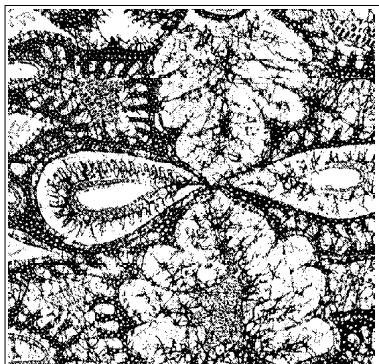


Caleidoscopio



Luis R. Hernandez
Alvaro Velez Osorio

Applicazioni degli esami immunologici

Università Militare Nuova Granada
Laboratorio Endocrino Velez
Bogotà (Colombia)

Traduzione dallo Spagnolo:
Sergio Rassu

85

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

 **MEDICAL**
SYSTEMS S.P.A.

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. (010) 83. 401
Stampato a Genova 1994.

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI



INFORMAZIONI GENERALI. *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Endocrinologia, di Patologia Clinica o di particolare interesse in altri campi della Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall' *International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile in base alla loro esperienza e competenza. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, purché redatte secondo le regole editoriali e conformi allo spirito della Rivista.

TESTO. In considerazione del carattere didattico, la monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi ed allo stesso tempo chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati, è opportuno evitare di riportare contrastanti o solo proprie personali opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte, in rapporto anche al numero di tabelle e figure. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio. Tutte le pagine del testo devono essere scritte a spaziatura 2, con sufficienti margini e numerate consecutivamente.

TABELLE E LE FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica esplicativa (in bianco e nero eccetto in casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di comparsa nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento. Le figure devono essere realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, quando pubblicati, risultino ancora leggibili. Si consiglia la realizzazione di disegni e figure con una larghezza non superiore ai 9 cm. Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le illustrazioni. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro ed in particolare dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, l'eventuale Clinica o Istituto di lavoro, l'indirizzo compreso il numero di telefono e fax.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell' *Index Medicus* e lo stile illustrato negli esempi:

1) Bjorklund B., Bjorklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. *J. Nucl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2) Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati europee e statunitensi (per esempio: Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA. Riporre le fotografie e le diapositive in busta separata, una copia del testo archiviata su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh, se MS-DOS il testo dovrà essere in formato RTF ed i grafici in formato PC.TIF o PC.Paintbrush.

E' inoltre necessario accompagnare il lavoro da copie di ogni permesso di riprodurre materiale pubblicato o di usare illustrazioni che possono far riconoscere soggetti umani.

Il dattiloscritto originale, le figure e le tabelle devono essere spedite al Direttore Responsabile in duplice copia. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cento copie della monografia.

L'Autore della monografia cede i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera alla Rivista *Caleidoscopio* con diritto di stampare, pubblicare, dare licenza a tradurre in altre lingue in Nazioni diverse rinunciando ai diritti d'Autore.

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

**Dott. Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari**

Editoriale

Il metodo immunologico consiste, in generale, nel dosare o identificare una sostanza sfruttando la reazione di un anticorpo contro di essa.

In realtà esistono poi tante tecniche che rendono il campo estremamente vasto.

Così parlare di questo argomento dovrebbe comportare anche affrontare: le tecniche radioimmunologiche, immunoradiometriche, enzimoimmuno-
logiche, immunoenzimatiche, fluoroimmunologiche. L'elenco non finisce qui. Si pensi anche alla chemiluminescenza, all'immunoblotting, ai tests di agglutinazione, di neutralizzazione e tanti altri ancora per rendersi conto di quanto sia vasto questo argomento e quindi le sue applicazioni.

Questa grande rivoluzione, si pensi solo alle prove biologiche che venivano utilizzate in quel periodo per il dosaggio degli ormoni, venne iniziata da Yellow R.S. e Berson S.A. che nel 1959 descrissero il primo metodo radioimmunologico per il dosaggio dell'insulina. Dopo lo storico ingresso nel campo endocrino, le cui conoscenze subirono una crescita esponenziale, queste tecniche hanno acquistato sempre nuovi campi di applicazioni: dalla oncologia alla allergia, dalle malattie infettive alla genetica che rende una trattazione completa quanto mai problematica.

Andando anche a vedere la letteratura recente si può rilevare come i campi di applicazione abbiano coinvolto ormai quasi tutti i campi della medicina: la farmacologia sia sperimentale che clinica, la tossicologia, l'immunologia, la cardiologia, la gastroenterologia, la nefrologia.

Più volte la nostra collana ha affrontato queste tematiche e è chiaro che questa monografia, che fa parte di un ben più ampio lavoro realizzato dagli autori, non potrà affrontare tutti i temi.

Le applicazioni che verranno prese in esame in questo volume sono infatti quelle che potremmo definire "storiche". Si tratta delle applicazioni per la determinazione di ormoni, dei marcatori tumorali, in immunologia, delle droghe d'abuso.

Il taglio dato a questo lavoro lo definirei estremamente sintetico e pratico, quello cioè di un manuale di rapida consultazione. L'origine degli autori e l'esperienza internazionale maturata ne fa un punto di riferimento e di confronto per coloro che sono consci delle discrepanze notevoli che oggi esistono nei vari "atti medici" nei diversi Paesi e che non danno mai niente che riguardi la Medicina come scontato.

Il dottor Luis Rogelio Hernandez è un biochimico formatosi presso l'Università Autonoma del Messico, ha conseguito la Laurea in Scienze presso l'Università di Southampton in Gran Bretagna ed la Laurea in Educazione della Università Autonoma del Nuovo Leon a Monterrey nel Messico. E' stato capo della produzione dei "Laboratorios Gastroenterológicos S.A." in Messico, capo del Dipartimento di Biologia della Università del Quindío-Armenia e di quello di Farmacia della Università Autonoma di Coahuila-Santillo sempre in Messico

Attualmente vive in Colombia dove, oltre ad essere consulente di uno dei più importanti laboratori di Bogotà, è ricercatore e docente presso l'Università Militare Nuova Granada.

E' autore di diversi volumi nel campo della biologia molecolare, della biochimica sperimentale e dei dosaggi immunologici. Questi ultimi concetti in buona parte sono stati ripresi in questa monografia.

E' inoltre autore di numerosi articoli pubblicati sulle riviste delle diverse nazioni dove ha lavorato.

I suoi interessi come ricercatore ruotano intorno alla biochimica degli ormoni ed al problema della determinazione e dello studio delle droghe d'abuso.

Il dottor Alvaro Velez Osorio ha conseguito la laurea in Chimica presso l'Università del Valle a Cali in Colombia e quindi quella di Biologo presso l'Università NorthEastern, Chicago - Illinois.

E' stato Responsabile del Dipartimento di Chimica del Greenview Clinical Laboratory di Chicago ed ha maturato numerose esperienze in vari Istituti di ricerca nel Missouri, Texas, Florida, Massachusetts ed in California.

Attualmente è Direttore del Laboratorio Velez di Bogotà. Insieme al dottor Luis Rogelio Hernandez è coautore di un corposo volume dedicato ai dosaggi immunologici.

Sergio Rassu

Applicazioni degli esami immunologici in endocrinologia

Gli ormoni, sostanze chimiche prodotte in un'organo, vengono secrete nel sangue e vanno ad agire legandosi a recettori specifici.

E' possibile classificare gli ormoni in base a differenti criteri: l'organo che li produce (ormoni ipotalamici, ormoni ipofisari, surrenalici, tiroidei, paratiroidei, etc.), il tipo di azione fisiologica (regolazione dell'accrescimento, del metabolismo dei minerali, della riproduzione, etc.).

Due tipi di classificazione sono particolarmente utili per capire la complessità e i problemi analitici e clinici che presentano.

La prima utilizza la struttura chimica:

- A. Derivata da aminoacidi: T_3 , adrenalina, melatonina, etc.
- B. Peptidica: TRH, GnRH, Glucagone, ADH, ACTH etc.
- C. Glicoproteica: TSH, FSH, LH, HCG, etc.
- D. Steroidea: Testosterone, Progesterone, Estradiolo, Cortisolo, etc.

La seconda si basa sul meccanismo di azione:

- A. Attivazione della Adenil-ciclastasi
- B. Azione su geni regolatori
- C. Modificazioni nella permeabilità della membrana cellulare

Esiste una relazione tra le due classificazioni giacché ad una determinata struttura chimica corrispondono definiti meccanismi di azione, sebbene non esclusivi. Si sa per esempio che gli steroidi non agiscono attraverso l'AMP ciclico ma direttamente sui geni.

L'azione dell'ormone non dipende unicamente dalla sua concentrazione circolante in un determinato momento, ma da altri fattori (Figura 1).

- La presenza di certi precursori provenienti dalla dieta o sintetizzati in altri tessuti differenti dalla ghiandola endocrina propriamente detta, ad esempio: lo iodio è un precursore di origine esterna, per la T_3 e T_4 e il colesterolo è un precursore esogeno o endogeno per gli ormoni steroidi.

- La presenza di pro-ormoni, molecole di maggior peso molecolare dell'ormone circolante, che in alcune circostanze possono essere di notevole importanza clinica. Il caso meglio noto è quello della prepro-insulina, proteina originale sintetizzata nei ribosomi, viene metabolizzata successivamente ad insulina. Si hanno in questo caso tre tappe della via della degradazione:

Prepro-insulina ----> Pro-insulina ----> Insulina+Peptide C

- L'esistenza di metaboliti ormonali (meta-ormoni) che possono essere attivi creando il problema di riconoscere quale è il vero ormone (Figura 2).

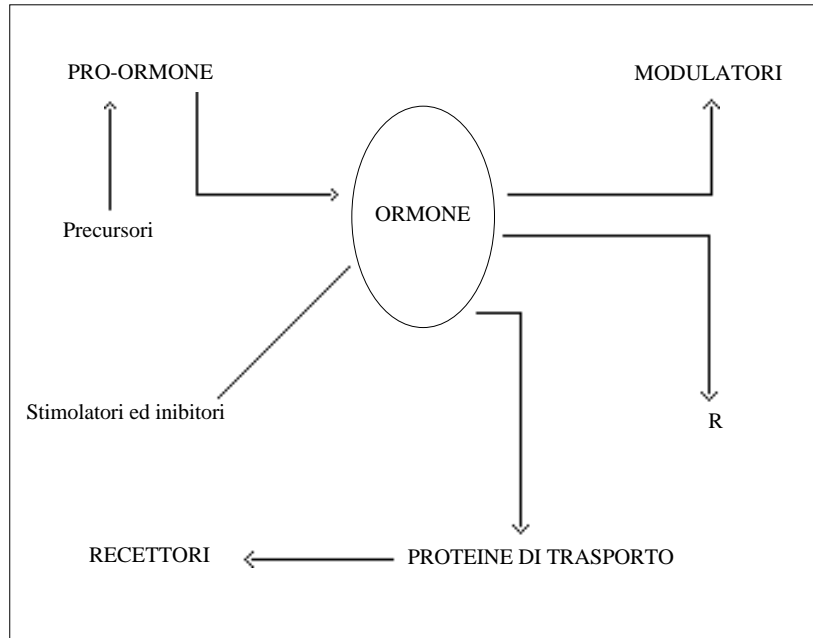


Figura 1. Complessità della fisiologia ormonale.

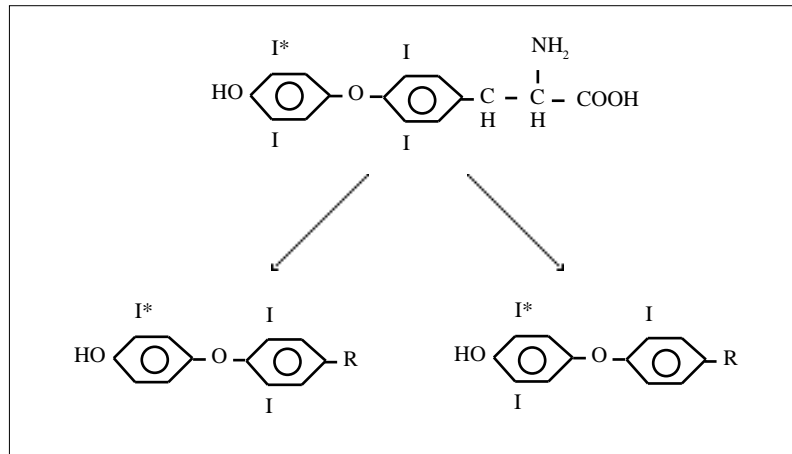


Figura 2. Interrelazioni tra la T₄, T₃ e rT₃.

E' noto che i metaboliti steroidei sono anche molto vari e la loro determinazione è utile per alcuni problemi patologici. Un'altro esempio della confusione tra i supposti metaboliti e i veri ormoni è stato verificato con l'ormone 1,25 Diidrossicolecalciferolo, la cui sintesi finale avviene nel rene e che erroneamente si continua a chiamare vitamina D₃ quando nessuno dei suoi precursori si comporta come vera vitamina.

- L'esistenza di modulatori sopra-ipotalamici dell'azione ormonale, particolarmente le endorfine, le prostaglandine e i neurotrasmettitori come la dopamina. Si sa che queste sostanze modificano l'azione principale di certi ormoni ed a loro volta sono influenzate dalla retro-regolazione di altri ormoni.

- L'esistenza di ormoni stimolatori o inibitori di altri ormoni, come gli ormoni stimolatori ipotalamici e la inibina.

- La quantità e l'efficienza delle proteine di trasporto, che influenza in maniera significativa la concentrazione di ormoni liberi disponibile. Esistono due casi ben noti nei quali l'influenza delle proteine di trasporto è talmente rilevante che è ugualmente importante misurare la concentrazione di queste proteine insieme alla concentrazione dell'ormone totale. Uno di questi è il caso delle proteine che trasportano gli ormoni tiroidei: la thyroxine binding globulin (TBG), l'albumina e la prealbumina; un'altro è il caso della proteina di trasporto degli ormoni sessuali (SHBG). La determinazione delle proteine di trasporto in questi casi permette di conoscere con sufficiente attendibilità clinica la concentrazione di ormoni liberi, i cui livelli sono estremamente bassi rispetto alla concentrazione degli ormoni totali.

- Inoltre, è importante tener conto del numero e delle caratteristiche dei recettori di membrana, indispensabili affinché gli ormoni possano agire. In molti casi, si tratta di recettori della membrana cellulare; in altri casi si tratta di recettori interni, della membrana nucleare o mitocondriale.

Gli effetti di tutti questi fattori, così come l'azione reciproca di un ormone su altri, rendono indispensabile la valutazione di vari fattori oltre alla concentrazione diretta degli ormoni in esame.

- Infine, l'interpretazione delle analisi endocrinologiche viene complicata dall'azione di altri due fattori di cui parleremo nelle sezioni successive: l'esistenza di assi ormonali, a tre livelli, e l'esistenza di tre regolatori indipendenti della secrezione ormonale.

Assi funzionali

L'attività ormonale viene regolata da assi funzionali che originano nell'ipotalamo (vedi Caleidoscopio 2: "L'ipotalamo endocrino"). Questo organo produce gli ormoni la cui azione consiste nel regolare la sintesi e la secrezione degli ormoni dell'ipofisi (sintetizzati o accumulati in quella sede). Gli ormoni ipofisari a loro volta agiscono su un organo specifico: la tiroide, le gonadi, le ossa, etc.

Così per esempio, l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroideo è costituito dagli ormoni: TRH

(Tireoliberina, ormone stimolatore della tiotropina), dell'ipotalamo; dal TSH (Tireotropina, ormone stimolante la tiroide), ormone ipofisario e dalla T_3 (Triiodotironina, ormone tiroideo).

Le alterazioni dell'asse possono essere primarie, se sono al livello più basso (tiroide); secondarie, se originano da un difetto dell'ipofisi e terziarie se originano a livello ipotalamico.

Lo studio completo dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroideo permette di determinare l'alterazione primaria, secondaria e terziaria. Le determinazioni necessarie per uno studio completo dell'asse sono: T_3 , T_4 , T_3 uptake (per determinare l'effetto della proteina di trasporto calcolando gli indici di T_3 e T_4 libera). Attualmente si dispone routinariamente di metodi per la determinazione diretta degli ormoni tiroidei liberi (FT_3 ; FT_4) che rendono non necessaria la determinazione del T_3 uptake, e per il dosaggio del TSH basale e dopo stimolazione con TRH (Figura 3).

Nell'interpretazione di questi risultati è indispensabile tener conto degli effetti della retroregolazione negativa che gli ormoni tiroidei esercitano sull'ipotalamo e sull'ipofisi.

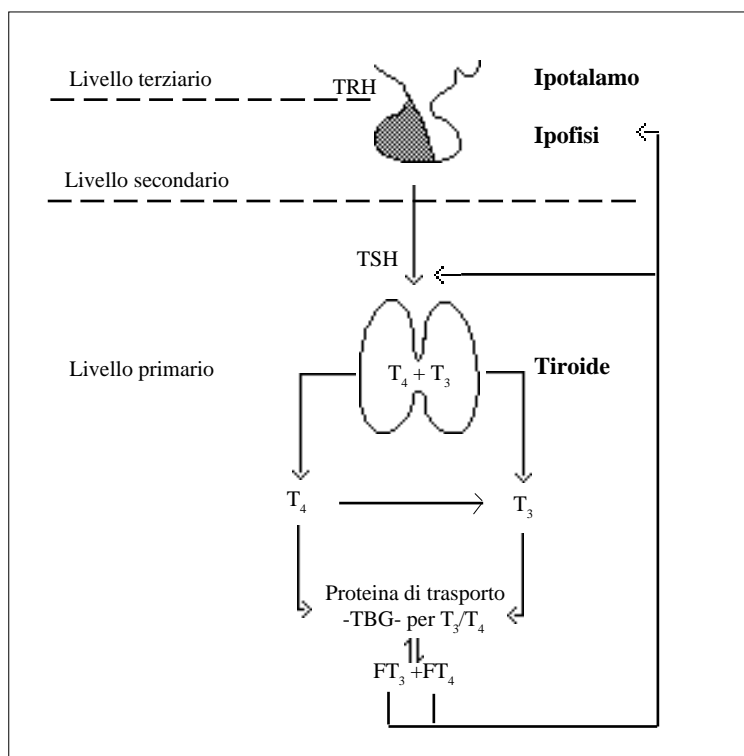


Figura 3. Asse ipotalamo-ipofisi-tiroideo.

A causa di questa retroregolazione negativa, un eccesso di T_3 o T_4 produce una riduzione dei livelli di TSH e, inversamente, livelli bassi di T_3 e T_4 sono accompagnati generalmente da livelli elevati di TSH perché manca la retroregolazione negativa. L'esame più importante nella determinazione del funzionamento dell'asse è il dosaggio dei livelli serici del TSH.

Un altro asse endocrino ben accertato è l'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico (Figura 4).

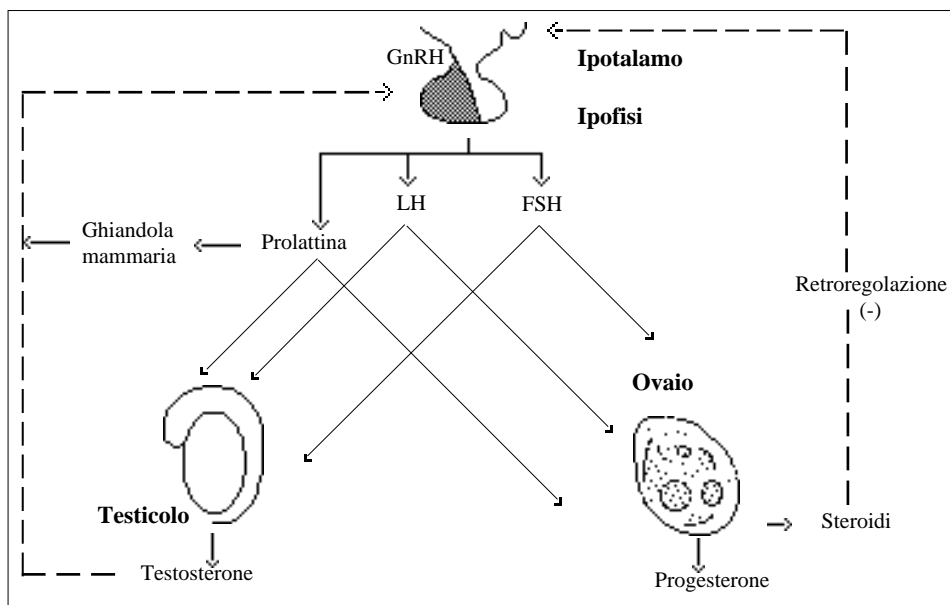


Figura 4. Asse ipotalamo-ipofisi-gonadico.

L'asse ipotalamo-ipofisi-surrenalico è un po' più complesso dei precedenti a causa della varietà degli ormoni prodotti dalla corteccia e dalla midollare surrenalica e la presenza dell'asse angiotensina-renina-aldosterone (Figura 5).

L'accrescimento, viene regolato dall'ormone stimolatore ipotalamico (GRF), e dall'ormone della crescita (GH) ipofisario. Il livello primario dell'asse è diffuso poiché è localizzato nei recettori ossei etc. Intervengono inoltre altri ormoni, chiamati Somatomedine, sintetizzate dal fegato ma sotto regolazione diretta del GH.

Nel caso degli ormoni che regolano l'equilibrio dei processi metabolici specifici, invece dell'asse funzionale si può parlare di azione combinata di coppie antagoniste (Tabella 1).

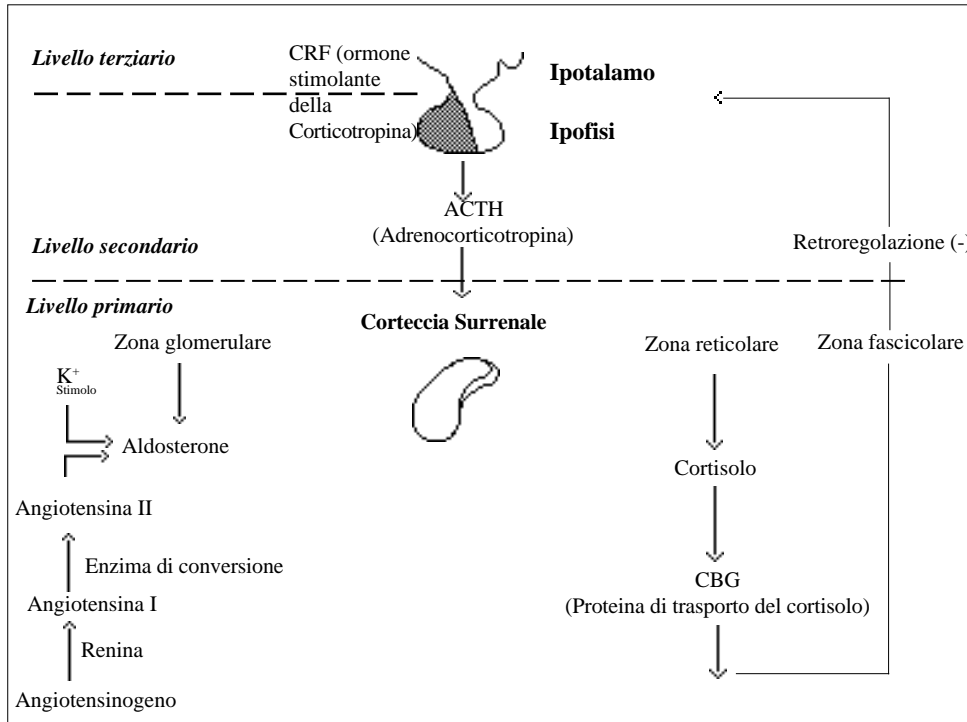


Figura 5. Asse ipotalamo-ipofisi-surrenale.

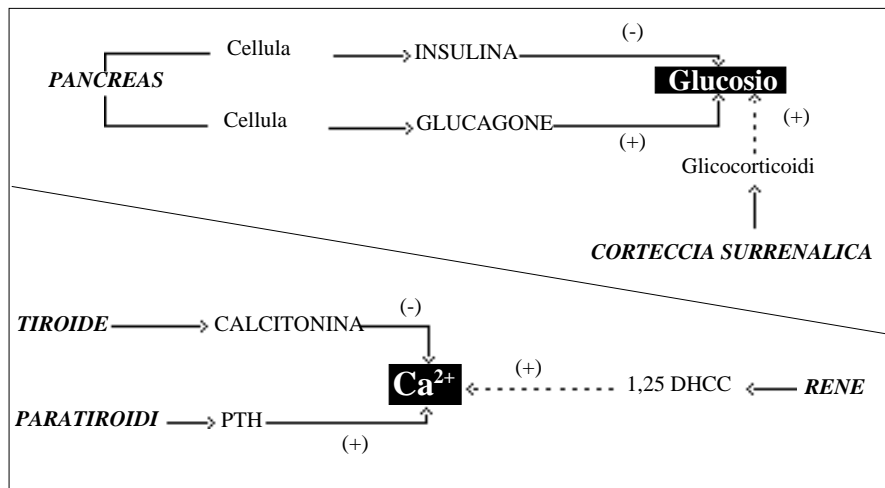


Tabella 1. Azioni combinate di più ormoni nella regolazione di processi metabolici.

Regolatori della secrezione ormonale

Nella maggior parte degli ormoni studiati si incontrano variazioni cronobiologiche dovute all'esistenza di tre regolatori indipendenti della secrezione chiamati:

a) **Secrezione tonica:** è la produzione e la liberazione costante di un livello basale minimo dell'ormone. La secrezione tonica è regolata dal meccanismo di retroregolazione negativa, così per esempio la secrezione tonica di LH e FSH è regolata dagli steroidi.

b) **Secrezione pulsatile:** è la liberazione episodica di ormoni in periodi circa-orari, cioè, seguendo ritmi corti, di circa un'ora. Questo regolatore della secrezione non è soggetto a regolazione per retroregolazione, però sembra che dipenda dai regolatori del sonno e dalla durata del periodo di luce e ciò suggerisce l'esistenza di una regolazione a livello del sistema nervoso centrale attraverso gli ormoni responsabili dei ritmi biologici, che originano nella ghiandola pineale.

c) **Secrezione ciclica:** è la variazione nella secrezione ormonale che segue un ritmo circamensile. Si verifica fondamentalmente nella donna e determina variazioni molto importanti per esempio: nella secrezione dell'LH e progesterone, estradiolo, etc. La secrezione ciclica è regolata attraverso meccanismi di retroregolazione positiva, per esempio un aumento nei livelli di steroidi produce un aumento nella secrezione dell'LH e FSH.

Le modificazioni dovute alla secrezione pulsatile e ciclica, rendono necessaria la definizione di valori di riferimento per ciascuna fase del ciclo mestruale e l'ora del giorno nel quale si preleva il campione. A volte è necessario prelevare tre campioni ad intervalli di 1 ora e unirli per cercare di ottenere un valore che corrisponda alla media dei pulsii circa-orari. Questo viene raccomandato soprattutto per la determinazione della prolattina e dell'ormone della crescita.

Le variazioni circadiane non sono presenti nel neonato e solamente per alcuni ormoni iniziano intorno ai 2-5 anni mentre in altri casi solamente nella pubertà.

Si può evitare l'errore della variazione circadiana se l'ormone viene dosato nella saliva o nell'urina, poiché l'escrezione non è soggetta a variazioni.

Quando si modificano le abitudini del sonno come ad esempio dopo viaggi aerei transoceanici, si altera anche la secrezione pulsatile e la resincronizzazione dei picchi ritarda da 6 a 9 giorni.

Per tener presenti le variazioni cicliche è indispensabile conoscere con esattezza la data dell'ultima mestruazione della paziente e la regolarità del ciclo.

Attualmente si sa che alcune patologie endocrine originano proprio dalla desincronizzazione dei ritmi cardiaci e circamestruali, perciò può essere importante determinare l'alterazione del ritmo della secrezione. Così per esempio, nella malattia di Cushing, i regolatori della secrezione circadiana di ACTH e cortisolo sono diversi da quelli attesi nella popolazione di riferimento.

L'ora più idonea per prelevare dei campioni per i dosaggi ormonali è tra le 8 e le 10 del mattino (2 ore dopo il risveglio), poiché i valori di riferimento vanno determinati per campioni prelevati in questo periodo di tempo.

Effetto dei farmaci

I livelli ormonali sono influenzati da numerosi farmaci che agiscono direttamente sul sistema endocrino o che alterano l'attività del fegato o del rene.

E' indispensabile pertanto, segnalare quali farmaci il paziente sta assumendo il giorno in cui il campione è stato ottenuto e valutare il tipo di interferenza che può esserci. Ad esempio nel caso della determinazione dell'ormone della crescita i livelli plasmatici sono modificati in modo significativo dalla L-dopa, dalla L-arginina, dalla Clonidina, dalla Clorpromazina, dal Propranololo, etc. Tutte queste sostanze, aumentano i livelli di GH, da 60 a 90 minuti dopo la loro ingestione.

