il “Laboratorio in gravidanza”, la “Febbre di origine sconosciuta”, i “Biomarcatori di flogosi”, la “Medicina di laboratorio ed esercizio fisico”, gli “Esami pre-operatori”, gli “Esami in urgenza/emergenza”, che rappresentano tutte condizioni in cui il Laboratorio Clinico gioca un ruolo chiave. Inoltre, sono stati introdotti capitoli relativi ad argomenti estremamente attuali con un carattere innovativo quali i “Farmaci biologici” e la “Biopsia liquida”. Infine, si è ritenuto opportuno dare maggiore spazio alle Malattie cardiovascolari con l’inserimento dei capitoli relativi alla “Trombofilia” ed alla “Sindrome metabolica”, entrambe condizioni cliniche che presentano un’incidenza piuttosto elevata nella popolazione generale.

La novità più interessante relativamente all’aggiornamento dei capitoli presenti nella prima edizione riguarda il “Diabete mellito”. Si è, infatti, ritenuto opportuno inserire un capitolo supplementare al fine di fornire una conoscenza quanto più completa e approfondita sulla Malattia diabetica che va dalla definizione e classificazione all’eziopatogenesi, alla diagnosi, monitoraggio e terapia.

La seconda edizione del Trattato, dunque, è stata completata e aggiornata al fine di fornire al Lettore un panorama quanto più ampio e completo della Biochimica Clinica e della Medicina di Laboratorio.

Il Trattato è rivolto, oltre che allo Studente di Medicina e delle Professioni Sanitarie e Biomediche, anche a tutti i Professionisti di Medicina di Laboratorio e di Medicina Clinica che vogliano approfondire aspetti specifici del Laboratorio Clinico e aggiornarsi sui progressi tecnologici e biotecnologici in ambito medico.

Un ringraziamento particolare alla Dottoressa Luisa Agnello che, con attenzione e particolare dedizione, ha curato le bozze della seconda edizione.

*Marcello Ciaccio  
Giuseppe Lippi*



# Prefazione | edizione

*“La Natura compone alcune delle sue poesie più belle davanti ad un microscopio”*

Theodore Roszak, Professore Emerito di Storia, California State University.

La Medicina di Laboratorio è una branca della scienza medica che si basa sull'esecuzione di indagini analitiche, *in vitro*, utilizzando matrici biologiche raccolte dai Pazienti, e *in vivo*, studiando direttamente le modificazioni biochimiche molecolari e cellulari a livello dei diversi organi.

Malgrado non sia possibile quantificare compiutamente l'impatto della moderna Medicina di Laboratorio sul processo decisionale clinico, è innegabile che oggi una parte considerevole delle decisioni cliniche si basi sui risultati degli esami di laboratorio. Infatti, la Medicina di Laboratorio offre, oggi, un contributo sostanziale a *screening*, predizione, prevenzione, diagnosi, prognosi e monitoraggio della malattia e della terapia nella gran parte delle patologie umane. Essa consente, inoltre, l'indagine di fenomeni biologici complessi, la raccolta di informazioni caratterizzanti una patologia, una popolazione o un singolo paziente (medicina di precisione o medicina personalizzata), l'elaborazione di teorie o pratiche per migliorare le regole e le tecniche del laboratorio stesso, e inoltre rappresenta un presupposto inalienabile per la ricerca in campo biomedico, attraverso l'utilizzo di tecniche analitiche sempre più precise e accurate che permettono di raggiungere livelli di qualità di grado molto elevato. Il bagaglio culturale offerto dalla Medicina di Laboratorio è, quindi, molto ampio, spaziando dalla caratterizzazione molecolare all'epigenetica, fino alla valutazione fenotipica delle principali patologie umane.

Nelle intenzioni della Società Italiana di Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio (SIBioC), il manuale di Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio si pone come obiettivo quello di rappresentare un trattato non solo per gli studenti del Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia, del Corso di Laurea in Biologia o Biotecnologie e del Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico, per le Scuole di Specializzazione in Patologia Clinica e Biochimica Clinica, per i Corsi di Dottorato, ma anche per tutti i professionisti di Medicina di Laboratorio e altro Personale del Servizio Sanitario Nazionale che vogliano approfondire aspetti specifici della diagnostica *in vitro*. Nel volume sono descritti i principali aspetti organizzativi, analitici e clinici che caratterizzano il panorama della Biochimica Clinica e della Medicina di Laboratorio, con *focus* particolare sull'importanza della qualità e della sicurezza. La scrittura dei singoli capitoli è stata affidata da SIBioC a Soci di comprovata esperienza sull'argomento, al fine di poter descrivere e discutere efficacemente lo stato dell'arte e i possibili sviluppi futuri della Medicina di Laboratorio e della scienza biomedica nel suo complesso e nella sua complessità.

Auspichiamo, quindi, che questo Manuale, che affianca la già pregevole iniziativa societaria *Lab Tests Online* (destinata prevalentemente ai Pazienti/Cittadini), possa rappresentare un utile ausilio per aumentare o consolidare le conoscenze nell'ambito della Medicina di Laboratorio, offrire spunti critici di discussione e una visione pragmatica sui futuri sviluppi delle scienze biomediche.

Un ringraziamento a SIBioC per aver patrocinato questa iniziativa, ai Colleghi di indiscussa competenza che hanno partecipato alla stesura del volume, agli Studenti, a tutti i professionisti di Medicina di Laboratorio e di altre branche della Scienza e della Medicina, nella speranza che vogliano favorevolmente accogliere questo Manuale e possano offrire utili spunti per lo sviluppo delle edizioni future.

*Marcello Ciaccio  
Giuseppe Lippi*

#### **SUPPORTI PER I DOCENTI**

I docenti che utilizzano il testo a scopo didattico possono scaricare dal sito [www.edises.it](http://www.edises.it), previa registrazione all'area docenti, le immagini del libro in formato PowerPoint.

# Coordinatori

## Prof. Marcello Ciaccio, MD, PhD

Il Professore Marcello Ciaccio, specialista in Endocrinologia e Malattie Metaboliche, è Professore Ordinario di Biochimica Clinica presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Palermo e Direttore del Dipartimento e dell'Unità Operativa Complessa di Medicina di Laboratorio del Policlinico Universitario "P. Giaccone" di Palermo. È, inoltre, Past President Nazionale della SIBioC – Medicina di Laboratorio (Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica).

Il Prof. Ciaccio è impegnato in un'intensa attività di ricerca, come attestato dalle oltre 300 pubblicazioni scientifiche su riviste con rilevanza a livello nazionale e internazionale. In particolare, la sua ricerca è, principalmente, rivolta all'identificazione e validazione clinica di nuovi biomarcatori nell'ambito di malattie cardiovascolari, metaboliche e neurodegenerative. Inoltre, il Prof. Ciaccio è membro dell'*Editorial Board* di numerose riviste internazionali e ha partecipato alla stesura di Linee Guida e Documenti di Consenso su diverse patologie e condizioni cliniche.



## Prof. Giuseppe Lippi, MD

Giuseppe Lippi ha conseguito la laurea in Medicina nel 1986 e la specializzazione in Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio nel 1992. Attualmente è Professore Ordinario di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica presso l'Università degli Studi di Verona e Direttore del Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia dell'Ospedale Universitario di Verona. Ha pubblicato più di 1400 articoli in riviste scientifiche, il suo fattore di impatto complessivo è di oltre 5400 e l'indice Hirsch è 73. Ha partecipato a più di 500 congressi nazionali e internazionali e ha tenuto più di 250 conferenze in riunioni nazionali e internazionali. Nel 2017 è stato nominato Segretario della Federazione Europea di Chimica Clinica e Medicina di Laboratorio (EFLM). Nel 2014 ha ricevuto il premio della Associazione Americana per la Chimica Clinica (AACC) per i contributi straordinari nel settore della sicurezza del paziente e nel 2016 il premio "Outstanding Speaker" sempre dell'AACC. Ha, inoltre, ricevuto grant della Comunità Europea e dei Servizi Sanitari Regionali. Giuseppe Lippi è Editor in Chief di "Annals of Translational Medicine" e "Journal of Laboratory and Precision Medicine" e Associate Editor delle riviste "CCLM", "Seminars in Thrombosis and Hemostasis" e "Diagnosis". È attualmente Delegato Nazionale della Società Italiana di Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio (SIBioC) e membro del Gruppo di Lavoro per la Variabilità Preanalitica (WG-PA) della Federazione Europea di Medicina di Laboratorio (EFLM). I principali campi di ricerca includono la variabilità pre-analitica, la validazione analitica e clinica di biomarcatori, la diagnostica della sindrome coronarica acuta, il metabolismo delle lipoproteine e i relativi metodi di analisi, la fragilità, la diagnosi e la gestione dei disturbi dell'emostasi.





# Autori

## Luisa AGNELLO

Ricercatore di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Palermo

## Chiara BELLIA

Ricercatore di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Palermo

## Gaetano BERNARDI

UO Patologia Clinica e Genetica Medica, Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano

## Sergio BERNARDINI

Ordinario di Biochimica Clinica  
UOC Laboratorio di Biochimica Clinica, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"  
Presidente SIBioC - Medicina di Laboratorio

## Paolo BERRETTA

Centro Nazionale dipendenze e Doping, Istituto Superiore di Sanità, Roma

## Giulia BIVONA

Ricercatore Biochimica Clinica  
Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Palermo

## Chiara BONAGURI

SS Diagnostica delle Malattie Autoimmuni, Laboratorio di Diagnostica Ematochimica, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Parma

## Chiara BOVO

Direzione Sanitaria, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

## Federica BRAGA

Centro di Ricerca per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Università degli Studi di Milano

## Sabrina BUORO

UOSC Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Papa Giovanni XXIII, Bergamo

## Claudio BRENTGANI

Sezione di Biochimica Clinica, Università degli Studi di Verona

## Anna CALDINI

Laboratorio Generale, Dipartimento Aziendale Integrato dei Servizi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

## Ettore CAPOLUONGO

UOS Diagnostica Molecolare Clinica e Personalizzata, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli Roma

## Paolo CARRARO

Laboratorio Analisi, Azienda ULSS12 Veneziana, Mestre

## Giuseppe CASTALDO

Ordinario di Scienze Tecniche di Medicina di Laboratorio  
Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli "Federico II" e CEINGE - Biotecnologie avanzate, Napoli  
Past President SIBioC - Medicina di Laboratorio

**Ferruccio CERIOTTI**

Laboratorio analisi, Dipartimento Servizi e Medicina Preventiva, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano  
Past President SIBioC - Medicina di Laboratorio

**Marcello CIACCIO (Coordinatore)**

Ordinario di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Palermo  
Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio e UOC di Medicina di Laboratorio del Policlinico Universitario di Palermo  
Past President SIBioC - Medicina di Laboratorio

**Aldo CLERICO**

Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

**Carlo CORBETTA**

Laboratorio di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale, Ospedale dei Bambini "V. Buzzi" – ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano

**Valeria D'ARGENIO**

Ricercatore di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli "Federico II" e CEINGE – Biotecnologie Avanzate, Napoli

**Carlo DIONISI VICI**

UOC Patologia Metabolica – Dipartimento Pediatrie Specialistiche Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Roma

**Aline S.C. FABRICIO**

Istituto Oncologico Veneto IOV – IRCCS Padova

**Davide FARCI SANTARCANGELI**

Servizio di Medicina di Laboratorio IRCCS MultiMedica, Milano

**Giorgio FEDERICI**

Ordinario di Biochimica Clinica F.R.  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"  
Past President SIBioC - Medicina di Laboratorio

**Antonio FORTUNATO**

UOC Patologia Clinica – ASUR Marche Area Vasta 5 – Ascoli Piceno

**Massimo FRANCHINI**

Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Azienda Ospedaliera Carlo Poma, Mantova

**Gianluca GESSONI**

Primario Servizio di Medicina Trasfusionale della ULSS 12 Veneziana  
Direttore Dipartimento InterAziendale di Medicina Trasfusionale della Provincia di Venezia, Ospedale dell'Angelo

**Davide GIAVARINA**

Laboratorio Analisi, Ospedale San Bortolo, Vicenza

**Massimo GION**

Centro e Programma Regionale Biomarcatori Diagnostici, Prognostici e Predittivi, AULSS3 Serenissima, Ospedale Santi Giovanni e Paolo, Venezia

**Maria Stella GRAZIANI**

Azienda Ospedaliera Universitaria di Verona

**Gian Cesare GUIDI**

Emerito di Biochimica Clinica  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Verona

**Ilenia INFUSINO**

UOC Patologia Clinica, Ospedale "Luigi Sacco" – Polo Universitario, ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano

**Giuseppe LIPPI (Coordinatore)**

Ordinario di Biochimica Clinica  
Sezione di Biochimica Clinica  
Scuola di Medicina e Chirurgia - Università degli Studi di Verona  
Segretario della European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM)

**Bruna LO SASSO**

Ricercatore di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Palermo

**Raffaele LODI**

Ordinario di Neuroradiologia  
Dipartimento di Scienze Biomediche e NeuroMotorie, Alma Mater Studiorum, Università degli Studi di Bologna

