

Indicazioni per la misura delle principali proteine sieriche

Maria Stella Graziani¹, Anna Caldini², Umberto Basile³, Alberto Dolci⁴, Simona Ferraro⁴, Ilaria Ferrarotti⁵, Ilenia Infusino⁴, Maria Teresa Muratore⁷, Michele Mussap⁸, Laura Obici⁶, Paola Pezzati², Giuseppe Previtali⁹, Dominika Szóke⁴, Alessandro Terreni², Martina Zaninotto¹⁰, Giampaolo Merlini⁶ per il Gruppo di Studio SIBioC Proteine

¹Laboratorio Analisi Direzione Ospedaliera, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona

²Laboratorio Generale, Dipartimento Aziendale Integrato di Diagnostica Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

³Laboratorio di Immunologia, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Università Cattolica del Sacro Cuore, Facoltà di Medicina, Policlinico "A. Gemelli", Roma

⁴Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera "Luigi Sacco", Milano

⁵Centro di Riferimento per la Diagnosi del Deficit Ereditario di α_1 -Antitripsina, Laboratorio di Biochimica e Genetica, e ⁶Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Laboratorio di Biotecnologie e Tecnologie Biomediche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia

⁷Laboratorio di Analisi, Ospedale Belcolle, Azienda Unità Sanitaria Locale, Viterbo

⁸Laboratorio Analisi Centrale, Azienda Ospedaliero-Universitaria S. Martino, Genova

⁹Dipartimento di Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero di Fidenza, Azienda Unità Sanitaria Locale di Parma

¹⁰Servizio Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università degli Studi, Padova

ABSTRACT

Recommendations for the measurement of the most important plasma proteins. This document, prepared on behalf of the SIBioC Protein Working Group, reviews the existing evidence for recommending the measurement of the most important plasma proteins. For each protein, the related chapter includes: a) a brief introduction describing main biological characteristics, b) the presentation of the available evidence, based on retrieved meta-analyses, systematic reviews, and international and national guidelines, and c) recommendations for the test ordering. The scientific evidence was searched on electronic databases (Medline, Cochrane's database of systematic reviews) and on the websites of scientific societies. Recommendations were classified on the basis of the source of the retrieved evidence as follows: (+++) official National or International guidelines, (++) meta-analyses or systematic reviews, (±) expert opinions and/or clinical practice, and (–) none (not recommended). The following proteins were considered in the paper: albumin, α_1 -antitrypsin, α_1 -acid glycoprotein, α_2 -macroglobulin, haptoglobin, β_2 -microglobulin, C-reactive protein (both as marker of inflammation and cardiovascular risk), ceruloplasmin, cystatin C, complement factors, rheumatoid factor, ferritin, immunoglobulins (IgA, IgG, IgM, IgD), free light chains, retinol binding protein, soluble transferrin receptor, serum amyloid A, transferrin, and transthyretin.

INTRODUZIONE

L'appropriatezza della richiesta degli esami è l'elemento cardine attorno al quale ruota l'efficienza e l'efficacia dei Servizi di Medicina di Laboratorio al fine di orientare l'utilizzo delle risorse disponibili verso il migliore esito per il paziente. Nella fattispecie, il Gruppo di Studio Proteine SIBioC ha da sempre ritenuto di dover

affrontare l'argomento con documenti specifici, che includessero indicazioni per la richiesta fortemente basate sulle prove di efficacia disponibili. Questo documento sull'appropriatezza della richiesta della misurazione delle principali proteine plasmatiche fa seguito a quello relativo alle indicazioni per la richiesta di elettroforesi sieroproteica pubblicato qualche anno fa (*Biochim Clin* 2008;32:48-51) e prende in considerazione

Corrispondenza a: Maria Stella Graziani, Laboratorio Analisi, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Piazzale Stefani 1, 37126 Verona. Tel. 0458122155, Fax 0458122970, E-mail mariastella.graziani@ospedaleuniverona.it

Ricevuto: 26.04.2012

Accettato: 04.05.2012

il dosaggio delle proteine con le quali il laboratorio si confronta più frequentemente. Per ogni proteina è presentata una scheda suddivisa in tre sezioni: a) una breve introduzione, che descrive struttura e funzione della proteina, b) la presentazione delle evidenze scientifiche disponibili in letteratura, scelte tra quelle più robuste (raccomandazioni nazionali o internazionali, metanalisi, rassegne sistematiche) e c) le indicazioni per la richiesta dell'esame, derivate dalle evidenze presentate.

METODOLOGIA

Al fine di raccogliere e selezionare le evidenze scientifiche disponibili era eseguita una ricerca su "database" elettronici (Medline, Cochrane's database of systematic reviews) e sui siti internet delle società scientifiche. La ricerca era effettuata con selezione della lingua (italiano e inglese), nessuna restrizione di data, nessuna ricerca sistematica sulla letteratura grigia e nessuna ricerca manuale sulle riviste non indicizzate.

La classificazione delle indicazioni per la richiesta dell'esame era organizzata come segue:

- +++ indicazione basata su evidenze robuste ricavate da linee guida e/o raccomandazioni emanate da società scientifiche e/o gruppi di lavoro internazionali o nazionali;
- ++ indicazione basata su evidenze forti ricavate da revisioni sistematiche e/o metanalisi;
- + indicazione basata su evidenze deboli, derivate da studi singoli concordanti;
- ± indicazione non basata sull'evidenza, ma ricavata da studi singoli, oppure derivata dalla pratica clinica su principi fisiopatologici;
- indicazione sconsigliata.

ALBUMINA

L'albumina (ALB) è una proteina non glicosilata con un PM di circa 66 kDa, sintetizzata dagli epatociti e rilasciata in circolo attraverso la vena epatica. Il fegato produce circa 0,15-0,25 g/kg peso corporeo/giorno di ALB, corrispondenti a circa il 12%-20% della capacità protidosintetica del fegato. Le principali funzioni di ALB sono il mantenimento della pressione colloidosmotica, il legame e il trasporto di numerose sostanze endogene e esogene (ioni metallici, bilirubina, acidi grassi liberi, amminoacidi, ormoni steroidei e tiroidei, farmaci), il garantire una riserva di amminoacidi per la sintesi proteica e un'azione antiossidante. La sintesi di ALB può diminuire a causa di un aumento della pressione oncotica nel fluido extracellulare del fegato o di una diminuita disponibilità di amminoacidi. Inoltre ALB è una proteina di fase acuta negativa, in quanto la sua sintesi viene "down"-regolata dalla interleuchina 6 (IL-6). Viceversa, la tiroxina, gli ormoni glucocorticoidi e gli steroidi anabolizzanti hanno un effetto positivo sulla sua sintesi (1).

Evidenze disponibili

La misurazione dell'ALB sierica è impiegata nella pratica clinica per la valutazione degli stati disprotidemici, ma va tenuto presente che l'unica variazione clinicamente significativa è la sua diminuzione; la sua concentrazione plasmatica può aumentare infatti solo per emoconcentrazione. L'ipoalbuminemia può essere dovuta alle seguenti cause:

1. diminuita sintesi (disfunzione epatica o dieta povera di proteine),
2. alterata distribuzione tra il compartimento ematico e gli spazi extravascolari a causa di un aumento della permeabilità capillare in caso di shock settico e dopo interventi di chirurgia maggiore,
3. perdita nel "terzo spazio" in seguito a edema o ascite,
4. perdita verso l'esterno, come nella sindrome nefrosica, ustioni o enteropatia essudativa,
5. processo infiammatorio, dove la sintesi di ALB è "down"-regolata in favore delle proteine della fase acuta,
6. gravidanza, per aumento del volume plasmatico di ~40%,
7. nei disordini congeniti della sintesi albuminica.