Equilibrio emodinamico

I livelli ormonali sono influenzati anche dalla posizione del corpo e dall'esercizio. Per questo è opportuno stabilire i valori di riferimento e prelevare il campione del paziente, dopo che si sia stabilizzato l'equilibrio dinamico dell'organismo che si ottiene dopo circa 15 minuti di riposo. Deve essere evitato l'esercizio prolungato (camminare per più di 500 metri o utilizzare una bicicletta per più di questa distanza) poiché questo altera in modo significativo i risultati del GH, dell'insulina e dei marcatori tumorali prostatici (producendo una ipertrofia prostatica benigna passeggera).

Condizioni nutritive

E' indispensabile tenere presente gli effetti di alcuni aminoacidi e del glucosio, sul funzionamento del sistema nervoso centrale e di conseguenza, sugli ormoni ipotalamici. Situazioni di anoressia, obesità, denutrizione, devono essere annotate tra i dati del paziente, poiché modificano molti risultati ormonali. Per ottenere il campione per il dosaggio ormonale non è necessario che il paziente sia a digiuno (eccetto per la determinazione del PTH, della calcitonina, della gastrina e dell'insulina basale).

Condizioni fisiche

Lo stress, la tensione muscolare e i regolatori del sonno modificano significativamente i risultati ormonali. Di conseguenza, è indispensabile annotare i dati relativi a questi nella tabella del paziente e prima di ottenere il campione sistemare il paziente in un ambiente tranquillo e rilassato.

Condizioni patologiche concomitanti speciali

Vanno annotate con attenzione situazioni come: gravidanza in corso, puerperio, malattie epatiche concomitanti, malattie renali concomitanti, malattie psichiatriche croniche, dialisi o trasfusioni recenti.

Applicazioni del dosaggio immunologico in ginecologia e ostetricia

In questo capitolo vengono riuniti in modo sistematico i numerosi e complessi problemi di endocrinologia ostetrico-ginecologica. Verrà evidenziata l'importanza dei dosaggi immunodiagnostici e il significato dei loro risultati, non c'è lo spazio ovviamente né per la terapia né per i dettagli di fisio-patologia (vedi Caleidoscopio 8: "Aspetti morfo-funzionali dell'ovaio" e Caleidoscopio 27: "L'amenorrea").

Studio dell'infertilità della donna

Un primo gruppo di applicazioni del dosaggio immunologico endocrino in ginecologia, è costituito dalla diagnostica dell'infertilità. I problemi dell'infertilità sono dovuti per un 35% al maschio e per un 25% sono attribuibili ad entrambi i componenti della coppia. Tuttavia, in questo capitolo ci limiteremo ai casi di infertilità di origine femminile.

Si intende per infertilità, l'impossibilità di iniziare una gravidanza dopo un anno di rapporti non protetti.

Il problema dell'infertilità colpisce una coppia su cinque e l'incidenza è aumentata nell'ultima decade anche per l'aumento delle malattie a trasmissione sessuale e per l'abuso di droghe. Senza pretendere di offrire una lista completa, le cause più frequenti dell'infertilità che si incontrano nella pratica di ginecologia sono:

-*Anovulazione*: dovuto ad una bassa attività gonadotropica con conseguente ipogonadismo. Il sintomo frequente in questi casi è l'amenorrea ed i reperti di laboratorio sono in genere: bassa concentrazione di LH e FSH.

-*Iperandrogenismo*: sindrome dell'ovario policistico. Androgenizzazione con amenorrea. Gli elevati Androgeni: devono essere determinati deidroepiandrosterone, deidroepiandrosterone solfato, androstenedione, testosterone e SHBG.

-*Deficit della fase luteale*: Il sintomo usuale è la oligo o amenorrea, variazioni nella durata del ciclo mestruale. I valori di FSH in genere sono normali e quelli dell'LH possono essere normali o elevati. Il progesterone è basso per insufficienza del corpo luteo.

-*Iperprolattinemia*: Si manifesta anche con alterazioni del ciclo mestruale, occasionalmente con galattorrea. Il dato di laboratorio fondamentale è l'iperprolattinemia.

-*Produzione di anticorpi antisperma o di autoanticorpi contro la zona pellucida*.

Nella Figura 6 vengono registrate le variazioni tipiche dei livelli ormonali nel ciclo mestruale. Secondo questo schema, gli indizi corrispondenti ai tipi di infertilità femminile più comuni sono:

a) Il mancato incremento dell'estradiolo indica che il follicolo non ha raggiunto la maturazione adeguata; infatti dovrebbe raggiungere un picco da 24 a 36 ore prima dell'ovulazione.

b) L'elevazione significativa e rapida dell'LH a metà ciclo, indica un ciclo ovulatorio normale; il mancato incremento del progesterone nella fase luteinica indica un deficit del corpo luteo (Fig. 6).

Nell'approccio diagnostico dell'infertilità vengono utilizzati numerosi protocolli (Figura 7) molto utili nella interpretazione e nell'atteggiamento da prendere non solo diagnostico ma anche terapeutico (Tabella 2).

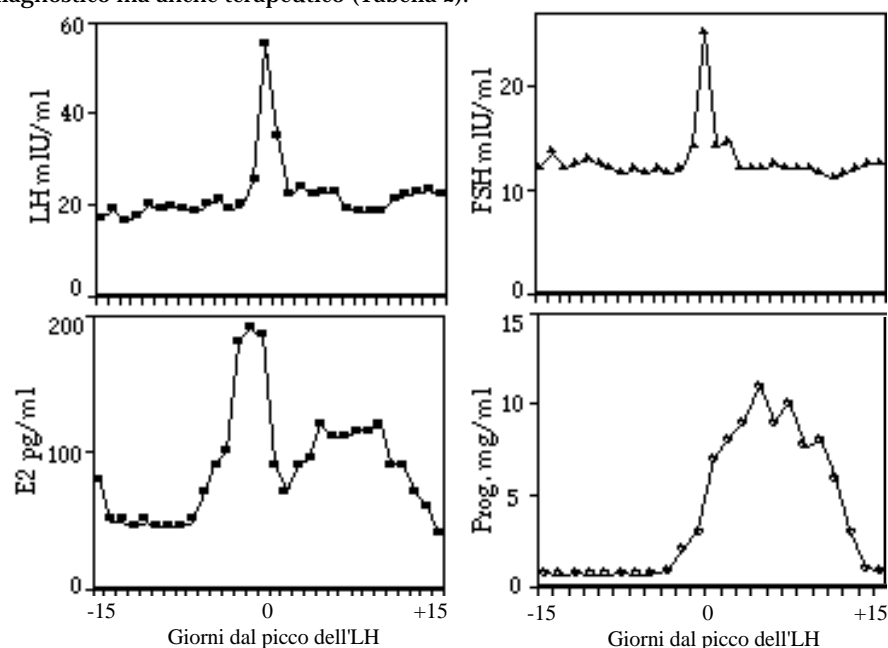


Figura 6. Livelli ormonali durante il ciclo mestruale.

Dosaggi ormonali per i programmi di fertilizzazione assistita

A seconda del tipo di infertilità diagnosticata, oggi abbiamo diverse possibilità di "fertilizzazione assistita", la più nota è la fertilizzazione in vitro (FIV), con embrio transfer (E.T.) e la fertilizzazione in vivo o trasferimento dei gameti conosciuta con la sigla inglese: GIFT= Gamete intrafallopian transfer (vedi Caleidoscopio 34: "La fecondazione in vitro").

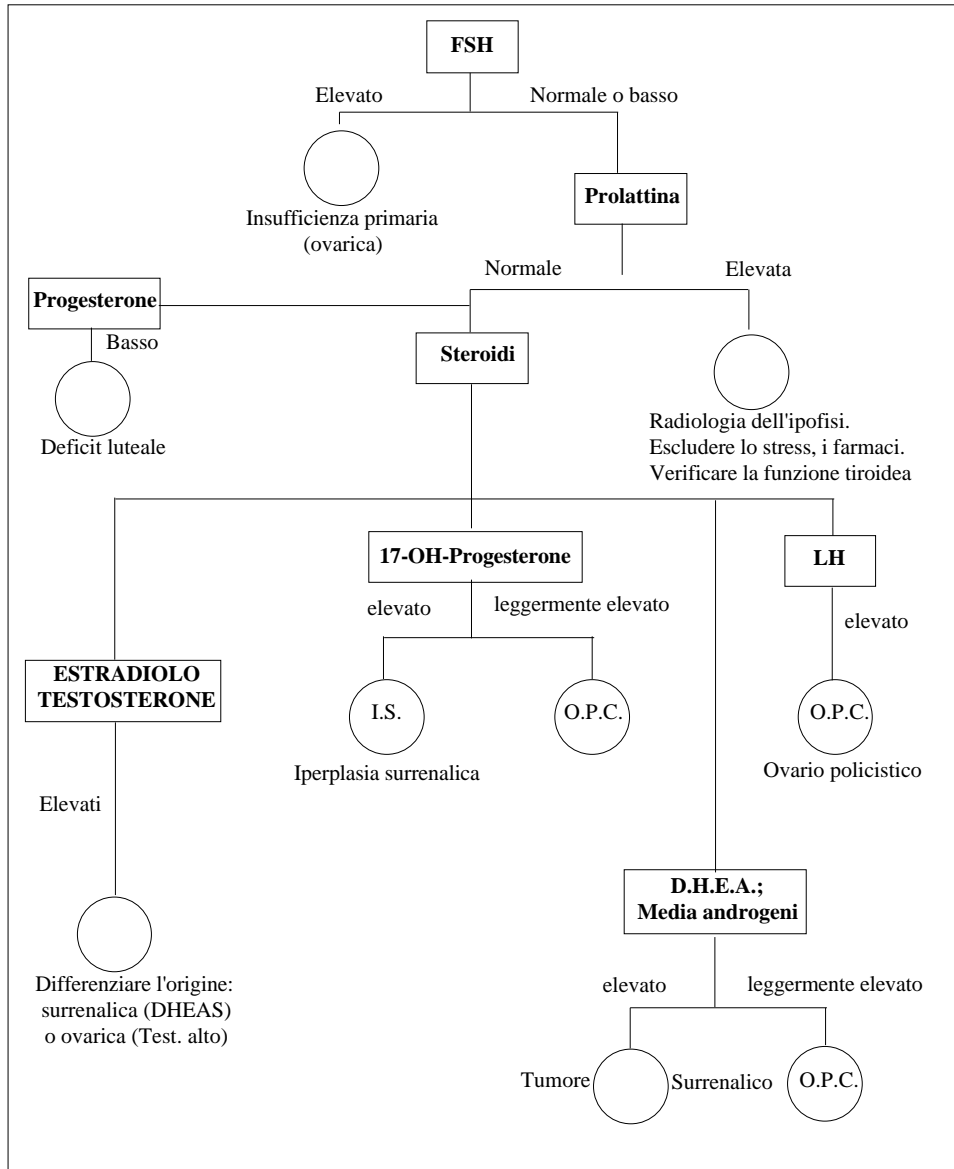


Figura 7. Protocollo per la diagnosi dell'infertilità.

Risultati	Trattamento	Controllo
Progesterone Prolattina normale Endometrio in fase	Clomifene o hMG	Prog.
Progesterone Prolattina normale Endometrio ritardato	Clomifene o hMG	Prog. Biop. E
Progesterone Prolattina Endometrio in fase	Bromocriptina	Prolattina Prog.
Progesterone Prolattina Endometrio ritardato	Bromocriptina	Prog. Prolattina Biop. E
Progesterone normale Prolattina Endometrio ritardato	Bromocriptina	Prolattina Biop. E.
Progesterone normale Prolattina normale Endometrio ritardato	Progesterone	Biop. E.
Follicolo luteinizzato ma non si rompe	Clomifene o hMG	Ultrasuoni

Tabella 2. Alterazioni nella fase luteale.

Il primo neonato ottenuto con la fecondazione assistita fu Louise Brown, in Inghilterra, nel 1978. Da allora è stata accumulata una grossa esperienza su questo tipo di trattamento ed è oggi chiaro che il successo dipende in gran parte da un preciso monitoraggio dei livelli ormonali. La Figura 8, che è una variante del protocollo rappresentato nella figura 7, mostra lo schema più utilizzato per la selezione del tipo di stimolazione dell'ovulazione nelle pazienti che devono essere sottoposte a fecondazione assistita. La stimolazione dell'ovulazione si può fare con hMG (human Menopausal Gonadotropin), con HCG (Gonadotropina Corionica Umana), con Clomifene, etc.

I follicoli in accrescimento secernono quantità crescenti di estradiolo (E_2) e questo ormone agisce sull'ipofisi con un feed-back positivo stimolando la secrezione di LH che precede l'ovulazione. Pertanto il dosaggio di livelli di estradiolo se si desidera ottenere un follicolo maturo o un ovulo è essenziale per il monitoraggio di questa prima parte del ciclo.

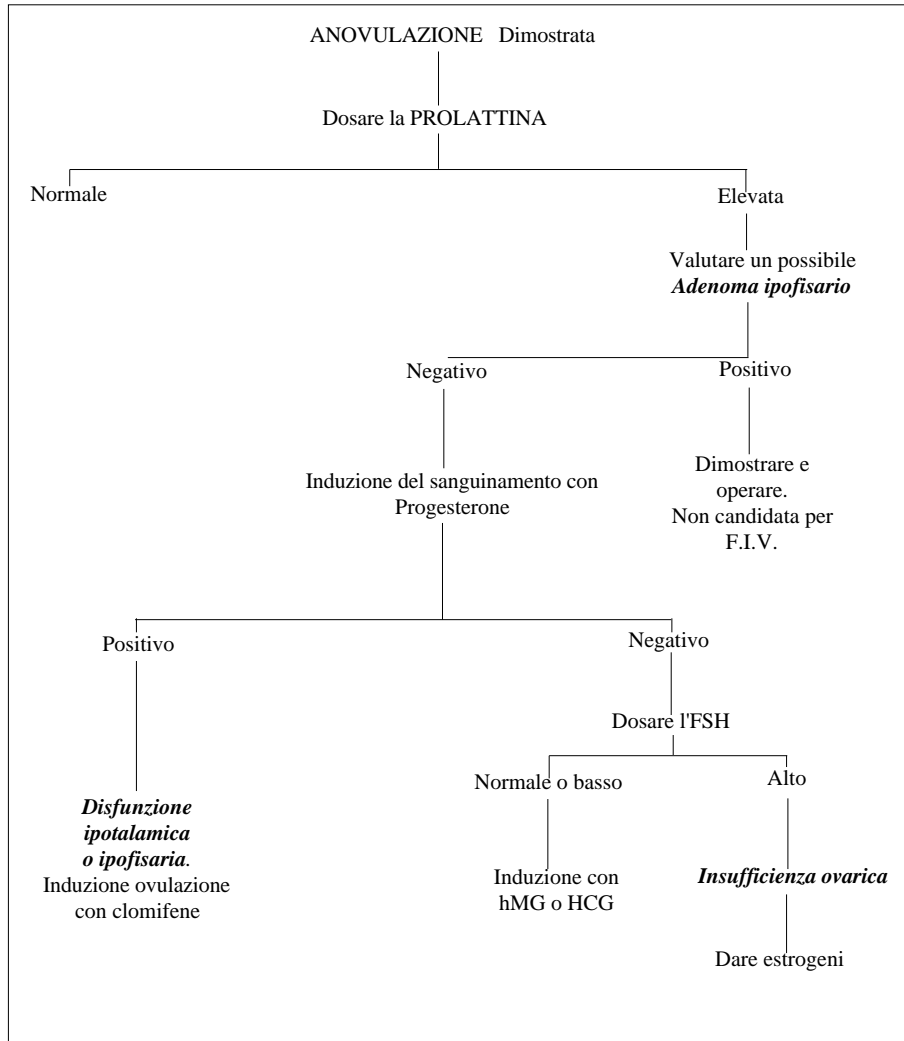


Figura 8. Protocollo tipico per la selezione di pazienti in programmi di fertilizzazione assistita. Escluse le cause immunologiche ed androgenizzanti.

A partire dal 7° giorno del ciclo, si dosa ogni giorno l'estradiolo. I livelli massimi vengono raggiunti al momento della elevazione dell'LH e sono dell'ordine di 400-500 pg/ml.

Quando si impiega hMG o Clomifene per facilitare la raccolta di follicoli maturi, il meccanismo di retroregolazione può essere scompensato e può non essere presente l'elevazione dell'LH, rendendosi necessario l'aggiunta di HCG per facilitare la maturazione completa dei follicoli. Il momento adeguato per somministrare l'HCG è cruciale; se si somministra in anticipo, gli ovuli possono essere immaturi e se si dà troppo tardi questi possono essere troppo maturi; in entrambi i casi sono poco vitali. Per decidere se dare l'HCG e quando darlo, è indispensabile la determinazione dell'estradiolo. Quando i livelli dell'estradiolo sono dell'ordine di 500 pg/ml si fa un esame delle ovaie con gli ultrasuoni per valutare la grandezza del follicolo. Quando il follicolo ha un diametro superiore a 1,7 cm e i valori di estradiolo superano i 1500 pg/ml la paziente viene trattenuta e ogni 8 ore si dosano i livelli di LH. Se l'LH non aumenta, si dovrà somministrare l'HCG (usualmente si danno 5000 U.I.). L'elevazione dell'LH di un 18% del valore medio dei quattro cicli mestruali anteriori si considera adeguato e 34-36 ore dopo un aumento dell'LH di questa grandezza, oppure dopo aver somministrato l'HCG e aver ottenuto un valore di progesterone superiore a 1 ng/ml si fa una laparoscopia per recuperare gli ovociti maturi.

Le pazienti che ricevono l'embrio transfer sono controllate, dal 14° giorno dopo la laparoscopia, per seguire i livelli di HCG e progesterone. Se la gravidanza ha successo, si seguono settimanalmente i valori dell'HCG, del progesterone e dell'estradiolo per le prime 12 settimane della gravidanza, al fine di poter individuare per tempo qualsiasi caduta ormonale.

In casi molto semplici di fertilizzazione assistita, come quelli che richiedono una indicazione del momento più adeguato per effettuare il rapporto, l'individuazione del giorno dell'ovulazione si basa sul dosaggio dell'LH. L'LH si inizia a dosare a partire dal 9° giorno, quando la durata del ciclo è normale o successivamente se la durata del ciclo è anormalmente ampia (Tabella 3). Il dosaggio può essere fatto nel siero e nelle urine e se la risposta dell'ovaio è normale, da 12 a 30 ore dopo l'elevazione dell'LH si verificherà l'ovulazione. Pertanto i giorni nei quali la fertilizzazione è più probabile sono i due giorni che seguono l'elevazione dell'LH.

Durata usuale del ciclo	Giorno in cui si deve iniziare la misurazione di LH
26 giorni o meno	9-10°
27 "	10°
28 "	11°
29 "	11°
30 "	12°
31 "	12°
32 " o più	13-14°

Tabella 3. Determinazione dell'ovulazione.

Diagnosi e follow up della gravidanza

Gli studi ormonali legati alla gravidanza si possono dividere in tre fasi: a) diagnosi precoce di gravidanza. b) individuazione di anomalie e c) controllo della gravidanza per prevenire l'aborto e verificare il benessere e la maturità fetale (vedi Caleidoscopio 48: "La coriognadotropina umana").

a) Diagnosi precoce di gravidanza

L'attuale possibilità di misurare con estrema precisione e sensibilità la gonadotropina corionica umana (HCG), permette di individuare la gravidanza molto precocemente cioè, dopo la prima settimana. Questo è possibile per il rapido aumento dell'HCG, che raddoppia i suoi valori in 48 ore durante il primo mese della gravidanza (Tabella 4).

Condizione fisiologica	HCG (mUI/mL)
Uomini (soglia)	0.5
Donne non gravide	0.5 - 1.3
Gravidanza, prima settimana	10 -30
seconda settimana	30 -100
terza settimana	100 -1.000
quarta settimana	1.000 - 10.000
Due - tre mesi	10.000 -100.000
Secondo trimestre	10.000 - 30.000
Terzo trimestre	5.000 - 15.000
10 -16 giorni dopo il parto	N.D.

Tabella 4. Valori di riferimento dell'HCG per differenti condizioni.

L'importanza della diagnosi precoce di gravidanza è legata soprattutto alla prevenzione dell'alterazione dell'embrione. In effetti, la mancata conoscenza di una gravidanza iniziata fa sì che non vengano evitati fattori che pongono a rischio l'embrione come le radiazioni, i raggi x, alcuni farmaci, droghe d'abuso e sigarette, o alcune manovre mediche come per esempio l'applicazione di un IUD, le prove di stimolazione con TRH, etc.

D'altra parte, la conoscenza precoce della gravidanza permette al medico di instaurare un migliore controllo di questa, soprattutto se si tratta di una gravidanza ad alto rischio per una storia di aborti precedenti o per altre cause.

Se nella paziente la gravidanza è controindicata, l'interruzione volontaria di questa è meno complicata quando si interviene prima della terza settimana. In altri casi, un'interruzione per l'aspirazione con vacuum, deve essere fatta solamente se si ha la certezza dell'impianto, e questo richiede una determinazione quantitativa nel siero piuttosto che un test qualitativo nelle urine.

b) Individuazione di gravidanza multipla e gravidanza ectopica.

Nel caso di gravidanza multipla l'aumento dell'HCG è molto più rapido sebbene i livelli che si raggiungono sono molto simili a quelli di una gravidanza singola.

Nella gravidanza ectopica, che è una patologia ad alto rischio con un indice di mortalità di 1 per mille casi, la determinazione dell'HCG è molto utile se si associa all'uso degli ultrasuoni.

Il tempo di duplicazione dei livelli di HCG è anche qui un indice precoce: in una gravidanza normale il 66% delle persone raddoppiano il livello di HCG in 48 ore, mentre nella gravidanza ectopica il tempo di duplicazione dei valori è di molto superiore. Quando si raggiungono livelli di 6500 mUI/ml deve essere individuabile per mezzo degli ultrasuoni la presenza del sacco gestazionale intrauterino. Questi reperti associati ai tre sintomi classici di gravidanza ectopica: dolore addominale, amenorrea e sanguinamento vaginale, permettono una diagnosi sufficientemente precoce, (Figura 9).

La determinazione dell'HCG è utile anche per seguire l'esito del trattamento chirurgico. Se la rimozione chirurgica è stata completa i livelli di HCG si abbassano rapidamente sebbene possono essere dosabili sino a 24 giorni nel caso di gravidanza ectopica nelle tube di Falloppio.

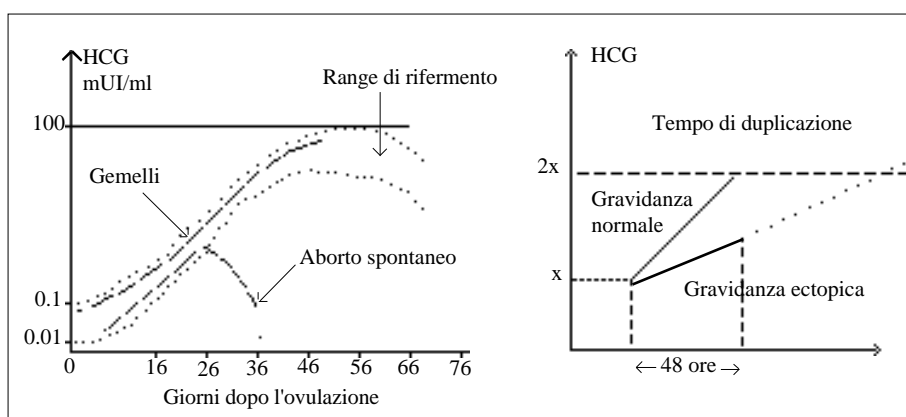


Figura 9. Livelli normali e patologici di HCG nella gravidanza.

Individuazione delle malattie trofoblastiche gestazionali

Le tre forme patologiche note dell'accrescimento del trofoblasto: la mole idatiforme (benigna), la mole invasiva e il coriocarcinoma, si possono distinguere con la misurazione dei livelli plasmatici di HCG.

I sintomi clinici usuali nella mole idatiforme sono: anormale velocità di accrescimento dell'utero, sanguinamento vaginale, nausea e vomito grave, ipertensione arteriosa e assenza di attività cardiaca proveniente dal feto.

Le concentrazioni di HCG nel primo trimestre possono essere uguali o superiori a quelle di una gravidanza normale, però continuano ad aumentare invece di stabilizzarsi come si verifica durante la gravidanza non patologica.

Una volta rimossa la mola, si può fare un adeguato follow up del trattamento, misurando l'HCG ogni 2 settimane finché i valori si abbassano a livelli inferiori alle 5 mUI/ml e quindi ogni mese per un anno come controllo. Se la concentrazione di HCG non si abbassa, si deve pensare o ad una rimozione incompleta del tessuto trofoblastico o ad una persistenza del tumore che potrebbe essere maligno (coriocarcinoma). Nel primo caso, si deve pensare ad una mola invasiva con metastasi, e l'aumento dell'HCG è evidente però inferiore a quello che si verifica nel caso di metastasi da coriocarcinoma.

Poiché in pazienti con coriocarcinoma il trattamento chemioterapico ottiene il successo nel 70% dei casi diagnosticati in tempo, il controllo con la misurazione dell'HCG è estremamente importante (Figura 10).

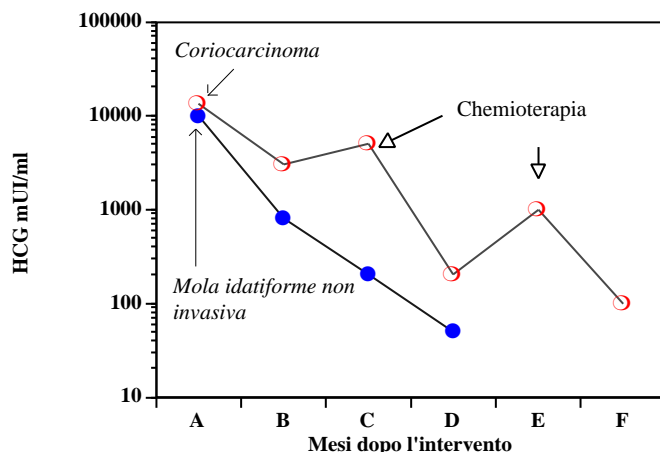


Figura 10. Follow-up della malattia trofoblastica con il dosaggio dell'HCG.

c) Minaccia di aborto, stabilità e benessere fetale

L'ultimo gruppo di applicazioni dei dosaggi ormonali nel corso della gravidanza, si riferisce al follow up di questa nelle sue fasi avanzate.

La minaccia di aborto o il definirsi di un aborto subclinico vengono individuati con la caduta dei livelli plasmatici di HCG (Figura 9); questa è una caduta brusca e prematura, non come quella che si verifica nell'ultimo trimestre di una gravidanza normale.

A partire dalla settima settimana di gravidanza la misurazione dell'estradiolo o dell'estriolo è un buon indicatore del benessere fetale, cioè della integrità e del funzionamento corretto dell'unità feto-placentare. Questo controllo viene raccomandato tra la 7^a e la 14^a settimana. Dopo la 14^a settimana i controlli ormonali non sono necessari (Gerhard e Runnebaum, 1983). Verso la fine della gravidanza (nelle settimane tra la 36^a e la 38^a) si verifica un secondo incremento moderato dell'HCG, e dopo inizia la discesa, raggiungendo livelli inferiori a 5mUI/ml pochi giorni dopo il parto.

Applicazioni nello studio dell'irsutismo

L'eccesso di androgeni nelle donne causa una serie di modificazioni che hanno non solo un'implicazione estetica (mascolinizzazione secondaria, comparsa di peluria nel viso e nelle gambe), ma possono essere anche causa di infertilità.

E' indispensabile determinare se l'eccesso di androgeni è di origine tumorale o non tumorale, surrenalica o ovarica. Per questo si dispone di dosaggi ormonali per l'androstenedione, il DHEA e il DHEA-solfato, il Testosterone totale e libero e la SHBG (Proteina di trasporto degli ormoni sessuali).

Valori bassi di testosterone (meno di 2 ng/ml) suggeriscono un'iperandrogenismo non tumorale. Valori normali o bassi di DHEAS, escludono un problema a livello surrenalico.

La determinazione del DHEAS ha sostituito da alcuni anni il dosaggio dei 17 chetosteroidi nelle urine e viene raccomandato perché è un metabolita di origine quasi esclusivamente surrenalica con una vita media lunga e non presenta variazioni cicliche.

Con lo sviluppo dei metodi per la misurazione della SHBG, si ha a disposizione un'analisi più affidabile nell'interpretazione dell'irsutismo. La SHBG è una proteina di trasporto, sintetizzata nel fegato, con elevata affinità per il testosterone e l'estradiolo. La quota principale del testosterone è trasportata dalla SHBG e pertanto è estremamente conveniente misurare l'indice di androgeno libero (FAI) che è il quoziente che deriva dal rapporto testosterone totale/SHBG. Questo indice è uno dei migliori indicatori del successo del trattamento dell'irsutismo.