**Barbara LOMBARDO**

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli "Federico II" e CEINGE - Biotecnologie Avanzate, Napoli

**Fabio MANONI**

Dipartimento dei Servizi di Diagnosi e Cura ULSS6 Euganea, Ospedale Madre Teresa di Calcutta, Schiavonia (PD)

**Simona MARTELLO**

Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Dipartimento di Biomedicina e Prevenzione, Roma

**Camilla MATTIUZZI**

Servizio Governance Clinica, Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari di Trento

**Alessandra MELEGARI**

Laboratorio di Patologia Clinica, Tossicologia e Diagnostica avanzata, Ospedale Baggiovara, Modena

**Salvatore MILANO**

UOC di Medicina di Laboratorio del Policlinico Universitario di Palermo

**Martina MONTAGNANA**

Associato di Biochimica Clinica  
Sezione di Biochimica Clinica  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Verona

**Andrea MOSCA**

Ordinario di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Fisiopatologia medico-chirurgica e dei trapianti, Università degli Studi di Milano  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Milano

**Michele MUSSAP**

Medicina di Laboratorio, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Università di Cagliari

**Antonello NONNATO**

SC Biochimica Clinica, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Presidio Molinette

**Cosimo OTTOMANO**

Synlab Italia, Monza

**Roberta PACIFICI**

Centro Nazionale dipendenze e Doping, Istituto Superiore di Sanità, Roma  
Past President SIBioC - Medicina di Laboratorio

**Franca PAGANI**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Fondazione Poliambulanza Istituto Ospedaliero, Brescia

**Mauro PANTEGHINI**

Ordinario di Biochimica Clinica  
UOC Patologia Clinica, Ospedale “Luigi Sacco”, Università degli Studi di Milano  
Centro di Ricerca per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Università degli Studi di Milano

**Lucio PASTORE**

Ordinario di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli “Federico II” e CEINGE – Biotecnologie Avanzate, Napoli

**Manuela PELLEGRINI**

Centro Nazionale dipendenze e Doping, Istituto Superiore di Sanità, Roma

**Simona PICHINI**

Centro Nazionale dipendenze e Doping, Istituto Superiore di Sanità, Roma

**Mario PLEBANI**

Ordinario di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera, Università degli Studi di Padova  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Padova  
Past President SIBioC – Medicina di Laboratorio

**Orazio RUZZENENTE**

Sezione di Biochimica Clinica, Università degli Studi di Verona

**Gian Luca SALVAGNO**

Associato di Biochimica Clinica  
Sezione di Biochimica Clinica  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Verona

**Francesco SALVATORE**

Emerito di Biochimica Clinica, Università degli Studi di Napoli “Federico II”  
CEINGE – Biotecnologie Avanzate, Napoli  
Past President SIBioC - Medicina di Laboratorio

**Giulia SANCESARIO**

IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma

**Alda Tiziana SCACCHETTI**

Dipartimento Interaziendale ad Attività Integrata “Medicina di laboratorio e Anatomia Patologica”, AUSL-AOU, Modena

**Claudia TESTA**

Ricamatore di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Scienze Biomediche e NeuroMotorie, Alma Mater Studiorum, Università degli Studi di Bologna

**Caterina TONON**

Associato di Biochimica Clinica  
Dipartimento di Scienze Biomediche e NeuroMotorie, Alma Mater Studiorum, Università degli Studi di Bologna

**Tommaso TRENTI**

Laboratorio di Patologia Clinica, Tossicologia e Diagnostica avanzata, Ospedale Baggiovara, Modena

**Chiara TREVISIOL**

Istituto Oncologico Veneto IOV – IRCCS Padova

**Matteo VIDALI**

Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Ospedale SS. Trinità, Borgomanero, NO

**Martina ZANINOTTO**

Dipartimento Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera, Università degli Studi di Padova  
Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Padova

# Indice generale



## CAPITOLO 1 • IL RUOLO DELLA MEDICINA DI LABORATORIO NEL CONTESTO CLINICO 1

➤ Introduzione .....	1
➤ Integrazione tra laboratorio e clinica.....	2
➤ Appropriatelyzza in medicina di laboratorio .....	3
➤ Medicina di precisione .....	4
LETTURE CONSIGLIATE .....	6

## CAPITOLO 2 • IL PROCESSO DIAGNOSTICO DI LABORATORIO 7

➤ Il processo diagnostico .....	7
➤ Il processo diagnostico di laboratorio.....	8
➤ L'informazione di laboratorio e il ragionamento diagnostico .....	10
➤ Come migliorare il processo diagnostico di laboratorio.....	11
➤ Indicatori di qualità e di esito.....	13
LETTURE CONSIGLIATE .....	14

## CAPITOLO 3 • ELEMENTI DI ORGANIZZAZIONE DI LABORATORIO BIOMEDICO 16

➤ Il welfare .....	16
➤ Organizzazione del Servizio Sanitario Nazionale.....	17
• Origine e definizione del Servizio Sanitario Nazionale .....	17
• Finanziamento del Servizio Sanitario Nazionale .....	19
• Organizzazione delle aziende sanitarie .....	20
• Il personale delle aziende sanitarie .....	22
➤ Organizzazione di laboratorio analisi.....	23
• I settori del laboratorio biomedico.....	23
• Il collegamento informatico .....	26
• Modelli organizzativi della rete dei laboratori.....	26
• I ruoli e le mansioni del personale di laboratorio analisi .....	27

## CAPITOLO 4 • RUOLO DELLA STATISTICA NELLA MEDICINA DI LABORATORIO 30

➤ Strumenti statistici di base .....	30
• Campioni e popolazioni .....	30
• Statistica descrittiva.....	30
• Distribuzioni di probabilità e la distribuzione normale.....	32
• Statistica inferenziale: gli intervalli di confidenza e i test di ipotesi .....	34
➤ Valutazione delle prestazioni analitiche .....	39
• Precisione.....	39
• Esattezza e bias.....	42
• Limite del bianco (LOB), limite di rilevabilità o di sensibilità (LOD), limite di quantificazione (LOQ).....	46
• Linearità .....	49
➤ Variabilità biologica.....	50
• Confronto dei risultati attuali con i risultati precedenti dello stesso soggetto: la differenza critica .....	50
• Definizione e utilizzo degli intervalli di riferimento.....	51
• Indice di individualità .....	52
• Livelli decisionali .....	53
➤ Prestazioni di un test diagnostico .....	53
• Le curve ROC.....	55
LETTURE CONSIGLIATE .....	56

## CAPITOLO 5 • ELEMENTI DI METROLOGIA 57

➤ Introduzione .....	57
➤ Metrologia in laboratorio .....	58
➤ Standardizzazione in laboratorio .....	59
• Produzione di standard di riferimento .....	59
• Controllo nella produzione di calibratori.....	60
• Protocolli di validazione dei metodi e loro applicabilità strumentale.....	60
LETTURE CONSIGLIATE .....	61

**CAPITOLO 6 • LA FASE PRE-ANALITICA** 62

➤ Introduzione .....	62
➤ Variabili legate al paziente .....	63
• Variabilità biologica .....	63
• Variabilità pre-pre-analitica, legata alla preparazione e allo stato del paziente.....	64
➤ Variabili legate al campione.....	66
• Richiesta di esame inappropriato o esame necessario non richiesto (appropriatezza della richiesta) .....	66
• Errore di identificazione del paziente e dei campioni .....	66
• Errore di tipo contenitore.....	67
• Campione insufficiente .....	67
• Campione coagulato.....	68
• Campione emolizzato .....	68
• Campione lipemico .....	68
• Campione itterico .....	69
• Misura degli indici di siero in laboratorio.....	69
• Ordine campionamento (leggenda metropolitana?) .....	70
• Contaminazione da via di infusione .....	70
• Raccomandazioni per il prelievo venoso .....	70
• Raccomandazioni per l'accettabilità del campione .....	70
• Problemi di trasporto .....	70
• Problemi di trattamento pre-analitico in laboratorio.....	73
➤ Indicatori di qualità pre-analitica.....	73
LETTURE CONSIGLIATE .....	73

**CAPITOLO 7 • LA QUALITÀ DEL RISULTATO DI LABORATORIO: FONTI DI VARIABILITÀ, MODALITÀ DI VALUTAZIONE E STIMA DEL LORO IMPATTO CLINICO** 76

➤ Fonti di variabilità del risultato.....	76
• Variabilità analitica: principali fonti di errore e loro definizione .....	76
• Variabilità biologica .....	78
➤ Definizione delle specifiche delle prestazioni analitiche .....	80
• Modello basato sull'impatto sull'outcome clinico .....	80
• Modello basato sulla variabilità biologica dell'analita .....	81
• Modello basato sullo stato dell'arte della misura .....	82
• Utilizzo delle APS e loro importanza nella valutazione e nella sorveglianza della qualità analitica .....	82
LETTURE CONSIGLIATE .....	84

**CAPITOLO 8 • PRINCIPI DI IMMUNOCHEMICA** 85

➤ Il dosaggio immunochimico .....	85
• L'analita .....	85
• La molecola legante.....	86
• Il tracciante .....	86
➤ Architettura del dosaggio immunochimico .....	90
• Dosaggio competitivo.....	90
• Dosaggio non competitivo.....	91

• Dosaggio in fase eterogenea .....	92
• Dosaggio in fase omogenea.....	93
• Formazione del complesso Ag-Ab e reazione all'equilibrio.....	94
➤ Metodi immunochimici senza tracciante.....	96
• Turbidimetria e nefelometria.....	96
➤ Relazione tra segnale analitico e concentrazione.....	97
• Metodi di interpolazione e di regressione .....	97
➤ Interferenze nei metodi immunochimici.....	99
LETTURE CONSIGLIATE .....	100

**CAPITOLO 9 • PRINCIPALI DETERMINAZIONI ENZIMATICHE E LORO IMPIEGO CLINICO** 101

➤ Introduzione .....	101
➤ Fattori che influenzano la concentrazione plasmatica degli enzimi.....	101
• Rilascio degli enzimi dalle cellule .....	102
• Efflusso degli enzimi dalle cellule danneggiate.....	102
• Produzione alterata di enzimi .....	102
• Clearance degli enzimi.....	103
➤ Scelta dei test enzimatici.....	103
➤ Enzimi muscolari .....	103
• Creatin chinasi .....	103
➤ Enzimi epatici .....	105
• Transaminasi .....	105
• Fosfatasi alcalina.....	106
• $\gamma$ -glutammina transferasi .....	108
➤ Enzimi pancreatici .....	108
• Lipasi .....	108
• Amilasi (pancreatica).....	109
➤ Enzimi ossei .....	110
• Fosfatasi alcalina (isoforma ossea).....	110
• Fosfatasi acida (isoforma 5b tartrato-resistente).....	111
➤ Altri enzimi.....	111
• Lattato deidrogenasi.....	111
• Colinesterasi (pseudocolinesterasi) .....	112
LETTURE CONSIGLIATE .....	114

**CAPITOLO 10 • ITTERI** 116

➤ Metabolismo della bilirubina .....	116
➤ Classificazione degli Itteri.....	117
• Itteri associati ad incremento predominante della bilirubina non coniugata (indiretta).....	119
• Itteri associati ad incremento predominante della bilirubina coniugata .....	120
➤ Diagnosi.....	121
➤ Sindrome di Gilbert e sindrome di Crigler-Najjar .....	122
➤ Ittero neonatale .....	124
LETTURE CONSIGLIATE .....	126

**CAPITOLO 11 • DIAGNOSTICA PROTEICA** 127

➤ Discrasie plasmacellulari.....	127
• Rilevanza clinica .....	127
• Tecnologia separativa.....	130
• Diagnostica di laboratorio .....	133
➤ Principali proteine sieriche di rilevanza clinica .....	136
LETTURE CONSIGLIATE.....	141

**CAPITOLO 12 • DISLIPIDEMIE** 142

➤ Lipoproteine.....	142
• Chilomicroni e chilomicroni <i>remnants</i> .....	143
• VLDL e IDL.....	143
• LDL .....	143
• HDL.....	144
• Lp(a).....	144
➤ Apolipoproteine .....	144
➤ Molecole coinvolte nel metabolismo delle lipoproteine .....	144
• Recettore delle LDL.....	144
• Recettore scavenger di classe B tipo 1 (SR-B1) .....	145
• Trasportatore di membrana ATP-dipendente A1 (ABCA1).....	145
• Trasportatore di membrana ATP-dipendente G1 (ABCG1).....	145
• Trasportatori di membrana ATP-dipendenti G5 e G8 (ABCG5/ABCG8) .....	146
• AcilCoA-colesterolo acil transferasi (ACAT) .....	146
• Lipoproteina lipasi (LPL) .....	146
• Lipasi epatica.....	146
• Lecitina-colesterolo aciltransferasi (LCAT) .....	146
• Proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (CETP).....	146
➤ Metabolismo delle lipoproteine e dei lipidi .....	146
• Via esogena del metabolismo lipidico .....	146
• Via endogena del metabolismo lipidico .....	147
• Trasporto inverso del colesterolo .....	148
➤ Classificazione.....	149
• Classificazione di Fredrickson.....	149
• Classificazione patogenetica.....	150
➤ Dislipidemia e rischio cardiovascolare .....	152
➤ Diagnosi.....	153
• Determinazione del profilo lipidico .....	154
• Diagnosi delle dislipidemie familiari .....	156
• Ipercolesterolemia familiare .....	156
• Iperlipidemia familiare combinata.....	157
• Disbetalipoproteinemia familiare.....	158
• Ipertrigliceridemia familiare .....	158
➤ Trattamento e terapia .....	158
• Modificazioni dello stile di vita per migliorare il profilo lipidico .....	159
• Terapia farmacologica.....	160
LETTURE CONSIGLIATE.....	160