L'importanza della misurazione di ALB per la valutazione dello stato nutrizionale sembra negli ultimi anni essere stata ridimensionata. L'unica condizione di malnutrizione associabile a ipoalbuminemia sembra essere il kwashiorkor o marasma, condizione raramente osservata nel mondo occidentale. Questa ipoalbuminemia potrebbe peraltro essere causata dagli stati infiammatori sottostanti piuttosto che dalla malnutrizione stessa. Occorre sottolineare che l'emivita plasmatica di ALB è di ~19 giorni, cosa che rende la proteina un marcatore scarsamente efficiente dello stato nutrizionale, in quanto essa non può rapidamente riflettere un'eventuale diminuzione della sintesi epatica dovuta a uno scarso apporto proteico. Inoltre, come già detto, le concentrazioni circolanti di ALB sono estremamente influenzate dai processi flogistici (2, 3).

Per quanto riguarda l'utilizzo di ALB per la valutazione della funzionalità epatica in corso di danno epatico, così come per la valutazione della perdita proteica (sindrome nefrosica, ustioni, edema, ascite, enteropatia essudativa, shock settico), le evidenze disponibili in letteratura sono scarse e tutt'altro che recenti (4).

L'ALB umana è il farmaco più usato per correggere l'ipoalbuminemia e per trattare l'ipovolemia nei pazienti critici. La determinazione della sua concentrazione plasmatica è quindi richiesta per guidare la terapia sostitutiva (5). Va però sottolineato che un'autorevole, anche se non recentissima, revisione sistematica ha dimostrato la mancanza di evidenze a favore della terapia con ALB in termini di riduzione della mortalità nei pazienti ipovolemici, negli ustionati e nei pazienti critici ipoalbuminemici, suggerendo l'uso delle più economiche soluzioni saline (6). Le raccomandazioni della Società

Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia (SIMTI) elencano una serie di condizioni nelle quali è indicato il trattamento con ALB umana, suggerendo la misura dell'ALB plasmatica per l'istituzione e il monitoraggio della terapia (5).

La concentrazione plasmatica di ALB è un riconosciuto fattore di mortalità e morbilità nei pazienti dializzati e la sua misura periodica è raccomandata nei pazienti emodializzati (7).

Le evidenze più forti riguardano l'uso della misura di ALB nei pazienti con mieloma multiplo: infatti, ALB, insieme alla β_2 -microglobulina (B2M), rappresenta un fattore prognostico raccomandato dalle linee guida internazionali per la stadiazione dei pazienti con mieloma multiplo (8, 9).

Recenti metanalisi sembrano attribuire ad ALB un ruolo di marcatore, indipendente e clinicamente significativo, di danno renale acuto (AKI) e di prognosi infausta in seguito ad AKI (10).

Indicazioni per la richiesta

- Nei pazienti emodializzati quale fattore di adeguatezza terapeutica (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Nei pazienti con mieloma multiplo per la stadiazione della malattia (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Nei pazienti candidati alla terapia sostitutiva con ALB umana per il calcolo della dose di ALB da somministrare e per il monitoraggio della terapia (*Classificazione dell'indicazione: ++*).
- Quale fattore di rischio per AKI e di prognosi infausta dopo AKI (*Classificazione dell'indicazione: ++*).
- Scarsamente sostenute da evidenze, ma utilizzate nella pratica clinica, per la valutazione della funzionalità epatica e la valutazione della perdita proteica (*Classificazione dell'indicazione: ±*).

α_1 -ANTITRIPSINA

L' α_1 -antitripsina (AAT) è una glicoproteina monomerica che appartiene alla famiglia delle serpine ("SERine Protease INhibitor"). Il gene codificante (SERPINA1 o PI-"Protease Inhibitor") ha una dimensione di 12,2 kb, è situato sul cromosoma 14 in posizione q31-q32,3 ed è organizzato in sette esoni, 4 dei quali codificanti (II, III, IV, V) e 3 non codificanti (Ia, Ib, Ic). La proteina codificata comprende 394 amminoacidi, con il sito attivo localizzato in metionina 358-serina 359. Essendo una serpina, AAT inibisce una serie di

serinproteasi, ma il bersaglio principale è l'elastasi neutrofila (NE), un enzima rilasciato dai neutrofili, responsabile della proteolisi di molti componenti della matrice extracellulare, tra cui l'elastina. Quando i neutrofili vengono attivati, NE viene rilasciata nel tessuto polmonare, dove, se non inibita, svolge l'azione proteolitica. Le concentrazioni plasmatiche fisiologiche di AAT (>1 g/L) sono sufficienti per proteggere il tessuto polmonare dall'attacco di NE, grazie all'interazione tra i siti attivi delle due proteine che ne determina l'inattivazione (interazione suicida) (11).

Evidenze disponibili

Il deficit di AAT (AATD) è un disordine autosomico recessivo, che aumenta il rischio di sviluppare alcune patologie tra le quali, di maggior rilievo sociale, quella polmonare (broncopneumopatia cronica ostruttiva, enfisema) e quella epatica (cirrosi, carcinoma epatico). La patogenesi del AATD è direttamente correlata alle mutazioni del gene SERPINA1, che è altamente polimorfico. Sono state, infatti, identificate più di 120 varianti genetiche strettamente associate a specifiche concentrazioni plasmatiche della proteina, che vengono così ereditate in maniera codominante. Per ragioni cliniche, le varianti di AAT sono state classificate in tre gruppi principali: varianti normali (caratterizzate da concentrazioni plasmatiche di AAT entro i limiti di riferimento della popolazione generale), varianti deficitarie (caratterizzate da ridotte concentrazioni plasmatiche di AAT e associate a un aumentato rischio di sviluppo di patologie polmonari ed epatiche), varianti "null" (indicate come Q0, caratterizzate da concentrazioni plasmatiche di AAT non misurabili e associate a un forte rischio di enfisema). In linea generale, i soggetti con concentrazioni di AAT <0,5 g/L vengono definiti come affetti da carenza severa di AAT e, in genere, sono rispettivamente omozigoti o eterozigoti composti da uno o due alleli deficitari/"null". Soggetti con concentrazioni superiori, ma che non superano il limite inferiore di riferimento (1 g/L)¹ (12), sono definiti come affetti da carenza intermedia di AAT e sono in genere portatori in eterozigosi di un allele deficitario "null". Il parametro più importante per la verifica di AATD, e in particolare della presenza del rischio di un danno polmonare, è la misura della concentrazione plasmatica della proteina (esame quantitativo). Tuttavia, la caratterizzazione accurata degli alleli deficitari di cui i pazienti AATD sono portatori (esame qualitativo) può

¹Nella popolazione generale, il reperto occasionale di una concentrazione plasmatica di AAT <1 g/L con misura immunometrica, valore modificato rispetto a quanto precedentemente riportato (13) dopo un importante lavoro di standardizzazione, rende necessaria una conferma del dato tramite esami quantitativi e qualitativi presso laboratori specialistici. Il reperto occasionale di un'eterozigosi di AAT o dell'assenza del picco delle α_1 -globuline nell'elettroforesi sieroproteica oppure ancora una percentuale della zona α_1 inferiore ai valori di riferimento devono essere seguiti dalla misura immunometrica di AAT sul campione. Se la concentrazione plasmatica di AAT risulta inferiore al limite inferiore di riferimento, si rende necessario un approfondimento diagnostico con esami qualitativi presso laboratori specialistici. Dal momento che AAT è una proteina di fase acuta è consigliabile misurare contemporaneamente un marcatore di fase acuta, come la proteina C reattiva, per escludere un aumento di AAT legato a un fenomeno infiammatorio in corso, che possa mascherare la presenza di un eventuale deficit. Si ricorda infine che gravi deficit di sintesi epatica possono essere la causa di diminuite concentrazioni plasmatiche di AAT (14, 15).

facilitare la valutazione del rischio di patologia epatica: ad es., gli alleli "null" non rappresentano un indice del rischio dello sviluppo di un'epatopatia e depongono per un quadro di enfisema più grave, mentre l'identificazione degli alleli associati con la polimerizzazione di AAT (come Z o M_{malton}) potrebbe indicare la necessità di un'accurata indagine epatica (14, 16).