I livelli di SHBG dipendono a loro volta dalla quantità di estrogeni circolanti; per questo, sono differenti a seconda dell'età, variano con la gravidanza (aumentano), in donne che utilizzano contraccettivi orali e sono invece ridotti in donne obese.

La diagnostica dell'ovaio policistico

La condizione patologica conosciuta come la sindrome dell'ovaio policistico è estremamente frequente come lo è anche l'irsutismo. Entrambe le condizioni sono generalmente accompagnate da infertilità ed iperprolactinemia.

L'alterazione, anche conosciuta come sindrome di Stein-Leventhal presenta sintomi comuni ad altre alterazioni per le quali la diagnosi differenziale è difficile. Si ritiene che l'alterazione di base è la iperproduzione di androgeni e di conseguenza si hanno le variazioni FSH, LH, testosterone, DHEA, DHEAS e androstenedione.

L'alterazione ormonale più caratteristica è l'aumento di livelli di LH, fatto con un dosaggio specifico che non dia reazione crociata con l'FSH e l'HCG. Questi livelli elevati sono dell'ordine di quelli che ci si aspetta nell'ovulazione o anche superiori, però non è presente nessuna ovulazione.

I livelli di testosterone e DHEAS sono modicamente elevati, a differenza di quello che si verifica nell'iperandrogenismo di origine surrenalica. Anche le modificazione dell'FSH non sono significative (Deutsch S. et al., 1978).

Nella diagnostica dell'irsutismo e dell'ovaio policistico si deve prendere in considerazione la possibilità di una iperplasia surrenalica, che viene individuata con il dosaggio del 17-idrossi-progesterone.

Principali applicazioni in pediatria

L'endocrinologia pediatrica come abbiamo già accennato nel capitolo precedente, abbraccia un campo molto ampio. Abbiamo selezionato, quale esempio, i seguenti aspetti: a) l'applicazione della determinazione dell'alfa-fetoproteina nella diagnostica prenatale delle alterazioni del tubo neurale; b) l'applicazione della determinazione del 17 alfa-idrossi-progesterone nella diagnostica della iperplasia surrenalica congenita; c) l'applicazione del dosaggio del TSH nel neonato, nella diagnostica dell'ipotiroidismo congenito e d) alcune applicazioni nei disturbi dell'accrescimento e nei casi di pubertà precoce.

Alfa-fetoproteina nelle alterazioni della formazione e chiusura del tubo neurale

L'alfa-fetoproteina (AFP) è la principale proteina del siero fetale, nel quale svolge le funzioni dell'albumina nell'adulto. L'alfa-fetoproteina ha un peso molecolare leggermente superiore a quello dell'albumina (70.000 dalton) ed è molto simile a questa. Viene sintetizzata nel fegato del feto e nel sacco embrionale. Dopo il parto la concentrazione di AFP diminuisce rapidamente e aumenta quella dell'albumina.

L'AFP è dosabile nel siero materno durante la gravidanza così come pure nel liquido amniotico.

I difetti del tubo neurale (NTD) sono la malformazione congenita più comune e grave. L'incidenza varia da un paese all'altro, viene valutata da 1 a 5 ‰ dei nati vivi, ma può essere superiore se si prende in considerazione che in moltissimi casi conducono alla morte del prodotto prima della nascita o ad aborti spontanei nel primo trimestre di gravidanza. I NTD sono molto comuni nelle bambine (circa il 65% dei casi si verificano in feti femmine).

La chiusura incompleta del tubo neurale nell'embrione durante lo sviluppo causa: anencefalie (mancata formazione del cervello e del midollo spinale) o anche la condizione nota come "spina bifida" (chiusura incompleta a livello della colonna vertebrale), aperta e protrudente oppure chiusa, cioè, ricoperta dalla pelle. I casi di spina bifida aperta molto gravi causano mielomeningocele.

L'anencefalia completa è incompatibile con la vita, ma nei casi parziali così come nei casi di spina bifida, il neonato sopravvive con gravi alterazioni: diversi gradi di paralisi, idrocefalia, assenza di riflessi, etc.

Le concentrazioni di AFP nel plasma raggiungono livelli massimi (3.5 g/l) verso la 12^a-14^a settimana di gestazione.

Nel siero materno le concentrazioni di AFP aumentano sino alla 30^a-32^a settimana di gestazione e dopo discendono rapidamente. Le concentrazioni che si ritrovano nel liquido amniotico sono intermedie tra quelle del plasma fetale e quelle del plasma materno, poiché il rapporto tra queste concentrazioni, intorno alla 12^a-14^a settimana di gestazione, è circa di 30.000:200:1.

Dopo il parto si verifica normalmente la scomparsa della AFP nel siero del neonato nel corso dei primi 4-5 mesi e nella madre nel corso dei primi 4-5 giorni.

Quando si verificano alterazioni della chiusura del tubo neurale, le concentrazioni di AFP, tanto nel liquido amniotico quanto nel siero materno, sono elevate, a causa del passaggio di quantità superiori, dal plasma liquido cerebro-spinale del feto. Aumentati livelli di AFP si registrano anche in corso di ernia ombelicale, gastroschisi, atresia duodenale o esofagea o necrosi del feto; tuttavia, l'aumento di AFP in corso di spina bifida chiusa e, soprattutto, di anencefalia è superiore rispetto alle altre condizioni patologiche.

A causa della molteplicità dei fattori che i particolari livelli di AFP nel liquido amniotico o nel siero materno, il valore di riferimento considerato come "normale" va stabilito in funzione della mediana delle determinazioni fatte nelle donne con parto e prodotto del concepimento normale. I limiti di riferimento superiori e inferiori sono ottenuti moltiplicando rispettivamente per 2.5 e 0.4 il valore della mediana o meglio ancora, a seconda del tempo di gestazione con i valori riportati nella tabella seguente.

Settimane di gestazione	Multipli della mediana
13 - 15	2.5
16 - 18	3
19 - 21	3.5

Tabella 5. Metodo di calcolo dei limiti inferiori e superiori dell'AFP in gravidanza.

Il tempo di gestazione più appropriato per la determinazione dell' feto-proteina nel siero materno è intorno alla 16^a-18^a settimana, mentre per il dosaggio nel liquido amniotico, ottenuto per amniocentesi, è tra la 16^a e la 22^a settimana. I dosaggi fatti prima di questo periodo possono dare dei falsi negativi e le determinazioni fatte successivamente possono richiedere una decisione di aborto molto complessa.

Poiché le concentrazioni nel liquido amniotico sono molto superiori a quelle del siero materno (Tabella 6), il liquido amniotico viene diluito sino a 200 volte. La presenza di sangue nel liquido amniotico, altera i risultati poiché può trattarsi di sangue fetale. Per l'interpretazione dei risultati si deve tener conto, che si possono incontrare nel siero materno valori elevati in caso di emorragia placentare o di gravidanze multiple e nel liquido amniotico possono aversi dei valori elevati in caso di isoimmunizzazione-RH o di sindrome di Turner, di osteogenesi imperfetta, etc.

E' estremamente importante, pertanto, la conferma di un risultato patologico per mezzo di ultrasuoni.

	Settimane di gestazione	Promedio U.I./mL	Mediana U.I./mL	Multipli della mediana raccomandati come limite superiore				
A. (S.m.)	15	26.9	26.0	2.5	Md	=	65	U.I./ml
	16	29.8	29.0	3.0	Md	=	87	
	17	32.2	28.5	3.0	Md	=	85.5	
	18	36.3	37.0	3.0	Md	=	111	
	19	51.2	41.0	3.5	Md	=	143	
	20	58.1	51.0	3.5	Md	=	178	
B (L.a)	15	15466	15466	2.5	Md	=	38665	
	16		13106	3.0	Md	=	39318	
	17		10538	3.0	Md	=	31614	
	18		9867	3.0	Md	=	29601	
	19		7918	3.5	Md	=	27713	

Tabella 6. Valori di riferimento per AFP in: A) siero materno e B) liquido amniotico.

La determinazione dell'attività dell'acetilcolinesterasi nel liquido amniotico rappresenta anch'essa un aiuto diagnostico nella NTD, poiché è elevata. Questo dosaggio è estremamente complicato e richiede l'inattivazione di altre colinesterasi non specifiche con lisivana o con BW284C51.

Il significato di una concentrazione bassa di AFP nel siero materno è meno chiaro. E' stata infatti associata con la sindrome di Down, la gravidanza molare, la gravidanza fantasma e casi di aborto subclinico. Nell'interpretazione dei valori bassi bisogna aver cura, di valutare correttamente l'età del feto e, in ogni caso, cercare di verificare ogni dato con un altro tipo di valutazione come con gli ultrasuoni. E' opportuno inoltre aggiustare il risultato al peso della madre, per evitare interpretazioni ingiustamente allarmanti. Una formula per aggiustare i valori di AFP nel siero tenendo conto del peso della madre, è la seguente: (The Lancet, 1985, Feb. 23 p. 468).

$$\text{Media attesa} = 1.555 - 0.0019 W$$

(W= peso della madre in Kg.)

17 -idrossiprogesterone nella diagnostica dell'iperplasia surrenalica congenita

Il 17- idrossiprogesterone è un metabolita del progesterone, intermedio nella sintesi del cortisolo (Figura 11).

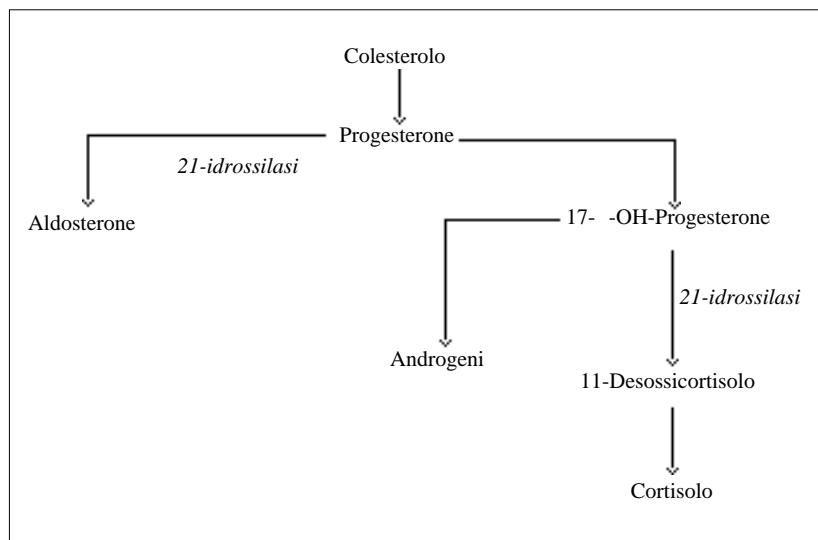


Figura 11. Biosintesi del cortisolo a partire dal colesterolo.

Il deficit di 21-idrossilasi impedisce la formazione di cortisolo a partire dal 17-idrossiprogesterone e di aldosterone a partire dal progesterone, attraverso l'11-desossicorticosterone. A causa della ridotta produzione di cortisolo, viene a mancare la retroregolazione negativa sull'ACTH, per tal ragione questo aumenta e stimola le ghiandole surrenali che incrementano la produzione di 17-idrossiprogesterone e di altri androgeni.

Questa alterazione metabolica conduce alla condizione patologica chiamata iperplasia congenita surrenalica, che può essere di due tipi in relazione ai sintomi:

Il primo tipo si caratterizza per una ambiguità sessuale (comunemente virilizzazione nei neonati di sesso femminile) e disturbi dell'accrescimento in entrambi i sessi. In questo tipo il deficit della 21-idrossilasi è parziale.

Nel caso di un blocco totale della sintesi del cortisolo e dell'aldosterone, per un deficit completo della 21-idrossilasi, si verifica anche un'incapacità di ritenere il sodio, il che pone in grave pericolo di vita il paziente.

Entrambi i tipi di alterazione richiedono un trattamento immediato per evitare disturbi gravi dello sviluppo. La forma benigna, nella quale non c'è perdita di sale, è quella che ha una prevalenza maggiore. Si verifica da 80 a 90% dei casi. La prevalenza totale è dell'ordine di 1: 5.000 nella razza bianca e di 1: 300 negli schimesi.

Tenendo presente che questa malattia diagnosticata per tempo è perfettamente trattabile, è estremamente importante lo screening dei neonati. Il dosaggio può essere fatto con una goccia di sangue raccolto su un foglio di carta da filtro, come si fa per altre prove neonatali.

Valori di 17-idrossiprogesterone inferiori a 50 picogrammi per disco di carta da filtro, vengono considerati in un'analisi di screening routinaria, come normali.

I neonati che presentano sintomi che suggeriscono questo deficit (anomalie dei genitali, vomito, disidratazione, basso peso alla nascita, gestazione prematura o storia familiare di iperplasia surrenalica) devono effettuare la determinazione in campioni differenti, dopo la prima settimana di vita, e sino al 12° mese. La determinazione nel plasma si correla bene con quella che si ha nel sangue del tallone raccolto nella carta da filtro (Figura 12).

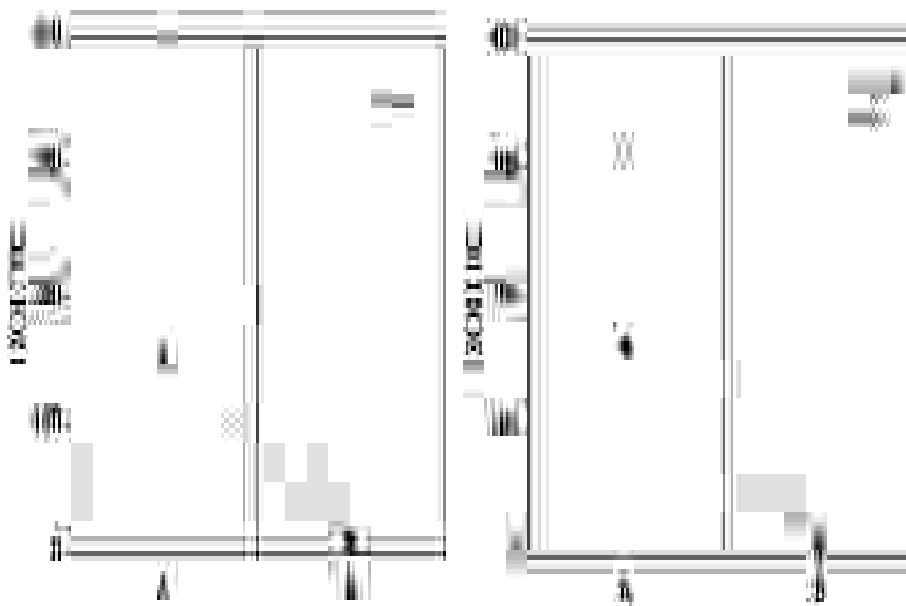


Figura 12. Iperplasia surrenalica congenita. Valori ottenuti in casi patologici dimostrati (A=valori pretrattamento; B=valori post-trattamento).

Come si vede i valori dopo la nascita non sono significativamente elevati. Il trattamento produce una caduta significativa nei valori di 17-OH-PG, evitando le complicazioni successive.

Un'altra variante dell'iperplasia surrenalica, è caratterizzata da manifestazioni più tardive, perché i sintomi possono comparire verso i 15 anni di età, specialmente in condizioni di stress. I sintomi sono: amenorrea, irsutismo e ipertensione arteriosa. Questo è dovuto ad un deficit moderato di 21-idrossilasi, probabilmente si tratta di casi eterozigoti per la mutazione responsabile del deficit enzimatico.

La diagnosi differenziale di questi casi si deve fare fondamentalmente basandosi sui risultati della determinazione del 17-OH-PG, dell'ACTH e del DHEA.

I valori di riferimento nel siero del neonato, oscillano tra 0.7 e 8.0 ng/ml, con una media di 3.0. Negli adulti, i valori di riferimento in fase follicolare sono di 0.1-0.8 e in fase luteinica sono di 0.27-2.9 ng/ml.

Il TSH nella individuazione dell'ipotiroidismo congenito

L'ipotiroidismo congenito è una malattia con un'incidenza relativamente bassa, ma con gravi conseguenze nel caso non venga diagnosticato precocemente, poiché produce un ritardo dello sviluppo mentale, difficile da recuperare dopo i 6 mesi di vita.

Il dosaggio del TSH è il metodo ideale per individuare i casi di ipotiroidismo. Si esegue con una goccia di sangue prelevata dal tallone, raccolta in carta da filtro, intorno al 3° - 5° giorno di vita. Campioni raccolti prima del terzo giorno danno dei risultati che riflettono le condizioni ormonali della madre e non sono pertanto utili. A partire dal terzo giorno, prima si ha la risposta diagnostica e migliore sarà la prognosi, considerando che dopo 4-6 mesi il danno che si ha a livello cerebrale è parzialmente irreversibile (vedi Caleidoscopio 13: "Il TSH" e Caleidoscopio 70: "Gli screening neonatali").

Il neonato che è affetto da ipotiroidismo presenta sintomi evidenti e caratteristici che mettono in allarme la madre o il medico; con l'accrescimento il neonato può presentare sintomi come costipazione, letargia, ittero, ipotonia e, senza dubbio più allarmanti, ritardo dell'accrescimento, della maturazione scheletrica e della eruzione dentale.

La terapia con ormoni tiroidei iniziata prima dei 3 mesi di età, evita la disfunzione cerebrale e permette uno sviluppo intellettuale praticamente normale.

Il campione per la determinazione del TSH e degli ormoni tiroidei può essere il sangue dal cordone ombelicale, il sangue raccolto in capillari o su una carta da filtro dopo puntura del tallone tra il 3° e il 5° giorno di vita (Figura 13 e 13 bis). A seconda del campione, i valori di riferimento saranno differenti. È preferibile la determinazione nel sangue del tallone raccolto su carta da filtro poiché il procedimento si può standardizzare ed il trasporto del campione è facile e sicuro.

Si preferisce misurare il TSH e non gli ormoni T_3 e T_4 perché questi nel neonato possono essere influenzati da altri fattori come la disponibilità della proteina di trasporto (TBG), l'ipoplasia tiroidea, ectopia tiroidea, etc. Tuttavia, nel caso che la determinazione del TSH dia dei valori patologici, deve essere confermato con la misurazione della T_3 e T_4 .

Le variazioni del TSH hanno una notevole sensibilità diagnostica specialmente quando si dispone di metodi di elevata sensibilità e specificità per il TSH.

Valori bassi di T_4 e normali o bassi di TSH possono trovarsi nei casi di ipotiroidismo secondario o terziario, tuttavia sono frequenti nei neonati di basso peso alla nascita, prematuri o con sindrome di insufficienza respiratoria. In questi casi, i valori di T_4 si normalizzano dopo poche settimane. Meno frequentemente, l'ipotiroidismo apparente, può essere dovuto a un deficit nella sintesi della TBG o al trattamento della madre con farmaci tiroidei.

Nei casi di ipotiroidismo primario vero, il reperto di laboratorio definitivo è l'elevazione del TSH. Dopo l'inizio della terapia con T_4 esogeno, i valori di TSH si abbassano a valori normali, dopo circa 6-24 mesi.

I valori di riferimento negli screening variano molto in rapporto al protocollo e alla tecnica dell'analisi, però in termini generali si considera che un TSH aumentato e un T_4 ridotto se ottenuti attorno al 3° - 5° giorno di vita, sono indicativi di ipotiroidismo congenito.

Lo screening basato sulla misurazione del TSH non individua casi di ipotiroidismo secondario o terziario.

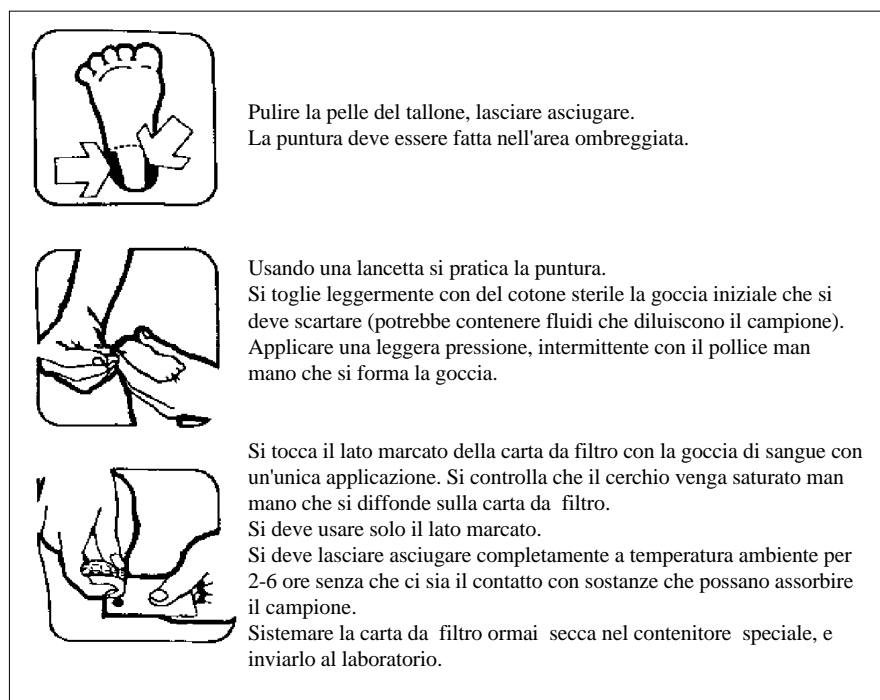


Figura 13. Raccolta del campione per la determinazione del TSH neonatale. (Secondo la norma del NCCLS, Vol. 5 No. 14p. 401, 1985)

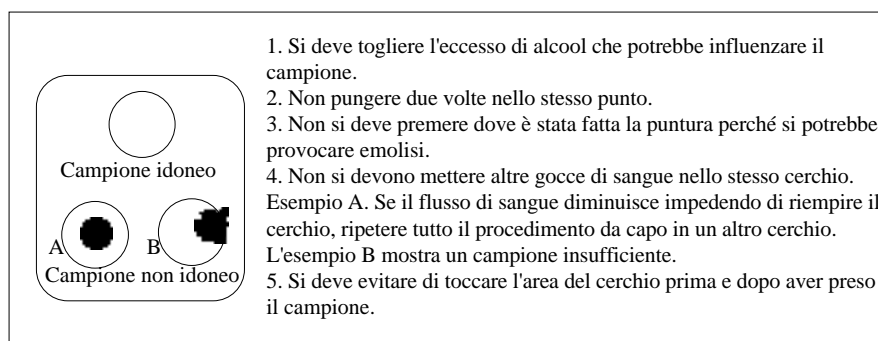


Figura 13 bis. Precauzioni nella raccolta del campione di sangue per il dosaggio del TSH neonatale.

Valutazione ormonale dei ritardi della crescita

I problemi endocrini della crescita sono abbastanza complessi e richiedono una valutazione completa di molti fattori genetici, nutrizionali, psicosociali e metabolici.

Questi problemi possono raggrupparsi in due grosse categorie:

- a) Problemi di bassa statura e ritardo nell'accrescimento (Tabella 7).
- b) Gigantismo e acromegalia.

In questa sezione non ci occuperemo dei problemi dello sviluppo sessuale, che vengono esaminati a pag. 34.

La valutazione dell'ormone della crescita (GH) e della Somatomedina C sono essenziali nei disturbi endocrini dell'accrescimento.

Una sola determinazione random del GH è poco utile poiché questo ormone viene liberato in picchi secretori, legati ai periodi del sonno. Pertanto è opportuno ottenere il campione del sangue per questo dosaggio, 1 ora dopo l'inizio del sonno o 20 minuti dopo un esercizio fisico vigoroso in condizioni standardizzate. Se il risultato basale è molto basso viene richiesta una prova dinamica con stimolazione (Vedi pag. 58).

Oggi si considera di estrema utilità, la determinazione della Somatomedina C, che è un peptide di 70 aminoacidi simile all'insulina, che stimola l'accrescimento della cartilagine, in quanto è mediatore dell'azione fisiologica del GH.

Un valore normale di Somatomedina C indica che il paziente non ha deficit dell'ormone della crescita, però un valore basso in un bambino con ritardo della crescita non può essere diagnostico di ipopituitarismo finché non viene esclusa la possibilità che si possa trattare di ipotiroidismo primario, di deficit nutrizionali o di malattie croniche.

Valori elevati di Somatomedina C si incontrano in bambini affetti da gigantismo e nell'acromegalia, i livelli di Somatomedina C sono il migliore indicatore di queste alterazioni, rispetto alla determinazione diretta del GH, e permettono di seguire meglio il successo o l'insuccesso del trattamento.

Valori alti di Somatomedina C si possono trovare durante la pubertà e durante la gravidanza. Nella tabella 8 sono riportati i valori di riferimento per la somatomedina C con metodo radioimmunologico.

La determinazione del GH e della Somatomedina C conferma il deficit ipofisario (GH basso; Somatomedina bassa) e permette di distinguere il nanismo secondario ad altre forme rare di bassa statura come il Laron (GH normale; Somatomedina bassa) e il pigmeo (GH e Somatomedina normali).

<p>1. Di origine genetica</p> <ul style="list-style-type: none">- Sindrome di Down- Trisomia 18- Sindrome di Bloom- Sindrome di Cornelia Lange- Sindrome di Smith-Lemli-Opitz- Leprecaunismo, etc.	<p>5 Alterazioni scheletriche</p> <p>a) Nanismo proporzionato</p> <ul style="list-style-type: none">- Disostosi cleidocraniale- Sindrome di Kenny- Osteopetrosi- Pseudoipoparatiroidismo <p>b) Nanismo non proporzionato</p> <ul style="list-style-type: none">- Acondroplasia- Condrodistrofia <p>c) Infermità acquisite</p> <ul style="list-style-type: none">- Malattia di Pott- Scoliosi
<p>2. Di origine intrauterino non genetica</p> <ul style="list-style-type: none">- Carenze nutritive della madre- Radiazioni durante la gravidanza- Infezioni (rosolia, toxoplasmosi, etc.)- Alterazioni placentari	<p>6. Alterazioni metaboliche</p> <ul style="list-style-type: none">- Rachitismo resistente alla vitamina D- Mucopolisacaridosi- Errori metabolici congeniti
<p>3. Alterazioni nutritive postnatali</p> <ul style="list-style-type: none">- Malnutrizione- Sindrome da malassorbimento- Epatopatie	<p>7. Alterazioni dell'apporto di ossigeno (cardiopatie, pneumopatie, anemie)</p>
<p>4. Disturbi endocrinologici</p> <ul style="list-style-type: none">- Alterazioni ipotalamiche- Nanismo ipofisario- Panipopituitarismo- Ipotiroidismo- Iperplasia congenita surrenalica- Cushing- Pubertà precoce- Rachitismo	<p>8. Nanismo primordiale</p> <p>9. Ritardo costituzionale dell'accrescimento</p> <p>10. Bassa statura familiare</p>

Tabella 7. Classificazione dei disturbi dell'accrescimento.

Sesso	Età (anni)	UI/mL
Entrambi	Neonato	0.4
M	Meno di 3	0.08-1.1
F		0.11-2.2
M	3-5	0.12-1.6
F		0.18-2.4
M	6-10	0.22-2.8
F		0.40-4.5
M	11-12	0.28-3.7
F		0.99-6.8
M	13-14	0.90-5.6
F		1.20-5.9
M	15-17	0.91-3.1
F		0.71-4.1

Range di 2S.D. in bambini sani nel 95 percentile o con peso e statura maggiore. (Campione: plasma con EDTA).

Tabella 8. Valori di riferimento per Somatomedina C nei bambini e negli adolescenti.

Valutazione ormonale dei disturbi dello sviluppo sessuale

La maggior parte delle alterazioni dell'accrescimento si associano ad alterazioni della maturazione sessuale, pertanto la valutazione di queste alterazioni viene fatta chiaramente insieme.

E' possibile individuare due tipi di alterazioni nello sviluppo sessuale. La prima è la sindrome della pubertà ritardata, che si verifica quando i caratteri sessuali secondari non si sono manifestati all'età di 14-15 anni (in genere secondario ad un ipogonadismo ipogonadotropo). La seconda è la sindrome della pubertà precoce, nella quale si verifica la comparsa dei caratteri sessuali secondari (inclusa la comparsa delle mestruazioni) ad un'età inferiore agli otto anni nelle bambine.

In questi casi è indispensabile la valutazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico, così come la valutazione dei livelli degli androgeni e dell'estradiolo.

I livelli di LH e FSH, così come tutta la sintomatologia, devono essere interpretati tenendo conto dello stadio dello sviluppo secondo Tanner, che distingue 5 stadi nel processo di maturazione gonadico (Tabella 9).

Le variazioni del funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico prima, e durante la pubertà pure sono notevoli, pertanto devono essere tenute presenti nella valutazione dei risultati dei dosaggi ormonali (Tabella 10).

Nei casi di pubertà precoce, la valutazione dell'LH e dell'FSH deve accompagnarsi, per poter differenziare le possibili etiologie, alla determinazione dell'estradiolo, del 17-idrossi-progesterone e del DHEAS (Tabella 11).