**CAPITOLO 13 • DIAGNOSTICA EMATOLOGICA** 161

➤ Definizione e cause principali di anemia.....	161
➤ Il laboratorio e la diagnosi di anemia .....	162
• Misura dell'emoglobina.....	162
• Misura dell'ematocrito .....	162
• Conte cellulari .....	163
• Indici eritrocitari e misure di distribuzione.....	165
• Indici piastrinici e piastrinocrito .....	168
• Reticolociti e indici reticolocitari .....	169
➤ Conta differenziale dei leucociti (formula leucocitaria).....	172
• Conta differenziale al microscopio .....	172
• Conta differenziale automatizzata.....	173
➤ Il laboratorio nello studio delle principali forme di anemia .....	174
• Anemie microcitiche.....	174
• Anemie normocitiche.....	183
➤ Test di laboratorio per le alterazioni delle piastrine .....	195
LETTURE CONSIGLIATE.....	199

**CAPITOLO 14 • IMMUNOEMATOLOGIA** 200

➤ Immunoematologia eritrocitaria.....	200
• Antigeni gruppo-ematici eritrocitari .....	200
• Anticorpi .....	202
• Reazione antigene-anticorpo in immunoematologia eritrocitaria .....	202
• Sistemi antigenici gruppo-ematici eritrocitari.....	203
➤ Elementi di immunoematologia granulocitaria e piastrinica .....	212
• Immunoematologia granulocitaria.....	212
• Immunoematologia piastrinica.....	212
➤ Aspetti analitici di immunoematologia eritrocitaria.....	213
• Determinazione del gruppo ABO.....	213
• Determinazione del tipo D e del fenotipo Rh .....	215
• Studio degli antigeni appartenenti ad altri sistemi gruppo-ematici eritrocitari.....	215
• Ricerca degli anticorpi anti-eritrocitari.....	216
• Test indiretto all'antiglobulina (test di Coombs indiretto).....	216
• Test diretto all'antiglobulina (test di Coombs diretto) .....	218
• Applicazioni della biologia molecolare all'immunoematologia eritrocitaria .....	219
LETTURE CONSIGLIATE.....	220

**CAPITOLO 15 • EMOSTASI** 221

➤ Sistema vascolare.....	221
➤ Bilancio emostatico.....	222
➤ Fasi dell'emostasi.....	222
• Emostasi primaria .....	223
• Emostasi secondaria.....	227
• Fibrinolisi.....	231
➤ Disordini congeniti dei fattori della coagulazione .....	232
➤ Test per lo studio dell'emostasi.....	232
• Campione biologico .....	234

• Tempo di protrombina (PT).....	235
• Tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT) .....	235
• Dosaggio del fibrinogeno (Fbg).....	236
• Tempo di trombina.....	236
• Test di miscela .....	236
➤ Terapia anticoagulante .....	237
• Eparine e fondaparinux.....	237
• Inibitori della vitamina K.....	238
• Inibitori diretti dei fattori II e X.....	238
• Terapia anti-aggregante.....	238

## CAPITOLO 16 • RENE 239

➤ Malattia renale .....	239
• Malattia renale cronica (CKD) .....	240
• Danno renale acuto (AKI).....	241
• Nefropatia acuta da mezzo di contrasto.....	242
➤ Diagnostica di laboratorio delle malattie renali .....	243
• Esame standard dell'urina .....	244
• Azoto.....	245
• Urea .....	245
• Creatinina .....	246
• Stima del filtrato glomerulare mediante formule.....	248
• Proteine plasmatiche di basso peso molecolare.....	249
• Cistatina C .....	249
• Biomarcatori di lesione tubulo-interstiziale.....	250
• NGAL .....	251
• Proteinurie.....	252
• Albuminuria.....	253
LETTURE CONSIGLIATE .....	257

## CAPITOLO 17 • ESAME CHIMICO-FISICO E MORFOLOGICO DELLE URINE (ECMU) 262

➤ Cenni storici .....	262
➤ Introduzione .....	263
➤ Fase pre-analitica.....	264
➤ Fase analitica .....	264
➤ Esame fisico-chimico.....	265
➤ Parametri irrinunciabili analiticamente e/o di indubbia utilità clinica.....	266
➤ Parametri utili e di verifica analitica per il laboratorio.....	269
➤ Parametri utili in particolari condizioni cliniche .....	270
➤ Parametri non utili.....	270
➤ Analisi della frazione corpuscolata.....	270
➤ Principi di microscopia manuale del sedimento urinario.....	271
➤ Valutazione morfologica della frazione corpuscolata mediante microscopia ottica .....	272
• Identificazione e quantificazione delle cellule.....	274
• Identificazione dei lipidi .....	275
• Identificazione dei cristalli .....	275
• Microrganismi .....	275

• Contaminanti .....	275
➤ Valutazione della frazione corpuscolata delle urine mediante strumentazione automatizzata.....	276
➤ Fase post-analitica.....	278
➤ Il referto dell'esame chimico e morfologico delle urine (ECMU).....	278
➤ VEQ.....	279
LETTURE CONSIGLIATE .....	280

## CAPITOLO 18 • DISORDINI IDRO-ELETTROLITICI 282

➤ Cenni di fisiopatologia .....	282
➤ Bilancio idrico .....	283
➤ Bilancio del sodio .....	284
• Iponatremia .....	285
• Ipernatremia .....	288
➤ Bilancio del potassio.....	290
• Ipokaliemia .....	291
• Iperkaliemia .....	293
LETTURE CONSIGLIATE .....	296

## CAPITOLO 19 • EMOGASANALISI 297

➤ Introduzione .....	297
➤ Cenni di fisiopatologia .....	297
• Stato dell'ossigenazione.....	297
• Equilibrio acido-base.....	298
➤ Strumentazione.....	299
➤ Principali variabili misurate e calcolate .....	300
➤ Fase pre-analitica.....	301
• Preparazione del paziente.....	301
• Materiali per il prelievo.....	301
• Sede del prelievo arterioso.....	301
• Trasporto e conservazione .....	303
➤ Analisi.....	303
➤ Validazione .....	304
➤ Controllo di qualità .....	304
➤ Referto.....	304
➤ Emogas in varie situazioni.....	305
• Pronto Soccorso.....	305
• Sala operatoria .....	305
• Terapia intensiva e unità coronarica.....	305
• Valutazione pneumologica .....	305
• Trattamenti dialitici .....	305
➤ Interpretazione dei risultati.....	306
• Interpretazione classica.....	306
• Approccio quantitativo di Stewart .....	307
• Approccio clinico.....	307
➤ Gestione integrata nel POCT .....	307
LETTURE CONSIGLIATE .....	308

**CAPITOLO 20 • BIOMARCATORI CARDIACI** 309

➤ Introduzione .....	309
➤ Biomarcatori di danno miocardico .....	311
• Caratteristiche biochimiche e funzione biologica delle troponine .....	311
• Rilevanza clinica della misura delle troponine .....	311
• Specifiche di qualità dei metodi di misura delle troponine .....	312
• Interpretazione clinica dei risultati ottenuti con i metodi a elevata sensibilità analitica .....	313
➤ Biomarcatori di funzionalità cardiaca .....	314
• Caratteristiche biochimiche e attività biologica dei peptidi natriuretici cardiaci .....	314
• Rilevanza clinica della misura dei peptidi natriuretici cardiaci .....	315
• Interpretazioni fisiopatologica e clinica delle variazioni dei livelli circolanti del BNP/NT-proBNP .....	315
➤ Biomarcatori di rimodellamento e fibrosi del miocardio .....	317
• Fibrosi cardiaca .....	318
• Biomarcatori di sintesi e degradazione del collagene .....	319
• Biomarcatori di fibrosi miocardica .....	320
➤ Biomarcatori "genetici" associati alle malattie cardiovascolari .....	322
LETTURE CONSIGLIATE .....	324

**CAPITOLO 21 • BIOMARCATORI DI ICTUS** 326

➤ Definizione ictus .....	326
➤ Diagnosi e terapia .....	328
➤ Biomarcatori .....	328
LETTURE CONSIGLIATE .....	332

**CAPITOLO 22 • TROMBOFILIA** 333

➤ Cause ereditarie ed acquisite di trombofilia .....	333
➤ Screening trombofilico .....	334
• Indicazioni per l'esecuzione dello screening trombofilico .....	334
➤ Diagnosi di laboratorio .....	334
• Fattori interferenti con lo screening trombofilico .....	336
LETTURE CONSIGLIATE .....	336

**CAPITOLO 23 • SISTEMA ENDOCRINO** 337**IPOFISI**

➤ Cenni di anatomia .....	337
➤ Adenoipofisi .....	337
• Ormone della crescita .....	338
• Prolattina .....	345
➤ Neuroipofisi .....	347
• Ormone antidiuretico .....	347
• Ossitocina .....	348
• Diabete insipido .....	349
• Sindrome da inappropriata secrezione di ADH .....	350

• Indagini di laboratorio .....	351
• Diagnosi e terapia .....	353

**TIROIDE**

➤ Cenni di anatomia .....	357
➤ Ormoni tiroidei .....	357
• Biosintesi e secrezione .....	357
• Regolazione della secrezione tiroidea e TSH .....	359
• Trasporto degli ormoni tiroidei .....	360
• Meccanismo d'azione degli ormoni tiroidei .....	360
➤ Indagini di laboratorio .....	360
• Dosaggio TSH, FT4 e FT3 .....	360
• Autoanticorpi .....	362
➤ Diagnosi e terapia .....	362
• Iperitiroidismo primitivo .....	363
• Ipotiroidismo primitivo .....	363
• Tiroiditi .....	363

**PARATIROIDI**

➤ Cenni di anatomia .....	364
➤ Paratormone (PTH) .....	364
• Sintesi, secrezione, metabolismo e meccanismo d'azione .....	364
• Azioni biologiche .....	365
➤ Regolazione della calcemia e dell'omeostasi calcio-fosforo .....	365
• Peptide correlato al PTH .....	366
• Fosforo .....	366
• Ipercalcemia .....	367
• Ipocalcemia .....	368
➤ Indagini di laboratorio .....	370
• Calcemia .....	370
• Determinazione dell'albumina .....	370
• Valutazione della funzionalità renale .....	370
• Dosaggio del magnesio plasmatico .....	370
• Dosaggio del fosfato plasmatico o sierico .....	370
• Dosaggio del PTH .....	370
• Dosaggio della vitamina D .....	370
• Dosaggio della PTHrP .....	370

**SURRENE**

➤ Cenni di anatomia .....	371
➤ Ormoni della corticale del surrene .....	371
• Biochimica e trasporto .....	371
• Metabolismo .....	372
• Fisiologia .....	372
• Azioni biologiche .....	373
• Ipocorticosurrenalismo .....	374
• Ipercorticosurrenalismo .....	374
• Indagini di laboratorio .....	376
• Diagnosi e terapia .....	378
➤ Ormoni della midollare del surrene .....	384
• Feocromocitoma e paraganglioma .....	384
• Incidentaloma .....	388

**TESTICOLO**

➤ Cenni di anatomia .....	390
➤ Fisiologia .....	391

• Asse ipotalamo-ipofisi-gonade maschile.....	391
➤ Patologie del testicolo .....	393
• Ipogonadismo .....	393
• Ipogonadismo a insorgenza tardiva .....	393
➤ Indagini di laboratorio .....	394
• Indagini ormonali basali.....	394
• Indagini ormonali dinamiche.....	395
➤ Diagnosi e terapia .....	396
• Ipogonadismo .....	396
➤ Tumori germinali del testicolo.....	397

**OVAIO**

➤ Cenni di anatomia.....	398
➤ Fisiologia .....	399
• Asse ipotalamo-ipofisi-gonade femminile .....	399
• Sintesi e funzioni di ormoni steroidei .....	399
• Sintesi e funzione di ormoni proteici .....	401
➤ Patologie endocrine dell'ovaio.....	402
• Irsutismo e virilizzazione.....	402
• Amenorrea.....	402
➤ Indagini di laboratorio.....	405
• Indagini basali .....	405
• Indagini dinamiche.....	406
➤ Diagnosi e terapia.....	407
• Irsutismo.....	407
• Amenorrea primaria.....	408
• Amenorrea secondaria.....	409

LETTURE CONSIGLIATE .....	411
• IPOFISI.....	411
• TIROIDE .....	411
• PARATIROIDI.....	411
• SURRENE.....	412
• TESTICOLO.....	412
• OVAIO.....	412