Indicazioni per la richiesta

Le condizioni in cui è ragionevole il sospetto di deficit di AAT e che quindi richiedono l'esecuzione di esami quantitativi e qualitativi sono i seguenti (*Classificazione dell'indicazione: +++*):

- enfisema precoce (età <45 anni),
- enfisema in assenza di fattori di rischio riconosciuti (fumo, esposizione occupazionale a polveri),
- enfisema con prominente iperdiafania radiologica alle basi polmonari,
- epatopatia non altrimenti spiegabile, in età pediatrica e nell'adulto,
- panniculite necrotizzante,
- vasculite C-ANCA,
- storia familiare di almeno uno tra enfisema, bronchiectasie, epatopatia non altrimenti spiegabile, panniculite,
- bronchiectasie senza eziologia evidente,
- familiari di primo grado di un paziente con AATD accertato.

α_1 -GLICOPROTEINA ACIDA

L' α_1 -glicoproteina acida (AGP) è una glicoproteina alla cui catena peptidica è legata una catena oligosaccaridica (glicano) con un legame amminoglicosidico fra N-acetilglucosamina (GlcNAc) e un amminogruppo di asparagina. La struttura del polisaccaride può essere di/tri/tetra antennare, in base al numero dei glicani presenti. Il PM è di 41-43 kDa con una notevolissima presenza di carboidrati (45%) e numerosi residui di acido sialico (10%-12%), che conferiscono alla molecola una carica negativa con pI compreso fra 2,7 e 3,2. Le differenti forme di AGP presenti nel plasma dipendono dalle varie combinazioni del legame fra i glicani e i 5 possibili siti di glicosilazione della proteina e dalle sostituzioni amminoacidiche (17). Un significativo incremento delle glicoforme di-antennari, come pure un aumentato grado di 3-fucosilazione (fucosio in posizione terminale), avvengono nelle prime fasi dell'infiammazione, senza che si sia giunti a dimostrare per esse un'importanza diagnostica (17).

AGP è sintetizzata prevalentemente negli epatociti, ma sono note anche sedi di sintesi extraepatiche. AGP è una proteina della fase acuta e sono state fatte alcune ipotesi sulle sue proprietà anti-infiammatorie, immunomodulatrici e di trasporto, anche se la sua funzione biologica non è stata del tutto chiarita. La sintesi di AGP a livello epatico è indotta da interleuchina 1 β , IL-6 e fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α), mentre l'ormone della crescita ne inibisce l'espressione. AGP

aumenta nel plasma dopo 24 ore dallo stimolo flogistico, raggiungendo un picco massimo dopo 72-92 ore, con un tempo di dimezzamento di ~5 giorni.

Evidenze disponibili

Allo stato delle attuali conoscenze non sono disponibili evidenze che giustifichino la determinazione di AGP.

Indicazioni per la richiesta

Le caratteristiche biologiche di AGP (proteina di fase acuta intermedia tra proteina precoce e tardiva), unite alla mancanza di evidenze, depongono per una scarsa utilità della sua misurazione (*Classificazione dell'indicazione: -*).

α_2 -MACROGLOBULINA

L' α_2 -macroglobulina (AMG) è una grande glicoproteina plasmatica di sintesi epatica, composta da 4 subunità identiche (ciascuna di 182 kDa) legate fra loro da ponti disolfuro; essa costituisce la proteina predominante della zona α_2 -globulinica dell'elettroforesi sieroproteica. A causa delle sue proprietà proteasiche aspecifiche, AMG svolge un ruolo chiave fra i sistemi enzimatici coagulativi, fibrinolitici e callicreïnici, inibendo la coagulazione attraverso la trombina e la fibrinolisi con azione sulla plasmina e callicreina. E' stato descritto anche un suo ruolo nel sistema immunitario (18).

Il gene che codifica per AMG è situato sul braccio corto del cromosoma 12 in posizione 13.31. Una variante comune, che riguarda il 29,5% della popolazione (α_2 -M2) presenta una delezione nella regione "esca", che conferisce un incremento del rischio per la malattia di Alzheimer (19).

Le concentrazioni plasmatiche di AMG sono relativamente aumentate nella sindrome nefrosica, una condizione in cui il rene incomincia a perdere proteine a basso PM trattenendo quelle a maggior PM, ma anche in assoluto per un incremento della sintesi compensatoria.

AMG diminuisce in maniera significativa in corso di terapia fibrinolitica con urokinasi o streptokinasi, dove si ha l'attivazione del plasminogeno. Più recentemente, è stata proposta come biomarcatore di fibrosi epatica, essendo prodotta, oltre che dagli epatociti, dalle cellule epatiche stellate, che sono principalmente coinvolte nella fibrosi (20).

Evidenze disponibili

Nonostante il ruolo chiave fisiologico nei sistemi enzimatici coagulativi e fibrinolitici, non esistono evidenze disponibili sull'utilità della determinazione di AMG.

Indicazioni per la richiesta

Sebbene non siano disponibili evidenze definitive, esistono alcune segnalazioni relative a un'utilità di AMG

come biomarcatore di fibrosi epatica (*Classificazione dell'indicazione*: $\pm$).

APTOGLOBINA

L'aptoglobina (APT) è una glicoproteina sintetizzata nel fegato e composta da 4 catene polipeptidiche: due catene leggere α e due catene pesanti β . Da un punto di vista genetico esistono due alleli APT (Hp1 e Hp2), che codificano tre fenotipi strutturalmente distinti (Hp1-1, Hp2-1 e Hp2-2). Hp1-1 è il tipo più frequente in Nigeria, nel Sud e Centro America, il tipo Hp2-2 è dominante in Asia, mentre Hp2-1 prevale nell'Europa Centrale (21).

Da un punto di vista fisiopatologico, APT svolge un'azione antiossidante e di "scavenger" per l'emoglobina libera, rilasciata in seguito al "turnover" eritrocitario fisiologico o in seguito a processi emolitici. La concentrazione plasmatica di APT si riduce rapidamente nel caso di un'emolisi intravasale, dato che l'emivita del complesso APT-emoglobina è di soli 8 min (21). D'altra parte, la sintesi di APT nelle cellule epatiche aumenta per stimolo delle citochine proinfiammatorie, in associazione con reazioni di infiammazione, infezioni e disordini autoimmuni (21).