FSH	Età (anni)	mUI/ml nei bambini	mUI/ml nelle bambine
	1-2	5	8
	3-7	5	9
	8-10	6	10
	11-12	8	15
	13-17	10	15
<hr/>			
FSH	Stadio di Tanner		
	I	4.8	5.6
	II-III	5.8	12
	IV-V	6.5	12
<hr/>			
LH	Età (anni)		
	1-7	1.6-6.0	7.0
	8-10	1.6-6.0	10.0
	11-12	1.6-6.0	2.0-18
	13-14	3.0-13.0	2.0-18
	15-17	4.0-13.0	2.0-18
<hr/>			
LH	Stadio di Tanner		
	I	3.3-8.7	2.7-8.6
	II-III	3.4-8.1	3.7-17
	IV-V	6.1-17.0	3.8-15

Tabella 9. Valori di riferimento per il limite superiore della gonadotropina, secondo l'età e lo stadio di Tanner.

Stadi:	Neonatale	Pre-puberale	Puberale	Adulto
Ipotalamo GnRH		Retroregolazione negativa sensibile a bassi livelli di steroidi.	Diminuzione della sensibilità nella retroregolazione negativa. Aumenta il GnRH	Retroregolazione negativa a livelli alti di steroidi.
Ipofisi FSH/LH	FSH alto specialmente nelle bambine; LH alto specialmente nei bambini. Si normalizzano al quarto mese.	Risponde a bassi livelli di GnRH.	Aumenta lentamente la secrezione di FSH prima e di LH dopo.	Risponde a livelli di GnRH dell'adulto.
Gonade		Risponde a bassi livelli di LH e FSH. Secerne basse concentrazioni di steroidi.	Risponde allo stimolo aumentando la produzione degli steroidi.	

Tabella 10. Variazioni nell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico prima e dopo la pubertà.

L'ipogonadismo ipogonadotropo richiede frequentemente il dosaggio dell'LH e dell'FSH basale e la prova di stimolazione ipotalamica con citrato di clomifene.

L'ipogonadismo ipergonadotropo, che si osserva per esempio nella sindrome di Turner, si caratterizza per la presenza di valori elevati di LH e FSH e una risposta elevata alla stimolazione con GnRH; nel maschio, è indicata la valutazione del testosterone e il test di stimolazione con gonadotropina corionica, il dosaggio delle gonadotropine e la prova con GnRH.

Ipogonadismi ipergonadotropi	Ipogonadismi ipogonadotropi
<p>a) Congeniti</p> <ul style="list-style-type: none"> Anorchia Testicolo rudimentale Sindrome di Klinefelter Sindrome di Del Castillo Trabucco e De la Balze Sindrome di Reifenstein Sindrome di Turner Criptorchidia bilaterale Azoospermia idiopatica <p>b) Acquisiti</p> <ul style="list-style-type: none"> Orchiti Torsioni testicolari Atrofia postchirurgica Criptorchidismo Castrazione Radiazione e chemioterapia 	<p>a) Congeniti</p> <ul style="list-style-type: none"> Ipopituitarismo Insufficienza gonadotropa e somatotropa Deficit di FSH Deficit di LH Danno cerebrale congenito <p>b) Acquisiti</p> <ul style="list-style-type: none"> Tumori o lesioni dell'ipotalamo o dell'ipofisi Infezioni di SNC Ipofisectomia

Tabella 11. Classificazione delle differenti forme di ipogonadismo.

I differenti tipi di ipogonadismo si possono classificare nella forma seguente.

I valori normali di estradiolo prepuberali in entrambi i sessi sono inferiori a 10 pg/ml e nella pubertà aumentano lentamente. Nei casi di pubertà precoce costituzionale, i valori di estradiolo sono elevati per l'età cronologica, potendo arrivare ad uguagliare i valori normali dell'adulto al contrario, nella pubertà precoce dovuta ad un tumore ovarico secernente estrogeni, i livelli di estradiolo sono elevati e superano anche i valori normali dell'adulto. Con la determinazione del DHEAS, la cui origine è surrenalica, si può stabilire se l'aumentata secrezione di estrogeni è di origine surrenalica o gonadica. Nel caso si presenti un menarca precoce, potrà essere molto utile determinare se il ciclo è anovulatorio, come si verifica normalmente nei primi cicli. Questo può essere fatto col dosaggio del progesterone.

Marcatori tumorali

Un termine più appropriato per i marcatori tumorali è quello di Antigeni associati ai tumori. Si tratta in realtà di un gran numero di sostanze, usualmente glicoproteine, molte delle quali sono state individuate con l'uso degli anticorpi monoclonali, che per qualche motivo fisiologico o patologico si trovano associate o in relazione con un tumore specifico, di aiuto sia dal punto di vista diagnostico che per il follow up del trattamento.

Perché una sostanza possa dimostrarsi clinicamente utile come marcatore tumorale, deve idealmente soddisfare le seguenti condizioni:

1. Deve esistere una correlazione tra la sua concentrazione e il volume o l'estensione del tumore.
2. Deve riflettere lo stadio clinico, ponendosi in correlazione con il periodo o la fase clinica del tumore e riflettendo il successo o l'insuccesso del trattamento.
3. Deve caratterizzarsi per modificazioni delle concentrazioni prima della comparsa dei sintomi clinici, in modo tale da permettere di predire la ricorrenza o la comparsa di metastasi.
4. Deve aumentare la propria concentrazione prima che si presentino i sintomi clinici evidenti, al fine di permettere una diagnosi precoce del tumore.

Sono molto poche le sostanze che soddisfano questi requisiti, dimostrando una sensibilità ed una specificità clinica sufficientemente buone per lo screening dei tumori nella popolazione generale o almeno nella popolazione ad alto rischio. Attualmente, la maggiore utilità di marcatori tumorali è nel monitoraggio del trattamento e dell'evoluzione del carcinoma.

Le sostanze postulate come marcatori tumorali possono essere un prodotto normale della cellula interessata, che aumenta come conseguenza dell'incremento del numero delle cellule oppure un metabolita proprio del tessuto ma senza un'azione fisiologica nota.

In questo capitolo ci occuperemo esclusivamente di alcuni di quei marcatori tumorali che hanno dimostrato la loro utilità clinica in carcinomi specifici (Tabella 12).

Alfa-feto-proteina (AFP)

Abbiamo già visto l'utilità della determinazione per l'individuazione di alterazioni del tubo neurale durante la gravidanza. Le applicazioni oncologiche sono in rapporto a due tipi di tumori: carcinomi epatici e carcinomi delle cellule germinali (principalmente carcinomi testicolari). L'individuazione dell'AFP in questi casi si può fare tanto nel siero come nei tessuti (immunocolorazione specifica) (vedi Caleidoscopio 37: "Markers tumorali in gastroenterologia").

Marcatore tumorale	Carcinoma associato	Valori di riferimento	Livelli di decisione raccomandati	Marcatori di ausilio
AFP	Fegato	0 - 10UI/ml IRMA*	>10 UI/ml	Ferritina
	Testicolo	2.6±1.3 ng/ml EIA*	>10 ng/ml	HCG
CEA	Gastrointestinale	0 - 3.4 ng/ml§	>10 ng/ml	CA 19-9; 5-HIAA TPA; CA 15-3
	Mammario	0 - 5.2 ng/ml†		
HCG	Coriocarcinoma Testicolo (cellule germinali)			
PSA	Prostata	0 - 2.8 µg/L ⁺⁺ 0-12.4 µg/L ^{**}	>20 µg/L	PAP
CA-125	Ovario			TPA; HCG; AFP; CEA
CA-19-9	Pancreas e Gastrointestinale			CEA; TPA
CA 15-3	Mammella			CEA, CA-549 TPA
		*Nell'adulto (esclusa la gravidanza)	§ Non fumatore	
		†Fumatore	++ Età >40 anni	
		**Ipertrofia prostatica benigna		

Tabella 12. Alcuni dei principali marcatori tumorali.

La concentrazione di AFP nel siero aumenta nel 75-85% nel paziente con carcinoma primitivo del fegato. Le concentrazioni superano generalmente i 350 ng/ml, questo dimostra che sono chiaramente distinguibili dai valori di riferimento e da quegli incrementi moderati che si possono incontrare in altre malattie epatiche (cirrosi, epatiti diverse, emocromatosi).

Come si verifica in tutti i casi, l'uso di due marcatori nel follow up dei tumori delle cellule germinali è molto più efficace di uno solo (Figura 14). Alcuni seminomi sono AFP negativi; il 60% dei tumori non seminomatosi presentano valori elevati di AFP, però,

l'HCG si trova aumentato nel 75% dei casi che le probabilità di incontrare un incremento di uno di questi due marcatori, è del 90%.

La correlazione tra la fase clinica del tumore testicolare e la frequenza di valori elevati di AFP viene illustrata nella Tabella 13. Come si può vedere, sebbene sia buona, non ha l'utilità diagnostica precoce sufficiente, per questo motivo è estremamente importante utilizzare le tecniche per immagini, l'esame istologico e altri esami di laboratorio (HCG).

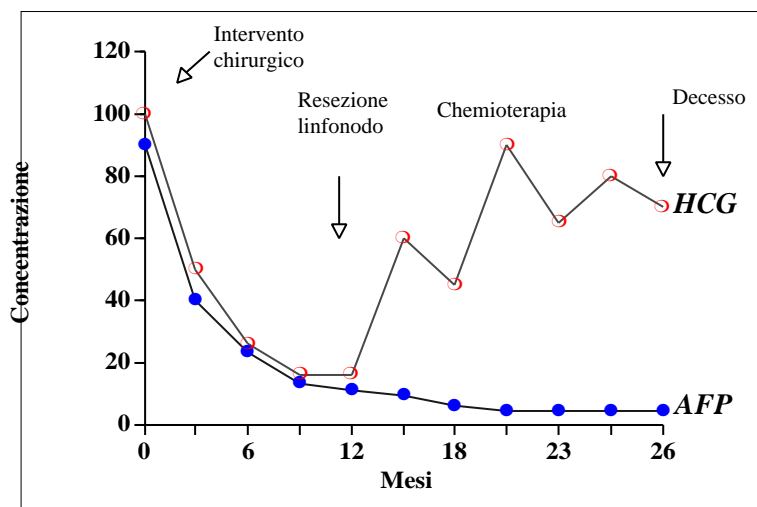


Figura 14. Follow up di un carcinoma testicolare dopo l'orchietomia con due marcatori tumorali. Dopo l'intervento di orchietomia, i valori di AFP si normalizzano come quelli dell'HCG, tuttavia, a causa di una metastasi epatica i valori di HCG riprendono ad aumentare e non si ottiene un abbassamento con chemioterapia. Il paziente morì a causa del coriocarcinoma con metastasi epatica come fu dimostrato nell'autopsia.

Fase	Caratteristiche del tumore	AFP elevata
I	Tumore confinato al testicolo	20% dei casi
II	Esteso ai linfonodi retroperitoneali.	60%
IIA	Estensione moderata: meno di 6 linfonodi; meno di 2 cm	60
IIB	Estensione massiva; molti linfonodi	60
III	Metastasi in differenti organi	90

Tabella 13. Fase clinica del carcinoma testicolare e frequenza di valori elevati di AFP.

Antigeno carcinoembrionario (CEA)

Come l'AFP, la glicoproteina CEA è un prodotto metabolico di regressione, che si incontra associato a vari processi neoplastici. La sua associazione più frequente è con tumori del tratto gastrointestinale. Il CEA aumenta anche in condizioni benigne come le infiammazioni gastrointestinali le infezioni, i traumi l'infarto, in corso di patologie renali e nei fumatori (vedi Caleidoscopio 37: "Markers tumorali in gastroenterologia"). Aumenta anche in altri tipi di tumori non gastrointestinali. Tuttavia, il marcato aumento (sino a 800 volte al di sopra del normale) è tipico del carcinoma colo-rettale e permette di fare un follow up adeguato del trattamento (Figura 15). Studi recenti indicano che i livelli di CEA possono essere un marcatore adeguato per il follow up di metastasi nel tessuto mammario. L'utilità del CEA in questi casi così come nel cancro gastro-intestinale dipende dal fatto che i livelli siano alti al principio. Può essere utile la seguente guida:

1. Se il livello di CEA prima del trattamento è inferiore a 5 ng/ml, in presenza di sintomi avanzati del carcinoma, il CEA non avrà nessuna utilità nel monitoraggio del trattamento.
2. Quando i livelli prima del trattamento sono tra i 5 e i 20 ng/ml c'è da attendersi una scarsa correlazione tra questa determinazione ed il trattamento.
3. Quando i livelli iniziali sono tra i 20 ed i 50 ng/ml c'è da attendersi una buona correlazione, significativa e utile per il follow up della malattia.
4. Livelli superiori a 50 ng/ml, sono estremamente utili per la correlazione con lo stadio clinico, che può essere seguito quasi esclusivamente con questo dosaggio. In questi casi è utile anche per il follow up dell'evoluzione delle metastasi ossee. (M.S. Mitchell ed., 1983).

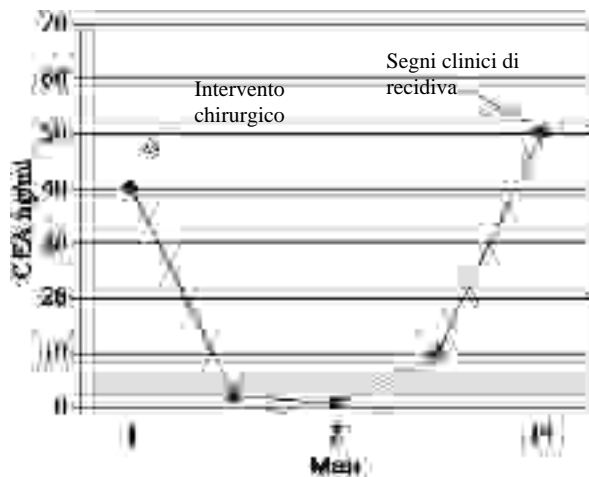


Figura 15. Follow up con CEA di un carcinoma colo-rettale.

PSA e PAP nel carcinoma prostatico

Il carcinoma della prostata è una delle condizioni nelle quali è estremamente utile la determinazione dei marcatori tumorali poiché all'inizio la malattia è praticamente asintomatica e il successo del trattamento dipende dalla diagnosi precoce. Esistono inoltre sostanze relativamente specifiche del tessuto prostatico.

Tra i molti marcatori proposti per il tessuto prostatico, i più importanti sono l'antigene specifico della prostata (PSA) e la fosfatasi acidi prostatica (PAP).

Combinando i risultati di entrambi i marcatori si raggiunge un'efficienza diagnostica superiore al 90%, mentre se si usano isolati l'efficienza diagnostica è di circa il 60% per il PAP e dell'80% per il PSA (vedi Caleidoscopio 29: "Patologie prostatiche").

IL PSA è il marcatore più specifico poiché del PAP esistono diversi isoenzimi che spiegano perché nella donna si ottengono dei valori vicini all'1 ng/ml e i valori di PAP siano elevati in un 8% di carcinomi di altri tessuti, mentre il PSA non è dosabile nelle donne (inferiore a 0.2 ug/L) e non sono stati riportati valori elevati nei carcinomi non prostatici (Figura 16).

I livelli sierici iniziali di PSA permettono di fare una prognosi certa del tempo di sopravvivenza e si correlano molto bene con la fase del carcinoma (Figura 17).

Inoltre sono molto utili per il follow up del trattamento chirurgico o ormonale (Figura 18), permettendo di predire la recidiva e la presenza di metastasi.

Se si utilizza il dosaggio del PSA per lo screening nella popolazione generale, si deve tener conto che tanto il PSA come il PAP aumentano moderatamente nei casi di ipertrofia prostatica benigna, inclusa quella indotta dall'esercizio, o dopo un'esplorazione rettale. Tuttavia, ad un livello di decisione relativamente alto (20 $\mu\text{g/L}$) si raggiunge una specificità del 100% e una V.P.(+) dello stesso ordine.

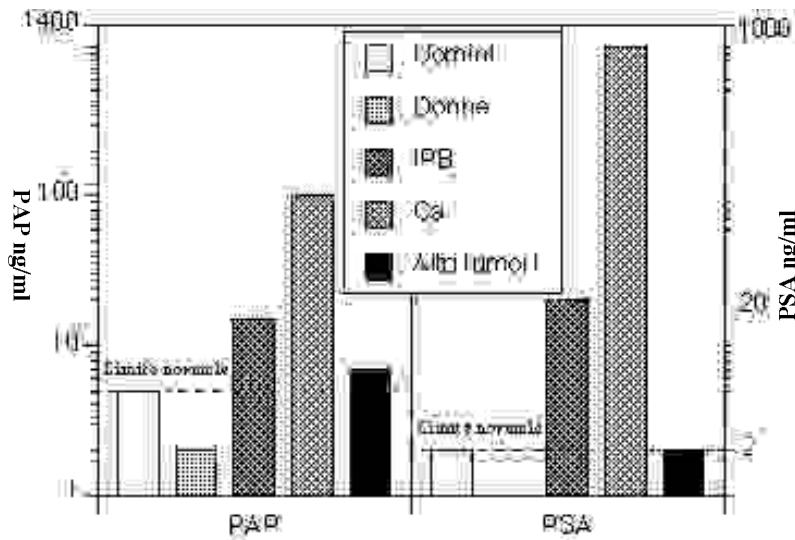


Figura 16. Livelli di PSA e PAP nel carcinoma della prostata ed in altre condizioni.

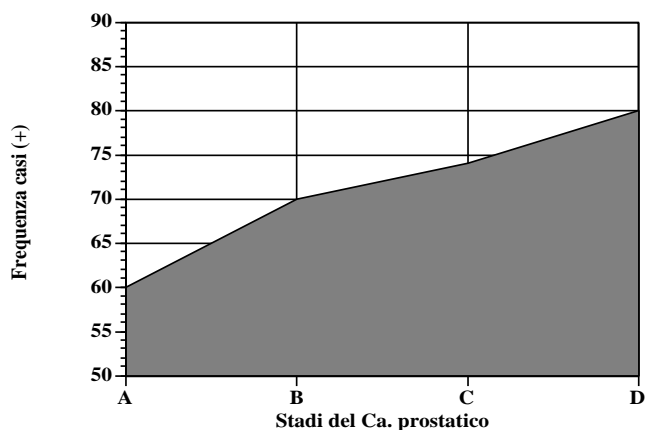


Figura 17. Correlazione tra stadio del carcinoma prostatico e livelli di PSA.

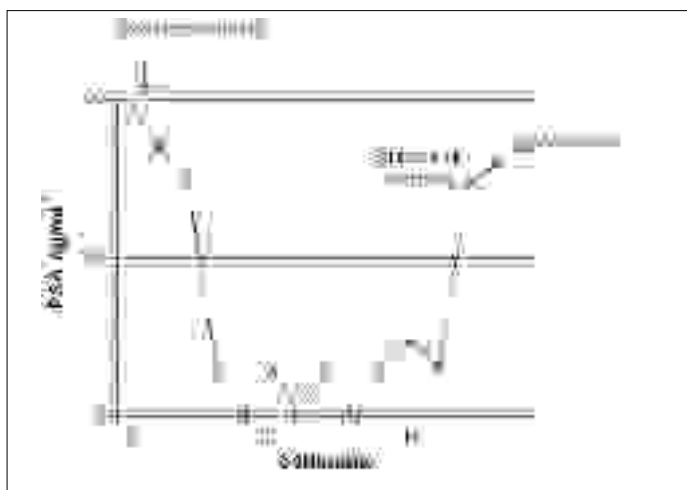


Figura 18. Andamento dei livelli di PSA in paziente operato per carcinoma della prostata e utilità nel follow up.

CA-15-3 nel carcinoma della mammella

La concentrazione dell'antigene CA-15-3 nella popolazione sana é di 13.7 ± 5.2 unità/ml. Un 99.5% della popolazione ha concentrazioni inferiori a 30 u/ml. Nel carcinoma della mammella queste concentrazioni aumentano significativamente, e presentano una buona correlazione con lo stadio clinico permettendo di valutare gli

effetti della terapia e prevedere con un'anticipazione di diversi mesi la comparsa di metastasi (Figura 19).

Ai fini diagnostici si raccomanda di utilizzare i risultati di due marcatori: CEA e CA-15-3, con i quali si ottiene un'efficacia diagnostica del 99%.

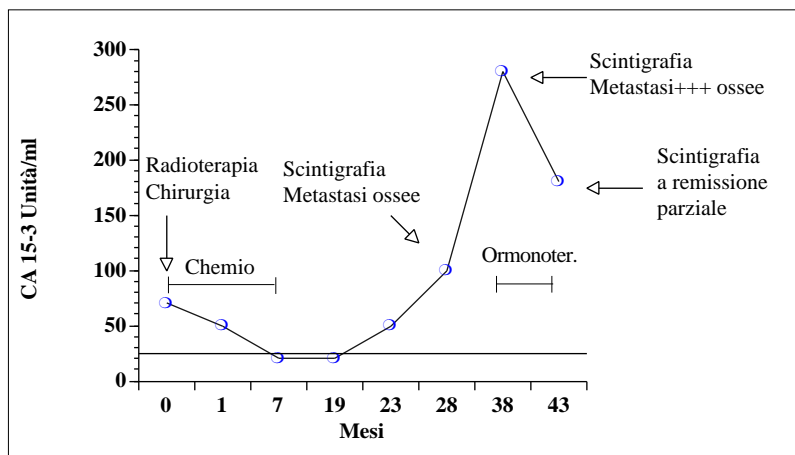


Figura 19. Utilità del CA-15-3 nel monitoraggio del carcinoma della mammella.

CA-19-9 nel carcinoma pancreatico

La concentrazione dell'antigene CA-19-9 in persone sane è di $8.4 \text{ u/ml} \pm 7.4$. Il 99.5% della popolazione ha dei valori inferiori a 37 unità/ml. Utilizzando come limite decisionale - capace di differenziare il cancro pancreatico dalle pancreatiti - il valore di 65 u/ml, è stato dimostrato un incremento specifico del Ca-19-9 nei casi di carcinoma pancreatico. La sensibilità clinica è dell'89%, la specificità clinica è del 97% e il valore predittivo positivo è del 97%, ottenendo quindi un'efficienza del 93%. I valori sono elevati anche in alcuni casi di cancro colo-rettale, però la sua efficienza, quando si utilizza come unico marcatore, è solo del 76%. Se si combina con il CEA l'efficienza del dosaggio aumenta al 94%. La sua determinazione è utile anche per il follow-up del trattamento del carcinoma colo-rettale (Greten y Klapdor, eds., 1986).

CA-125 nel carcinoma dell'ovario

La concentrazione dell'antigene CA-125 nella popolazione sana è di $8.7 \pm 8.9 \text{ u/ml}$. Il 99% della popolazione ha dei livelli inferiori a 35 u/ml. Il dosaggio del CA-125 è utile nella diagnosi del cistadenocarcinoma ovarico, con una sensibilità dell'86% e una

specificità del 99%. E' possibile trovarlo aumentato in tumori benigni dell'ovaio nel 14% dei casi. La sua principale applicazione è il monitoraggio del trattamento (Figura 20 e 21), poiché si osserva un incremento prima che l'esame clinico sia positivo e la sua rapida riduzione all'inizio della chemioterapia.

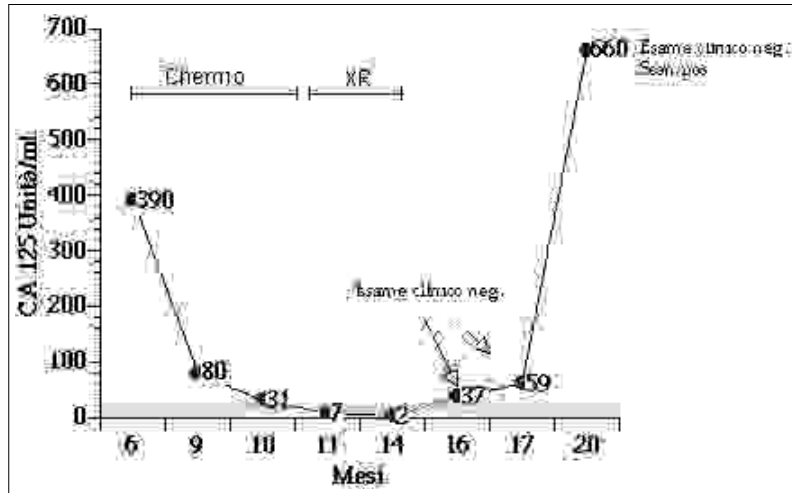


Figura 20. Esempio di follow-up del Ca. ovarico con CA-125.

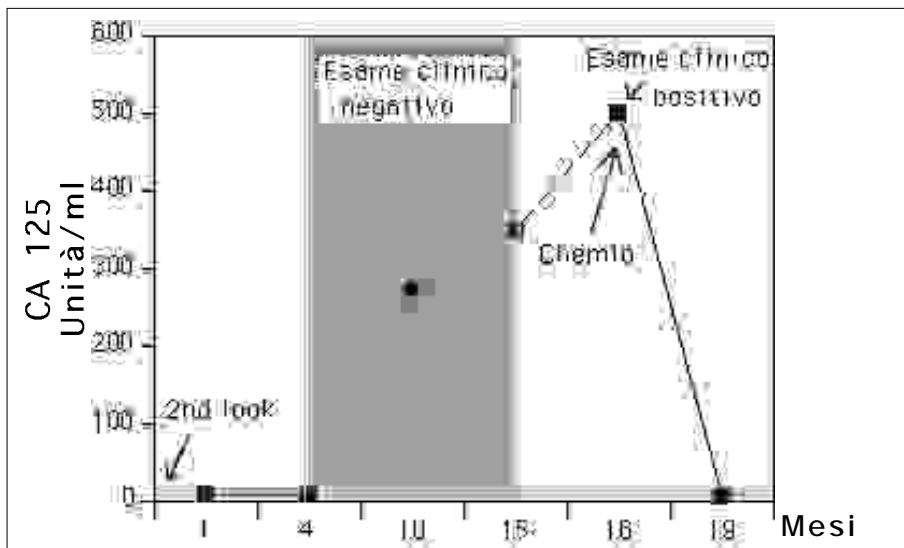


Figura 21. Esempio di follow-up del Ca. ovarico con CA-125.

Le allergie

Le allergie sono un insieme di diverse malattie, che portano a consultare diversi specialisti (dermatologi, otorinolaringoiatri, pediatri, oculisti), prima che vengano trattate da uno specialista in allergia (vedi anche Caleidoscopio 23: "Allergia").

Il fattore comune a tutti i processi allergici è una risposta esagerata, del sistema immune, ad un agente che per la maggior parte della popolazione non è nocivo. Le reazioni allergiche sono classificate da Gell e Coombs in 4 tipi:

Tipo I - Allergie atopiche: reazioni di ipersensibilità immediata, mediata per l'IgE.

Tipo II - Allergie non atopiche, mediate dalle IgE con citotossicità.

Tipo III - Allergie non atopiche, mediate dalle IgM, con formazione di complessi immuni.

Tipo IV - Allergie non atopiche, mediate dai linfociti, caratterizzate da ipersensibilità ritardata.

Le allergie atopiche sono le più frequenti. La loro incidenza può raggiungere il 20% della popolazione sebbene non sempre si manifestano poiché manca il contatto frequente con l'agente scatenante (allergene).

Le principali patologie allergiche sono: la rinite allergica, alcuni tipi di asma, le dermatiti atopiche (eczemi) e le dermatiti di contatto (che sono di tipo IV); orticarie e allergie alimentare.

Le malattie allergiche rare volte sono letali, ma producono gravi e prolungati disturbi che interferiscono con il lavoro e con lo studio e causano problemi di sviluppo fisico e mentale. Sono stati registrati casi nei quali una allergia alimentare non diagnosticata era la causa di una sintomatologia tanto grave come l'"autismo". Gli allergeni che causano le allergie atopiche sono classificati in tre grandi categorie:

1. Aerei (trasportati dall'aria, stagionali o perenni, per esempio: pollini, funghi, epidermide degli animali, etc.).
2. Alimentari: responsabili delle allergie dei 4 tipi.
3. Veleni di insetti.

Perché si sviluppi la malattia allergica è necessaria la coniugazione di due requisiti: l'ipersensibilità genetica del paziente e il contatto ripetuto con l'allergene. Il carattere genetico dell'ipersensibilità è noto nelle allergie atopiche perché quasi sempre c'è una storia familiare di allergie e la storia clinica registra episodi allergici di diversa natura (Tabella 14).

Il trattamento più logico, innocuo e poco costoso consiste pertanto nella eliminazione o riduzione del contatto con l'allergene. Per questo è indispensabile identificare il o gli allergeni specifici responsabili della risposta patologica.

I trattamenti alternativi consistono nell'uso di antistaminici e antinfiammatori (chemioterapia sintomatica) o la immunoterapia (desensibilizzazione).