**CAPITOLO 24 • DIABETE MELLITO: DALLA DEFINIZIONE ALLA TERAPIA** 414

➤ Definizione .....	414
➤ Cenni storici.....	414
➤ Regolazione della glicemia .....	414
➤ Classificazione del diabete mellito.....	418
➤ Epidemiologia.....	418
➤ Eziopatogenesi.....	419
• Diabete tipo 1.....	419
• Diabete tipo 2.....	421
• Diabete gestazionale .....	422
• Altri tipi di diabete .....	423
➤ Diagnosi.....	423
➤ Complicanze.....	428
➤ Monitoraggio.....	430
➤ Terapia.....	430
LETTURE CONSIGLIATE .....	432

**CAPITOLO 25 • DIABETE MELLITO: IL RUOLO DEL LABORATORIO** 434

➤ Introduzione .....	434
• Ruolo del laboratorio nello screening e nella diagnosi.....	434
• Ruolo del laboratorio nella sorveglianza.....	435
➤ Anticorpi.....	435
➤ Glucosio.....	436
• Glicemia a digiuno .....	436
• Glicemia post-prandiale .....	438
• Curva da carico orale di glucosio.....	438
• Automonitoraggio della glicemia mediante strumentazione POCT.....	439
• Variabilità glicemica .....	441
➤ Corpi chetonici.....	441
➤ Albuminuria.....	442
➤ Emoglobina glicata.....	443
➤ Albumina glicata e fruttosamina .....	446
➤ Insulina e peptide C.....	447
LETTURE CONSIGLIATE .....	448

**CAPITOLO 26 • SINDROME METABOLICA** 449

➤ Definizione .....	449
➤ Patogenesi.....	449
➤ Diagnosi.....	450
➤ Terapia .....	451
LETTURE CONSIGLIATE .....	452

**CAPITOLO 27 • IPOGLICEMIA** 453

➤ Introduzione .....	453
➤ Epidemiologia.....	453
➤ Cenni di fisiologia.....	454
➤ Sintomi .....	455
➤ Ipoglicemia nel diabete.....	455
➤ Ipoglicemia in assenza di diabete.....	457
➤ Diagnosi.....	459
LETTURE CONSIGLIATE .....	462

**CAPITOLO 28 • IL LABORATORIO NELLA GRAVIDANZA** 463

➤ Esami fase pre-concezionale.....	463
• Test di Coombs indiretto .....	463
• TORCH .....	464
• Emocromo e assetto emoglobinico.....	469
• Glicemia .....	469
• Pap test .....	469
➤ Accertamento di Gravidanza .....	469
➤ Esami in gravidanza .....	470

➤ Diabete gestazionale.....	472
➤ Pre-eclampsia ed eclampsia.....	474
➤ Screening prenatale per la sindrome di Down.....	477
LETTURE CONSIGLIATE.....	478

## CAPITOLO 29 • MALATTIE METABOLICHE EREDITARIE

479

➤ Introduzione.....	479
➤ Aspetti clinici.....	480
➤ Caratteristiche cliniche (principali e comuni).....	481
➤ Terapia.....	481
➤ Strategie di laboratorio per lo screening e la conferma diagnostica di MME.....	482
• Conferma diagnostica di sospetto clinico di MME.....	482
• Processo di screening neonatale.....	484
LETTURE CONSIGLIATE.....	490

## CAPITOLO 30 • IPERFENILALANINEMIE, TIROSINEMIE, GLICOGENOSI, IPERAMMONIEMIE

491

➤ Iperfenilalaninemie.....	491
• Diagnosi e terapia.....	492
• Fenilchetonuria materna.....	493
➤ Tirosinemie.....	493
➤ Glicogenosi.....	494
• Diagnosi.....	495
➤ Iperammoniemie.....	495
• Forma neonatale.....	496
• Forma infantile.....	496
• Forme della pubertà e dell'età adulta.....	496
LETTURE CONSIGLIATE.....	498

## CAPITOLO 31 • MARCATORI CIRCOLANTI IN ONCOLOGIA: AMBITI DI APPLICAZIONE, CRITICITÀ E PROSPETTIVE

499

➤ Marcatori in oncologia: un concetto in evoluzione.....	499
➤ Limiti riconosciuti e approcci proposti per il miglioramento.....	501
➤ Marcatori nel sangue e nel tessuto: ambiti di impiego e criticità.....	502
➤ Marcatori circolanti: quali utilizzare nella pratica clinica.....	505
➤ Le prospettive: marcatori associati a meccanismi biologici.....	509
LETTURE CONSIGLIATE.....	512

## CAPITOLO 32 • BIOPSIA LIQUIDA

514

➤ Cellule tumorali circolanti (CTC).....	515
➤ Tecnologie per l'isolamento delle CTC.....	515
• Metodi basati sulle proprietà fisiche delle CTC.....	516

• Metodi basati su immuno-fenotipizzazione.....	516
• Metodi basati sull'allontanamento di leucociti.....	516

➤ Caratterizzazione molecolare delle CTC.....	517
➤ DNA tumorale circolante.....	517
➤ Tecnologie per l'isolamento del ctDNA.....	518
➤ Analisi mutazionale del ctDNA.....	518
➤ Applicazione della biopsia liquida al carcinoma polmonare non a piccole cellule ( <i>Non Small Cell Lung Cancer</i> , NSCLC).....	519
➤ Applicazione della biopsia liquida ad altre neoplasie.....	520
LETTURE CONSIGLIATE.....	521

## CAPITOLO 33 • LIQUIDI BIOLOGICI

523

➤ Fisiopatologia.....	523
➤ Tipi di analisi.....	524
• Analisi macroscopica.....	524
• Esame citometrico.....	524
➤ Liquido pleurico.....	525
• Valutazione macroscopica e analisi cellulare.....	527
• Biochimica.....	528
➤ Liquido pericardico.....	529
• Valutazione macroscopica e analisi cellulare.....	529
• Biochimica.....	530
➤ Liquido ascitico o da versamento peritoneale.....	530
• Valutazione macroscopica e analisi cellulare.....	530
• Biochimica.....	531
➤ Liquido sinoviale.....	532
• Fisiopatologia.....	532
• Valutazione macroscopica, ricerca di cristalli e analisi cellulare.....	532
• Biochimica.....	533
➤ Liquido cefalorachidiano.....	535
• Valutazione macroscopica e analisi cellulare.....	536
• Biochimica.....	537
• Infettivologia.....	538
LETTURE CONSIGLIATE.....	538

## CAPITOLO 34 • PROSPETTIVE ATTUALI NELLA DIAGNOSTICA DI LABORATORIO DELLE MALATTIE AUTOIMMUNI

540

➤ Introduzione.....	540
➤ Malattie reumatiche autoimmuni.....	541
➤ Malattia celiaca.....	545
➤ Malattie epatiche autoimmuni.....	546
LETTURE CONSIGLIATE.....	551

## CAPITOLO 35 • DIAGNOSTICA DI LABORATORIO NELLE MALATTIE ALLERGICHE

552

➤ Introduzione.....	552
---------------------	-----

➤ Scoperta delle immunoglobuline E.....	552
➤ Mastociti e basofili .....	553
➤ Allergeni.....	553
➤ Uso di allergeni ricombinanti in diagnostica allergologica .....	555
➤ Diagnostica allergologica in vitro.....	556
• Determinazione delle IgE totali.....	556
• Ricerca di IgE specifiche .....	556
➤ Diagnostica allergologica molecolare .....	557
• Metodiche analitiche utilizzate per la diagnostica molecolare .....	558
➤ Conclusioni .....	560
LETTURE CONSIGLIATE.....	561

### CAPITOLO 36 • MARCATORI BIOCHIMICI DI RIMODELLAMENTO OSSEO 562

➤ Biochimica del tessuto osseo.....	562
➤ Marcatori di formazione ossea.....	564
• Fosfatasi alcalina ossea.....	564
• Osteocalcina .....	564
• Peptidi terminali del procollagene di tipo I .....	565
➤ Marcatori di riassorbimento osseo.....	565
• Cross-links del collagene.....	565
• Telopectidi amino- e carbossi-terminale del collagene di tipo I.....	566
• Fosfatasi acida tartrato-resistente.....	567
➤ Nuovi marcatori.....	567
• RANK-RANKL-OPG.....	567
• Catepsina K.....	568
• Sclerostina .....	569
• Fattore di crescita dei fibroblasti (Fibroblast-Growth Factor 23, FGF23).....	569
• Determinanti genetici .....	570
➤ Fonti di variabilità dei marcatori di rimodellamento osseo.....	571
➤ Utilizzo clinico dei marcatori biochimici di rimodellamento osseo .....	572
➤ Marcatori biochimici di rimodellamento osseo in varie condizioni cliniche a impatto sul metabolismo del tessuto osseo .....	572
• Marcatori ossei nell'osteoporosi da glucocorticoidi.....	572
• Marcatori ossei nell'osteoporosi indotta da immobilizzazione.....	573
• Marcatori ossei nelle patologie infiammatorie dell'intestino.....	573
• Marcatori ossei nell'artrite reumatoide .....	573
• Marcatori ossei nell'iperparatiroidismo primitivo .....	574
• Marcatori ossei nelle patologie tumorali.....	574
• Marcatori ossei nella malattia di Paget.....	574
• Marcatori ossei nel mieloma multiplo .....	575
➤ Marcatori biochimici di rimodellamento osseo nell'osteoporosi post-menopausale.....	575
• Predizione della perdita ossea .....	576
• Predizione del rischio di frattura .....	576

• Monitoraggio della terapia .....	577
• Valutazione dell'aderenza alla terapia .....	577
➤ Conclusioni.....	577
LETTURE CONSIGLIATE.....	579

### CAPITOLO 37 • MALATTIA DI ALZHEIMER E ALTRE DEMENZE NEURODEGENERATIVE 586

➤ Introduzione .....	586
➤ Il liquido cefalorachidiano come fonte principale di biomarcatori .....	586
➤ La malattia di Alzheimer.....	587
➤ Le demenze frontotemporali e vascolari.....	588
➤ Le malattie da prioni.....	589
➤ La malattia di Parkinson e le sinucleinopatie .....	590
➤ Variabilità e standardizzazione dell'esame liquorale .....	590
LETTURE CONSIGLIATE.....	592

### CAPITOLO 38 • BIOCHIMICA CLINICA IN VIVO 593

➤ Tecnica di spettroscopia di risonanza magnetica: principi di base .....	593
➤ Spettroscopia RM <i>in vitro</i> , <i>ex vivo</i> e <i>in vivo</i> .....	595
• Strumentazione .....	595
• Specie nucleari rilevabili e corrispondenti vie metaboliche.....	596
• Applicazioni in cellule, tessuti (biopsie) ed estratti .....	597
➤ Spettroscopia RM del protone <i>in vivo</i> .....	599
• Contesto operativo.....	599
• Spettroscopia RM del protone .....	600
• Analisi qualitativa e quantitativa degli spettri del protone.....	600
• Metaboliti cerebrali .....	602
• Principali quadri di patologie neurologiche valutate con la <sup>1</sup> H-MRS.....	604
• Altre applicazioni della spettroscopia del protone .....	608
➤ Spettroscopia RM del fosforo <i>in vivo</i> .....	610
• Muscolo scheletrico .....	610
• Preparazione e set-up del paziente .....	611
• Principali quadri di patologia muscolo-scheletrica valutati con <sup>31</sup> P-MRS muscolare.....	612
LETTURE CONSIGLIATE.....	614

### CAPITOLO 39 • INDAGINI DI BIOLOGIA MOLECOLARE CLINICA 615

➤ Introduzione e applicazioni.....	615
• Tipologia di test e campione biologico.....	615
➤ Diagnosi di suscettibilità .....	616
• L'esempio della trombofilia .....	616
• L'esempio della farmacogenomica.....	617