Evidenze disponibili

Anche se non esistono evidenze strutturate, la misura di APT è considerata un indice affidabile di emolisi intravascolare. Tuttavia, è necessario tener presente che esistono alcune limitazioni al suo utilizzo. Per quando riguarda l'interpretazione del dato, bisogna considerare che l'esistenza di sottotipi di APT renderebbe necessario stabilire intervalli di riferimento popolazione-dipendenti. Questo comporta che, senza fenotipizzazione elettroforetica e utilizzo di intervalli di riferimento fenotipo-specifici, non è possibile riconoscere un'emolisi cronica lieve o stabilire il grado di severità di una reazione emolitica (21). Da un punto di vista clinico, occorre tener presente che, anche se concentrazioni molto basse di APT possiedono un elevato potere predittivo di emolisi intravasale, valori elevati si possono riscontrare in corso di una risposta di fase acuta. Di conseguenza, anche in presenza di emolisi, si possono avere concentrazioni di APT nei limiti fisiologici se la sintesi di APT come proteina di fase acuta è aumentata (22, 23). Considerato che APT è una proteina di fase acuta, per una corretta valutazione delle sue concentrazioni plasmatiche, la sua misura dovrebbe essere accompagnata da quella della proteina C reattiva

(PCR), come riportato nella Tabella 1. Dato che anche una emolisi di grado lieve è sufficiente a saturare le concentrazioni fisiologiche di APT e a compensare gli eventuali incrementi dovuti alla flogosi, in caso di sospetto clinico è opportuno valutare la condizione associando la misura di lattato deidrogenasi (LDH) e bilirubina. Le concentrazioni di APT dell'adulto vengono raggiunte solo alla fine del primo anno di vita e quindi l'età è un altro parametro da considerare nella valutazione delle concentrazioni di APT quando queste siano impiegate per la diagnosi di malattia emolitica.

Relativamente al monitoraggio dell'emolisi intravasale, poiché basta un'emolisi aggiuntiva giornaliera del 1% del sangue (o una totale del 2%, considerando la rigenerazione fisiologica del sangue) per saturare tutta l'APT circolante, e considerata la breve emivita del complesso APT-emoglobina, la misura di APT risulta poco utile. Nel monitoraggio delle condizioni croniche potrebbe avere un ruolo la misura dell'emopessina. Nel monitoraggio delle anemie emolitiche croniche, finché le concentrazioni di APT non rientrano nell'intervallo di misura, l'entità dell'emolisi è meglio valutata dalla determinazione di LDH e bilirubina.

La concentrazione di APT si riduce in presenza di emolisi di tipo immunoemolitico, microangiopatico, meccanico (trapianto valvola cardiaca), causata da assunzione di farmaci (deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi) e di origine infettiva (malaria) (22, 23). Una diminuzione della concentrazione plasmatica di APT si osserva anche in corso di malattie epatiche acute e croniche per diminuita sintesi, sindrome da malassorbimento e deficit o diminuzione congenita di APT (30% dei neri africani in Nigeria, 1 su 1000 tra i Caucasic) (21).

Indicazioni per la richiesta

- Diagnosi differenziale delle anemie (emolitiche vs. non emolitiche): sensibilità e specificità della misura di APT sono rispettivamente 83% e 97% (valore decisionale: 0,2 g/L) (24) (*Classificazione dell'indicazione*: $\pm$).

β_2 -MICROGLOBULINA

La B2M umana è una proteina di basso PM (12 kDa); appartiene al sistema maggiore di istocompatibilità di classe I (MHC I o antigene di classe I), costituito da glicoproteine espresse sulla superficie di gran parte delle cellule nucleate (25). I linfociti B presentano elevate

Tabella 1

Interpretazione delle concentrazioni plasmatiche di aptoglobina in rapporto alle concentrazioni di proteina C reattiva

Aptoglobina	Proteina C reattiva	Interpretazione
Diminuita	Invariata	Reazione emolitica
Diminuita	Aumentata	Fase infiammatoria acuta, reazione emolitica
Aumentata	Aumentata	Fase infiammatoria acuta, emolisi lieve non escludibile
Invariata	Aumentata	Fase infiammatoria acuta, emolisi lieve non escludibile
Invariata	Invariata	Assenza di emolisi e di fase infiammatoria acuta

concentrazioni di MHC I; la forma solubile della molecola, presente in circolo, rappresenta il "turnover" delle cellule che esprimono MHC I. B2M passa il filtro glomerulare ed è riassorbita per oltre il 99% dal tubulo contorto prossimale. Pertanto, nel soggetto sano la proteina è presente nell'urina in tracce. La concentrazione plasmatica di B2M dipende sia dal "turnover" dei linfociti B che dalla velocità di filtrazione glomerulare, poiché il catabolismo della proteina è quasi interamente renale. Nel paziente uremico con insufficienza renale terminale, B2M si accumula in circolo e tende a formare depositi di sostanza fibrillare (amiloidi) nei tessuti dopo ~8 anni dall'inizio del trattamento dialitico. Quest'ultimo amplifica le proprietà amiloidosiche della proteina, causando amiloidosi secondaria a dialisi.

Evidenze disponibili

L'importanza del parametro nelle discrasie plasmacellulari è dovuta al fatto che B2M riflette a un tempo la massa tumorale e la funzionalità renale. Le evidenze più significative sono presenti nelle raccomandazioni di consenso del "International Myeloma Working Group". B2M è un parametro raccomandato nella valutazione iniziale del paziente con gammopatia monoclonale a rischio intermedio o elevato (con componente monoclonale IgA, IgM o IgG >15 g/L) (26). E' anche uno dei parametri utilizzati nel "International Staging System" per il mieloma multiplo (8, 9, 27).

B2M è inserita negli indici prognostici composti per alcuni tipi di linfoma (28, 29).

Le linee guida europee sulla pratica emodialitica raccomandano la misura di B2M al fine di valutare l'efficienza della emodialisi nella rimozione delle molecole a medio PM (7). Esistono, infine, singole segnalazioni relative all'utilità della misura di B2M quale indice di attività di malattia in alcune patologie autoimmuni e virali (30, 31). Non esistono evidenze significative relative all'utilizzo di B2M per la diagnosi o il monitoraggio della insufficienza renale.

Indicazioni per la richiesta

- Relativamente alle discrasie plasmacellulari, la misura di B2M trova indicazione nella valutazione iniziale del paziente con gammopatia monoclonale a rischio intermedio o elevato di progressione per mieloma multiplo o malattia di Waldenström (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- La determinazione di B2M è indicata in tutti i pazienti con diagnosi di mieloma multiplo per la stadiazione della malattia (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- La misura di B2M è indicata quale indice prognostico nei pazienti con linfoma (*Classificazione dell'indicazione: +*).
- La determinazione di B2M è appropriata nei pazienti emodializzati per la verifica dell'efficienza della rimozione dal circolo delle sostanze a PM intermedio. Non esiste un consenso sulla frequenza ottimale di tale

misurazione: nella pratica clinica è di solito eseguita annualmente (*Classificazione dell'indicazione: +++*).

- La determinazione della B2M nell'urina è fortemente sconsigliata a causa della rapida degradazione della proteina a pH acido sia in vivo (in vescica) che in vitro (nel contenitore di raccolta) (32) (*Classificazione dell'indicazione: -*).

CATENE LEGGERE LIBERE

Durante la sintesi delle immunoglobuline, le plasmacellule producono un lieve eccesso di catene leggere rispetto alle catene pesanti; queste proteine, che non sono utilizzate per assemblare la immunoglobulina intera, vengono denominate catene leggere libere (FLC). L'emivita è di 2-4 ore per le FLC κ e di 3-6 ore per le FLC λ , che nel siero sono presenti come dimeri; la breve emivita è dovuta al fatto che esse vengono liberamente filtrate dal glomerulo a causa delle loro piccole dimensioni. La diversa velocità di filtrazione renale comporta che, anche se la sintesi è a favore delle FLC κ , nel siero la concentrazione delle FLC λ è più elevata. Un aumento della concentrazione plasmatica delle FLC può essere dovuto a diverse situazioni cliniche, quali depressione o stimolazione immunitaria, insufficienza renale o discrasie plasmacellulari. Ad eccezione di quest'ultima condizione, tuttavia, il rapporto tra FLC κ e FLC λ rimane inalterato. Un rapporto alterato a favore di una delle due FLC si osserva in presenza di disordini linfoproliferativi. Una decina di anni fa è stato introdotto un saggio immunometrico per la misura delle FLC nel siero che, utilizzando anticorpi contro gli epitopi nascosti nella immunoglobulina intera, è in grado di misurare le sole FLC (33, 34). Questo metodo non è in grado di distinguere tra FLC policlonali e monoclonali; tuttavia, come detto poco sopra, un alterato rapporto κ/λ depone per una proliferazione linfo-plasmacellulare monoclonale (33, 34). Gli intervalli di riferimento e i livelli decisionali delle FLC sono riportati nella Tabella 2 (33).