L'analisi immunologica permette tanto la diagnosi presuntiva di una condizione

allergica come l'identificazione dell'allergene specifico.

Nel primo caso, si determinano le concentrazioni di IgE totali nel siero, con un dosaggio radioimmunologico (RIA o IRMA) o con metodi enzimatici (EIA, EFIA, LEIA). L'aumento dei livelli di IgE totali in un'allergia è notevole: si passa da valori normali inferiori a 20 U/mL a valori superiori a 100 U/mL.

Per procedere all'identificazione dell'allergene, si misura la concentrazione delle IgE specifiche contro differenti allergeni. Per non dover studiare tutti gli allergeni (circa 200) commercialmente disponibili, si deve fare una selezione in base alla storia clinica del paziente (vedere il modulo di storia clinica per le allergie a pag. 47), ai gruppi di allergeni mischiati più probabili e, nel caso di esito positivo, si procede alla determinazione individuale.

I passi logici da seguire sono i seguenti:

1. Dosaggio delle IgE totali. Se sono elevate si può sospettare un'allergia atopica, ma devono essere scartate, mediante altre analisi, altre cause che determinano l'aumento dell'IgE, cioè: parassitosi, neoplasie, malattie epatiche e immunodeficienze.

Se le IgE sono normali o basse, si devono indagare le allergie non atopiche o altre forme di malattia che determinano gli stessi sintomi.

2. Dosare le IgE su moduli che contengono allergeni miscelati dello stesso tipo, individuati in base alla storia clinica e alla sintomatologia. Si può anche usare in questa fase un modulo che contiene gli allergeni più comuni.

3. Si individua l'IgE elevata contro i componenti miscelati di un modulo, si può individuare l'allergene specifico ripetendo la determinazione con ciascuno dei componenti della miscela.

4. Raffrontando i valori delle IgE totali con quelli delle IgE specifiche si può sapere se il paziente è allergico a più di un componente o solamente ad uno.

5. Sebbene non sia conveniente, è possibile confermare il risultato attraverso una prova in vivo, di provocazione con l'allergene.

Le prove in vivo, generalmente intradermiche non sono raccomandate perché danno frequentemente dei risultati falsi, positivi o negativi; sono fastidiose e pericolose per il paziente e non identificano tutta la classe delle allergie.

Nella determinazione delle IgE specifiche, i metodi sono molto sicuri poiché possono essere automatizzati e si può avere un risultato semiquantitativo, per classi, in accordo con i livelli di IgE dosati.

Secondo i valori dei calibratori impiegati, si possono classificare le risposte in 4 o 6 categorie, in accordo alla precisione richiesta (Tabella 15).

Nome del paziente		Indirizzo del paziente.....	
Nome del medico.....		Indirizzo del consultorio	
Sezione A. Informazioni mediche			
Descrizione dei disturbi principali.			
I sintomi sono costanti o intermittenti? (Spieghi la risposta)			
Se i sintomi sono intermittenti, in quale mese dell'anno sono più frequenti?			
Come e quando iniziano i disturbi?			
Segnare i sintomi che ha o che ha avuto, nel seguente elenco:			
	Attuali	Precedenti	
Starnuti ripetuti			
Irritazione nasale cronica			
Naso tappato			
Prurito al naso, occhi, gola o cute			
Lacrimazione			
Mal di gola			
Infezione all'orecchio			
Tosse persistente			
In altre occasioni ha avuto:			
Eczema	Alcuni dei suoi parenti soffrono di:		
Dolore colico	Asma		
Allergia al latte	Eczema.....		
Infezioni respiratorie	Allergie		
Infezioni auricolari			
Le hanno fatto precedentemente test per l'allergia?			
In caso affermativo,			
Quale metodo? (Cutaneo, dosaggi ematici, etc.)			
Che sintomi ha avuto quando le hanno fatto le prove?.....			
Ha fatto iniezioni per l'allergia?.....Quali allergeni le sono stati iniettati?.....			
Quanto è durato il trattamento?.....Ha migliorato con il trattamento?			
Segnare i farmaci che assume attualmente:			
Aspirina	Contraccettivi	Sedativi	Ormoni
Antiistaminici	Gocce nasali	Decongestionanti	
Ipocholesterolizzanti	Cortisone	Antibiotici	
Tranquillanti	Vitamine	Vasopressori.....	Unguenti.....
Altri:.....Il farmaco migliora o peggiora i suoi sintomi?.....			
Segnare i problemi medici attuali o passati:			
Iperensione arteriosa.....	Cardiopatía	Problemi tiroidei	Artriti
Convulsioni.....	Asma.....	Bronchiti	Febbre da fieno
Malattie cutanee.....	Polipi nasali	Chirurgia nasale	Cefalea
Disturbi digestivi	Emicrania.....	Enfisema	Coliti
Ulcera			
Interventi chirurgici subiti:			

Anno	Tipo di intervento	Causa
Fumatore: Sigarette al giorno.....	Tabacco.....	Pipa.....
Segnare la situazione attuale:		
Problemi familiari.....	Problemi a scuola o al lavoro.....	
Assenteismo frequente a scuola o al lavoro.....	Ansia frequente.....	
Divorziato/a.....	Separato/a.....	
Sezione B. Esposizione ambientale		
Tipo di abitazione.....	Da quando vive lì.....	
Da quanto tempo è costruita l'abitazione dove vive attualmente		
Ha un sistema di riscaldamento.....	Ventilazione.....	
Tappeti.....	quanto sono vecchi	
Tipo del terreno.....	Tipo di materasso.....	
Guanciaie.....	Stoffa del letto.....	
Animali presenti nell'abitazione		
Ha libri nella sua abitazione?.....		
Ha umidità alle pareti?		
Piante presenti nell'abitazione.....		
Dove lavora?.....		
Hobby		
Scrivere le situazioni che aggravano i suoi disturbi:		
Stare in casa.....	Fattorie	Stare fuori casa
Aquitrini	Cambio brusco del clima.....	Tagliare l'erba
Clima umido	Scuotere la polvere	Giorno caldo
Contatto con animali.....	Giorno molto freddo.....	Odori della cucina.....
Giornate ventose.....	Fumo	Aria condizionata.....
Sapone in polvere	Insetticidi.....	Profumi
Cosmetici.....	Prodotti per i capelli	Lana
Smog.....	Latte o latticini	Uova.....
Frumento.....	Semi di.....	Cioccolato
Pesce	Carne di.....	Frutta.....
Vegetali.....	Bibite alcoliche.....	Birra.....
Formaggio	Aspirina.....	Altri.....
Sezione C. Alimenti		
Dieta. Con quale frequenza assume i seguenti alimenti:		
(Segnare così: 0 = mai; 1, 2, 3 = volte alla settimana; 4 = giornalmente).		
Latte ... Uova ... Pane ... Formaggio ... Lattuga ... Crema di latte ... Yogurt ... Carne bovina ...		
Carne di maiale ... Pollo ... Tacchino ... Pesce ... Arancia ... Succo di altra frutta ... Cereali ...Riso ...		
Mais ... Pomodori ... Cioccolato ... Noci ... Gazzosa ... Mela ...		
Tazze di caffè o té che prende al giorno.....		
Bibite alcoliche che beve frequentemente.....		
Vitamine.....		
Segue una dieta particolare?		

Sezione D. Revisione per sistemi	
A. Testa e collo:	CefaleaEmicrania Vascolare.....Istaminico.....
B. Occhi:	Congiuntivite..... Edema periorbitale Fotofobia Visione confusaAltri problemi:
C. Orecchi:	Otite sierosa..... TinnitusSordità..... Meniere..... Vertigine.....Altri.....
D. Respiratorio:	Rinite.....TracheiteLaringite.....Bronchite TosseDispneaAsmaRaucedine Russamento.....Edema laringeoSecrezione nasale Sanguinamento nasale frequente.....Polipi.....Sinusiti.....
E. Cardiovascolare:	Tachicardia..... VasocostrizionePalpitazione..... Vasodilatazione AritmiaEdemi locali Ecchimosi..... VasculitiModificazioni nell'ECG Angina Altri
F. Gastrointestinale:	Stomatiti ColicheVomiti..... Indigestione Alitosi.....Disfagia..... Nausea MeteorismoDolori addominali... Distensione addominale. Prurito analeAlvo Pirosi gastrica Coliche biliari.....Appendicite..... Sintomi dei colite ulcerosa
G. Cute.....	H. Muscolo-scheletro..... I. Sistema nervoso centrale.....
J. Genito-urinario.....	K. Ematologia L. Psichiatria

Tabella 14. Cartella clinica per pazienti allergici.

Classi	IgE (UI/mL)	Interpretazione
0	0.00-0.19	Negativo per tutti i componenti del modulo.
01	0.20-0.34	Dubbio. Positivo per uno o più componenti del modulo.
I	0.35-0.59	Senza dubbio, positivo per uno o più allergeni presenti nella miscela.
II	0.60-1.32	Fortemente positivo per uno o più allergeni (paragonare con IgE totali, se il livello è uguale, si ha un solo allergene reattivo; se è inferiore, si ha più di un allergene positivo).
III	1.33-2.99	
IV	3.00-6.69	
V	6.70-14.9	
VI	15.0 o più.	

Tabella 15. Interpretazione dei risultati ottenuti con un modulo di allergeni miscelati, nella scala ampliata, di 6 categorie.

Anticorpi anti-DNA nelle malattie sistemiche del tessuto connettivo

Le malattie sistemiche reumatiche o malattie del tessuto connettivo, sono un'insieme di disturbi di origine autoimmune che interessano diversi organi:

Queste malattie sono:

1. Lupus eritematoso sistemico (LES)
2. Lupus eritematoso discoide (LED)
3. Malattia mista del tessuto connettivo
4. Sclerosi sistemica progressiva (sclerodermia)
5. Sindrome di Sjögren
6. Polimiosite-dermatomiosite
7. Artrite reumatoide
8. Malattia di Behçet

In tutte queste malattie si incontrano alcuni tipi di autoanticorpi diretti contro gli antigeni nucleari, noti come anticorpi anti-nucleo (ANA) (vedi Caleidoscopio 52: "Anticorpi antinucleo").

Il lupus eritematoso sistemico è una delle malattie di questo gruppo, molto frequente e potenzialmente molto pericoloso. La malattia fu descritta nel 1828 dal dermatologo francese Bielt, e quarantacinque anni dopo, Kaposi mise in relazione i sintomi dermatologici con le alterazione degli organi interni. Nel 1890, W. Osler osservò dei casi nei quali non erano presenti dei sintomi a carico della cute ma erano presenti lesioni a carico degli organi interni e nel 1948, Malcolm Hargraves descrisse per la prima volta la cellula che fu chiamata LE, caratteristica del sangue dei pazienti con LES. A partire dal 1954 furono descritti anticorpi specifici, il cui valore diagnostico differenziale si è andato modificando. Attualmente si sa che nel LES, specialmente la variante che interessa i reni, la presenza di anticorpi anti-DNA a doppia elica è l'esame più specifico a disposizione.

I sintomi sono complessi e differenti per tal motivo la diagnosi clinica di LES può essere complessa. Frequentemente la malattia si presenta con sintomi molto generali come affaticabilità, febbre, dolori muscolari e fotosensibilità. La malattia è più comune nelle donne che nell'uomo e presenta una maggiore incidenza nell'età tra i 20 e i 40 anni. Nel 1982 furono stabiliti 11 criteri necessari per poter fare la diagnosi di LES; tra questi la determinazione di anticorpi anti-DNA a doppia elica. Il dosaggio del fattore C₃ del complemento, che è diminuito nel LES, non è incluso nei criteri. Attualmente si sa che i risultati combinati dei due dosaggi, anti-DNA elevato e C₃ basso, permettono una diagnosi corretta nel 99% dei casi. La determinazione degli ANA in generale è il dosaggio più sensibile ma non è molto specifico per i LES, poiché in ciascuna varietà delle malattie reumatiche varia il tipo di ANA specifico presente.

La determinazione degli anticorpi anti-DNA a doppia elica è estremamente specifica per il LES e permette un follow up dell'evoluzione della malattia durante il trattamento.

Affinché il metodo di determinazione dia dei buoni risultati analitici e clinici è indispensabile che venga eliminata la reazione crociata con DNA a singola elica, che è

aspecifica. Tuttavia, si sa che esistono tre classi di anticorpi anti-DNA: una, che reagisce esclusivamente con il DNA nativo o a doppia elica; la seconda, che reagisce con il DNA a doppia elica e con il DNA a singola elica, ma si autoarrotola per dare una configurazione simile a quella a doppia elica e la terza, che reagisce unicamente con il DNA denaturato, a singola elica estesa.

Gli anticorpi della prima classe sono molto scarsi, così che l'ideale è individuare gli anticorpi della prima e della seconda classe che reagiscono con la configurazione a doppia elica. Per questi, le tecniche del DNA ricombinante sono le fonti migliori.

Gli anticorpi anti-DNA partecipano realmente alle manifestazioni della malattia, poiché formano complessi immuni che sono stati dimostrati responsabili delle manifestazioni patologiche a livello del rene. Per questo, il livello di anti-DNA riflette adeguatamente l'attività clinica della malattia, che presenta generalmente periodi di inattività e fasi di acutizzazione.

Il primo standard di anti-DNA a doppia elica dell'OMS (Wo/80) fu preparato a partire dal plasma ottenuto da un paziente con LES, per plasmateresi. Questo standard contiene 200 U.I./mL.

Attualmente abbiamo a disposizione diversi metodi immunoanalitici per determinare gli anticorpi-anti-DNA con metodo RIA ed EIA. I metodi in immunofluorescenza per individuare gli ANA in generale, possono essere di maggiore utilità per lo screening, però non sono utili per la diagnosi differenziale del LES. Altri anticorpi specifici che si possono dosare per la diagnostica differenziale sono gli anticorpi anti-RNA, anti-istoni, anti-desossiribonucleoproteina e anti-Sm (antigene di Smith) (Figura 22).

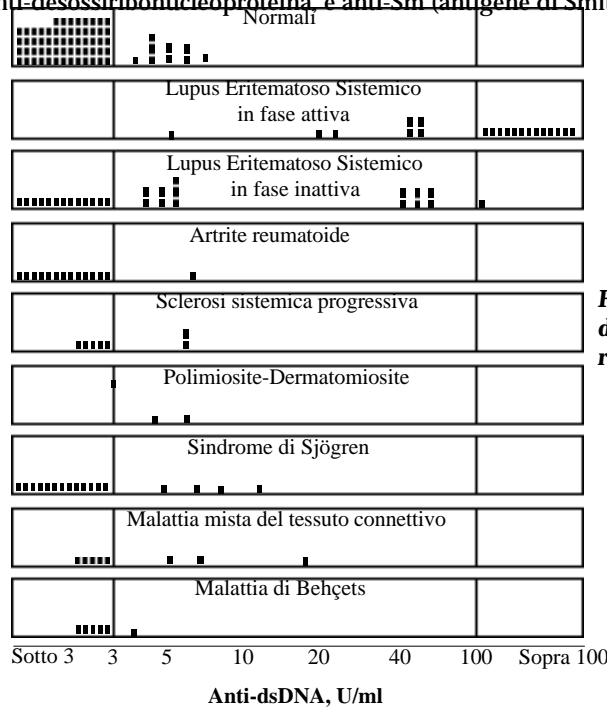


Figura 22. Livelli di anti-ds-DNA nelle malattie reumatiche.

Dosaggi immunologici delle droghe di abuso

Oggigiorno, a causa della espansione della farmacodipendenza (vedi Caleidoscopio 15 e 36: "Le droghe d'abuso") e i problemi sociali che questa solleva, uno dei dosaggi che si effettuano con maggior frequenza è la determinazione delle droghe d'abuso nelle urine e nel siero.

Sebbene l'interesse primario sia centrato sulla identificazione qualitativa della droga o di un suo metabolita, oggi è importante anche la quantificazione per diversi motivi:

- La gravità che ha tanto un falso risultato positivo quanto un falso negativo. Il primo caso ha grandi implicazioni legali e morali; il secondo rappresenta un rischio nei programmi di sicurezza industriale e nelle imprese di servizio.

- La necessità di stabilire limiti decisionali molto precisi poiché la semplice presenza di droga non ha un significato maggiore. Nel caso della marijuana, per esempio, è possibile una contaminazione passiva per inalazione di fumo della droga; in altri casi gli effetti sono drammaticamente differenti in relazione al livello sierico della droga.

Diversi metodi di analisi immunologica vengono applicati al dosaggio delle droghe d'abuso: RIA, EMIT, FIA, EIA e procedimenti cromatografici. Il metodo di conferma definitivo è la combinazione della gas-cromatografia e della spettrometria di massa, ma a causa del suo costo, non è applicabile nella pratica quotidiana né nello screening dei campioni. A questo fine è necessario un metodo economico, ma sufficientemente affidabile, tenendo presente specialmente le numerose forme con le quali si cerca di alterare i campioni per nascondere i risultati positivi. I procedimenti di adulterazione dei campioni più comunemente adoperati dai tossicodipendenti sono:

- La diluizione con acqua.
- L'aggiunta di sale (NaCl), sapone, ipoclorito (liquidi sbiancanti), succo di limone, aceto, Visina (gocce per gli occhi) e altre sostanze che possono trovarsi nei servizi sanitari.
- Il cambio del campione.
- Fare piccoli buchi nel recipiente affinché venga perso il campione durante il trasporto.

Il metodo deve tener presente inoltre che l'ingestione di alcune sostanze può influenzare i risultati e dare anche falsi positivi, per esempio, alcuni tipi di tè danno risultati positivi nei dosaggi per le metanfetamine e i THC (marijuana); l'ingestione di grandi quantità di acqua o diuretici possono diluire sufficientemente l'urina e dare falsi negativi. Di fronte a tutte queste forme comuni di adulterazione, il metodo più affidabile sembra essere il RIA (Spiehler e Hurrell 1989), poiché l'EMIT viene influenzato dalla maggior parte di queste interferenze (Mikkelsen e Ash, 1989). La sensibilità, l'alta specificità e il costo relativamente basso, favoriscono il RIA anche come modello di screening.

La conferma dei campioni positivi con la cromatografia liquida ad alta risoluzione, la gas-cromatografia o la spettrografia di massa, è indispensabile nei casi in cui sia legalmente necessario; non così a fini tossicologici quando la cosa più interessante è una rapida identificazione dell'agente che causa l'intossicazione.

A parte gli scopi forensi e tossicologici, l'identificazione delle droghe d'abuso è estremamente utile per la selezione del personale, il controllo della farmacodipendenza nei collegi e ospedali, il trattamento dei pazienti in centri per la cura della tossicodipendenza dove vengono portati molte volte tossicodipendenti che ignorano la natura chimica delle droghe che consumano, e in molte altre situazioni.

Sebbene il panorama della farmacodipendenza stia cambiando poiché compaiono "mode" nell'uso di droghe e si lanciano nel mercato nuovi prodotti mentre ne vengono abbandonati altri, una lista delle droghe di abuso che si possono dosare con l'immunoanalisi viene presentata nella Tabella 16. Qualunque sia il metodo utilizzato, è indispensabile un controllo di qualità che includa:

1. Supervisione diretta della raccolta del campione al fine di evitare le sostituzioni di persone e adulterazioni.
2. Identificazione del contenitore in modo assolutamente sicuro, impiegando preferibilmente il codice a barre per assicurare la riservatezza ed evitare un errore da parte del personale di laboratorio.
3. Se il campione deve essere trasportato da un settore all'altro o conservato in frigorifero, bisogna assicurare quello che in inglese viene chiamato *chain of custody*, per evitare che il personale di laboratorio o personale estraneo lo faccia scomparire, falsifichi o adulteri il campione, cambi le identificazioni, etc.
4. Se non si ha la supervisione diretta della raccolta del campione, va controllata immediatamente la temperatura (per individuare alterazioni con il metodo della diluizione con l'acqua del lavandino), e descrivere le caratteristiche organolettiche del campione in un modulo di registrazione.

Nome del campione	Sostanza individuata ed usata come calibratore	Limite della prova positiva	Sensibilità (RIA)
Anfetamina urinaria	Anfetamina	500 ng/ml	
Barbiturici nelle urine	Tutti/Secobarbital	100	2.5
Benzodiazepine nelle urine	Tutte/Oxazepam	100	0.2
Cannabinoidi nelle urine	Tetraidrocannabinolo	100	2.0
Cocaina nelle urine	Benzoilecgonina	300	3.0
LSD nelle urine	LSD	500 pg/mL	30 pg/ml
Metadone nelle urine	Metadone		0.5 ng/ml
Metanfetamina urinaria	Metanfetamina	500	
Morfina ed eroina nelle urine	Morfina	25	0.3
Morfina nel siero	Morfina	25	0.8
Fenciclidina	Fenciclidina	25	0.2

Tabella 16. Principali droghe d'abuso dosabili con immunoanalisi.

5. Se si sospettano alterazioni per diluizione o aggiunta di sostanze, misurare la gravità specifica, l'osmolarità e il pH dell'urina. Determinare la creatinina e calcolare il risultato quantitativo in accordo con i dati ottenuti.

6. Includere nei sistemi di dosaggio qualitativo, la ricerca dei diuretici.

7. Avere dei metodi alternativi e quando un dosaggio è positivo con entrambi i metodi, confermarlo con la cromatografia liquida o la gas-cromatografia prima di comunicare il risultato.

8. Impiegare in ciascuna serie di determinazioni un siero di controllo e un campione ignoto.

L'interpretazione clinica e sociologica dei risultati deve tener presente che i livelli individuati nell'urina dipendono dalla dose, dalla via di somministrazione, dallo stato funzionale del fegato e del rene e da tempo trascorso tra il dosaggio e la raccolta del campione. Per droghe come la marijuana, il tempo di escrezione dei metaboliti, dopo l'intossicazione è eccezionalmente grande (varie settimane), mentre è possibile individuare la cocaina per un periodo di tempo molto breve (un'ora), sebbene i metaboliti: metil-ecgonina e benzoilecgonina, siano individuabili per 6-8 ore dopo l'assunzione.

L'alcool e la nicotina sono ovviamente droghe d'abuso con elevata tossicità, ma l'interpretazione dei risultati, data la popolarità e le caratteristiche di tolleranza nel loro consumo, richiedono considerazioni particolari. Gli alcaloidi vegetali come i derivati dell'atropina (scopolamina) e gli allucinogeni, sono difficilmente individuabili con i metodi immunoanalitici commercialmente disponibili.

Dosaggio dei farmaci e metaboliti con metodo immunologico

Con l'avanzare della farmacocinetica, è diventato indispensabile per il medico conoscere con esattezza i livelli plasmatici che raggiungono i farmaci del trattamento. Il dosaggio permette di verificare che vengano raggiunti livelli terapeutici del farmaco e si evita di arrivare inaspettatamente a livelli tossici.

I principali gruppi di farmaci che vengono quantificati routinariamente sono:

- Cardioattivi: la digossina, la digitossina.
- Antibiotici: la gentamicina, la tobramicina, l'amikacina.
- Antiepilettici: la fentoina.
- Antiasmatici: la teofillina.

Il metodo immunoanalitico che dà i maggiori risultati, nel caso di farmaci di basso peso molecolare, è l'immunofluorescenza, ma esistono metodi alternativi per laboratori equipaggiati, come i metodi radioisotopici, quelli enzimatici e quelli enzimochemiluminescenti.

Tra le diverse sostanze, non ormonali che si determinano con l'analisi immunologica sono principalmente le vitamine: acido folico e cianocobalamina e proteine come la ferritina.

Per la determinazione dell'acido folico e della vitamina B₁₂ esistono metodi radioisotopici duplici che permettono, cioè, di valutarli simultaneamente allestendo due canali differenti: uno che misura la radioattività dello ¹²⁵I e l'altro che misura quella del ⁵⁷Co.

Questo metodo è stato sufficientemente semplificato ed è utile nella diagnostica dell'anemia megaloblastica. Nel caso dell'anemia perniziosa, è importante determinare gli anticorpi bloccanti diretti contro il fattore intrinseco (IFbAb), per poterlo distinguere dal deficit della vitamina B₁₂.

Il dosaggio della ferritina è estremamente importante nella diagnosi differenziale delle anemie sideropeniche, poiché è la principale proteina di deposito di questo ione. Valori bassi (meno di 10 ng/ml) sono indicativi di deficit di ferro. Valori molto elevati (superiori ai 400 ng/ml) possono indicare un sovraccarico di ferro (emocromatosi), alterazione della funzione epatica ed alcune condizioni maligne (leucemie, malattia di Hodgkin etc).

Applicazioni veterinarie

Il dosaggio immunologico di ormoni e droghe in differenti specie animali ha un ampio campo di applicazione (Tabella 17). Il metodo più impiegato è il radioimmunoassay, a causa del costo relativamente basso e dell'esperienza accumulata nel suo uso veterinario. Esiste una rete Latinoamericana di indagini veterinarie che applicano il RIA, denominata *Rete regionale per migliorare il trattamento riproduttivo della carne e del latte-prodotti zootecnici nell'America Latina con l'aiuto delle tecniche radioimmunologiche*. Una delle applicazioni più frequenti è la determinazione del progesterone nel siero o nel latte delle vacche e nelle cavalle. La determinazione del progesterone nel latte da dei risultati che si correlano bene con i livelli plasmatici, permette di distinguere la fase di estro e fare la diagnosi e il follow-up della gravidanza. Inoltre permette di stabilire il momento adeguato per l'inseminazione, l'individuazione di problemi fetali ed è ancora utile nell'embrio transfer (ET). La determinazione nel latte viene preferita per la facilità nella raccolta del campione e perché il progesterone in questo liquido è molto più stabile che nel plasma. La misurazione dell'LH e dell'estradiolo è utile in alcuni casi, però non si correla bene con lo stato della gravidanza né con i risultati che si ottengono con la misurazione del progesterone.

Un'altra applicazione, negli equini, è la determinazione delle droghe nelle urine per il controllo del doping. La etorfina per esempio, può essere dosata con grande sensibilità con il RIA. Si sa che la somministrazione di etorfina, un potente analogo della morfina

10.000 volte più efficace di questa, produce nei cavalli da corsa una stimolazione motoria a dosi estremamente basse (da 30 a 100 µg per cavallo). Esistono metodi commerciali per valutare anche altri prodotti usati nel doping come il Fentanil e la Buprenorfina. Nei canini e nei felini, i dosaggi più impiegati sono la determinazione della T₄ e della T₃ mediante un metodo specificamente preparato per queste specie nelle quali è frequente l'ipotiroidismo.

Analiti	Specie	Range di riferimento	Osservazioni	
ACTH	Ratto	15-40 pg/mL	Plasma eparinizzato	
Cortisolo	Vacca	3-6 µg/dl	Ibid.	
Insulina	Cane	2.5-20 µUI/ml		
Progesterone	Vacca	4-10 ng/ml	Fase luteale	
		Meno di 1"	Fase follicolare	
			10-20	Gravidanza iniziale
			5	Gravidanza avanzata
	Cagna	0.55±0.8 ng/mL	Non estro	
	Cavallo	8-10 ng/ml	Fase luteale	
	Cavalla	Meno di 1	Fase follicolare	
		30 o più	Gravidanza, 80 giorni	
			5-6 ng/ml	Gravidanza avanzata
	Maiale	30-35 ng/ml	Fase luteale	
			1-4	Fase follicolare
	Pecora		30-40	Gravidanza
		2-8 ng/ml	Fase luteale	
		Meno di 1	Fase follicolare	
T ₃		10-25	Gravidanza	
	Ratto	0.8-8.0 ng/ml		
	Cane	0.9-1.5 ng/ml		
	Vacca	0.7-1.8		
	Gatto	0.7-1.1		
T ₄	Cavallo	0.5-1.0		
	Vacca	40-60 ng/ml		
	Cane	10-40		
	Cavallo	15-30		
Testosterone	Bovini	Gatto	25-45	
		4.-6. ng/ml	Toro	
		meno di 0.75	Vacca, vitello	
	Cavallo	4.-6.	Maschio	
		meno di 0.5	Femmina	
	Maiale	4.0-6.0 ng/ml	Maschio	
		meno di 0.5	Femmina	
	Pecora	4.0-6.0	Maschio	
	meno di 0.5	Femmina		

Tabella 17. Principali valori di riferimento in veterinaria.

Prove dinamiche della funzione endocrina

Le prove dinamiche sono dei test di stimolazione e di soppressione della secrezione ormonale a fini diagnostici e terapeutici. Sono stati descritti numerosi test, con variazioni minori nei procedimenti, la maggior parte dei quali non vengono utilizzati. L'utilità diagnostica di una prova dinamica deve essere valutata con attenzione di fronte ai rischi e ai costi che questa implica. Due criteri vengono generalmente raccomandati: uno, applicare il test solamente se il dosaggio dei livelli basali non chiarisce il problema, due, utilizzare dei test che, se possibile, abbiano non solamente un valore diagnostico ma anche un valore terapeutico.