• Un esempio di guida alla terapia in oncologia: il test BRCA1/2.....	618
➤ Diagnosi precoce.....	619
• Screening neonatali tradizionali.....	620
• Screening neonatale esteso.....	620
➤ Diagnosi di malattia.....	621
• L'esempio di una malattia autosomica recessiva: la fibrosi cistica.....	621
• L'esempio di malattie X-linked: emofilia A e B.....	622
• Una criticità dei test molecolari: l'identificazione di nuove mutazioni.....	624
• Aspetti bioetici: le malattie a sviluppo tardivo.....	624
➤ Diagnosi di portatore.....	625
➤ Diagnosi prenatale.....	625
• Diagnosi prenatale di malattie genetiche non ereditarie.....	626
• Diagnosi prenatale delle malattie genetiche ereditarie.....	626
• Diagnosi pre-impianto.....	628
➤ Stadiazione della malattia: l'esempio delle cellule tumoralì circolanti.....	629
➤ Leucemia mieloide cronica, gene <i>BCR-ABL</i> e monitoraggio della malattia.....	630
LETTURE CONSIGLIATE.....	631
<b>CAPITOLO 40 • FEBBRE DI ORIGINE SCONOSCIUTA</b> 632	
➤ Definizione di febbre.....	632
➤ Definizione di febbre di origine sconosciuta.....	633
➤ Cause di FUO.....	634
➤ Diagnosi.....	635
LETTURE CONSIGLIATE.....	637
<b>CAPITOLO 41 • BIOMARCATORI DI FLOGOSI</b> 638	
➤ Definizione di flogosi.....	638
➤ Proteine di fase acuta.....	639
➤ Proteina C reattiva.....	640
➤ VES.....	641
➤ Procalcitonina.....	642
➤ Alfa-1 antitripsina.....	643
➤ Beta-2-microglobulina.....	643
➤ Fibrinogeno.....	643
➤ Proteina siero amiloide A.....	644
➤ Approccio diagnostico.....	644
LETTURE CONSIGLIATE.....	644
<b>CAPITOLO 42 • BIOMARCATORI DI SEPSI</b> 645	
➤ Definizione di sepsi.....	645
➤ Epidemiologia della sepsi.....	647
➤ Ruolo del laboratorio nella sepsi.....	648
➤ Biomarcatori di sepsi.....	648
• Proteina C reattiva.....	649
• Procalcitonina.....	650
• Presepsina.....	651
• Adrenomedullina.....	651
LETTURE CONSIGLIATE.....	653
<b>CAPITOLO 43 • MEDICINA DI LABORATORIO ED ESERCIZIO FISICO</b> 655	
➤ Effetti acuti della prestazione sportiva sui parametri di laboratorio.....	655
➤ Effetti a medio-lungo termine dell'attività fisica sui parametri di laboratorio.....	656
LETTURE CONSIGLIATE.....	658
<b>CAPITOLO 44 • ESAMI PREOPERATORI</b> 659	
LETTURE CONSIGLIATE.....	662
<b>CAPITOLO 45 • IL LABORATORIO IN URGENZA/ EMERGENZA</b> 663	
➤ Introduzione.....	663
➤ Alterazione dello stato di coscienza.....	663
➤ Astenia.....	664
➤ Diatesi emorragica.....	665
➤ Dispnea.....	665
➤ Dolore addominale.....	667
➤ Dolore toracico.....	667
➤ Trauma maggiore o politrauma.....	667
➤ Ustioni.....	668
LETTURE CONSIGLIATE.....	670
<b>CAPITOLO 46 • FARMACI BIOLOGICI</b> 671	
➤ Introduzione.....	671
➤ Principali differenze tra farmaci biologici e farmaci tradizionali.....	673
➤ Immunogenicità dei farmaci biologici.....	674
➤ Ambiti di applicazione dei farmaci biologici.....	674
➤ Farmaci biologici in gastroenterologia: malattia di Crohn e rettocolite ulcerosa.....	675
➤ Farmaci biologici in reumatologia: artrite reumatoide e spondilite anchilosante.....	676
➤ Farmaci biologici in dermatologia: psoriasi e artropatia psoriasica.....	678
➤ Farmaci biologici in oncologia.....	680
➤ Conclusioni.....	681
LETTURE CONSIGLIATE.....	682

## CAPITOLO 47 • LA SPETTROMETRIA DI MASSA IN BIOCHIMICA CLINICA E MEDICINA DI LABORATORIO 683

➤ Introduzione .....	683
➤ Dosaggio terapeutico dei farmaci.....	686
• Steroidi .....	687
➤ Droghe d'abuso.....	689
➤ Screening neonatale.....	689
➤ Proteomica.....	691
LETTURE CONSIGLIATE.....	694

## CAPITOLO 48 • TOSSICOLOGIA E FARMACOLOGIA ANALITICA 695

### TOSSICOLOGIA

➤ Interazione tra sostanze chimiche.....	696
• Tolleranza .....	696
• Caratteristiche dell'esposizione .....	696
• Metabolismo.....	697
• Metaboloma e biomarker metabolici.....	698
➤ Relazione dose-risposta .....	698
• Variazioni nelle risposte tossiche .....	699
• Pericolo e rischio tossicologico.....	700
• Valutazione tossicologica.....	700
• Filosofia della valutazione del rischio .....	702
➤ Tossicologia analitica.....	702
• Monitoraggio biologico.....	702

### TOSSICOLOGIA CLINICA

➤ Ruolo del laboratorio .....	703
➤ Tecniche analitiche.....	704

### TOSSICOLOGIA FORENSE

➤ Sostanze stupefacenti e psicoattive.....	707
• Sostanze classiche .....	707
• Nuove sostanze psicoattive (NSP) .....	710
➤ Cenni di legislazione.....	711
• DPR 309/1990.....	711
• Nuovo Codice della Strada (C.d.S.): articoli 186 e 187.....	712
• Legge n. 41/2016: l'omicidio stradale.....	712
➤ Scelta della matrice biologica .....	713
• Sangue .....	713
• Urine.....	713
• Matrice cheratinica.....	713
• Saliva.....	714
• Matrici alternative: il sudore.....	714
➤ Valenza medico-legale delle analisi tossicologiche.....	714
➤ Procedure analitiche.....	715
• Analisi di screening .....	715
• Analisi di conferma .....	716
➤ Certificazione e accreditamento nel laboratorio di tossicologia forense.....	716

## FARMACOLOGIA CLINICA

➤ Monitoraggio terapeutico del farmaco.....	717
➤ Requisiti dei farmaci da monitorare .....	717
➤ Farmaci che rispondono ai requisiti del TDM.....	717
➤ Obiettivi del TDM .....	718
➤ Appropriattezza del prelievo.....	718

## CAPITOLO 49 • FARMACOTOSSICOLOGIA DELLE SOSTANZE D'ABUSO 719

➤ Meccanismi d'azione ionotropici e metabotropici delle sostanze d'abuso .....	719
➤ Fattori che influenzano l'abuso e la dipendenza da sostanze .....	723
• Proprietà farmacologiche e fisico-chimiche delle sostanze d'abuso .....	723
• Disturbi della personalità e psichiatrici.....	723
• Fattori genetici.....	723
• Pericolosità delle sostanze d'abuso.....	723
• Valutazione dei danni .....	725
➤ Principali classi delle sostanze d'abuso e meccanismo d'azione .....	725
• Oppioidi .....	725
• Cocaina .....	728
• Cannabinoidi.....	729
• Amfetamine .....	732
• Allucinogeni .....	734
• Alcol etilico.....	736
• Benzodiazepine.....	737
• Nuove sostanze psicoattive.....	738
LETTURE CONSIGLIATE .....	744

## CAPITOLO 50 • APPLICAZIONI DELLE SCIENZE "OMICHE" IN LABORATORIO 747

➤ Introduzione alle scienze "omiche", definizioni e generalità .....	747
➤ Dal progetto genoma al progetto 1000 genomi: applicazioni della genomica alla medicina di laboratorio.....	748
➤ Individuazione di alterazioni genomiche: il CGH-array .....	749
➤ Trascrittomica ed espressione genica.....	750
➤ Epigenomica e meccanismi di regolazione dell'espressione genica .....	751
➤ Metagenomica, analisi del microbioma e associazione a patologie umane .....	752
➤ Nutrigenomica e medicina della nutrizione.....	754
➤ Farmacogenomica e terapia personalizzata .....	754
LETTURE CONSIGLIATE.....	756

**CAPITOLO 51 • DALL'INVECCHIAMENTO ALLA  
LONGEVITÀ IN BUONA SALUTE: DA UN OSSIMORO AD  
UN'ENDIADE. IL CONTRIBUTO DELLA MEDICINA DI  
LABORATORIO ALLA MEDICINA PERSONALIZZATA 759**

- L'equilibrio omeostatico dell'organismo: fattori genetici e ambientali.....759
- Invecchiamento o longevità in buona salute.....760

- L'invecchiamento come malattia multifattoriale .....762
- La medicina personalizzata e la medicina di laboratorio.....762
- Le tipologie di medicina denominate da multiple P.....763
- Considerazioni conclusive e di nuova progettualità  
in medicina di laboratorio .....764
- LETTURE CONSIGLIATE.....766

Sergio Bernardini • Simona Martello •  
Antonello Nonnato • Davide Farci Santarcangeli

## TOSSICOLOGIA E FARMACOLOGIA ANALITICA

*La tossicologia è lo studio degli effetti indesiderati delle sostanze chimiche e dei loro metaboliti sull'organismo ed è un campo di particolare interesse per le implicazioni che ricopre anche nell'ambito della diagnostica di laboratorio.*

*In questo capitolo si dà un inquadramento generale sulla disciplina in riferimento alle sue implicazioni laboratoristiche, con particolare dettaglio sulla tossicologia forense e sulla farmacotossicologia.*

### TOSSICOLOGIA

- Interazione tra sostanze chimiche
- Relazione dose-risposta
- Tossicologia analitica

### TOSSICOLOGIA CLINICA

- Ruolo del laboratorio
- Tecniche analitiche

### TOSSICOLOGIA FORENSE

- Sostanze stupefacenti e psicoattive
- Cenni di legislazione
- Scelta della matrice biologica

- Valenza medico-legale delle analisi tossicologiche
- Procedure analitiche
- Certificazione e accreditamento nel laboratorio di tossicologia forense

### FARMACOLOGIA CLINICA

- Monitoraggio terapeutico del farmaco
- Requisiti dei farmaci da monitorare
- Farmaci che rispondono ai requisiti del TDM
- Obiettivi del TDM
- Appropriatezza del prelievo

## TOSSICOLOGIA

La **tossicologia** è lo studio degli effetti indesiderati delle sostanze chimiche sull'organismo, esaminando la natura di questi effetti (inclusi i meccanismi d'azione cellulari, biochimici e molecolari) e valutando la possibilità che essi si verifichino.

Le aree principali della disciplina sono la tossicologia molecolare, la tossicogenomica, la tossicologia descrittiva, la tossicologia regolatoria, la tossicologia forense, la tossicologia ambientale, la tossicologia dello sviluppo (con la teratologia), la tossicologia della riproduzione, la farmacotossicologia e la tossicologia clinica; in particolare, quest'ultima si occupa delle patologie causate o associate con l'esposizione alle sostanze tossiche.

Ogni sostanza chimica estranea all'organismo (additivi alimentari, coloranti, emollienti, farmaci, pesticidi, inquinanti ambientali, prodotti voluttuari ecc.) costituisce uno *xenobiotico*. Gli xenobiotici sono distribuiti ai diversi organi attraverso il circolo sangui-

gno essenzialmente legati alle proteine plasmatiche, dove possono accumularsi provocando effetti tossici se si supera la soglia di tossicità (acuta o cronica).

Si può definire *veleno* ogni agente capace di produrre un danno in un sistema biologico. Virtualmente, ogni sostanza chimica ha la potenzialità di produrre un danno o la morte, se presente in una concentrazione sufficientemente elevata. Al riguardo un parametro particolarmente importante è la  $LD_{50}$ , definita come la dose di sostanza che causa la morte nel 50% dei soggetti esposti. Va tuttavia osservato che le misure di letalità acuta come la  $LD_{50}$  non sempre riflettono in modo accurato l'intero spettro di tossicità o il pericolo associato con l'esposizione a un agente perché piccole dosi non tossiche a livello acuto ma accumulate nel tempo possono dare luogo a fenomeni di tossicità cronica.

Gli agenti tossici sono classificati sulla base degli interessi e delle necessità di chi li classifica; essi

possono essere descritti in funzione del loro organo bersaglio, del loro uso, della loro origine, delle loro caratteristiche fisiche e chimiche o dei loro effetti.

Il termine *tossina* è utilizzato generalmente per le sostanze tossiche prodotte da sistemi biologici come piante, animali, funghi o batteri, mentre il termine *agente tossico* è utilizzato nel caso di sostanze tossiche derivanti da attività umane.

Gli effetti tossici di una sostanza (compresi quelli dovuti ad allergia o idiosincrasia) possono essere immediati o ritardati, come anche reversibili o irreversibili; la reversibilità o l'irreversibilità dell'effetto dipende principalmente dalle capacità di rigenerazione del tessuto interessato.

Un'altra distinzione fra i vari tipi di effetti tossici riguarda il sito d'azione. Gli effetti locali sono quelli che si verificano nel sito di primo contatto tra il sistema biologico e l'agente tossico. Invece gli effetti sistemici sono quelli che richiedono l'assorbimento e la distribuzione dell'agente tossico dal suo sito d'entrata a un punto lontano ove è in grado di produrre i suoi effetti tossici. La maggior parte delle sostanze produce effetti sistemici; per alcune sostanze sono stati dimostrati effetti sia locali sia sistemici. In genere, gli agenti chimici che causano effetti sistemici producono la loro massima tossicità in uno o due organi, definiti organi bersaglio della tossicità; spesso l'organo bersaglio non corrisponde al sito di massima concentrazione dell'agente chimico.

## Interazione tra sostanze chimiche

L'interazione tra sostanze chimiche può avvenire con diversi meccanismi: alterazione dell'assorbimento, del legame con le proteine, del metabolismo (o biotrasformazione) o dell'escrezione di una o più delle sostanze coinvolte. Oltre ai fenomeni di interazione, la risposta dell'organismo alla combinazione di diverse sostanze tossiche può risultare aumentata o diminuita a causa degli effetti tossici indotti nel sito d'azione.