Tabella 2

Limiti di riferimento e livelli decisionali per le catene leggere libere (FLC). Modificato da rif. 33

	Limiti di riferimento	Livelli decisionali ^a
FLC κ , mg/L	3,3-19,4	-
FLC λ , mg/L	5,7-26,3	-
Rapporto κ/λ	0,3-1,2	<0,26; >1,65

^aDa utilizzare nella diagnostica dei disordini linfoproliferativi.

Le raccomandazioni riportate nel testo, come pure gli intervalli di riferimento e i livelli decisionali riportati nella Tabella sono stati ottenuti utilizzando il metodo *Freelite Binding Site*, l'unico commercialmente disponibile fino a poco tempo fa. Recentemente, è stato introdotto un nuovo metodo (*N Latex FLC*, Siemens) (35). Tuttavia, considerata la mancanza di un sistema internazionale di riferimento per la determinazione delle FLC, le evidenze cliniche finora disponibili non sono automaticamente trasferibili al nuovo metodo (36).

Evidenze disponibili

Le linee guida per l'utilizzo clinico delle FLC sono state pubblicate nel 2009 dal "International Myeloma Working Group" (37). Queste raccomandazioni sono basate sulle corpose evidenze disponibili e sono anche state riprese nelle diverse raccomandazioni sulla gestione del paziente con gammopatia monoclonale, pubblicate successivamente (26, 38, 39).

Relativamente alla misura di FLC per la valutazione dell'efficacia della loro rimozione mediante trattamento dialitico, non esistono raccomandazioni, né posizioni di consenso, ma la procedura è stata riconosciuta utile in uno studio clinico (40).

Indicazioni per la richiesta

- Diagnosi: impiegata insieme all'elettroforesi sieroproteica e all'immunofissazione del siero, la misura di FLC è sufficiente per rilevare una discrasia plasmacellulare monoclonale diversa dalla amiloidosi AL, che richiede sempre anche la ricerca della componente monoclonale sulle urine. Una volta che la diagnosi è stata posta, la ricerca sulle urine va eseguita su tutti i pazienti (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Prognosi: la misura di FLC ha dimostrato di possedere un rilevante valore prognostico e dovrebbe quindi essere eseguita alla diagnosi in tutti i pazienti con gammopatia di incerto significato (MGUS), mieloma indolente, mieloma multiplo, plasmocitoma solitario e amiloidosi AL. Una componente monoclonale <15 g/L, l'isotipo IgG e un rapporto FLC κ/λ non alterato identificano i pazienti con MGUS a basso rischio di progressione verso il mieloma multiplo, la macroglobulinemia di Waldenström o l'amiloidosi AL (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Monitoraggio terapeutico: nei pazienti con amiloidosi AL e con mieloma multiplo oligosecerno, la misura di FLC è adeguata per valutare nel tempo la risposta alla terapia. In tutti i pazienti che hanno ottenuto una risposta completa, la misura di FLC serve a determinare il raggiungimento di una "stringent complete response" (41) (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Rene da mieloma: la misura di FLC si è rivelata utile nella verifica dell'efficacia della rimozione di FLC mediante emodialisi nei pazienti con mieloma multiplo e grave insufficienza renale (*Classificazione dell'indicazione: +*).
- La misura delle FLC nelle urine non è raccomandata (*Classificazione dell'indicazione: -*).

CERULOPLASMINA

La ceruloplasmina (CER) è una glicoproteina composta da una singola catena polipeptidica di 1046 amminoacidi con un PM di ~132 kDa, che presenta diverse isoforme in base ai carboidrati legati. Il gene del polipeptide CER si trova sul cromosoma 3q25-q24 e contiene 20 esoni codificanti (42). La CER è un enzima che ossida il rame, prodotto nel fegato; essa migra

all'elettroforesi delle sieroproteine nella zona α_2 -globulinica. CER lega circa il 95% del rame circolante e lo trasporta ai tessuti. In circolo sono presenti due forme: l'oloceruloplasmina, legante 6 atomi di rame per molecola, e l'apoceruloplasmina, che non ha atomi di rame legati. CER agisce sulla regolazione dello stato degli ioni del ferro (Fe) e di altri ioni metallici e attraverso la sua attività Fe-ossidasi ossida il Fe⁺⁺ a Fe⁺⁺⁺. CER esercita un'azione antiossidante inibendo l'ossidazione catalizzata dagli ioni metallici sui lipidi di membrana. Negli adulti sani il 10% della CER circolante si trova come apoproteina, che è rapidamente catabolizzata con un'emivita di 5 ore (43).

Evidenze disponibili

Diminuzioni clinicamente significative della concentrazione plasmatica di CER sono presenti nel difetto di sintesi ereditario, peraltro molto raro, o nei deficit secondari, quali quelli riscontrati nella malattia di Wilson, nella sindrome di Menkes e nelle diete povere di rame. Essendo la CER una proteina di fase acuta, concentrazioni fisiologiche di CER si possono, tuttavia, osservare in concomitanza di stati infiammatori e infezioni. Inoltre, la sintesi della proteina è estrogeno-dipendente e quindi concentrazioni elevate di CER si trovano in gravidanza e in corso di somministrazione di estrogeni in menopausa, rendendo la specificità diagnostica di questo esame piuttosto bassa e non consentendo di utilizzare la misura di questa proteina come esame di screening nelle patologie sopra riportate.

Le linee guida pubblicate nel 2008 per la diagnosi e il trattamento della malattia di Wilson (un difetto autosomico recessivo del metabolismo del rame) indicano valori di CER <0,05 g/L come fortemente indicativi per la diagnosi di malattia, mentre valori lievemente al di sotto dell'intervallo di riferimento devono essere rivalutati (44). Occorre però tenere presente che concentrazioni all'interno dell'intervallo di riferimento non consentono di escludere la presenza di malattia di Wilson (44, 45). Recentemente, la "European Association for the Study of the Liver" (EASL) ha proposto un cut-off di 0,10 g/L per la diagnosi di malattia di Wilson, quando si associ alla presenza degli anelli di Kaiser-Fleischer (46). In assenza di tale segno, come avviene comunemente nella manifestazione epatica della malattia, da una parte basse concentrazioni di CER non possono essere considerate diagnostiche perché potrebbero essere dovute ad altre patologie (ad es., epatiti autoimmuni, malattia celiaca) (46), dall'altra, essendo la CER una proteina di fase acuta positiva, in corso di flogosi le sue concentrazioni potrebbero rientrare nei limiti fisiologici. Considerato il basso valore predittivo della misura di CER, per la diagnosi di malattia di Wilson essa va associata alla misura del rame sierico e urinario (44, 45). La misura di CER è indicata in un'altra rara malattia del metabolismo del rame, la sindrome di Menkes (47). I bambini con sospetta malattia di Menkes sono tipicamente bambini

con problemi neurologici e di accrescimento che si manifestano dopo la 10^a settimana di vita.