Al laboratorio clinico, si raccomanda:

1) utilizzare il protocollo di stimolazione o di soppressione sotto la stretta responsabilità del medico che lo ordina. Nella maggior parte dei casi il medico deve essere presente.

2) Seguire il protocollo indicato dal medico, per quanto riguarda il numero dei campioni, i tempi e le analisi effettuate.

3) In genere non si hanno dei valori di riferimento per questi dosaggi, ma curve di comportamento tipico. Il miglior valore di riferimento in questi casi è il paziente stesso, cioè, l'interpretazione dipenderà sempre dal risultato basale.

Di seguito vengono descritte le prove dinamiche più usuali. Abbiamo eliminato la descrizione di quelle prove che vengono considerate obsolete o/e si sottolineano quelle che hanno delle varianti nel protocollo che il medico può suggerire.

Esplorazione funzionale della neuroipofisi

Test di stimolazione della secrezione dell'ormone anti-diuretico (ADH)

Test con soluzione salina ipertonica (prova di Hickey e Hare).

Utilità: questo test è utile per differenziare il tipo di diabete insipido nei pazienti che presentano i sintomi classici: poliuria e polidipsia dopo aver valutato la funzione renale.

Procedimento:

1. Idratare il paziente con infusione e.v. di 500 ml di soluzione isotonica alla velocità di 8-10 ml/minuto.

2. Stimolare con infusione di soluzione ipertonica (NaCl al 2.5 %), somministrata nella dose di 0.25 mEq/Kg/in 45 minuti.

3. Raccogliere l'urina con un catetere vescicale, ogni 15 minuti, per determinare l'osmolarità ed il volume/minuto.

4. Raccogliere i campioni di sangue nei tempi: 0, 30, 60, 90, 120 e 150 minuti per misurare l'osmolarità e l'ADH.

5. Calcolare la clearance dell'acqua libera.

Risultati attesi:

Valori di riferimento basali: 0.2-2.5 pg/ml.

Incremento massimo: da 4 a 10 volte il valore basale.

Osmolarità: aumenta inversamente alla diminuzione del volume e alla clearance dell'acqua.

In pazienti con diabete insipido non si ha la riduzione della diuresi con l'aumento dell'osmolarità e i valori di ADH, inizialmente bassi o normali, non aumentano dopo la stimolazione.

Precauzioni: In pazienti con insufficienza cardiaca, c'è il rischio di edema polmonare.

Il plasma ottenuto per il dosaggio dell'ADH deve essere centrifugato a meno di 4° C e una volta separato deve essere estratto con alcool, per evitare l'inattivazione dell'ADH che si verifica anche a bassa temperatura.

Il paziente deve essere a digiuno e non deve assumere nessun farmaco alcool o sigarette nelle precedenti 12 ore.

Prova di soppressione della secrezione di ADH

Test con sovraccarico di acqua

Procedimento:

1. Prelevare il campione di sangue per la determinazione dell'ADH basale.

2. Il paziente, a digiuno, deve ingerire 20 ml/Kg di acqua, in meno di 15 minuti.

3. Prendere i campioni di sangue e raccogliere l'urina ai tempi 30, 60, 90 e 120 minuti.

4. Determinare l'ADH e l'osmolarità del plasma e l'osmolarità e il volume dell'urina.

Calcolare la clearance normale.

Risultati: i livelli basali di ADH devono diventare quasi indosabili.

Precauzioni: le stesse della precedente prova.

Esplorazione funzionale dell'adenoipofisi

Ormone della crescita (GH).

Prove di stimolazione del GH

La stimolazione della secrezione del GH si può ottenere in diversi modi: l'esercizio fisico, l'ipoglicemia insulinica, l'arginina, la L-dopa, la clonidina, il TRH, il GnRH, l'ACTH, il GRF, il glucagone, il metopirone, etc. Noi descriveremo solo le prove più utili, in ordine decrescente di utilità.

Esercizio fisico (con o senza il propranololo)

Utilità: questa prova è molto utile nei bambini di bassa statura che possono presentare intolleranza agli stimoli chimici. Viene raccomandato nei casi in cui la determinazione basale dia valori molto bassi e non sia disponibile la determinazione delle somatomedine.

Procedimento:

1. Prelevare un campione di sangue per la determinazione basale.
2. Il paziente deve eseguire un esercizio fisico da 15 a 30 minuti in maniera continua ma non forzata. Il tipo di esercizio dipende dall'età; può consistere nella combinazione di una marcia e trotto, corse lente in bicicletta o triciclo, etc.
3. Si può combinare la stimolazione dell'esercizio con la somministrazione di propranololo (20-40 mg) per via orale, prima di iniziare l'esercizio.
4. Terminato l'esercizio, si preleva un secondo campione di sangue.

Risultati attesi:

Valori di riferimento basale: 0.2-5.0 ng/ml.

Valori dopo stimolo: > 10 ng/ml.

Interpretazione: se si ha un aumento della secrezione del GH si deve scartare il deficit di questo ormone.

Prova di stimolazione con clonidina

Il cloridrato di clonidina (catapresan) è un'antiipertensivo, che ha un'azione stimolante sull'ipotalamo.

Procedimento:

1. Prelevare un campione basale.
2. Dare per via orale una capsula di clonidina HCL (150 µg).
3. Prelevare i campioni ai tempi 15, 30, 45, 60, 90 e 180 minuti.

Risultati attesi: Aumento del GH, che raggiunge il massimo entro i 30 e 60 minuti.

Prova di stimolazione con fattori stimolatori ipotalamici

TRH (300 µg. i. v.) o GRF (100 µg. i. v.).

Utilità: questi test di stimolazione sono utili nel caso che si sospetti un'acromegalia o si voglia distinguere tra i deficit ipotalamici e i deficit ipofisari. Viene raccomandato l'uso del TRH per l'acromegalia e il GRF nei casi nei quali si desidera differenziare la localizzazione del disturbo.

Procedimento: si fanno le determinazioni basali e ai 20, 40, 60 e 80 minuti.

Risultati: il TRH normalmente non stimola il GH. Nell'acromegalia si osserva un incremento del GH.

Quando si impiega il GRF (1-29-NH₂) o la molecola completa, la risposta normale è rappresentata da un picco tra i 30 e 60 minuti, che non è presente nei casi di deficit ipofisario o sarà molto basso nei deficit ipotalamici. Se si ha una risposta normale del GH il problema è a livello dei recettori periferici del GH. Se il GH risponde normalmente al GRF il problema è un deficit a livello dell'ipotalamo.

Ipoglicemia insulinica

Utilità: la riduzione della concentrazione del glucosio stimola l'ipotalamo e le sue secrezioni, pertanto questa prova permette di valutare la risposta dell'ipofisi alla stimolazione ipotalamica del GRF. E' necessario assicurarsi che la glicemia sia al di sotto del 50% del suo valore basale, pertanto si deve misurare la glicemia e tenere questa sotto controllo continuo. Si può usare l'arginina come stimolo addizionale.

Procedimento:

1. Prelevare un campione per determinare i valori basali di GH e glucosio. Se la glicemia è molto bassa, non è opportuno continuare il test.

2. Somministrare per via i. v. 0.1 U.I./kg di insulina.

3. Prelevare i campioni ai 20, 40, 60 e 80 minuti.

Risultati attesi: si deve registrare un aumento nella concentrazione del GH un'ora circa dopo o da 15 a 30 minuti dopo i valori più bassi della glicemia. Verificare che l'ipoglicemia massima sia il 50% del valore basale, in caso contrario, una falsa risposta non ha significato clinico.

Prove di soppressione del GH nell'acromegalia

Test con glucosio per via orale (1.75 g/kg) o endovenoso (0.33 g/kg)

Procedimenti:

Se si usa il glucosio per via orale si raccolgono i campioni, basale e dopo 30, 60, 90 e 120 minuti; con il glucosio i. v. si prelevano i campioni, basali e dopo 20, 40, 60 e 80 minuti dopo l'infusione.

Test con bromocriptina

Si utilizzano 2.5 mg per via orale e si prelevano i campioni, basali e ogni 30 minuti per 5 ore.

Risultati attesi: la soppressione è tale che i valori non sono dosabili. Nell'acromegalia, con glucosio non si osserva alcuna soppressione e può aversi addirittura una risposta paradossa; con bromocriptina si ha una soppressione tra il 50 e l'80% che permette di valutare la possibilità di trattamento in una percentuale di pazienti (30-50% responsivi).

Test del GH durante il sonno

La secrezione del GH avviene fondamentalmente durante il sonno, pertanto la valutazione dei livelli durante il sonno rappresenta un'utile fase diagnostica.

Per questo, inserita una cannula, il paziente viene fatto addormentare registrando il sonno con un elettroencefalografo. Si fanno i prelievi ogni 15-20 minuti, durante il periodo del sonno, per un minimo di 4 ore.

La valutazione del ciclo secretorio notturno durante il sonno permette di determinare se si ha un "deficit neurosecretorio" o un'alterazione del picco normale della secrezione.

ACTH

Test di stimolazione della secrezione

La secrezione della corticotropina (ACTH) viene stimolata dall'insulina, allo stesso modo descritto per il GH oppure con il metopirone per via orale, la lisina-8-vasopressina o il CRH (corticotrofin-release-hormone). L'effetto di questi test può essere valutato misurando l'ACTH oppure il cortisolo.

Test con il metopirone per via orale

Vengono somministrati da 2 a 3 g del farmaco, a mezzanotte. Il mattino successivo si prelevano dei campioni di sangue e di urina alle 8 e alle 8.30 e si dosano nel siero l'ACTH o il cortisolo e i 17-idrossisteroidi nelle urine. Il valore basale viene misurato il giorno precedente.

Risultati attesi: I livelli basali dell'ACTH sono di 30-90 pg/ml alla mattina e di 14-70 pg/ml nelle ore serali. Il metopirone (e l'insulina) determinano un aumento da 6 a 20 volte il valore basale dosato il giorno precedente. Non si registra nessun incremento di ACTH né di cortisolo nell'insufficienza surrenalica.

Precauzioni: Il metopirone, come effetto collaterale, produce frequentemente un'intolleranza gastrica. I risultati devono essere suffragati da test di funzionalità surrenalica.

Test di stimolazione con CRF

Si somministrano, dopo aver raccolto due prelievi basali, 100 µg di CRF per via endovenosa e si raccolgono i campioni successivi ai tempi +10, +20, +30, +60, +120.

Nei soggetti normali si registra un incremento dell'ACTH che può raggiungere il 100%. Il test è utile per differenziare l'eziologia della S. di Cushing: ipofisaria (risposta esagerata) e legata ad una secrezione ectopica di ACTH o surrenalica (risposta scarsa o assente). Non sono necessarie particolari precauzioni.

Stimolazione con lisina-vasopressina

Si somministrano 10 unità di lisina-vasopressina per via intramuscolare, alle ore 8, dopo che si è ottenuto un campione basale. Dopo 30 minuti viene prelevato un secondo campione di sangue.

Normalmente si ha un aumento dell'ACTH o del cortisolo, all'incirca il doppio del valore basale (delle ore serali). Nella sindrome di Cushing si ha una risposta esagerata se è di origine ipotalamico-ipofisario oppure non si ha alcuna risposta se è di origine surrenalica.

Durante questo test possono comparire sintomi legati a disturbi gastrici e pallore. Non deve essere fatto in paziente affetti da insufficienza coronarica.

Test di soppressione ipofisi -surrene

La soppressione si può ottenere con il desametasone. Il test standard utilizza 0,5 mg di desametasone ogni 6 ore per due giorni. La causa della s. di Cushing può essere individuata con il test di soppressione con 2 mg ogni sei ore per due giorni.

Esiste poi un test di screening che utilizza una unica dose di 1 mg alle 23.
E' sufficiente ottenere due determinazioni: quella basale il giorno precedente e l'altra alle 8 del mattino seguente.
La soppressione porta nei casi normali a dei valori non dosabili.
Il test permette di escludere la malattia di Cushing: in questo caso non si ha soppressione.

Test con l'ACTH

Questo test è complementare di quelli precedentemente descritti, perché valuta l'attività surrenalica piuttosto che quella ipotalamica e ipofisaria. Consiste nel somministrare l'ACTH e nel dosare il cortisolo. Nel test rapido, vengono somministrati 0.25 mg di ACTH per via i.m. durante le prime ore della mattina, e si prelevano i campioni prima e dopo 60 e 120 minuti.

Nei soggetti normali si registra un aumento marcato del cortisolo. Nei casi di insufficienza surrenalica primaria non si ha la stimolazione o la risposta è molto debole.

Prolattina (PRL)

Test di stimolazione della PRL

Si può stimolare la secrezione della prolattina con l'insulina, come illustrato precedentemente, oppure con TRH o la clorpromazina.

Test con TRH

E' quello più frequentemente utilizzato nella diagnostica dell'iperprolattinemia.

Procedimento con TRH: si iniettano per via endovenosa da 100 a 300 µg di TRH e si prelevano dei campioni basali e dopo 20, 40 e 60 minuti.

Risultati attesi: si deve registrare un aumento considerevole (da 2 a 5 volte il valore basale nell'uomo e da 3 a 10 volte nelle donne), dei livelli basali di prolattina. La maggior parte dei pazienti con prolattinoma hanno un aumento scarso o assente dei livelli dopo TRH. Sfortunatamente la risposta al TRH è troppo variabile per avere un valore diagnostico. Dopo l'asportazione chirurgica o il trattamento dell'adenoma, il test serve per verificare il risultato del trattamento, poiché si ha la normalizzazione della risposta.

Test di stimolazione con clorpromazina

Si somministrano 25 mg per via i.m. Si ottiene un campione basale e 30, 60, 90 e 120 minuti dopo la iniezione.

La risposta è normale se si ha un incremento da 2 a 3 volte il valore basale.

Test di soppressione della PRL

Livelli basali elevati di prolattina possono essere soppressi con L-dopa (500 mg per via orale), con bromocriptina (2.5 mg per via orale) etc. La somministrazione degli agonisti della dopamina riducono i livelli di prolattina qualunque sia la causa e perciò non sono utili come test differenziale.

Determinazione della prolattina durante il sonno

La prolattina viene secreta in grande quantità durante il sonno pertanto in alcuni casi può essere necessario valutare la normalità dei picchi secretori durante il sonno. In pazienti con prolattinoma, il ritmo nicto-emerale della prolattina scompare, cioè, non è più alto il valore durante il sonno rispetto al giorno. Il valore basale di prolattina si deve determinare in un pool di 3 campioni presi con un intervallo da 20 a 30 minuti, al fine di ottenere un valore medio.

Esplorazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroideo

Test di stimolazione del TSH con TRH

Poiché il meccanismo di secrezione del TSH è molto sensibile al feed-back inibitorio degli ormoni tiroidei, questo test è molto utile per svelare casi di ipertiroidismo iniziali con valori di T_3 e T_4 normali ma con una aumentata velocità di secrezione da parte di un adenoma tossico o di un gozzo multinodulare tossico, rivelandosi quindi un eccellente test di conferma della tireotossicosi.

D'altra parte il test è meno utile nella diagnosi dell'ipotiroidismo. Può essere utilizzato nella diagnostica dell'ipotiroidismo subclinico e nel differenziare l'ipotiroidismo secondario e terziario.

Questo test non va effettuato in donne gravide.

Procedimento:

1. Si preleva un campione di sangue per la determinazione del TSH basale.
2. Si iniettano 200 μ g di TSH per via i.v.
3. Si prelevano dei campioni di sangue dopo 20, 40 e 60 minuti.

Risultati attesi:

Normalmente si deve avere un aumento del TSH dopo 20 o 40 minuti, tra 5 e 10 volte il valore basale.

In situazioni di ipertiroidismo subclinico, l'assenza della risposta allo stimolo nonostante i valori normali e degli ormoni tiroidei, permette la diagnosi.

Nei casi di ipotiroidismo clinico, la risposta è esagerata.

L'ipotiroidismo secondario viene diagnosticato perché con questo test non si ha alcuna risposta al TRH mentre nell'ipotiroidismo terziario la risposta alla stimolazione è normale (o anche superiore) e con un picco ritardato (tra i 45 e i 60 minuti).

Esplorazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadale

Prove di stimolazione delle gonadotropine

Test di stimolazione dell'LH e FSH con GnRH

Applicazioni: questo test si fa quando i livelli di LH e FSH sono molto bassi o la loro determinazione diretta non è affidabile per una qualche interferenza. Inoltre è utile per distinguere tra alterazioni dell'attività gonadica secondarie e terziarie e nella diagnosi delle varie forme di ipogonadismo.

Procedimento:

Vengono somministrati 100 µg di GnRH per via endovenosa e si determinano sia i livelli basali di LH ed FSH sia quelli dopo 30 e 60 minuti dall'iniezione. Per la determinazione del valore basale è opportuno ottenere un pool di 2 o 3 campioni prelevati ogni 20 minuti, per avere un valore medio dei picchi di secrezione.

Risultati attesi:

Normalmente si registra un incremento dell'LH maggiore rispetto all'FSH. Nell'uomo l'aumento dell'FSH è dal 20 al 100% rispetto al valore basale e dell'LH è da 200 a 1600%. Tuttavia il range di risposta è ampio e alcuni uomini normali possono avere un incremento inferiore al doppio del basale. In generale si può dire che il picco di risposta dell'LH dopo una iniezione singola di LHRH si correla con i valori basali.

Nelle donne, durante la fase follicolare la risposta è bassa: circa il 200% per l'FSH e il 400% per l'LH. A metà ciclo la risposta è superiore (3 volte per l'FSH e da 6 a 10 volte per l'LH). In fase luteinica la risposta è intermedia.

Nei bambini in età prepuberale la risposta è inferiore rispetto alla stadio puberale e l'FSH può aumentare più dell'LH. (Nei bambini puberi in cui l'incremento dell'FSH è maggiore rispetto all'LH si deve sospettare un infantilismo ipofisario, specialmente nel sesso femminile). La risposta varia con i livelli di steroidi e a volte può essere negativa sebbene la funzione ipofisaria sia normale, per tal motivo il test va ripetuto per sensibilizzare l'ipofisi.

Una risposta normale indica che il deficit osservato clinicamente è di origine ipotalamica.

Test di stimolazione con clomifene

Il clomifene stimola la secrezione del GnRH ipotalamico ed ha un'azione antiestrogenica.

Procedimento: si somministrano 100 mg al giorno, per via orale per 5 giorni a partire dal quinto giorno del ciclo mestruale.

Si dosano l'LH e l'FSH basale e il giorno seguente all'ultima dose. Se la paziente è amenorrea, la somministrazione si può iniziare in qualunque giorno.

Risultati: nei bambini di verifica una soppressione invece di una stimolazione. Nell'uomo l'FSH aumenta tra il 45 e il 125% rispetto al valore basale e l'LH da 1 a 3 volte il valore basale. Nelle donne, l'FSH aumenta tra il 20 ed il 75% e l'LH aumenta tra il 100 e il 200%. Se il test si fa in fase luteinica non si ha alcuna risposta.

Test di stimolazione del testosterone

Per esplorare la funzione testicolare nell'uomo si usa la stimolazione del testosterone con gonadotropina corionica (HCG), con clomifene o con GnRH. Questi due ultimi test si eseguono come è stato già detto per le gonadotropine.

Test di stimolazione con HCG

Applicazioni: Il test ha lo scopo di differenziare l'ipogonadismo primario (testicolare) da un'ipogonadismo secondario (ipofisario) o terziario (ipotalamico). Inoltre serve per differenziare l'anorchia dal criptorchidismo e per lo studio della sterilità maschile, in generale.

Procedimento:

1. Si preleva un campione di sangue per la determinazione del livello basale del testosterone.
2. Si somministrano 1.000 U.I./al giorno di HCG, per via i.m. per 4 o 5 giorni oppure in una singola dose di 2.500 U.I. i.m..
3. Nel caso si utilizzi il trattamento per diversi giorni, si preleva un campione al 4° e al 5° giorno. Nel caso di una somministrazione unica, il campione va prelevato il terzo giorno.

Risultati: normalmente ci si attende il raddoppio dei valori basali. In caso di anorchia non si ha alcun aumento; nel criptorchidismo si ha un aumento basso (inferiore al 50%). Se la risposta è normale, si deve scartare una patologia primaria ed è indicato nel caso di dubbio tra alterazione ipofisaria o ipotalamica, fare il test di stimolazione con GnRH o clomifene (Vedi). Una risposta normale indica che l'asse ipotalamo-ipofisario funziona correttamente.

Test dinamici per valutare la funzione delle paratiroidi

La determinazione del PTH con dosaggio immunologico presenta alcune difficoltà a causa dei vari frammenti che si incontrano in circolo e la breve vita dei frammenti intatti e attivi (amino-terminali). Esistono metodi per valutare la molecola intatta (PTH-I), l'estremo amino terminale (PTH-N), l'estremo carbossi-terminale (PTH-C), o frammenti centrali (PTH-Ultra). La migliore correlazione clinica si ottiene misurando la molecola intatta o i frammenti centrali che includono l'estremo carbossilico (PTH-Ultra).

Sono stati descritti numerosi test dinamici, per esempio, la stimolazione con infusione di EDTA, con carico di fosfato, etc. e prove di soppressione con carico di calcio o deprivazione di fosforo. Il test con EDTA non è raccomandabile per gli effetti indesiderati che in genere si presentano (vomiti, cefalea, convulsioni).

Test di stimolazione con fosfato

Viene utilizzato 1 g di fosfato in buffer, per via orale. Si raccoglie il campione basale e a 30, 60 e 90 minuti. Normalmente si registra un aumento dei livelli di PTH tra 60 e 120%. L'interpretazione clinica di un test anormale è complessa a causa della molteplicità dei fattori che intervengono nel metabolismo minerale, tuttavia almeno i test normali permettono di scartare le ipercalcemie che sono mediate dal PTH (nelle quali il PTH basale è aumentato). Studi completi della funzione paratiroidea richiedono il dosaggio del calcio, del cloro, del magnesio e degli ormoni calcitonina e 1,25 DHCC, così come dell'AMPc urinario.

Test di soppressione con carico di calcio

Si somministrano per via orale 6.8 mg/kg di soluzione di Ca^{2+} e si prelevano dei campioni basali dopo 30, 60, 90, 120 e 180 minuti. Normalmente si deve registrare una diminuzione tra il 30 e il 60% rispetto al valore basale.

Test di stimolazione della calcitonina

Oggi abbiamo a disposizione due possibilità di stimolare della calcitonina: con gluconato di calcio per via i.v. (2 mg/kg, per infusione in un minuto) o con pentagastrina, per via i.v. alla dose di 0.5 ug/kg.

In entrambi i casi si prelevano dei campioni basali e dopo 2, 5, 10, 20 e 30 minuti.

Il gluconato produce un aumento moderato, che non supera il range di riferimento normale, con un valore massimo dopo 5 minuti. La pentagastrina in pazienti normali non deve stimolare la secrezione.

Test di stimolazione dell'insulina

La secrezione di insulina può essere stimolata con il glucosio, l'arginina, la leucina, il glucagone, la tolbutamide, etc. L'unica prova che tuttavia viene raccomandata è l'utilizzazione di glucosio per via orale o endovenosa, dosando l'insulina e il glucosio.

Procedimento: si somministra il glucosio per via orale alla dose di 1.75 g/kg (secondo i criteri del National Diabetes Data Group del National Institute of Health si somministrano, nell'adulto, 75 g di glucosio per via orale) o endovena 0.33 g/kg. Quando si utilizza la via orale, si prelevano campioni di sangue a 30, 60, 90 e 120 minuti, dopo il campione basale a digiuno. Nello studio dell'ipoglicemia post prandiale l'esame va prolungato sino alla 5^a ora.

Se si impiega l'infusione endovenosa i campioni vanno raccolti dopo 3, 6, 15, 30, 60 e 90 minuti.

Si dosa in tutti i campioni l'insulina con dosaggio immunologico e il glucosio con i metodi usuali, chimici o enzimatici.

Nel test per via orale il picco di insulina compare generalmente intorno al 30° minuto; nel test per via endovenosa il picco si può osservare intorno al 3° minuto e raggiunge lo

stesso valore della prova orale.

La determinazione dinamica dell'insulina permette di differenziare un diabete insulino-dipendente (valori basali bassi o assenti, risposta insufficiente o assente allo stimolo) da un diabete non insulino-dipendente (valori basali normali o elevati, risposta elevata allo stimolo) ed è utile nella diagnostica degli insulinomi (valori inappropriatamente elevati per i livelli di glicemia).

Test di stimolazione della gastrina

Sono disponibili numerosi tests di stimolazione, soprattutto per i pazienti che non hanno una ipergastrinemia pronunciata (gastrina sierica >1000 pg/ml).

Nel test con la secretina si somministrano 2 U/kg e.v. in 30-60 sec. e si dosa il valore basale e nei trenta minuti successivi ogni 5 minuti.

Nei soggetti normali e nei pazienti con ulcera duodenale la secretina non modifica i livelli di gastrina o si possono avere piccoli incrementi o decrementi. Nei pazienti con gastrinoma la secretina determina un sostanziale incremento dei livelli di gastrina. Questo test è di gran lunga il più affidabile per identificare i pazienti affetti da gastrinoma (positivo in oltre il 95% dei pazienti con gastrinoma).

Alcuni test alternativi sono il test di infusione di calcio gluconato (5 ng di calcio per Kg per ora) per tre ore con prelievi basali e a 30 minuti di intervallo per 4 ore. Nei pazienti con gastrinoma si ha un aumento della gastrina superiore a 400 pg/ml. Il test di stimolo con gastrina standard non si registra alcuna modificazione o incremento comunque inferiore al 50% nei pazienti con gastrinoma.

Prima di utilizzare un test di stimolo bisogna misurare la secrezione acida gastrica poiché la più comune causa di ipergastrinemia è la ridotta secrezione acida gastrica, l'ipocloridria e l'acloridria.