Si ha un effetto additivo quando due sostanze somministrate contemporaneamente producono un effetto pari alla somma degli effetti indotti da ciascuna di esse somministrata singolarmente; è l'effetto più comune. Si ha un effetto sinergico quando la combinazione di due sostanze produce effetti maggiori della somma degli effetti indotti dalle sostanze sommi-

nistrate singolarmente. Si ha potenziamento quando una sostanza è di per sé priva di effetti tossici, ma se somministrata contemporaneamente a un'altra questa la rende più tossica.

L'antagonismo è la situazione in cui due o più sostanze interferiscono fra di loro. Esistono quattro categorie fondamentali di antagonismo: l'antagonismo funzionale (quando due sostanze hanno effetti contrapposti sulla stessa funzione fisiologica), l'antagonismo chimico o inattivazione (quando fra le sostanze coinvolte avviene una reazione chimica che generalmente dà esito a un prodotto meno tossico), l'antagonismo cinetico (quando vengono alterati l'assorbimento, il metabolismo, la distribuzione o l'escrezione di una delle sostanze, la cui concentrazione e/o durata dell'effetto sull'organo bersaglio risulterà diminuita) e l'antagonismo recettoriale (quando l'effetto combinato di sostanze che si legano allo stesso recettore è minore della somma degli effetti indotti da ciascuna sostanza somministrata singolarmente o quando una sostanza antagonizza gli effetti di un'altra sostanza).

## Tolleranza

La tolleranza è la condizione di diminuita risposta all'effetto tossico di una sostanza dovuta a una precedente esposizione alla sostanza stessa o a un'altra strutturalmente simile; i principali meccanismi responsabili della tolleranza sono una diminuita quantità di sostanza che raggiunge il sito in cui viene prodotto l'effetto tossico (tolleranza cinetica) e una ridotta reattività del tessuto.

## Caratteristiche dell'esposizione

Gli effetti tossici su un sistema biologico non vengono prodotti senza che l'agente o i suoi metaboliti raggiungano i siti appropriati dell'organismo a una concentrazione e per un tempo sufficienti a evocare l'effetto tossico. Quindi la risposta tossica dipende dalle proprietà chimico-fisiche dell'agente, dalla sede di esposizione, dal metabolismo dell'agente e dalla suscettibilità del sistema biologico o dell'individuo,

Le più importanti vie attraverso cui gli agenti tossici hanno accesso all'organismo sono il tratto gastroenterico (ingestione), i polmoni (inalazione), la pelle (via topica, percutanea o dermica) e le altre vie parenterali. Generalmente gli agenti tossici producono gli

effetti maggiori e le risposte più rapide quando vengono iniettati direttamente nel torrente circolatorio. Il “veicolo” (ovvero il materiale in cui l’agente tossico è disciolto) e altri fattori della formulazione possono alterare notevolmente l’assorbimento; inoltre, anche la via di somministrazione può influenzare la tossicità degli agenti.

Nelle situazioni di esposizione nell’uomo, la durata e la frequenza dell’esposizione spesso non sono chiaramente definite, ma in generale le esposizioni occupazionali e ambientali possono essere descritte come acute (singolo incidente o episodio di esposizione), subcroniche (esposizione per alcune settimane o mesi) o croniche (che avvengono ripetutamente per molti mesi o anni).

Per numerosi agenti gli effetti tossici ottenuti dopo una singola somministrazione sono molto diversi da quelli prodotti con esposizioni ripetute. L’esposizione acuta ad agenti che vengono assorbiti rapidamente può determinare facilmente effetti tossici immediati, ma può anche causare degli effetti ritardati che possono essere simili o diversi dagli effetti tossici conseguenti all’esposizione cronica; al contrario, nel caso di esposizione cronica, oltre agli effetti a lungo termine osservabili con basse dosi, dopo ogni somministrazione si possono osservare anche alcuni effetti immediati (acuti). Un altro fattore importante per la caratterizzazione temporale dell’esposizione è la frequenza delle esposizioni: una singola dose di un agente chimico che produce effetti tossici marcati può essere senza effetto se la stessa dose viene suddivisa e somministrata a intervalli. Di contro, anche se la sostanza non si accumula, dopo ogni somministrazione possono essere presenti danni cellulari o tissutali; pertanto è importante valutare se l’intervallo di tempo che intercorre tra due dosaggi successivi sia stato sufficiente per permettere un completo recupero del danno; quindi si possono verificare effetti tossici cronici se la sostanza si accumula nel sistema biologico (perché l’assorbimento eccede il metabolismo e/o l’escrezione), se produce effetti tossici irreversibili o se tra gli intervalli di esposizioni non è trascorso un intervallo di tempo sufficiente per il completo recupero del danno.

## **Metabolismo**

Poiché ogni sostanza è sottoposta a un processo di biotrasformazione (detto metabolismo) che ha lo scopo di trasformare le sostanze estranee in com-

posti più polari e più idrosolubili per aumentarne l’escrezione, per la valutazione del potenziale tossico di uno xenobiotico è importante tenere presenti non solamente gli effetti tossici della sostanza tossica in quanto tale, ma anche quelli dei suoi metaboliti. Questo è di particolare importanza nella valutazione dell’azione di un farmaco, dove i metaboliti da una parte possono essere le sostanze che esplicano l’effettiva azione farmacologica (poiché quindi la sostanza somministrata è un profarmaco), ma dall’altra possono ricoprire un’importante azione tossica.

La biotrasformazione di una sostanza può portare alla formazione di metaboliti inattivi, di metaboliti attivi (con spettro d’azione uguale o diverso rispetto a quello della sostanza originaria) e metaboliti decisamente tossici.

La sede principale del metabolismo è il fegato, ma anche polmoni, reni e intestino hanno una capacità metabolica significativa e ogni tessuto è dotato di una certa capacità metabolica.

Una caratteristica degli enzimi epatici è che la loro sintesi e la loro attività possono aumentare in seguito alla somministrazione ripetuta di sostanze come farmaci, pesticidi, sostanze chimiche di origine industriale e alimenti (un esempio su tutti l’etanolo). L’induzione metabolica, particolarmente importante nel caso dei farmaci, si traduce in un’accelerazione del metabolismo e in una riduzione dell’azione non solo della sostanza induttrice, ma anche di altre sostanze somministrate contemporaneamente all’induttore.

Il metabolismo si attua in due fasi. Le reazioni di fase I o di funzionalizzazione hanno la finalità di inserire o di mettere in evidenza nella molecola gruppi funzionali come  $-OH$ ,  $-NH_2$  o  $-COOH$ ; sono reazioni di fase I la riduzione, l’ossidazione, l’idrolisi e l’idratazione, che nella maggior parte dei casi sono catalizzate dal sistema del citocromo P450. Invece le reazioni di fase II o di coniugazione sono reazioni enzimatiche di biosintesi per mezzo delle quali un composto esogeno o un metabolita derivato da una reazione di fase I si lega in modo covalente con una molecola endogena mediante i gruppi funzionali  $-OH$ ,  $-COOH$ ,  $-NH_2$  o  $-SH$ ; in generale, i coniugati sono molecole polari facilmente eliminabili; sono reazioni di fase II la glucuronoconiugazione, l’acetilazione e la coniugazione con il glutatione.

Gli xenobiotici nel processo metabolico vengono trasformati in xenobiotici con attività minore o nulla rispetto al parentale (subendo quindi un processo di detossificazione) oppure in metaboliti con attività

maggiore rispetto al parentale (subendo quindi un processo di bioattivazione).

Importante al riguardo è quindi l'utilizzo di opportuni biomarcatori che siano indice di alterazioni biochimiche o molecolari dovute allo xenobiotico e che siano misurabili in campioni di liquidi biologici umani. Si possono considerare importanti:

- *biomarcatori di esposizione*, definibili come sostanze esogene, o loro metaboliti, o prodotti dell'interazione tra uno xenobiotico e una molecola o cellula bersaglio e misurati in un compartimento dell'organismo (es. livelli urinari o plasmatici di composti esogeni e/o di loro metaboliti);
- *biomarcatori di dose biologicamente efficace*, che rappresentano una misura dell'esposizione più vicina al bersaglio (es. addotti al DNA o alle proteine plasmatiche di composti esogeni);
- *biomarcatori di effetti biologici*, che evidenziano un'alterazione biochimica, fisiologica o di altro tipo misurabile in un organismo che, a seguito dell'esposizione a un determinato fattore di rischio e a seconda dell'entità, indica un danno effettivo o potenziale alla salute o una vera e propria patologia (es. aberrazioni cromosomiche o scambio di cromatidi fratelli);
- *biomarcatori di suscettibilità*, che evidenziano la diminuzione intrinseca o acquisita della capacità di un organismo di rispondere ai possibili effetti dell'esposizione a un determinato xenobiotico (es. lo studio dei genotipi che caratterizzano il polimorfismo di enzimi coinvolti nel metabolismo dei tossici).

### Metaboloma e biomarker metabolici

L'utilizzo di biomarcatori di tipo metabolico è un approccio consolidato in medicina (e quindi anche in chimica clinica e in tossicologia analitica), non solo in termini di semeiotica clinica ma anche in termini di diagnosi precoce e di prevenzione: si vedano a proposito i programmi di valutazione del rischio cardiovascolare basati su marker come il colesterolo o la valutazione dei metaboliti degli idrocarburi nei soggetti esposti.

Nel metabolismo endogeno, l'inattivazione totale o parziale di un enzima provoca la riduzione della formazione del prodotto e/o l'accumulo del substrato che può essere metabolizzato mediante vie metaboliche alternative, provocando un aumento di metaboliti a monte con inibizione di altre vie metaboliche

e, talora, compromissione delle funzioni cellulari; questo fenomeno può anche essere una componente dell'effetto tossico proprio dello xenobiotico di interesse. Questo meccanismo patogenetico suggerisce la considerazione che lo studio di diversi parametri correlati, alcuni in aumento e altri in diminuzione, offra un significativo valore aggiunto all'informatività clinica del dato.

La capacità analitica non costituisce più, per la metabolomica, un fattore limitante: l'utilizzo di tecnologie come la spettroscopia in risonanza magnetica nucleare o la spettrometria di massa hanno raggiunto tali livelli di funzionalità analitica da permettere il dosaggio simultaneo sul medesimo campione di centinaia di metaboliti a costi accettabili. È invece ancora incompleta la conoscenza di tutte le reti metaboliche fisiologiche e patologiche e i rapporti che intercorrono fra metaboloma tissutale e metaboloma plasmatico, quindi i rapporti tra le diverse linee metaboliche, i fattori che ne regolano l'attività e i relativi meccanismi omeostatici, i rapporti fra reazioni metaboliche extracellulari ed endocellulari.

Anche in tossicologia, quindi, riveste particolare importanza lo studio degli effetti delle sostanze tossiche sulle varie vie metaboliche, rendendosi spesso necessaria la ricerca nelle matrici biologiche non solo dello xenobiotico "parentale" ma anche dei suoi metaboliti e/o dei marker di danno collegati all'assunzione della sostanza.



### Relazione dose-risposta

Le caratteristiche dell'esposizione e lo spettro degli effetti tossici hanno tra di loro una stretta correlazione definita relazione dose-risposta; la risposta è definita graduale quando l'effetto è continuo in un determinato intervallo di dosi, mentre gli effetti del tipo "tutto-o-nulla" sono definiti quantali.

Ogni individuo però risponde in maniera specifica a una sostanza, e la risposta degli individui a dosi crescenti della sostanza stessa si distribuisce lungo una gaussiana; esistono quindi, al di là della risposta media, individui ipersensibili e individui resistenti.

L'andamento della curva dose-risposta ha importanti implicazioni nella valutazione della tossicità. Per esempio per quelle sostanze che sono necessarie per le normali funzioni fisiologiche vitali (es. le vitamine e gli elementi essenziali in tracce come il selenio), la relazione dose-risposta in un individuo

ha, per l'intero intervallo di dosi, un andamento a U. Questo significa che a dosi molto basse (ovvero in una situazione di carenza) si hanno numerosi effetti negativi che diminuiscono con l'aumento della dose. Se si aumenta la dose fino a un livello in cui non si ha più carenza, gli effetti negativi scompaiono e l'organismo raggiunge l'omeostasi. Tuttavia se si aumenta la dose a livelli eccessivi si avrà una risposta avversa (in genere qualitativamente differente da quella osservata in condizioni di carenza) che si aggrava con l'aumento della dose.

Alcune sostanze tossiche non nutrizionali possono avere effetti benefici o stimolanti a basse dosi, mentre a dosi più elevate producono effetti avversi. Questo fenomeno, definito *ormesi*, può essere descritto da una curva dose-risposta a U.

Un altro importante aspetto della relazione dose-risposta è il concetto di "soglia", intesa come dose al di sotto della quale la probabilità di una risposta individuale è 0. Nel caso di relazioni dose-risposta individuali esiste certamente una soglia per la maggior parte degli effetti tossici, sebbene la variabilità della risposta tra gli individui e le variazioni qualitative del tipo di risposta a una determinata dose rendano difficile stabilire una soglia "senza effetti" per qualsiasi sostanza. La presenza o l'assenza di una soglia è importante per l'identificazione di livelli sicuri di esposizione a una sostanza.