Indicazioni per la richiesta

- Le manifestazioni cliniche del morbo di Wilson sono quanto mai varie: tra le più tipiche vanno menzionate il danno epatopatico di natura non altrimenti classificabile, sintomi neurologici e manifestazioni psichiatriche. Considerato il basso valore predittivo della misura di CER, per la diagnosi di laboratorio del morbo di Wilson alla sua misura vanno associate quelle del rame sierico e urinario (*Classificazione dell'indicazione: ++*).
- La misura di CER è indicata nel sospetto di sindrome di Menkes (*Classificazione dell'indicazione: +*).

CISTATINA C

La cistatina C (CisC) è una proteina basica di basso PM (13 kDa) appartenente alla superfamiglia degli inibitori delle proteasi cisteiniche lisosomiali. CisC è codificata dal gene CST3 localizzato sul cromosoma 20. Il gene è del tipo conservativo o "house-keeping", espresso in tutte le cellule nucleate dell'organismo. Le funzioni riconosciute di CisC sono molteplici: è inibitore delle cistein-proteasi, in particolare delle cathepsine, possiede una potente attività anti-batterica e anti-virale ed è coinvolta nei processi di riassorbimento osseo, nella proliferazione nei tumori solidi e nello shock settico. Partecipa al rimodellamento vascolare e pertanto ha un ruolo protettivo nel mantenere integro l'endotelio vascolare. È rimossa dal circolo quasi completamente dalla filtrazione glomerulare ed è riassorbita per oltre il 99% dalle cellule del tubulo contorto prossimale, dove viene catabolizzata nei lisosomi (48). La concentrazione plasmatica di CisC è influenzata dalla funzione tiroidea, dagli stati infiammatori in genere (neoplasie, malattie autoimmuni) e dal trattamento con farmaci corticosteroidi. In queste situazioni, pertanto, la misura di CisC ha un utilizzo limitato.

Evidenze disponibili

In ragione del suo catabolismo renale, CisC è un marcatore biochimico di ridotta filtrazione glomerulare. Alcune metanalisi depongono per una maggiore accuratezza diagnostica di CisC rispetto alla creatininemia, specialmente in alcuni sottogruppi di soggetti, nei quali la misura della creatininemia mostra le limitazioni più importanti (anziani, neonati e in genere in tutti i soggetti con massa muscolare ridotta) (49, 50). A fronte di questa documentata accuratezza diagnostica superiore, esistono scarse evidenze che la misura di CisC migliori l'"outcome" del paziente consentendo decisioni cliniche più rapide e/o più appropriate (51).

Nel AKI, le evidenze disponibili sono state riassunte in una recente rassegna (52). Molti studi depongono per una superiore accuratezza diagnostica di CisC rispetto alla creatininemia, ma si osservano alcune inconsistenze nei dati (52). Una recente linea guida

nefrologica europea sul AKI menziona CisC tra i biomarcatori potenzialmente migliorativi rispetto alla creatinina sierica, sottolineando però che prima che questi possano essere formalmente raccomandati sono necessari studi ulteriori (53).

La determinazione di CisC è stata anche proposta come marcatore di rischio cardiovascolare. Una delle ipotesi più stimolanti sul legame tra CisC ed eventi cardiovascolari risiede nel ruolo che le cathepsine (di cui CisC è un potente inibitore) hanno nella formazione e nella rottura della placca aterosclerotica. Le evidenze più significative sono esaminate in una fondamentale revisione sistematica (54): CisC si dimostra essere un buon predittore di eventi cardiovascolari nei soggetti a basso rischio di malattia renale cronica, anche se le motivazioni del valore prognostico incrementale del parametro rimangono puramente speculative. Non esistono studi di valutazione di CisC quale predittore di rischio cardiovascolare nei soggetti con funzionalità renale conservata.

Esistono singoli studi sul ruolo della misura di CisC nel liquor per la diagnostica e il monitoraggio di alcune malattie degenerative del sistema nervoso centrale, principalmente la malattia di Alzheimer (55).

Indicazioni per la richiesta

- Funzionalità renale: solide evidenze segnalano un'effettiva superiorità di CisC sulla creatininemia nei neonati e nell'età pediatrica in genere, negli anziani, nei pazienti cachettici o con ridotta massa muscolare (ad es., gli amputati) (*Classificazione dell'indicazione: ++*).
- AKI: la determinazione di CisC non è ancora stata formalmente inclusa nelle linee guida nefrologiche (*Classificazione dell'indicazione: ±*).
- Rischio cardiovascolare: la misura di CisC può essere di aiuto, nelle fasi iniziali della malattia renale cronica, per identificare gli individui a rischio aumentato, sia di progressione di malattia renale, che di eventi cardiovascolari maggiori, eleggibili a un trattamento terapeutico più aggressivo (*Classificazione dell'indicazione: ++*).

FATTORE REUMATOIDE

Il fattore reumatoide (FR) è una immunoglobulina, per lo più di classe IgM, che reagisce con la porzione Fc delle IgG. Si tratta quindi di un vero e proprio autoanticorpo, la cui misurazione è indicata nella artrite reumatoide e nelle malattie autoimmuni in genere. La misura è tuttavia poco specifica, perché una sua positività può anche essere rilevata nella popolazione apparentemente sana (~5% degli individui), con una prevalenza che aumenta all'aumentare dell'età (56). Può essere presente in malattie autoimmuni diverse dall'artrite reumatoide, come pure in alcune patologie infettive.

Evidenze disponibili

Le società scientifiche del settore (statunitensi ed

europee) hanno incluso il FR (assieme agli anticorpi anti-peptidi citrullinati) nei criteri per la classificazione dell'artrite reumatoide (o per la sua esclusione) (57). Anche le linee guida del "National Institute for Health and Clinical Excellence" (NICE) britannico attribuiscono valore diagnostico e prognostico al FR (58). Alcuni ampi studi clinici hanno dimostrato l'utilità del FR per l'identificazione dei pazienti eleggibili ad alcuni tipi di terapia (59). Non ci sono evidenze che la misura di FR sia di qualche utilità nel monitoraggio della terapia (che è assicurata dalla misura degli indicatori biochimici di fase acuta) o nella valutazione dell'attività della malattia (58).

Indicazioni per la richiesta

- A scopo diagnostico, il FR dovrebbe essere misurato in tutti i pazienti con sinovite persistente (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Nei pazienti con artrite reumatoide FR-negativi al riscontro, la misura di FR nei periodi successivi assume valore prognostico e può identificare sottogruppi di pazienti in grado di rispondere meglio ad alcuni tipi di terapia (*Classificazione dell'indicazione: +*).

FERRITINA

La ferritina rappresenta la principale molecola deputata allo stoccaggio intracellulare dei depositi di Fe e riveste un ruolo importante anche nel mantenimento della sua omeostasi. La proteina nativa, priva di Fe, è l'apoferritina (PM 450 kDa) composta da 24 subunità, costituite da 2 tipi di monomeri (H e L), che formano una struttura a forma di conchiglia, adatta alla captazione e allo stoccaggio degli atomi di Fe. Il rapporto tra i monomeri H (PM 21 kDa, 182 amminoacidi) e L (PM 18,5 kDa, 174 amminoacidi), che si modifica in corso di infiammazione e infezioni, in condizioni fisiologiche differisce nei vari tessuti corporei: le subunità H sono prevalenti nel cuore e nel rene, le L nel fegato e nella milza. L'apoferritina è sintetizzata nel reticolo endoplasmatico (RE) liscio in risposta all'aumento della concentrazione di Fe e costituisce la ferritina intracellulare, che successivamente viene in parte convertita in emosiderina insolubile. Una modesta frazione di apoferritina viene contemporaneamente sintetizzata nel RE rugoso, glicosilata e successivamente secreta come ferritina circolante. Quindi, su base fisiologica, la concentrazione di ferritina circolante riflette la concentrazione di ferritina intracellulare. La correlazione tra ferritina plasmatica e depositi di Fe è stata ampiamente confermata.