PRINCIPALI TESTS IMMUNOLOGICI

ANALITA DATI CHIMICI	PAZIENTI, DATI E CONDIZIONI	CAMPIONE CONDIZIONI E VOLUME/PROVETTA	UTILITA' CLINICA DEL METODO
ACTH-Arenocorticotropina ipofisaria Polipeptide di 39 a.a. P.M. 4.500	Età, sesso, farmaci. Se è un test dinamico indicare il giorno della mestruazione e la sostanza utilizzata per la stimolazione o la soppressione.	EDTA-plasma, 100 µl. Raccogliere in una provetta di plastica, refrigerare subito ed inviare in ghiaccio secco. Prelevare un campione alle 9 a.m. Non ci deve essere emolisi	Origine: ipofisi; stimola la produzione del cortisolo. Nell'insufficienza surrenalica primaria è elevata. Nel Cushing sono presenti alterazioni della secrezione pulsatile. Nel Cushing ectopico i livelli sono molto elevati.
AFP- Alfafetoproteina NTD Defetti del Tubo Neurale Proteina simile all'albumina P.M. 70.000	Indicare l'ultima mestruazione e la settimana di gravidanza o l'intervento chirurgico o l'aborto	Siero o liquido amniotico: 100 µl L.A. non deve essere presente sangue fetale. Congelare. Diluire 1:201	Individuazione delle alterazioni del tubo neurale. I campioni devono essere preferibilmente presi intorno alla 15 ^a 16 ^a settimana di gravidanza
AFP-adulti	Età, sesso intervento chirurgico o chemioterapia	Siero: 100 µl	Marcatore tumorale nel carcinoma epatico e testicolare
Aldosterone Steroide C-19	Farmaci, dieta salina, pressione arteriosa	Siero o plasma: 200 µl; urine delle 24 ore	Mineralcorticoide surrenalico. Alterazioni del metabolismo minerale
Androstenedione A4-A steroide	Età, sesso, farmaci	Un ml prelevato nelle ore della mattina. Stabile 2 giorni in frigo	Precursore del testosterone e dell'estrone, origine surrenalica e ovarica. Aumentato nella gravidanza ed a metà ciclo. Diagnostica differenziale dell'irsutismo
Anti-ds DNA Anticorpi anti DNA a doppia elica	Età, sesso, farmaci, trattamento anti lupus	Siero o Plasma 25 µl. Stabile 7 giorni in frigo	Diagnostica e follow up della terapia del lupus eritematoso sistemico
Antigene carcinoembrionario (CEA) Glicoproteina	Età, sesso, farmaci, trattamento, fumatore	Siero o Plasma 200 µl	Marcatore tumorale e monitoraggio del trattamento del carcinoma intestinale e della mammella

Antigene specifico prostatico (PSA) Glicoproteina	Età, farmaci o intervento chirurgico	Siero o Plasma 50 µl. Non congelare. Evitare l'esplorazione rettale prima dei prelievi	Marcatore tumorale prostatico. Follow up del trattamento chemio e/o dell'intervento chirurgico
Calcitonina Peptide di 32 a.a. P.M. 3.418	Età, sesso, dieta	A digiuno S o P 200 µl Stabile 1 o 2 giorni in frigo	Nel carcinoma della tiroide ed ipocalcemic. Monitoraggio del trattamento antineoplastico
Cortisolo (idrossicortisone) Steroide C-21	Età, sesso, farmaci, ora del prelievo	S o P 25 µl; urina delle 24 ore. Stabile 2 giorni in frigo. Non congelare	Glicocorticoide della corteccia surrenalica. Antinfiammatorio. Diagnostica dell'Addison e del Cushing
Deidroepiandrosterone DHEA Steroide C-19	Età, farmaci, sesso, fase dello sviluppo	Siero 1 ml. Stabile 2 giorni in frigo	Steroide surrenalico. Negli studi dell'irsutismo, della virilizzazione, dell'adrenarca e del ritardo del puberale
Deidroepiandrosterone solfato (DHEA-S) Steroide	Età, farmaci, sesso	S o P 50 µl. Stabile 2 giorni in frigo	Steroide surrenalico androgenico. Aumenta nel tumore surrenalico e nell'ovato policistico. Irsutismo. Adrenarca
Digitossina Glicoside steroideo	Ora dell'ultima dose	S o P 50 µl. Stabile 7 giorni in frigo. Fare il prelievo 6 ore dopo l'ultima dose	Glicoside cardiaco. Controllo e aggiustamenti di dose. Intossicazione
Digossina Glicoside steroideo	Ora dell'ultima dose	S o P 100 µl. Stabile 7 giorni in frigo	Glicoside cardiaco. Controllo e aggiustamento di dose. Intossicazioni
Estradiolo 17βE ₂ Steroide P.M. 272	Età, data della mestruazione, settimana di gravidanza, farmaci	S o P 200 µl raccogliere in una provetta di vetro non congelare	Origine ovarica e testicolare. Ginecomastia nell'uomo. Amenorrea, pubertà precoce. Individuazione dell'ovulazione
Estriolo libero Steroide	Periodo di gravidanza	S 50 µl; urine delle 24 h	Controllo della gravidanza (funzione placentare) specialmente se a rischio, gravidanza protratta o data incerta del parto
Estriolo totale	Periodo di gravidanza	S 10 µl; urine 100 µl	Controllo della funzione feto-placentare
Fentanyl Oppiaceo sintetico		50 µl di urine	Analgesico. Controllo del doping nei cavalli da corsa

Ferritina Proteina di P.M. 450.000	Età, sesso	P non emolizzato 100 µl	Riserva di ferro. Anemie. Marcatore tumorale ausiliario negli epatomi
Fosfatasi acida prostatica (PAP) Glicoproteina di P.M. 100.000	Età, data dell'intervento chirurgico, terapia	S 50 µl. Refrigerato rapidamente. Evitare l'ipertrofia	Marcatore tumorale prostatico e monitoraggio del trattamento
FSH- ormone follicolostimolante Glicoproteina; P.M. 28.000	Età, sesso, data dell'ultima mestruazione, farmaci soprattutto contraccettivi	S o P 200 µl: urine delle 24 ore. Stabile 7 giorni in frigo	Diagnostica delle alterazioni nel ciclo mestruale; infertilità di origine ipofisaria
Gastrina Peptide; 34 a.a.	Segnalare la stimolazione	S a digiuno 200 µl. Inviare in ghiaccio secco. Congelare subito. Usare provette di plastica. Non deve essere presente emolisi né lipemia	Gastrinomi e alterazione della secrezione gastrica
Gentamicina Aminoglicoside	L'ora dell'ultima dose	Siero 50 µl. Stabile 7 giorni in frigo	Antibiotico anti-Gram (-). Regolazione della dose terapeutica
G.H. ormone della crescita 191 a.a. P.M. 22.000	Età, sesso, farmaci, esercizio	S o P 100 µl. Non deve essere presente emolisi né lipemia. Non congelare. Stabile 4 giorni	Ipofisario. Casi di ritardo dell'accrescimento, nanismo e acromegalia
Glucagone 29 a.a.		Plasma con EDTA in provette di vetro e bagno di ghiaccio. 200 µl. Inattivare le proteasi	Cellule alfa del pancreas
Gonadotropina corionica umana HCG Glicoproteina P.M. 37.000	Età, sesso, data dell'ultima mestruazione; settimane di gravidanza probabile. Indicare se qualitative o quantitativa	S o P 200 µl. Urine delle 24 ore.	Diagnostica della gravidanza. Marcatore tumorale. Follow up della gravidanza; mola e gravidanza ectopica

Insulina Peptide 51 a.a. P.M. 6.000	Dieta	S o P 200 µl. Non deve essere ipermico. Stabile 7 giorni in frigo. Non deve essere emolizzato	Diabete. Non è utile nei pazienti trattati con insulina per la presenza di anticorpi anti-insulina
LH Luteotropina Glicoproteina P.M. 28.000	Età, sesso, data dell'ultima mestruazione.	S o P 200 µl	Alterazioni della fase luteinica. Infertilità; diagnostica dell'ovulazione
Morfina Alcaloide	Data ed ora della dose	S o P 25 µl; urine 50 µl. Stabile un mese in frigo a pH 5-8	Metabolita dell'eroina. Analgesico narcotico stupefacente. Diagnostica dell'abuso e dell'intossicazione
Peptide C 31 a.a. P.M. 3.020	Dieta	S o P 100 µl; urine nelle 24 ore. Congelare. Non deve essere presente né lipemia né bilirubina	Diagnostica differenziale dell'ipoglicemia. Peptide derivato dalla pro-insulina. Insulinomi
Progesterone Steroide C-21 P.M. 317	Data dell'ultima mestruazione. Gravidanza. Età	Siero 100 µl. Stabile 7 giorni in frigo	Diagnostica dell'ovulazione e controllo della gravidanza
17 idrossi-progesterone Steroide C-21	Età, sesso. Data dell'ultima mestruazione	S o P 25 µl. Prendere il campione tra le 8 e le 10 a.m. Stabile 7 giorni in frigo	Origine surrenalica e ovarica (o testicolare) e placentare. Diagnostica dell'iperplasia surrenalica congenita, insu- tismo e infertilità
Prolattina Peptide P.M. 22.800	Età, sesso, farmaci specialmente contraccettivi ed estrogeni	S o P 200 µl. Non deve essere emolizzato. Stabile 7 ore in frigo. Non congelare	Amenorrea, galattorrea, tumori dell'ipofisi. Infertilità, impotenza maschile
PTH-ormone paratiroideo 84 a.a. intatto PTH-C 53 a 84 PTH-M 44 a 68 PTH-Ultra 53 a 68	Dieta	Plasma 50 µl a digiuno. Coagulare e congelare. Prendere il campione alle 9 a.m.	Ipercalcemie. Iper o ipoparatiroidismi

SHBG (Sex Hormone Binding Protein) Glicoproteina P.M. 100.000	Età, sesso gravidanza e farmaci	Siero 50 µl	Studio dell'irsutismo e dell'infertilità. Determinazione dell'indice del testosterone o degli androgeni liberi
Teofillina (Aminofillina) Alcaloide metil-xantinico.	Ora dell'ultima dose	25 µl di siero, 4 ore dopo l'ultima dose	Regolazione della dose e diagnosi dell'intossicazione
Testosterone libero Steroide C-19 P.M. 287	Età, sesso	S 50 µl non deve essere lipemico. Stabile 2 giorni in frigo	Studio dell'irsutismo nella donna e della sterilità dell'uomo
Testosterone totale Steroide C-19	Età, sesso	Siero 25 µl; urine 1 ml. Stabile 2 giorni in frigo	Studio dell'ovaio policistico, irsutismo, ipogonadismo ipogonadotropo maschile
Tireoglobulina Proteina	Età, sesso	Siero 200 µl. Stabile 24 hs	Follow up nel carcinoma tiroideo
T ₃ triiodotironina	Età, sesso, farmaci	S o P 100 µl; a digiuno. Non deve essere lipemico né emottizzato. Non congelare. Stabile 7 giorni	Funzione tiroidea; tireotossicosi. Si possono determinare livelli totali o liberi e la captazione della T ₃
T ₄ tetraiodotironina	Età, sesso, farmaci	S o P 25 µl. A digiuno	Studi della funzione tiroidea. Si può determinare totale o libera
TSH Glicoproteina	Età, sesso, farmaci	Siero dell'adulto: 200 µl. Stabile 2 giorni in frigo	Disturbi tiroidei primari o secondari, stimolazione con TRH. Ipotiroidismo congenito neonatale
Vitamina B ₁₂ , Cianocobalmina	Età, sesso, dieta	S o P eparinizzato 200 µl	Anemia megaloblastica. Si determina simultaneamente con l'acido folico

TABELLA DEI VALORI DI RIFERIMENTO PER I DOSAGGI IMMUNOLOGICI

ANALITA	METODO	VALORI	UNITA'	CONDIZIONE FISIOLÓGICA
ACTH	RIA	N.D. - 37	pg/ml	Adulto, alle 9 del mattino
AFP-Difetti del Tubo Neurale Siero	RIA	26-65 (Md-2.5 Md) 29-72.5 28.5-71.3 37-93 41-102.5 51-127.5	UI/mL	15 settimane di gravidanza 16 17 18 19 20
Liquido amniotico	RIA	15.4-38.6 (Md-2.5 Md) 13.1-32.7 10.5-26.3 9.8-24.6 7.9-19.8	UI x 10 ³ /ml	15 settimane di gravidanza, dil. 1:201 16 17 18 19
AFP-adulto	EIA RIA	2.6+1.4 meno di 10	ng/mL ng/mL	Non in gravidanza e uomini
Aldosterone nel siero nelle urine	RIA RIA	4-31 1-16 6-25 17-44 0-6	ng/dl µg/giorno	Posizione in piedi, ambulatorio Sdraiato Dieta salina normale Dieta povera di sale Dieta ricca di sale
Androstenedione A4-A	RIA	0.1-0.5 0.9-1.7 0.8-3.0 0.3-0.8	ng/mL	Bambini prepuberi Uomini Donne, fase follicolare Donne, post-menopausa
Anti-ds DNA	RIA	meno di 6	µ/mL	Senza trattamento antireumatico
Antigene carcinoembriogenetico	IRMA	meno di 5.2 meno di 3.4	ng/mL	Fumatori Non fumatori
Antigene specifico della prostata (PSA)	IRMA Milenia	meno di 10	ng/mL	Prima di qualunque trattamento che causa ipertrofia benigna
Calcitonina	RIA	3-19 meno di 50	pg/ml	A digiuno Per il carcinoma tiroideo

Cortisolo, nel siero	RIA	5-25 2.5-15	µg/dl	Al mattino Alla sera
nelle urine	RIA	20-90	µg/giorno	
DHEA	RIA	0.2-9.8	ng/ml	
DHEA-Solfato	RIA	10-60 80-340 80-560 35-430	µg/dl	Bambine prepubere, bambini, postmenopausa Donne, fase follicolare Uomini, adulti Donne adulte, in qualsiasi fase
Digitossina	RIA	15-30 > 30	µg/ml	Livelli terapeutici, 6 ore dopo. Livello tossico
Digossina	RIA	0.8-2.4 > 2.0	ng/mL	Livelli terapeutici Livello tossico
Estradiolo	RIA	N.D. - 90 <10 50-100 120-200	pg/mL	Uomini Bambini Donne, fase follicolare anticipata Fase follicolare ritardata
Estriolo libero	RIA	2.5-7 3.8-11 4.4-13.3 5.5-16 7.5-22 11.5-34 15-45	ng/mL	18 settimane di gravidanza 22 26 30 34 38 42
Ferritina	IRMA	25-400 11-120 7-142	ng/mL	Uomini Donne Bambini minori di 5 anni
Fosfatasi acida Prostatica (PAP)	IRMA	N.D. - 2.07 maggiore di 4.0	ng/mL	Evitare l'ipertrofia benigna Diagnostica di carcinoma

FSH	IRMA	N.D. - 20 5.0-20 5.0-13 14-32 36-273 0.2-3.0 N.D. - 9.2	mUI/mL	Uomini Donne, fase follicolare Fase luteinica Metà del ciclo Postmenopausa Prepubertà Donna che usa contraccettivi
Gastrina	RIA	N.D. - 90	pg/ml	A digiuno
Gentamicina	RIA	5-8	µg/ml	Dopo l'ultima dose
GH (ormone della crescita)	RIA	0-7 N.D. - 20	ng/ml	Adulto, senza precedente esercizio Bambini, precisare lo stadio di Tanner
Glucagone	RIA	40-130	pg/ml	A digiuno
Gonadotropina corionica umana (HCG)	IRMA	N.D. - 5 10-30 30-100 100-1.000 1.000-10.000 10.000-100.000 10.000-30.000 5.000-15.000	mUI/ml	Donne non in gravidanza; uomo I ^a settimana di gravidanza II ^a settimane di gravidanza III ^a settimane di gravidanza IV ^a settimane di gravidanza II ^a -III ^a mese di gravidanza II ^o trimestre di gravidanza III ^o trimestre di gravidanza
Insulina	EIA	Meno di 5 5-50 50-500 100-5.000 1.000-10.000 5.000-25.000 25.000-100.000 75.000-150.000 10.000-75.000 10.000-50.000 5.000-30.000 N.D. - 5.0	mUI/ml	Uomini: donne non in gravidanza 1 a 1.5 settimane di gravidanza 2 a 2.5 settimane di gravidanza 3 a 3.5 settimane di gravidanza 4 a 4.5 settimane di gravidanza 5 a 5.5 settimane di gravidanza 6 a 7.5 settimane di gravidanza 8 a 9 settimane di gravidanza 10 a 12 settimane di gravidanza 13 a 24 settimane di gravidanza 25 a 26 settimane di gravidanza 1-2 settimane post-partum
	RIA	3-35	uUI/ml	A digiuno

L.H (luteotropina)	IRMA	0-6 > 10 0-8 7-50 0-7 0-4.5	mUI/ml	Uomini, adulti Donne post-menopausa Donne, fase follicolare Metà del ciclo Fase luteinica Bambini, prepubertà
Peptide C	RIA	0.8-4.0 79±56	ng/ml	Adulto, siero a digiuno Adulto, -urine delle 24 ore
Progesterone	RIA	0-0.4 0.1-1.5 2.5-28.1 N.D. - 0.2 0.1-1.5 9-47 17-146 55-255	ng/ml	Uomini Donne, fase follicolare Fase luteinica Menopausa Donne che usano contraccettivi Gravidanza, primo trimestre secondo trimestre terzo trimestre
17-idrossi-progesterone	RIA	0.3-2.2 0.1-0.8 0.27-2.9 0.8-9 Meno di 7.0	ng/ml	Uomini, adulti Donne, fase follicolare fase luteinica Parto recente, meno di 6 giorni Bambine prepubere
Prolattina	IRMA	0-15 0-20	ng/ml	Uomini Donne, non in gravidanza
Paratormone PTH-M PTH-C PTH-Ultra PTH-Intatto	RIA RIA RIA RIA	0-27 0.5-1.1 0-2 11-24	ng/dl ng/ml ng/ml pg/ml	A digiuno, alle 9 a.m. A digiuno A digiuno (DPC) A digiuno (Nichols)
SHBG	IRMA	10-73 16-120	nmol/L	Uomini Donne, non in gravidanza
Aminofillina	RIA	10-20 > 20	µg/ml	Livelli terapeutici Livello tossico
Testosterone libero	RIA	9-47 0.7-3.6	pg/ml	Uomini Donne

Testosterone totale, sierico	RIA	360-990 15-110 <10 25-125 5-35	µg/dl	Uomini Donne Bambini minori di 6 anni Uomini, urine delle 24 ore Donne, urine delle 24 ore
Tireoglobulina	RIA	3-52 1.4-4.1 86-187 25-37 1.13-4.63 4.5-12.5	ng/ml pg/ml ng/dl %	Adulti Adulti Adulti Adulti T ₄ (µg/dl) x T ₃ uptake/100 Adulti
T ₄ neonatale	RIA	6.5-17.5	µg/dl	3 a 5 giorni, sangue del tallone
T ₄ totale	RIA	6.6-17.5 11-21.5 8.2-16.6 7.2-15.6 7.3-15 6.4-13.3 5.6-11.7 4.2-11.8 4.3-12.5 6.1-17.6	µg/dl	Neonato, sangue del cordone Neonato, 1-3 giorni Neonato, primo mese Bambini, 1-12 mesi Bambini, da 2 a 5 anni Bambini, da 5 a 10 anni Bambini, da 10 a 15 anni da 15 a 20 anni da 20 a 90 Donne, gravidanza da meno di 5 mesi
T ₃ totale	RIA	14-86 100-740 105-245 105-269 94-241 83-213 80-210 85-175 40-181 116-247	ng/dl	Sangue del cordone Neonato, 1-3 giorni Bambini, da 1 a 12 mesi Bambini, da 2 a 5 anni Bambini, da 5 a 10 anni Bambini, da 10 a 15 anni da 15 a 20 anni da 20 a 50 anni da 50 a 90 anni Donne, gravidanza da meno di 5 mesi
TSH	IRMA	0.4-4.0	µUI/ml	Adulti
TSH neonatale	RIA	< 20		Neonato, sangue del tallone

Applicazioni cliniche della determinazione dei principali analiti

L'adrenocorticotropina ipofisaria (ACTH)

Il dosaggio dei livelli sierici dell'ACTH è estremamente utile per la diagnostica differenziale dell'insufficienza surrenalica e dei casi di ipersecrezione surrenalica.

Nel morbo di Addison, qualunque sia l'etiologia, si trovano dei livelli elevati di ACTH, a causa della riduzione del meccanismo di feed-back negativo che esercita il cortisolo sull'ipofisi. Nell'insufficienza surrenalica secondaria o di origine ipofisaria, si incontreranno livelli di ACTH ridotti.

Nei pazienti affetti da sindrome di Cushing (caratterizzata dall'ipersecrezione di cortisolo), il dosaggio di ACTH permette di differenziare tra un Cushing surrenalico e quello di origine ipotalamo-ipofisario. Nel Cushing di origine surrenalica, causato da un adenoma o da un carcinoma, i valori di ACTH saranno bassi; al contrario se il Cushing è dovuto ad un'ipersecrezione ipofisaria di ACTH o alla produzione ectopica di ACTH i livelli saranno elevati. La secrezione ectopica di ACTH si distingue generalmente per i valori estremamente elevati.

Si deve tener presente che la secrezione di ACTH è circadiana e pulsatile, con i valori più elevati durante le ore della mattina e i valori più bassi durante la notte. Tutte le valutazioni dei dosaggi o dei differenti campioni dello stesso paziente devono essere fatte considerando l'ora del prelievo che generalmente va fatto dalle 8 alle 9 del mattino.

Albumina (microalbuminuria)

La microalbuminuria consiste nella escrezione urinaria di piccole quantità di albumina in assenza di una nefropatia manifesta. Poiché le concentrazioni di albumina sono molto basse, non possono essere individuate con i dosaggi convenzionali, ma è possibile dosarle per mezzo del dosaggio immunologico.

Un'escrezione da 15 a 150 µg/minuto di albumina viene considerata come microalbuminuria

Questo dosaggio è utile per individuare prematuramente un'alterazione della funzione glomerulare e per il controllo delle persone diabetiche o ipertese, al fine di prevenire la comparsa del danno renale. Come valore di riferimento per il follow up dei pazienti diabetici, è stato assunto un valore di 15 µg/min in condizioni di riposo. Livelli di escrezione superiori a questo limite devono richiamare l'attenzione sulla possibilità di una nefropatia.

Bisogna tener presente che oltre alle situazioni legate al diabete, una microalbuminuria può essere presente a seguito di un esercizio fisico intenso, infezioni delle vie urinarie, insufficienza cardiaca congestizia ed ipertensione arteriosa.

I campioni di urina devono essere raccolti in un intervallo preciso di 3 ore per poter esprimere il risultato come velocità di escrezione. Qualora sia presente del sangue il campione non è idoneo per il dosaggio.

Aldosterone

L'aldosterone è un ormone steroideo secreto nella zona glomerulosa della corteccia surrenale.

La sua principale funzione è di favorire il trasporto di elettroliti nei differenti epiteli, ritenendo sodio ed eliminando potassio.

Come conseguenza, la sua determinazione nel plasma o nell'urina è di ausilio nella diagnosi dell'iperaldosteronismo primario, che è responsabile di ipertensione arteriosa secondaria. L'iperaldosteronismo primario può essere causato da un adenoma surrenalico o essere idiopatico.

Esiste anche l'iperaldosteronismo secondario, in questo caso i livelli di aldosterone saranno normali, ma il sistema angiotensina-renina sarà alterato.

L'iperaldosteronismo deve pertanto essere studiato considerando vari parametri: l'ingestione di sodio, la posizione del corpo e l'attività del paziente. Pertanto è opportuno dosare, oltre alla concentrazione di aldosterone, i livelli di sodio, potassio e l'attività plasmatica reninica.

In alcuni casi di ipertensione sarà inoltre necessario valutare le catecolamine (adrenalina e dopamina nel plasma; noradrenalina plasmatica, escrezione urinaria di metanefrine e acido vanilmandelico).

Androstenedione

L'androstenedione è uno steroide con attività androgenica precursore del testosterone e dell'estrone. Può essere di origine surrenalica o ovarica.

La sua determinazione è utile nella diagnostica dei casi di irsutismo e di virilizzazione perché permette di distinguere tra un'origine puramente surrenalica (nel caso aumenti anche il DHEA-solfato) e un'origine ovarica (come nei casi di ovario policistico).

Calcitonina

La calcitonina è un peptide di origine tiroidea, che partecipa alla regolazione della calcemia, poiché ha un modesto effetto ipocalcemizzante. I livelli di calcio regolano in modo rapido la secrezione di calcitonina.

La principale applicazione del dosaggio della calcitonina è nella diagnostica del carcinoma midollare della tiroide, tumore delle cellule C, che secernono la calcitonina. Tuttavia, bisogna tener presente che la calcitonina aumenta anche in corso di tumori ectopici (del polmone, della mammella e di alcune leucemie). Inoltre sono stati riportati valori elevati associati ad iperparatiroidismo, ipergastrinemia, insufficienza surrenalica e infiammazioni croniche.

Il dosaggio della calcitonina è estremamente utile per monitorizzare i pazienti dopo trattamento chirurgico di un tumore midollare della tiroide o dopo la chemioterapia. Se i valori persistono elevati, si deve prendere in considerazione la possibilità di una rimozione incompleta del tumore o la presenza di metastasi.

La calcitonina è estremamente labile, pertanto il campione deve essere conservato immediatamente evitando l'emolisi. La vita media della calcitonina nel plasma è di 10 minuti poiché viene degradata da fattori plasmatici, pertanto è di enorme importanza la conservazione del campione in freezer qualora non dovesse essere dosata immediatamente.

CEA (antigene carcinoembrigenetico)

La determinazione del CEA è particolarmente utile nella diagnosi e nel monitoraggio dei carcinomi del tratto gastrointestinale e mammario. Si deve tener presente che aumenta anche nei fumatori e in diverse condizioni non-neoplastiche, come nelle epatiti e nelle cirrosi. (Vedi la sezione sui marcatori tumorali).

Cortisolo

Il cortisolo o idrocortisone è lo steroide più abbondante presente in circolo. La sua azione di glicocorticoide e antiinfiammatoria è di estrema importanza. Ha inoltre effetti sul mantenimento della pressione arteriosa, sulla gluconeogenesi, l'assorbimento del calcio e la secrezione gastrica e di pepsina.

La principale applicazione del dosaggio è la valutazione della funzione della corteccia surrenalica, per esempio nel morbo di Addison (insufficienza surrenalica) è diminuito e nella sindrome di Cushing è elevato. Nell'iperplasia surrenalica congenita è ridotto.

I dosaggi usuali misurano il cortisolo totale; il cortisolo libero si ritrova in concentrazioni molto basse nel plasma e può essere dosato nelle urine.

I valori di cortisolo variano in modo circadiano e circamensile. I valori sono più elevati nelle ore del mattino e pertanto i valori di riferimento devono essere considerati quelli tra le 8 e le 9 del mattino.

Sono stati descritti vari test di stimolazione o di soppressione per valutare la funzione del cortisolo (Vedi pag. 62).

Deidroepiandrosterone e deidroepiandrosterone-solfato

Il DHEA e il DHEA-SO₄ sono metaboliti intermedi interconvertibili nella sintesi degli steroidi androgeni. Le concentrazioni del solfato sono superiori a quelle del DHEA e l'azione androgenica del solfato è superiore, per questo motivo viene dosato più frequentemente.

Questo dosaggio è utile nello studio dei casi di irsutismo e virilizzazione, nei casi di alopecia nella donna e nello studio dei ritardi puberali e dell'adrenarca. I suoi livelli sono elevati anche nell'ovaio policistico.

Nella diagnostica dell'irsutismo il dosaggio di DHEA-SO₄ ha i vantaggi seguenti:

- aumenta prematuramente e a volte è l'unico steroide androgenico che si ritrova elevato.
- nella donna è di origine esclusivamente surrenalica, questo permette di distinguere i casi nei quali gli androgeni sono di origine ovarica o mista. Va notato che, tuttavia, è elevato anche nella sindrome dell'ovaio policistico.
- a differenza del testosterone, non si lega alla SHBG pertanto i suoi livelli non dipendono dalla proteina di trasporto.
- la vita media del solfato è sufficientemente lunga (circa un giorno) e non presenta variazioni circadiane.
- nel caso di tumori surrenalici, le concentrazioni del solfato aumentano considerevolmente.
- la gravidanza e l'uso di contraccettivi orali inducono una riduzione molto modesta dei livelli di solfato. Non esistono variazioni molto significative durante il ciclo mestruale.

Estradiolo

L'estradiolo è uno steroide di origine quasi esclusivamente ovarica o testicolare. La sua determinazione è utile nella diagnostica della pubertà precoce nelle donne e della ginecomastia nell'uomo; nello studio delle amenorree e soprattutto nel monitoraggio dell'ovulazione indotta, poiché aumenta un'ora prima dell'aumento dei livelli di LH (Vedi la sezione sulla fecondazione assistita).

Estriolo

Il dosaggio dell'estriolo totale nel siero o dell'estriolo libero (non coniugato) è una metodica utile per la valutazione dello sviluppo fetale durante l'ultimo trimestre di gravidanza e per la determinazione corretta dell'età fetale quando esistono dei dubbi sulla data della concezione o si desidera fare un intervento terapeutico nella gravidanza.

La maggior parte dell'estriolo circolante durante il terzo trimestre di gravidanza proviene dal sistema feto-placentare e origina da un precursore sintetizzato dalla

ghiandola surrenalica del feto. Nella placenta si verifica la coniugazione a solfato o a glucuronide. Di conseguenza, la frazione libera è inferiore al 9% del totale e questo valore totale è il migliore indicatore del funzionamento dell'unità feto-placentare.

Normalmente, man mano che il feto matura, aumenta la produzione di estriolo, che raggiunge il valore massimo nella 36^a settimana.

Poiché esiste una considerevole variazione tra le pazienti ed in rapporto al periodo della gravidanza, la modalità più adeguata per il monitoraggio della gravidanza è la determinazione seriata fatta ogni settimana. Qualsiasi calo improvviso nei livelli di estriolo deve far sospettare una sofferenza fetale. Questo monitoraggio è particolarmente utile nel controllo delle gravidanze a rischio come nelle pazienti diabetiche, nelle madri con tendenza a gravidanza prolungata e nelle madri con età avanzata.

La determinazione urinaria dell'estriolo è di scarsa utilità rispetto alla determinazione nel siero.

Bisogna tener presente che l'estriolo presenta delle variazioni circadiane pertanto i paragoni tra i dosaggi seriati devono farsi ovviamente sempre con campioni presi alla stessa ora.

Ferritina

La ferritina è una proteina la cui funzione essenziale è protettiva (perché il ferro è tossico) e di riserva di ferro soprattutto nel fegato, milza e midollo osseo. La sua concentrazione plasmatica è un indicatore delle riserve di ferro nell'organismo. Le concentrazioni basse (inferiori a 10 ng/ml nell'adulto), indicano un'anemia da deficit di ferro. Concentrazioni elevate (superiori a 300 ng/ml) suggeriscono un sovraccarico di ferro, come si verifica nell'emocromatosi.

La determinazione seriata della ferritina permette di valutare la riduzione della riserva di ferro in pazienti sottoposti a dialisi e l'elevazione eccessiva che può verificarsi in pazienti che richiedono continue trasfusioni di sangue o terapia con sali di ferro.

Un incremento della ferritina si osserva anche nelle patologie epatiche, nelle malattie infiammatorie, nella leucemia e nel morbo di Hodgkin. E' stato suggerito l'uso della ferritina come marcatore tumorale nell'epatoma e in altre neoplasie nelle quali il tessuto interessato sintetizza ferritina.