In generale, comunque, è importante tenere presente che molto spesso le relazioni dose-risposta non hanno un andamento lineare e che quasi sempre l'aumento dell'effetto tossico è più lento o più rapido dell'aumento della dose.

Nella valutazione della relazione dose-risposta esistono alcuni parametri importanti da tenere in considerazione. Per esempio, nel caso dei farmaci, uno di questi è l'indice terapeutico, definito come il rapporto tra la dose necessaria per produrre un effetto tossico e quella necessaria per produrre una risposta terapeutica desiderata; analogamente l'indice comparativo di tossicità si ottiene dal rapporto tra le dosi di due o più diverse sostanze che producono una medesima risposta o tra le dosi della stessa sostanza che sono necessarie per avere due o più diversi effetti tossici.

L'indice di effetto più comunemente usato, sia per gli effetti tossici sia per quelli benefici, è la dose mediana, cioè la dose necessaria per ottenere una risposta nel 50% di una popolazione (o per produrre il 50% della risposta massima). L'indice terapeutico (IT) di un farmaco rappresenta una misura approssimativa

della sua sicurezza ed è espresso dal rapporto tra la dose tossica (storicamente la dose letale) e la dose efficace o terapeutica (DE):  $IT = DT_{50} / DE_{50}$ . Però l'uso delle dosi mediane non fornisce informazioni circa la pendenza delle rispettive curve dose-risposta per gli effetti terapeutico e tossico. Un modo per superare questo inconveniente è utilizzare la dose efficace nel 99% della popolazione per un effetto desiderato e la dose letale (DL) per l'1% della popolazione per un effetto tossico; questi parametri sono utilizzati per calcolare il margine di sicurezza (MS):  $MS = DL_{1} / DE_{99}$ . Per sostanze diverse dai farmaci il termine *margine di sicurezza* si utilizza per indicare l'ampiezza della differenza esistente tra la dose di esposizione di una certa popolazione e la dose più alta che non determina effetti tossici negli animali da esperimento (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL).

Per confrontare gli effetti tossici di due o più sostanze è necessario stabilire la relazione dose-risposta per ciascuna di esse. La potenza di una sostanza si riferisce a un intervallo di dosi all'interno del quale la sostanza stessa produce effetti sempre maggiori; invece l'efficacia massima di una sostanza riflette il limite della sua relazione dose-risposta.

### Variazioni nelle risposte tossiche

Per *tossicità selettiva* si intende la capacità di una sostanza di produrre un danno su un organismo senza avere effetto su un altro organismo, anche se i due organismi vivono a stretto contatto tra loro. Sfruttando i vantaggi della diversità biologica è possibile sviluppare agenti chimici letali per una specie indesiderabile e innocue per altre specie (es. gli antiparassitari). La selettività dell'effetto tossico può essere dovuta a differenze nella distribuzione o nel metabolismo della sostanza tossica nei diversi organismi.

Sebbene un principio di base della tossicologia sia che "i risultati sperimentali ottenuti negli animali, quando propriamente qualificati, sono applicabili all'uomo", è importante tenere presente che nella risposta agli agenti tossici possono esistere differenze sia quantitative sia qualitative nelle diverse specie. L'identificazione dei meccanismi alla base di tali differenze di specie nella risposta agli agenti chimici permette di verificare la rilevanza per l'uomo dei dati ottenuti sugli animali da laboratorio.

Anche all'interno della stessa specie possono verificarsi delle variazioni individuali nella risposta agli agenti chimici che dipendono da sottili differenze

genetiche definite polimorfismi genetici. Queste variazioni possono essere responsabili delle reazioni di idiosincrasia e delle differenze individuali nella risposta agli agenti chimici.

### Pericolo e rischio tossicologico

Idealmente il tossicologo dovrebbe essere in grado di formulare dei giudizi quantitativi relativi agli effetti avversi o addirittura tossici che le sostanze o i contaminanti possono provocare negli organismi e, in particolare, nella popolazione umana. Un giudizio realistico sulla valutazione di pericolo per l'uomo porta necessariamente a una differenziazione fra sicurezza assoluta e rischio accettabile. Il raggiungimento della sicurezza assoluta comporterebbe la conoscenza degli effetti misurabili in relazione alla dose somministrata a ciascun individuo, la fonte di esposizione, la tipologia dell'effetto tossico provocato dall'agente tossico assunto singolarmente o in miscela, l'esistenza o la mancanza di una soglia di effetto tossico e la variabilità dell'effetto tossico all'interno della popolazione. Molto spesso i dati non sono qualitativamente o quantitativamente adeguati per valutare la tossicità di una sostanza e per questa ragione è necessario avere a disposizione delle metodologie che siano in grado di calcolare oggettivamente il rischio per l'uomo derivante dall'esposizione a un tossico. Sebbene sia comprensibile che un certo rischio possa essere accettato se legato a un reale beneficio, esso è addirittura inevitabile quando deriva da alcuni contaminanti naturali presenti nell'ambiente. La problematica si complica ulteriormente quando si esamina l'entità del rischio in relazione a differenti fasce di popolazione che mostrano una sensibilità nettamente diversa; in genere le decisioni tossicologiche tendono a considerare la risposta biologica di un individuo adulto sano.

### Valutazione tossicologica

Per i composti che non hanno dimostrato effetto cancerogeno il primo interrogativo a cui rispondere è il riconoscimento della dose (generalmente espressa in milligrammi per chilogrammo di peso corporeo) più bassa a cui è stato osservato un effetto tossico (Lowest Observed Adverse Effect Level, LOAEL) o meglio ancora di una dose che non ha mostrato alcun effetto tossico negli esperimenti biologici compiuti (No Observed Effect Level, NOEL).

La NOEL viene definita come la concentrazione più elevata di una sostanza che non causa evidenziazioni alterazioni morfologiche o funzionali e non influenza la crescita, lo sviluppo e la durata della vita dell'organismo biologico in studio. Esiste una serie di esperimenti tossicologici da compiersi in vitro su organismi semplici come i batteri e prove da effettuare su animali da laboratorio o quando necessario, come nel caso dei prodotti farmaceutici, sull'uomo.

La **Tabella 48.1** comprende le principali prove previste per la formulazione della valutazione tossicologica di un composto ad attività biologica.

Generalmente lo studio più significativo da cui ricavare il NOEL è quello a lungo termine e/o di cancerogenesi; il protocollo di tale sperimentazione prevede somministrazioni giornaliere della sostanza in esame per un periodo equivalente al 75% della vita dell'animale in esperimento e una via di somministrazione attraverso cui ragionevolmente l'uomo sarà esposto.

La selezione delle dosi da utilizzare nelle sperimentazioni tossicologiche compiute al fine di evidenziare un NOEL rappresenta il punto focale del problema. La dose più elevata dovrebbe produrre un chiaro effetto tossico che non si dovrebbe riscontrare alla dose più bassa. La dose maggiore non dovrebbe causare un'elevata mortalità tale da inficiare l'esperimento e neppure un'esagerata azione farmacologica che può, durante il lungo periodo di trattamento, causare effetti tossici non ascrivibili direttamente alla sostanza. Al fine di ottenere una curva dose-risposta, devono essere programmati almeno tre livelli di dosi più naturalmente un gruppo di controllo non trattato. Sarebbe auspicabile condurre per ciascuna sostanza delle sperimentazioni pilota di farmacocinetica e far-

**Tabella 48.1** Protocollo tossicologico

- Identificazione chimico-fisica
- Farmacocinetica (assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione [ADME])
- Farmacodinamica (interazione della sostanza con il suo sito d'azione)
- Studi biochimici
- Studi farmacologici
- Studi di tossicità acuta
- Studi a breve e a lungo termine
- Studi di genotossicità
- Studi di embriotossicità e/o teratogenesi
- Studi di fertilità
- Studi di cancerogenesi
- Studi speciali di tossicità (es. neurotossicità)
- Osservazioni sull'uomo
- Studi di ecotossicologia

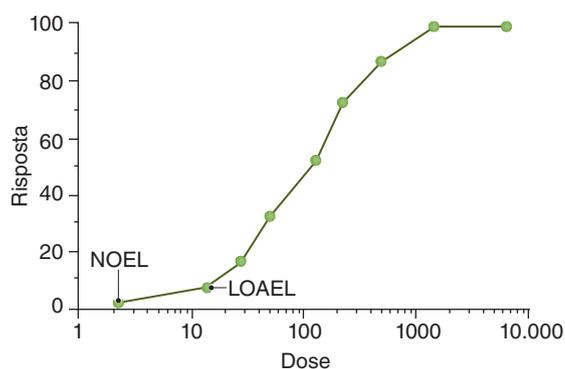
macodinamica per individuare la specie animale più simile all'uomo al fine di ottenere dalle sperimentazioni a lungo termine un NOEL più veritiero, evitando di cadere nell'errore fondamentale di scegliere la specie più sensibile.

In mancanza di un NOEL si può prendere in considerazione la dose che non ha prodotto alcun effetto avverso (NOAEL).

La **Figura 48.1** rappresenta un'ipotetica curva dose-risposta.

Al fine di stabilire le condizioni di impiego che determinano un'esposizione potenzialmente priva di rischio a sostanze nocive purché non cancerogene, dal 1955 l'Organizzazione Mondiale della Sanità utilizza una metodica che, pur basandosi su concetti a prima vista semplicistici, è stata in grado di calcolare la dose giornaliera accettabile (DGA) (chiamata anche *admissible daily intake*) di centinaia di sostanze presenti nell'ambiente e negli alimenti.

La DGA stima la quantità di una sostanza (espressa in milligrammi per chilogrammo di peso corporeo) che può essere assunta giornalmente da un soggetto per tutta la vita senza apprezzabile rischio per la salute. Essa viene applicata mediante un fattore di sicurezza (SF) applicato al NOEL determinato sperimentalmente. Il valore del fattore di sicurezza viene fissato in funzione della natura dell'effetto tossico, della dimensione e del tipo della popolazione da proteggere e della qualità dei dati tossicologici disponibili. Quando sono disponibili risultati di un esperimento a lungo termine, viene tradizionalmente usato un fattore di sicurezza di 100 (un fattore 10 per ov-



**Figura 48.1:** Ipotetica curva dose-risposta di una determinata sostanza. LOAEL: dose più bassa a cui è stato osservato un effetto tossico; NOEL: dose che non ha mostrato alcun effetto tossico negli esperimenti biologici compiuti.

viare alle incertezze riguardanti l'estrapolazione dei risultati ottenuti dall'animale all'uomo e un ulteriore fattore 10 al fine di comprendere nella DGA anche la fascia di popolazione molto suscettibile anche agli effetti tossici del composto).

Un fattore di sicurezza pari a 10 può essere usato solo quando esistano dati adeguati nella popolazione umana. Il fattore 1000 può essere impiegato quando sono disponibili dati adeguati derivanti da sperimentazioni a breve termine.

Mediante la DGA è possibile calcolare la massima concentrazione di una sostanza, i livelli tollerabili (TL) a cui l'individuo può essere esposto giornalmente attraverso l'aria, l'acqua e gli alimenti senza incorrere in un rischio apprezzabile per la salute. Ciò si effettua moltiplicando la dose per il peso corporeo medio e dividendo tale prodotto per il consumo medio giornaliero di uno specifico alimento o di acqua o di aria inspirata. Tali quantità, fissate a livello internazionale dall'OMS, sono in molti casi volutamente "esagerate" per porsi nelle condizioni più conservative al fine di proteggere l'individuo esposto.

La valutazione del rischio comprende infine il calcolo del margine di sicurezza (SM), che consiste nel rapporto tra le concentrazioni tollerabili e le concentrazioni della sostanza misurate nel comparto interessato. Il margine di sicurezza consente dunque di valutare quantitativamente, mediante una misura assoluta, il rischio derivante dall'esposizione a una sostanza; è evidente che più il valore è elevato minore è il rischio. L'esperienza insegna che anche un valore prossimo all'unità non rappresenta un rischio preoccupante, in quanto esaminando l'intero procedimento di calcolo si nota che il margine di sicurezza viene utilizzato per ridurre la dose che non ha mostrato alcun effetto tossico in cui la sostanza è stata somministrata ripetutamente per lunghi periodi. Inoltre, bisogna considerare che la normale irregolarità della risposta biologica derivante da differenze genetiche anche all'interno della stessa specie e la variabilità analitica basata sulla risposta strumentale non ripetibile costantemente devono indurre chi utilizza NOEL, DGA, TL e SM a considerare tali numeri non in modo strettamente matematico; infatti il superamento della DGA non determina necessariamente un effetto avverso.