Evidenze disponibili

Nella pratica clinica la ferritina viene determinata per la definizione dello stato marziale, sia per la diagnosi di carenza marziale, la ferritina plasmatica, a un valore decisionale compreso tra 12 µg/L e 20 µg/L in funzione del saggio utilizzato, e dopo l'esclusione di ipotiroidismo

e di deficit di acido ascorbico, rappresenta un marcatore specifico, ben correlato al metodo diagnostico di riferimento che rimane la valutazione dei depositi di Fe nell'aspirato o biopsia midollare (60-62). In particolare, la revisione sistematica di Guyatt et al. (61) dimostra questa efficacia diagnostica in pazienti anemici, sia nella popolazione generale, che in corso di patologie infiammatorie ed epatiche. Questa revisione, inoltre, sottolinea la necessità di adeguare le concentrazioni decisionali in funzione della presenza o meno di complicanze epatiche o infiammatorie per migliorare la sensibilità diagnostica dell'esame e propone valori, rispettivamente, di 40 µg/L e 70 µg/L. Tuttavia, la validità attuale di questi valori è da rivalutare alla luce dei progetti di armonizzazione della misura della ferritina, che hanno portato nel 1996 alla disponibilità del 3° Standard Internazionale WHO 94/572. Purtroppo, dopo il 1996, gli studi sperimentali che riportano evidenze robuste e omogenee sono limitati: le problematiche principali sono il mancato utilizzo del metodo diagnostico di riferimento, il disegno dello studio non adatto a definire l'accuratezza diagnostica dell'esame, l'eterogeneità delle popolazioni indagate e la numerosità campionaria. Tuttavia, le migliori evidenze selezionate sulla base della qualità metodologica dello studio concordano sulla scarsa sensibilità diagnostica della ferritina. Questi studi sono però circoscritti a popolazioni eterogenee di pazienti anemici, anziani e complicati da altre comorbidità, quali patologie infiammatorie, in particolare l'artrite reumatoide (63-66). I valori decisionali più comunemente usati rimangono <15 µg/L per la diagnosi e >100 µg/L per l'esclusione del deficit marziale, come già riportato per i saggi radioimmunologici, nonostante la letteratura successiva suggerisca almeno un adeguamento per sesso ed età, oltre a quello dipendente dal saggio utilizzato. Nei pazienti con insufficienza renale cronica la ferritina mostra una capacità discriminante (area sotto la curva ROC, 0,83) e sensibilità e specificità discrete (~75%) al valore decisionale di 121 µg/L (67). Anche nei pazienti con insufficienza epatica la ferritina ha dimostrato una buona probabilità post-test (>0,85) al valore decisionale di 50 µg/L nel definire la carenza di Fe (68). In una linea guida americana sulla gestione dell'anemia nel paziente con insufficienza renale cronica, la ferritina è raccomandata per selezionare i pazienti da sottoporre a terapia con eritropoietina ricombinante umana, la cui efficacia è dimostrata solo per concentrazioni comprese tra 100 e 500 µg/L (69).

Il ruolo della ferritina nella diagnosi di sovraccarico marziale è stato valutato in maniera robusta solo nell'emocromatosi ereditaria (HH). Studi su soggetti con emocromatosi, che hanno utilizzato il metodo diagnostico di riferimento (biopsia epatica), sono infatti limitati. Nella HH, invece, l'esame genetico delle mutazioni più frequenti (HFE-C282Y e HFE-H63D) può essere efficacemente utilizzato come "gold standard" surrogato. Sebbene non esistano attualmente evidenze che dimostrino l'accuratezza diagnostica della ferritina

nell'identificazione dei pazienti omozigoti C282Y (70), una recente linea guida supporta, esclusivamente sulla base del consenso di esperti, la determinazione della ferritina nella gestione clinica dei pazienti con HH omozigoti per C282Y (71). In particolare, la determinazione della ferritina è ritenuta utile per valutare la rimozione del Fe dopo salassoterapia, definire il traguardo terapeutico di questa cura ($<50 \mu\text{g/L}$) e monitorare precocemente la recidiva di accumulo di Fe (intervallo di mantenimento: $50\text{-}100 \mu\text{g/L}$). Inoltre, è disponibile letteratura a supporto dell'utilità prognostica del marcatore nel predire la degenerazione epatica: in corso di emocromatosi, concentrazioni $>1000 \mu\text{g/L}$ identificano i pazienti a rischio di cirrosi, mentre nei pazienti con malattia epatica cronica concentrazioni $>300 \mu\text{g/L}$ nei maschi e $>200 \mu\text{g/L}$ nelle femmine indicano un rischio significativamente maggiore di steatosi epatica (72, 73).

Indicazioni per la richiesta

- La validità della misurazione della ferritina plasmatica per la diagnosi di carenza marziale, in particolare nei pazienti con insufficienza renale cronica e con insufficienza epatica, è sostenuta da evidenze fisiopatologiche (correlazione con il Fe midollare) e dai dati di una revisione sistematica condotta su studi utilizzando saggi RIA. Ne deriva un'evidenza debole, legata alla indisponibilità di valori decisionali applicabili agli attuali metodi commerciali (*Classificazione dell'indicazione: +*).
- La determinazione della ferritina non è consigliata per lo screening di HH (*Classificazione dell'indicazione: -*).
- Il suo utilizzo è invece appropriato nella gestione clinica dei pazienti con HH omozigoti per C282Y (*Classificazione dell'indicazione: +*).
- Nei pazienti con insufficienza renale cronica, la determinazione della ferritina è raccomandata per selezionare i pazienti da sottoporre a terapia con eritropoietina ricombinante umana (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- La ferritina può essere utilizzata come marcatore predittivo di cirrosi epatica nei pazienti con HH omozigoti per C282Y (valore decisionale, $>1000 \mu\text{g/L}$) e come marcatore predittivo di steatosi epatica (valore decisionale, $>300 \mu\text{g/L}$ per i maschi e $>200 \mu\text{g/L}$ per le femmine) (*Classificazione dell'indicazione: +*).

IMMUNOGLOBULINE IgA, IgG, IgM

Le immunoglobuline rappresentano un eterogeneo

gruppo di proteine con funzione anticorpale. Sono glicoproteine tetrameriche costituite da due catene pesanti di ~ 440 amminoacidi e due catene leggere di ~ 220 amminoacidi, uguali a due a due. Le catene pesanti H (γ, α, μ) e leggere L (κ, λ) sono tenute assieme da ponti disolfuro intercatenari. Ciascuna catena è divisa in una regione costante e una variabile (ammino-terminale), e su quest'ultima sono localizzate le sequenze amminoacidiche che concorrono alla formazione del sito di legame. Le principali proprietà fisico-chimiche delle tre classi immunoglobuliniche sono elencate nella Tabella 3. Le IgG sono gli anticorpi della risposta secondaria, la funzione delle IgA sieriche non è conosciuta con precisione, mentre le IgM sono gli anticorpi della risposta primaria.