FSH-ormone follicolo stimolante

Questo ormone ipofisario facilita lo sviluppo e la funzione dei tessuti gonadici in entrambi i sessi. La sua determinazione è indispensabile nello studio dell'infertilità, nella donna per valutare correttamente la maturazione del follicolo e nell'uomo per valutare la spermatogenesi. Nei casi di ipogonadismo primario maschile, si trovano dei valori elevati di FSH per un'interruzione del meccanismo di retroregolazione negativa da parte del testosterone. Per la stessa ragione, si ritrovano dei valori elevati di FSH nelle donne in menopausa. Al contrario, valori bassi di FSH, causa di sterilità, indicano un ipogonadismo di origine ipotalamico o ipofisario.

Gastrina

La gastrina è un'ormone peptidico che stimola la secrezione gastrica.

L'applicazione elettiva del dosaggio della gastrina a digiuno, è nella diagnosi dei gastrinomi (tumore di Zollinger-Ellison). In questi casi si trovano livelli estremamente elevati di gastrina (quasi sempre superiori, a digiuno, ai 200 pg/ml), ma alcuni tumori sintetizzano frammenti specifici del peptide e pertanto l'incremento osservato dipende dalla specificità del metodo impiegato.

Valori elevati di gastrina possono essere trovati anche in corso di anemia perniziosa, ostruzione pilorica con distensione dell'antro e in alcuni pazienti con ulcera peptica non associata a gastrinoma. Tuttavia, l'aumento della gastrina in questi casi (valori in media sui 20-50 pg/ml e generalmente inferiori ai 150 pg/ml) è inferiore a quello che è presente quando si ha un tumore di Zollinger-Ellison.

La gastrina viene sintetizzata dalle cellule della mucosa dell'antro e del duodeno. Nel plasma a digiuno predomina il peptide completo (G37) mentre nei campioni postprandiali si ritrovano anche i frammenti G17. A causa di questo e alla labilità della molecola il campione deve essere prelevato sempre a digiuno evitando l'emolisi, non deve essere presente bilirubina e il siero non deve essere lipemico; inoltre deve essere congelato immediatamente. I campioni del paziente che ha ricevuto recentemente eparina non sono utilizzabili per il dosaggio.

Gonadotropina corionica umana (HCG)

L'HCG viene secreta dalla placenta a partire dallo stadio di trofoblasto e la sua funzione essenziale è legata allo sviluppo del corpo luteo durante le prime settimane di gravidanza. Le sue principali applicazioni (di cui abbiamo già parlato a pag. 20) sono: la diagnosi precoce di gravidanza e la diagnosi di possibili alterazioni del suo decorso, per esempio gravidanza ectopica (valori molto bassi rispetto a quelli di riferimento e tempo di duplicazione molto lungo), la minaccia di aborto spontaneo (rapido calo dei livelli), la gravidanza multipla (valori moderatamente elevati) e la mole idatiforme (valori elevati).

Per la diagnosi precoce della gravidanza viene utilizzato generalmente un limite superiore di 25 mUI/ml sebbene i metodi di analisi immunologica permettano di individuare anche 5 mUI/ml che già sono un indice sufficientemente prematuro di gravidanza (inferiore ad una settimana).

La conferma dopo 48 ore è estremamente utile per valutare il cosiddetto "tempo di duplicazione" che nella prima settimana di gravidanza è normalmente di circa 48 ore. Se nel secondo campione non si registra un incremento considerevole dei livelli, la diagnosi di gravidanza è negativa.

I livelli aumentano considerevolmente nel primo trimestre di gravidanza, e questo richiede la diluizione dei campioni che possono essere influenzati dall'effetto "hook".

Il dosaggio dell'HCG è estremamente importante come marcatore tumorale in alcune neoplasie trofoblastiche e non trofoblastiche, in entrambi i sessi.

L'ormone della crescita (GH; somatotropina ipofisaria)

L'ormone della crescita è un polipeptide ad azione anabolica complessa. Promuove la sintesi delle proteine e del glicogeno, stimola il trasporto di glucosio, etc. Alcune delle sue azioni sono mediate da altri ormoni peptidici, le somatomedine.

La determinazione è estremamente utile nella valutazione del nanismo e del ritardo della crescita (valori bassi); dell'acromegalia e del gigantismo (valori elevati).

Poiché esistono molti fattori che modificano i livelli basali, è necessario stabilire molto bene le condizioni del prelievo, realizzare alcuni test dinamici e determinare anche i livelli di somatomedina C (vedi pag. 32).

IgE

Le immunoglobuline IgE sono molecole aventi un P.M. di circa 190.000 ed un elevato contenuto di carboidrati.

Il dosaggio della IgE totali o delle IgE specifiche per un allergene o una classe di allergeni, è il test fondamentale nella diagnosi e nel follow up delle allergie mediate dalle IgE.

Normalmente si registra un aumento del livello basale di IgE durante l'infanzia, e nell'adolescenza vengono raggiunti i livelli dell'adulto. L'aumento dell'IgE è proporzionale al numero delle allergie da cui è affetto il paziente e all'intensità del contatto con l'allergene.

Incrementi di IgE non dovuti ad una allergia possono essere visti in alcuni tipi di mieloma, nella aspergillosi polmonare e durante la fase attiva di alcune comuni parassitosi.

Insulina

Il dosaggio dell'insulina sierica in un campione isolato è di scarsa utilità diagnostica nello studio del diabete. E' utile invece come esame ausiliare nella diagnostica e nella localizzazione dei tumori pancreatici, poiché nell'insulinoma (tumore delle cellule beta) si ritrovano valori elevati.

Nello studio del diabete bisogna eseguire delle determinazioni seriate (curva insulinica) e simultaneamente devono essere dosati i livelli di glucosio. Questo permette di valutare per esempio, la progressione del paziente verso l'insulina-dipendenza.

Il follow up della terapia con insulina non può essere fatto con il dosaggio dell'insulina poiché si formano nei pazienti degli anticorpi anti-insulina esogena che interferiscono nel dosaggio.

Luteotropina (LH; ormone luteotropo)

L'ormone LH (Luteinizing Hormone), determina nella donna la deiscenza del follicolo e la formazione del corpo luteo e quindi la secrezione di estrogeni e progesterone. Nel maschio stimola la secrezione di testosterone da parte delle cellule interstiziali.

Il dosaggio dei livelli di LH nel siero è estremamente utile in due condizioni cliniche: nello studio dell'infertilità e nella predizione dell'ovulazione nelle pazienti che devono essere sottoposte a fecondazione in vitro o ad embrio transfer. L'LH aumenta in modo notevole un'ora prima dell'ovulazione.

Bisogna tener presente che l'LH come l'FSH viene secreto in picchi secretori e pertanto tutti i raffronti devono essere fatti prendendo il campione ad un'ora prestabilita e utilizzando un pool di tre campioni. L'aumento dell'LH a metà del ciclo non si verifica in pazienti che assumono dei contraccettivi anovulatori. Va inoltre ricordato che l'LH aumenta normalmente in donne in menopausa (Vedi pag. 14).

Progesterone

Il progesterone è uno steroide di origine fondamentale ovarica e placentare (nell'uomo e nella donna si formano piccole quantità nelle surrenali). I livelli di progesterone aumentano subito dopo l'ovulazione, raggiungendo un massimo nei 4 o 5 giorni successivi. Se non si verifica una gravidanza, i livelli diminuiscono nella settimana successiva.

L'esame viene utilizzato nella diagnosi dell'ovulazione e per valutare la fase luteinica del ciclo. Le alterazioni della fase luteinica possono essere causa di aborto e di sterilità. Inoltre il dosaggio viene utilizzato per il monitoraggio del trattamento con progesterone.

17-idrossi-progesterone

Questo metabolita del progesterone è di origine fondamentale surrenalica, ed è un precursore del cortisolo.

La sua determinazione è utile nella diagnostica della iperplasia surrenalica che si manifesta tardivamente nell'adulto e nei casi di irsutismo e di infertilità, legati all'iperplasia.

Nel neonato questo dosaggio è fondamentale per la diagnosi dell'iperplasia congenita surrenalica (vedi pag. 27), alterazione metabolica caratterizzata da concentrazioni elevate di 17-OH-progesterone.

La determinazione dopo la stimolazione con ACTH può essere estremamente utile nella diagnosi della iperplasia surrenalica non grave. In questa prova dinamica si raccoglie il secondo campione 60 minuti dopo l'iniezione i.v. di 0.25 mg di ACTH.

Prolattina

La prolattina è un ormone ipofisario le cui funzioni sono legate soprattutto alla secrezione del latte ed al controllo della funzione gonadica. Viene pertanto dosato nei casi di galattorrea (secrezione di latte non puerperale), amenorrea, infertilità e sospetto tumore ipofisario (prolattinoma). In tutti questi casi si possono trovare valori elevati, poiché è capace di sopprimere la funzione gonadica per inibizione della secrezione gonadotropica.

Nelle donne in gravidanza si trovano dei valori da 10 a 20 volte superiori al normale. Lo stesso si verifica nelle donne che assumono contraccettivi orali od estrogeni.

Va tenuto presente che i valori di prolattina subiscono delle variazioni circadiane, poiché sono più elevati durante il sonno e più bassi nelle ore del mattino. È importante utilizzare un pool di tre campioni per il dosaggio: la prolattina aumenta moderatamente a causa dello stress, per tal motivo bisogna utilizzare un pool di sieri.

Il campione è estremamente labile pertanto deve essere subito congelato in aliquote.

PSA (antigene prostatico specifico)

Il PSA insieme al PAP (fosfatasi acida prostatica) sono dei marcatori tumorali estremamente utili nella diagnosi e nel monitoraggio del trattamento del carcinoma prostatico. Il valore diagnostico del PSA è superiore a quello del PAP, ma con l'uso combinato di entrambi i marcatori si ottiene un'efficienza superiore.

Un aumento modesto del PSA si ha anche nell'ipertrofia prostatica benigna pertanto si raccomanda di prendere il campione prima di realizzare una qualsiasi esplorazione rettale od un'attività fisica intensa che può provocare un aumento momentaneo non patologico.

SHBG (globulina di trasporto degli ormoni sessuali)

La SHBG è una glicoproteina sintetizzata nel fegato, la cui funzione basilare è il trasporto plasmatico del testosterone e dell'estradiolo, tanto nell'uomo quanto nella donna. I livelli di SHBG sono molto sensibili alle modificazioni nella concentrazione degli androgeni e degli estrogeni circolanti. Questo dosaggio è estremamente utile per la determinazione dell'indice degli androgeni liberi, che viene definito come il rapporto tra il testosterone totale e la SHBG. Il valore di IAL corregge il risultato del testosterone totale per gli effetti della proteina di trasporto nella stessa misura come l'indice della T₄ corregge l'effetto della tiroglobulina.

Il dosaggio viene raccomandato nei casi di irsutismo e virilizzazione.

Un aumento fisiologico della SHBG si registra durante la gravidanza e una riduzione nelle persone obese. La SHBG aumenta nelle donne che assumono contraccettivi o estrogeni; al contrario la somministrazione di androgeni induce ad una riduzione significativa. Nell'uomo, la valutazione del testosterone nei casi di infertilità, ginecomastie, etc. deve essere completata con il dosaggio della SHBG.

Testosterone totale e libero

Il dosaggio del testosterone totale, cioè, la concentrazione della frazione libera che è meno dell'1% e della frazione legata a proteine di trasporto, soprattutto la SHBG (e in minor grado, alla transcortina e all'albumina), viene utilizzato negli uomini nella diagnostica dell'impotenza o dell'infertilità primaria e nelle donne nella diagnostica dell'irsutismo, dell'ovaio policistico (sindrome di Stein-Leventhal) e dei tumori ovarici o surrenalici. Nell'iperplasia surrenalica inoltre si può avere un aumento del testosterone.

Meno frequente è l'uso di questo dosaggio negli uomini con acne severa, calvizie prematura e alcuni tumori.

Nello studio diagnostico dell'ipogonadismo secondario o terziario nell'uomo, è necessario conoscere altri dati oltre al livello del testosterone, per esempio le concentrazione di LH e effettuare alcuni test dinamici come già accennato.

Thyroxine binding globulin

La thyroxine binding globulin è la principale proteina di trasporto degli ormoni tiroidei nel sangue. I livelli circolanti di TBG aumentano in diverse condizioni quali la gravidanza, con l'assunzione di contraccettivi orali, di tamoxifene, nell'epatite infettiva acuta e nella cronica attiva, nella cirrosi biliare.

I livelli di TBG diminuiscono con l'assunzione di androgeni, in corso di trattamento a dosi elevate di glicocorticoidi in corso di epatopatie, di gravi malattie sistemiche.

Tireoglobulina

In pazienti affetti da carcinoma tiroideo viene secreta in circolo la tireoglobulina come in corso di altre patologie tiroidee. Pertanto il dosaggio delle concentrazioni sieriche della tireoglobulina non ha valore nella diagnosi iniziale del carcinoma tiroideo ma piuttosto nella valutazione della terapia e nel follow up della malattia. Livelli subnormali di tireoglobulina in pazienti con tireotossicosi insieme a valori ridotti di RAIU suggeriscono la presenza di tireotossicosi factitia.

T₄, T₃ e la captazione della T₃ (% della T₃ uptake)

Il dosaggio dei livelli sierici di T₃ e T₄ è il metodo più diretto per valutare il funzionamento della tiroide. E' necessario dosare entrambi gli ormoni poiché, sebbene la T₃ sia meno abbondante della T₄ ha un'attività superiore e la sua vita media più corta suggerisce che è il vero ormone, mentre la T₄ è un proormone dal quale si forma la T₃.

Il dosaggio della T_3 è inoltre indispensabile nella diagnosi di ipertiroidismo con aumento della sola T_3 (tirotossicosi da T_3).

A causa degli effetti delle proteine leganti (TBG, albumina) sugli ormoni tiroidei liberi, può essere utile determinare la percentuale della captazione di T_3 e a partire da questo dato, valutare l'indice con più precisione della T_4 libera sebbene oggi sia disponibile il dosaggio diretto della T_3 e della T_4 libera.

TSH (ormone stimolante la tiroide, tireotropina)

Il TSH è un'ormone ipofisario, che costituisce la chiave del funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroideo poiché i suoi livelli dipendono tanto dalla concentrazione della T_3 e della T_4 che regolano con un feed-back negativo l'ipofisi, quando dai livelli di TRH che la regola positivamente.

Nel caso di ipotiroidismo primario, i livelli di TSH sono elevati, mentre nell'ipotiroidismo secondario o terziario bassi.

Nell'ipertiroidismo i livelli di TSH sono estremamente bassi, a meno che la lesione non sia a livello ipotalamo o ipofisario, in tal caso, poco frequente, i livelli saranno elevati.

Il dosaggio del TSH nel neonato, al 5° giorno di vita, è il metodo migliore per l'individuazione dell'ipotiroidismo primario congenito, alterazione che se non viene diagnosticata nel neonato conduce a gravi disturbi dello sviluppo mentale e osseo (cretinismo). Una diagnosi fatta prima dei tre anni di vita, può prevenire in gran misura, sebbene non totalmente, le alterazioni. Dopo i tre mesi, il trattamento sostitutivo è meno efficace.

Per la diagnostica dell'ipotiroidismo secondario o terziario nel neonato, si deve dosare il T_4 neonatale, che serve per confermare anche i reperti patologici di TSH.

In alcuni casi si può far uso del test di stimolazione con TRH, anche se oggi è poco utile per valutare l'ipertiroidismo poiché è possibile disporre di metodi sufficientemente sensibili per quantificare valori bassi di TSH (dell'ordine di 00.2 mUI/ml).

Bibliografia

- Besanko, M. et al. Hormone assay, en: Sowing, B., Chan, C. (eds). In vitro fertilization Workshop Manual, Epworth-Monash University, USA, 1985.
- Blind, E. et al. Measurement of intact human parathyrin by an extracting two-site IRMA, Clin. Chem., 33: 1376-81, 1987.
- Böhler, U. et al. Two-site ILMA of intact human PTH in serum with use of a tracer peptide purified by reversed-HPLC, Clin. Chem., 35 (2): 215-222, 1989.
- Boscatto, L. Suart, M.C. Heterophilic antibodies: A problem for all I.A., Clin. Chem., 34 (1): 27, 1988.
- Deutsch, S., et al. The utility and selection of lab. tests in the diagnosis of the PCO Syndrome J. of reproductive medicine, 20 (5): 275, 1978.
- Ebersole, R.C., Chait, E.M. Clinical analysis. A perspective on chromatographic and Immunoassay technology, Anal. Chem., 53 (6): 682A-690A, 1981.
- Engvall, E. Enzyme I.A. ELISA and EMIT, en: Methods in Enzymology, 70: 419, 1980.
- Galen, R.S. Selection of appropriate laboratory tests, en: Young, D.S. et al. (eds) Clinician and Chemist, AACC, Washington, Ps. 69-105, 1979.
- Ganong William F. Fisiologia Medica. Octava Edición. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. México, D.F. 1982.
- Geitner, Allene M., May Bering, Nellie. RIA in the Clinical Laboratory, American Soc. for Medical Technology, 1977.
- Gerhard, I., Runnebaum, B. Predictive value of hormone determinations in the first half of pregnancy, Europ. J. Gynaec. reprod. Biol., 17: 1-17, 1984.
- Gillibrand, Dale et al; Chemistry reference values as a function of age and sex, including pediatric and geriatric subjects, en: Aging - Its Chemistry, Albert A. Dietz (ed), AACC, Washington, p. 366, 1979.
- Grasbeck. R., Fellman, J. Normal values and Statistics, Scand, J. of Clin and Lab. Investigation, 21: 193-195, 1968.
- Grasbeck, R., Solberg, H. E. Can reference values be properly used?, Clinical Chemistry, 27: 1795-96, 1981.
- Greten, H., Klapdor, R. New tumour - associated antigens, Georg. Thieme Verlag Stuttgart, 1986.
- Hunter, W. M., Greenwood, F.C. Preparation of I-131 labelled human growth hormone of high specific activity, Nature 194: 495, 1962.
- Knight, Joseph A. Alfa-feto-protein: its role in the prenatal diagnosis of congenital anomalies, Laboratory Medicine, 19 (4): 219-224, 1988.

- Kohler, G., Millstein, C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity *Nature*, 256: 495-97, 1975.
- Lahita, Robert G. *Systemic Lupus Erythematosus*, Wiley & Sons, New York, ed. 1987.
- Libertun, Carlos. *Radioinmunoanálisis - Fundamentos y aplicaciones*, López Libreros, Buenos Aires. (s-f).
- Lockitch, G. et al? age and sex-specific pediatric reference intervals, *Clinical Chemistry*, 34 (8): 1618-1629, 1988.
- Mann, Peter. Low values for C_3 in serum can be used in classifying SLE, *clin. Chem.*, 30 (5): 820, 1984.
- Mathur, R.S. Laboratory support for a program of in-vitro fertilization and embryo transfer, AACC Atlanta Meeting Presentatio, 1983.
- McConway, M.G. et al. How sensitive are IRMA assays for TSH? *Clin. Chem.* 35 (2): 289-291, 1989.
- Merck Sharp & Dohme internatione. *El Manual Merck*, Séptima edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A. México, D.F. 1986.
- Mikkelsen, S.L., Ash Owen, K. Adulterants causing false negatives in illicit drug testing, *Clin. Chem*; 34 (11): 2333-36, 1989.
- Mitchel, Malcolm S. (ed). *CEA. Clinical applications in breast cancer*, BMI-abbott, 1983.
- New, M.I. et al; An update of congenital adrenal hyperplasia, *Recent Prog. Horm. Res.* 37: 105-181, 1981.
- Organizacion Panamericana de la Salud. *El control de las Enfermedades Transmisibles en el Hombre. Informe Oficial de la Asociación americana de Salud Pública. Publicación Científica No. 507.* Washington, D.C. 1987.
- Pang, S. et al. Microfilter paper method for 17-alfa-hidroxy-progesterone RIA in congenital adrenal hyperplasia, *J. Clin. Endocrinol. Metab*; 45: 1003-1008, 1977.
- Parnham, A., Tarbit, I.F. "DELFLIA" and "AMERLITE": Two sensitive non-isotopic immunoassay systems fro assay of TSH compared *Clin. Chem.* 33 (8): 1421-24, 1987.
- Tan Eng, M. et al. The 1982 revised criteria for the classification of SLE, *Arthritis & Rheumatism*, 25 (11): 1271-77, 1982.
- Tanner, J.M. *En: Growth and Adolescence*, Blackwell Sci, Oxford, 1962.
- Tresguerres, J.A.F. *Diagnostico endocrinologico. Pruebas funcionales endocrinas*, Labor Universitaria, España, 1986.
- Wallace, D.J., Dubois, E.L. *Lupus erythematosus*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1987.
- Watson, R.A., Tang, D.B. The predictive value of PSA as a screening test for prostatic cancer, *N. England J. Med.*, 303: 497, 1980.
- Williams, Bryan L., Wilson, K. (eds). *Principles and Techniques of practical Biochemistry*, E. Arnold Pubs, Inglaterra, 1975.
- Yalow R.S., Berson, S.A. Assay of plasma insulin in human subject by immunologic methods *Nature*, 1984: 1648, 1959.

Zarate A., McGregor C. Beta-subunit HCG and the control of trophoblastic disease, *Seminars in Oncology*, 9-187, 1982.

Opere da consultare

Meites, Samuel, Editor, *Pediatric Clinical Chemistry Reference values*, AACC, Washington, 1989.

Rojas, William, *Inmunologia*, 7ª. edición, Medellin Colombia, C.I.B. 1988.

Hernandez, Luis R. *Biologia Molecular Integral*, Ed. Limusa, México, 1979.

Said el Shami, A., Merret, T.G., (Eds). *Allergy and Molecular Biology*, Pergamon Press, Inglaterra, 1988.

Velez, H. et al., (Eds.) *Endocrinologia*, CIN, Medellin, Colombia, 1988.

Fernandez Espina. C., *Inmunoanálisis cuantitativo: Técnicas y Métodos*, en: *Clinical Lab. I (2)*: 83-96, 1989.

Friedman, R.B., Young, D.S. *Effects of disease on Clinical Laboratory Tests*, AACC Press, Washington, 1989.

Ringraziamento

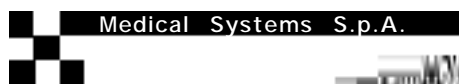
Si ringrazia il dottor Antonio Masala per la lettura critica del testo.

Indice

Istruzioni per gli Autori.....	pag. 2
Editoriale.....	» 3
Applicazioni degli esami immunologici in endocrinologia	» 5
Assi funzionali.....	» 7
Regolatori della secrezione ormonale	» 11
Effetto dei farmaci.....	» 12
Equilibrio emodinamico.....	» 12
Condizioni nutritive	» 12
Condizioni fisiche	» 13
Condizioni patologiche concomitanti speciali.....	» 13
Applicazioni del dosaggio immunologico in ginecologia e ostetricia	» 14
Studio dell'infertilità della donna.....	» 14
Dosaggi ormonali per i programmi di fecondazione assistita.....	» 15
Diagnosi e follow up della gravidanza	» 20
Individuazione delle malattie trofoblastiche gestazionali	» 22
Applicazioni nello studio dell'irsutismo	» 23
La diagnostica dell'ovaio policistico.....	» 24
Principali applicazioni in pediatria.....	» 25
Alfa-fetoproteina nelle alterazioni della formazione e chiusura del tubo neurale	» 25
17 -idrossiprogesterone nella diagnostica dell'iperplasia surrenalica congenita.....	» 27
Il TSH nella individuazione dell'ipotiroidismo congenito.....	» 30
Valutazione ormonale dei ritardi della crescita.....	» 32
Valutazione ormonale dei disturbi dello sviluppo sessuale.....	» 34
Marcatore tumorali	» 37
Alfa-feto-proteina (AFP)	» 37
Antigene carcinoembrionario (CEA)	» 40
PSA e PAP nel carcinoma prostatico.....	» 41
CA-15-3 nel carcinoma della mammella.....	» 42
CA-19-9 nel carcinoma pancreatico.....	» 43
CA-125 nel carcinoma dell'ovario.....	» 43
Le allergie.....	» 45
Anticorpi anti-DNA nelle malattie sistemiche del tessuto connettivo	» 50
Dosaggi immunologici delle droghe di abuso	» 52
Dosaggio dei farmaci e metaboliti con metodo immunologico	» 54
Applicazioni veterinarie	» 55
Prove dinamiche della funzione endocrina	» 57

Esplorazione funzionale della neuroipofisi	»	57
Esplorazione funzionale dell'adenoipofisi	»	58
Ormone della crescita	»	58
ACTH	»	61
Prolattina	»	62
Esplorazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroideo.....	»	63
Esplorazione funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadale	»	63
Test dinamici per valutare la funzione delle paratiroidi.....	»	65
Test di stimolazione per la calcitonina.....	»	66
Test di stimolazione per l'insulina.....	»	66
Test di stimolazione della gastrina.....	»	66
Applicazioni cliniche della determinazione dei principali analiti.....	»	78
L'adrenocorticotropina ipofisaria (ACTH)	»	78
Albumina (microalbuminuria).....	»	78
Aldosterone.....	»	79
Androstenedione.....	»	79
Calcitonina	»	79
CEA (antigene carcinoembriogenico)	»	80
Cortisolo	»	80
Deidroepiandrosterone e deidroepiandrosterone-solfato	»	81
Estradiolo	»	81
Estradiolo.....	»	81
Ferritina	»	82
FSH-ormone follicolo stimolante.....	»	82
Gastrina	»	83
Gonadotropina corionica umana (HCG)	»	83
L'ormone della crescita (GH; somatotropina ipofisaria)	»	84
IgE	»	84
Insulina.....	»	84
Luteotropina (LH; ormone luteotropo)	»	85
Progesterone	»	85
17-idrossi-progesterone.....	»	85
Prolattina.....	»	86
PSA (antigene prostatico specifico)	»	86
SHBG (globulina di trasporto degli ormoni sessuali).....	»	86
Testosterone totale e libero	»	87
Thyroxine Binding Globulin	»	87
Tireoglobulina	»	87
T4 e T3 e la captazione della T3 (% della T3 uptake)	»	87
TSH (ormone stimolante la tiroide, tireotropina).....	»	88
Bibliografia	»	89
Indice	»	92

Collana Caleidoscopio - Ed. Italiana



1. Rasso S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rasso S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rasso S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna, Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rasso S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I, Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rasso S.: *L'obesità*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali dell'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La -endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I, Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimoimmunologico ed fluoroimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rasso S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale*. Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche*. Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica*. Novembre '87.
31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali*. Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario*. Febbraio '88.
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress*. Marzo '88.

34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione in vitro*. Maggio '88.
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare*. Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2)*. Luglio '88.
37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia*. Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili*. Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie*. Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni*. Marzo '89.
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali*. Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina*. Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I*. Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica*. Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie*. Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio*. Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni opportunistiche in corso di AIDS*. Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriogonadotropina umana*. Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva*. Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari*. Agosto '90.
55. Rizzetto M.: *L'epatite non A non B (tipo C)*. Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I)*. Gennaio '91.
58. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II)*. Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti*. Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterina nella pratica clinica*. Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici*. Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: *Gli Oncogeni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni*. Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNA e la virulenza batterica*. Gennaio '92.
68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico*. Febbraio '92.
69. Rizzetto M.: *L'epatite Delta*. Marzo '92.
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali*. Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari*. Luglio '92.
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita*. Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.

76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa*. Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin*. Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. . Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow*. Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza*. Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Velez Osorio A.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio '94.



Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 12, numero 85

Direttore Responsabile

Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel.-Fax 079 270464

Responsabile Commerciale
Alessandra Pater



Consulenti di Redazione

Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione

Giovanna Nieddu
Letizia Cuccuru

Servizio Abbonamenti

Fina Grandeppieno
Flavio Damarciasi

Editore

Medical Systems S.p.A.



Via Rio Torbido, 40

16165 Genova (Italy)

Tel. (010) 83401 Numero Verde 167 801005 (senza prefisso);

Telex 270310 Ideal I.

Telefax (010) 809737- 809070.

La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Caleidoscopio -Ed. Spagnola-
Caleidoscopio letterario, Caleidoscopio letterario, Kaleidoscope - Engl. Ed.,- Pandora,
Tribuna Biologica e Medica, The Medical Systems Voice, Journal of Preventive Medicine
and Hygiene.

Stampa

ALGRAPHY S.n.C.

Passo Ponte Carrega, 62 R

Tel. 010 866272 - Fax 0108358069

Registrazione Tribunale di Sassari n. 189 del 6/11/84

Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Gennaio 1994

Sped. in Abb. Post. gr. III/70%

Publicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e
scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento
professionale continuo e riservata ai medici.

Associata all'USPI

Unione Stampa Periodica Italiana



Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:

"L'ECO DELLA STAMPA"

Via Compagnoni, 28 - Milano

SAGGIO FUORI COMMERCIO ESENTE IVA E BOLLA DI ACCOMPAGNAMENTO (Art. 4 - 3/8/6
DPR 627/78)