Nel campo della tossicologia industriale esistono poi diversi indici di esposizione raccomandati dall'American Conference of Governmental Industrial Hygienist, quali i valori limite di soglia (Threshold Limit

Values, TLV), che rappresenta la massima concentrazione di una sostanza a cui il lavoratore può essere esposto senza che si producano effetti avversi. Il TLV può essere espresso anche in modi più puntuali: il limite medio ponderato nel tempo (Time Weighted Average, TWA), cioè la concentrazione accettabile per il periodo relativo alle 8 ore lavorative giornaliere o alle 40 ore settimanali; il limite massimo di esposizione per un breve periodo, definito limite per breve tempo di esposizione (Short Term Exposure Limit, STEL), cioè la massima concentrazione a cui un lavoratore può essere esposto nell'arco di 15 minuti a condizione che ciò non avvenga per più di quattro volte in una giornata e a intervalli di almeno un'ora e purché il TWA non venga oltrepassato; infine il valore di tetto (Ceiling Limit, CL), che è il valore che non può essere oltrepassato neanche per un solo istante nell'arco della giornata lavorativa.

### Filosofia della valutazione del rischio

Evidenziare il grado di tossicità di una sostanza non è che il primo passaggio essenziale per poter definire il grado di rischio derivante dalla sua esposizione. Infatti, un conto è paragonare la tossicità di un gruppo di sostanze utilizzando un particolare protocollo sperimentale e un altro è giudicare l'impatto tossicologico delle stesse sostanze nell'ambito dei loro possibili diversi utilizzi. La tossicità della formaldeide, per esempio, varia radicalmente a seconda che essa venga ingerita, inalata o assorbita attraverso la cute. Nel primo caso, la molecola interagisce direttamente con il materiale genetico o con le proteine della parete delle cellule con cui viene a contatto; nel secondo caso, fino a una certa concentrazione è sequestrata dai componenti naturali degli alimenti che così annullano o riducono la sua reattività biologica; da ultimo, a livello cutaneo tale molecola causa principalmente problemi di sensibilizzazione.

È dunque evidente che nel giudicare l'impatto tossicologico di una sostanza entrano in gioco differenti fattori e competenze che devono essere in grado: prima di tutto di analizzare i benefici derivanti dall'utilizzo di tale sostanza e di bilanciarli contro gli eventuali rischi; di proporre valide alternative basate su solide conoscenze delle proprietà tossiche dell'eventuale succedaneo e di prendersi la responsabilità di accettare l'uso di una certa molecola di cui si conoscono a fondo i meccanismi di tossicità piuttosto che accettare come alternativa l'impiego di una sostanza

che sembra priva di rischi solo perché gli studi condotti sono parziali; infine di regolamentare le quantità di una sostanza immesse nell'ambiente al fine di evitare disastri ecologici, tenendo presente anche le trasformazioni chimiche che essa può subire.

## Tossicologia analitica

La tossicologia analitica è l'applicazione di metodiche di chimica analitica per la valutazione qualitativa e/o quantitativa di sostanze che possono esercitare effetti tossici sugli organismi viventi.

In ambito clinico, la tossicologia analitica può essere di supporto alla diagnosi e al trattamento di intossicazioni, così come al monitoraggio dell'efficacia dei protocolli terapeutici, attraverso la chiara identificazione della natura del tossico e la determinazione della quantità assorbita. Queste informazioni, unitamente al quadro clinico del paziente, consentono al clinico di correlare i segni e i sintomi osservati con gli effetti attesi dell'agente tossico.

Regola fondamentale nel trattamento dei casi di avvelenamento è rimuovere il materiale non assorbito, limitare l'assorbimento di ulteriore tossico e accelerarne l'eliminazione. Il laboratorio di tossicologia clinica svolge il suo ruolo di supporto monitorando la quantità di agente tossico ancora in circolo o misurandone la quota escreta.

Particolarmente importante è anche il ruolo della farmacotossicologia e del monitoraggio terapeutico dei farmaci, sia per la gestione dei fenomeni di sovradosaggio (volontari o meno) sia per l'individuazione della dose ottimale di farmaco per tenere conto delle variazioni individuali nella risposta ai farmaci e della compliance.

### Monitoraggio biologico

Il monitoraggio biologico eseguito direttamente su un lavoratore (o comunque su un soggetto esposto cronicamente a un agente tossico) può costituire una migliore indicazione di esposizione rispetto al semplice monitoraggio ambientale, perché può indicare la percentuale di agente che è stato effettivamente assorbito. Spesso le esposizioni ambientali riguardano una miscela di agenti chimici e/o composti che sono trasformati nell'organismo in metaboliti importanti. Pertanto, i metodi di analisi devono essere in grado di rivelare un'ampia famiglia di agenti chimici con i loro principali metaboliti

e devono inoltre essere dotati di sufficiente specificità e sensibilità per rivelare piccole concentrazioni di analiti in matrici biologiche complesse.

Oltre all'analisi dell'agente o dei suoi metaboliti nelle matrici biologiche del soggetto, è possibile utilizzare metodi indiretti. Sostanze che interagiscono con le macromolecole possono formare addotti che persistono per lunghi periodi; questi addotti possono essere campionati periodicamente e, potenzialmente, possono servire come mezzo integrativo nella valutazione dell'esposizione a lungo termine ad alcune

sostanze. Un altro metodo utile per il monitoraggio biologico consiste nel valutare le modifiche di normali metaboliti indotte da xenobiotici; anche se il monitoraggio delle alterazioni dell'escrezione urinaria di questi metaboliti può non essere indicativo dell'esposizione a una specifica sostanza, questa tecnica può essere utilizzata per indicare in modo generico un'esposizione potenzialmente tossica. Il precoce riconoscimento di un problema tossicologico può favorire la protezione del soggetto prima che insorgano effetti irreversibili.

## TOSSICOLOGIA CLINICA

I punti generali di seguito riportati rappresentano elementi importanti per l'approccio clinico iniziale al paziente con intossicazione:

- stabilizzazione del paziente;
- valutazione clinica (anamnesi, esame obiettivo, esami di laboratorio, indagini radiologiche);
- prevenzione dell'ulteriore assorbimento del tossico;
- aumento dell'eliminazione del tossico;
- somministrazione di antidoti;
- trattamento sintomatico di supporto e follow-up clinico.

Per quanto riguarda gli esami di laboratorio, il numero di sostanze per le quali è possibile ottenere rapidamente un dato analitico nel sistema dell'urgenza è limitato rispetto al numero di agenti che possono essere causa di intossicazione; ciò sottolinea ulteriormente l'importanza del riconoscimento delle sindromi cliniche per gli intossicati e l'importanza per il tossicologo clinico di impostare un trattamento generale e di supporto nei pazienti con intossicazione da causa non nota. Per le sostanze misurabili in tempi brevi nei laboratori d'urgenza, il dato quantitativo può spesso fornire indicazioni sia prognostiche sia terapeutiche.

Per numerosi farmaci (salicilati, litio, fenobarbitale ecc.) esistono relazioni predittive fra concentrazione plasmatica ed evoluzione clinica, così come per alcuni agenti sono note le concentrazioni che indicano la necessità di interventi terapeutici. Alcuni autori hanno identificato le concentrazioni plasmatiche di vari farmaci e sostanze che costituiscono "livelli di interven-

to" e valori soglia di tossicità; questi valori rappresentano in genere le concentrazioni medie delle rispettive sostanze che, in base a dati retrospettivi, hanno dimostrato di avere significativi effetti dannosi.

A causa della limitata disponibilità di esami di laboratorio "diagnostici" per i veleni, i tossicologi clinici utilizzano (ove possibile e indicato) specifici dati di laboratorio chimico-clinici disponibili di routine per l'attività in urgenza per capire quale veleno sia stato assunto.



### Ruolo del laboratorio

Ovviamente il laboratorio, sia chimico in senso stretto sia chimico-clinico, riveste una particolare importanza in tossicologia. In generale si può affermare che il processo analitico prevede le seguenti fasi:

- definizione generale del problema;
- definizione analitica del problema;
- scelta di metodo, tecnica, procedura e protocollo;
- campionamento;
- trattamento del campione;
- analisi;
- valutazione dei dati e conclusioni.

È importante tenere presenti alcune definizioni che aiutano a valutare al meglio il dato analitico.

Un'**analisi qualitativa** si prefigge di verificare la semplice presenza (o meno) di uno o più analiti; un'**analisi quantitativa** comporta la determinazione della concentrazione di uno o più analiti nella ma-

trice oggetto di analisi. La qualità dei dati è strettamente legata a una serie di parametri (indicati di seguito) di cui bisogna tenere conto nella valutazione critica dei risultati. L'**accuratezza** esprime la concordanza di un dato riferito al valore vero o di riferimento accettato come tale; può quindi comprendere sia l'errore sistematico sia quello casuale. Al fine di ottenere un errore casuale trascurabile è opportuno calcolare il risultato come valore medio di un numero elevato di repliche. L'errore sistematico totale, o bias, può essere scelto come misura dell'accuratezza. La verifica dell'accuratezza si effettua normalmente mediante l'utilizzo di materiali di riferimento o, in loro assenza, attraverso un confronto con metodi alternativi.

La **precisione** descrive l'accordo che esiste tra due o più misure ottenute dopo replicazioni, confrontando poi la vicinanza delle stesse all'interno di una serie di misurazioni.

L'**errore assoluto** o **totale** esprime la differenza tra il valore ottenuto e quello vero, ed è la somma degli errori casuali e degli errori sistematici.

Obiettivo di una misurazione è la stima del "valore vero" della grandezza da misurare, meglio detta analita o misurando, intendendo per valore vero quel risultato ideale che si potrebbe ottenere mediante una misurazione perfetta. Ogni misurazione è affetta da errori; quando siano stati valutati tutti gli errori noti o sospetti, e il risultato della misurazione sia stato sottoposto a tutte le possibili correzioni che da detti errori derivano, ancora rimane un'incertezza sulla correttezza del risultato, che quindi va considerato solo una stima del valore del misurando. L'indicazione di un risultato su un rapporto di analisi non è quindi completa senza la definizione dell'incertezza di misura, ossia di quel valore che caratterizza le possibili deviazioni del risultato dal valore vero del misurando.

La **ripetibilità** definisce la precisione di misure replicate all'interno dello stesso laboratorio, in un intervallo di tempo limitato, effettuate dallo stesso operatore con le stesse apparecchiature.

Il termine **riproducibilità** indica la precisione di misure replicate effettuate utilizzando lo stesso metodo analitico ma in condizioni non identiche (diversi laboratori, operatori e apparecchiature) e normalmente in intervalli di tempo non ristretti.

Per **sensibilità** di un metodo analitico si intende la minima differenza di concentrazione dell'analita che provoca una significativa differenza di segnale.

Il **limite di rilevabilità** è la concentrazione limite al di sotto della quale non è possibile rivelare la presenza dell'analita, che quindi deve fornire un segnale significativamente diverso da quello prodotto da un "bianco reagenti".

Per **selettività** si intende la capacità di una tecnica analitica di non risentire della presenza di interferenti o di altri componenti diversi dall'analita.

Per **riferibilità** si intende la proprietà che possiede un'apparecchiatura (o in generale un metodo analitico) quando viene sottoposta a taratura impiegando misurandi le cui misure sono state assegnate con riferimento a campioni come "primari" in un determinato contesto. Stabilita la riferibilità, lo strumento può quindi produrre misure compatibili con quelle prodotte da campioni e metodi primari o di riferimento. Di norma, la riferibilità viene stabilita attraverso procedimenti di validazione che verificano l'effettiva capacità di produrre dati analitici con la metodologia utilizzata.

Nell'interpretazione dei risultati sono possibili alcune combinazioni particolari di positività o di negatività al test in relazione alle caratteristiche del metodo utilizzato.

Un risultato **falso negativo** si ha quando l'analita è presente ma in quantità molto basse rispetto al limite di rilevabilità del metodo utilizzato oppure in relazione a variabili fisiopatologiche del soggetto (es. grosse quantità di liquidi assunte poco prima della raccolta del campione possono influenzare la rilevabilità della sostanza nei campioni di urina).

Invece un risultato **falso positivo** si ottiene quando viene rilevata la presenza di una sostanza che in realtà è assente nel campione in esame ed è dovuto alla presenza di sostanze interferenti che danno cross-reattività con i reattivi.



## Tecniche analitiche

Di seguito viene presentata una breve descrizione delle principali tecniche di laboratorio, che trovano applicazione anche nei laboratori chimico-clinici e di tossicologia.

### Spettroscopia ad assorbimento atomico

La spettroscopia ad assorbimento atomico (AAS) viene utilizzata per determinare la concentrazione di elementi inorganici in matrici come l'aria, l'acqua, il suolo e le matrici biologiche (sangue, urina, tessuti ecc.). Il principio chimico-fisico su cui si basa questa



Marcello Ciaccio • Giuseppe Lippi

# Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio

Con il patrocinio di



Accedi all'ebook e ai  
contenuti digitali >

Espandi le tue risorse >

con un libro che **non pesa** e si **adatta**  
alle dimensioni del tuo **lettore**



All'interno del volume il **codice personale** e le istruzioni per accedere alla versione **ebook** del testo e agli ulteriori servizi. L'accesso alle risorse digitali è **gratuito** ma limitato a **18 mesi dalla attivazione del servizio**.



[www.edises.it](http://www.edises.it)



€ 59,00