Evidenze disponibili

Misura delle catene pesanti

Le maggiori evidenze sono relative al percorso diagnostico delle immunodeficienze (74, 75), all'interno del quale la misura delle immunoglobuline sieriche rappresenta uno dei parametri cardine. Il più frequente di questi è il deficit selettivo di IgA (76).

Esistono scarsissime evidenze sull'utilità della misura delle immunoglobuline relativamente agli aumenti policlonali. Un incremento della sintesi di una o più classi immunoglobuliniche può essere originato da processi infettivi, infiammatori, autoimmuni o neoplastici. Tali aumenti possono quindi essere associati alle patologie più diverse, ma nella maggioranza dei casi si tratta di risposte non specifiche che aggiungono poco o nulla alla diagnosi o alla gestione del paziente.

Le linee guida europee sulla gestione delle malattie colestatiche indicano che il trattamento con acido ursodeossicolico della cirrosi biliare primitiva provoca una diminuzione marcata, oltre che degli enzimi epatici, delle IgM, uno dei segni tipici della malattia (77).

L'altro importante capitolo è il percorso diagnostico e il monitoraggio delle gammopatie monoclonali. Le evidenze più significative sono presenti nelle raccomandazioni di consenso del "International Myeloma Working Group" (26, 27). L'entità della componente monoclonale è uno dei criteri diagnostici e il più importante predittore di rischio di progressione; qualora la componente monoclonale sia evidente al tracciato elettroforetico delle sieroproteine, essa va quantificata densitometricamente ed espressa (in g/L) in rapporto alla concentrazione delle proteine totali; qualora la componente monoclonale non sia evidenziabile e

Tabella 3

Principali proprietà fisico-chimiche delle tre classi immunoglobuliniche maggiori

	IgG	IgA	IgM
PM, kDa	150	160	971
Formula molecolare	$\gamma_2\kappa_2 / \gamma_2\lambda_2$	$\alpha_2\kappa_2 / \alpha_2\lambda_2$	$(\mu_2\kappa_2 / \mu_2\lambda_2)^5$
Concentrazione sierica, g/L	10-15	2,0-2,5	1,0-1,2
Emivita (giorni)	~ 20	~ 6	~ 5

isolabile al tracciato (ad es., nel caso di componenti co-migranti con altre proteine), è suggerita la misura nefelometrica della immunoglobulina monoclonale (41). La misura delle immunoglobuline non coinvolte nella espansione clonale è suggerita all'interno della valutazione iniziale del paziente con componente monoclonale in alcune raccomandazioni internazionali (9, 78).

Misura delle catene leggere legate

Le uniche evidenze presenti in letteratura risalgono alla fine degli anni '80 e riguardano l'utilizzo del rapporto κ/λ per la diagnosi delle gammopatie monoclonali, ipotizzando che la loro misura, insieme a quella delle catene pesanti e/o all'elettroforesi sieroproteica, potesse essere sufficiente a scopo di screening (79). Tuttavia, anche all'epoca fu sollevata l'obiezione che un simile modello non fosse adeguato per evidenziare componenti monoclonali di lieve entità di isotipo IgD o costituite da catene leggere libere (80). Va infine notato come l'attuale disponibilità di tecniche elettroforetiche e di immunofissazione a elevata sensibilità e la possibilità di misurare le FLC sieriche abbiano reso del tutto obsoleto questo tipo di approccio.

Indicazioni per la richiesta

- La richiesta per la misura di immunoglobuline risulta appropriata nei pazienti con sospetta immunodeficienza (pazienti con infezioni severe, ricorrenti, atipiche o non facilmente risolvibili) (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Relativamente al deficit selettivo di IgA, alle indicazioni precedenti vanno aggiunti i pazienti con manifestazioni allergiche importanti, malattie autoimmuni o malattia celiaca (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Estremamente importante è l'accertamento del deficit selettivo di IgA all'interno del percorso diagnostico per malattia celiaca, perché gli anticorpi specifici sono di tipo IgA (81) (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Sebbene non sia espressamente raccomandato, il monitoraggio biochimico dell'efficacia della terapia con acido ursodeossicolico della cirrosi biliare è effettuato con la misura degli enzimi epatici e delle IgM (*Classificazione dell'indicazione: ±*).
- La misura della immunoglobulina monoclonale è prescritta al primo riscontro di componente monoclonale e a ogni successivo controllo (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- La misura delle classi immunoglobuliniche non coinvolte nella monoclonalità per la verifica di un'eventuale immunoparesi è suggerita all'interno della valutazione iniziale del paziente (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Non ci sono evidenze circa l'utilità della misura delle catene leggere legate (*Classificazione dell'indicazione: -*).

IMMUNOGLOBULINE IgD

Le IgD rappresentano lo 0,25% di tutte le immunoglobuline, con una concentrazione plasmatica

molto più bassa delle tre classi maggiori. Le IgD hanno un'emivita molto breve con un tasso catabolico del 26%/die. La funzione delle IgD plasmatiche, a cinquant'anni dalla loro scoperta, non è stata ancora chiarita, mentre diversi ruoli sono riconosciuti alle IgD di membrana (82).

Evidenze disponibili

Non esistono evidenze circa l'utilità della misura delle IgD policlonali, eccettuata la sindrome da iperIgD (HIDS), una rara affezione descritta per la prima volta nel 1984. Una recente revisione ha tuttavia accertato la scarsa rilevanza clinica della misura delle IgD plasmatiche per la diagnosi di HIDS, che si fonda prevalentemente sul riscontro del deficit (genetico e metabolico) di mevalonato chinasi (83).

Come tutte le altre immunoglobuline, le IgD possono derivare un unico clone plasmacellulare in espansione. L'entità della componente monoclonale è uno dei criteri diagnostici e prognostici (9, 26, 27).

Indicazioni per la richiesta

- La misura nefelometrica di IgD è indicata nei casi di gammopatia monoclonale IgD nei quali il picco sia scarsamente visibile o mal identificabile al tracciato elettroforetico delle sieroproteine (come sovente accade nel caso di IgD monoclonali), analogamente a quanto indicato per gli altri tipi di gammopatia monoclonale, che presentino traccati elettroforetici con queste caratteristiche (*Classificazione dell'indicazione: +++*).

PROTEINA C REATTIVA

PCR come marcatore di fase acuta

PCR ha un PM di 118 kD e fa parte della famiglia delle pentraxine, essendo la sua molecola costituita da 5 protomeri contenenti 206 amminoacidi ciascuno, arrangiati con simmetria ciclica. Del suo sito di legame fanno parte integrante due ioni calcio. Il gene della PCR è stato mappato sul cromosoma 1, ma non se ne conoscono difetti genetici, cosa che depone a favore dell'ipotesi che essa sia essenziale per la vita (84). La sua sintesi da parte degli epatociti è sotto il controllo delle citochine proinfiammatorie, principalmente della IL-6; anche interleuchina 1 (IL-1) e TNF- α possono stimolarne sintesi e secrezione. In condizioni fisiologiche il fegato ne sintetizza da 1 a 10 mg/die, ma durante la risposta infiammatoria di fase acuta circa il 20% della capacità sintetica del fegato può essere dedicata alla produzione della PCR, che può quindi arrivare fino a 1 g/die. Al cessare dello stimolo da parte di IL-6, la produzione di PCR da parte degli epatociti si normalizza entro 2-4 ore; l'emivita ematica della proteina è di ~24 ore (1). Dal punto di vista funzionale, PCR è capace di legare un ampio gruppo di sostanze esogene ed endogene, facilitandone l'eliminazione dal circolo sanguigno (1). La rimozione del complesso PCR/ligando

avviene tramite l'attivazione di diversi sistemi biologici, come l'attivazione della via classica del complemento, il legame ai recettori dei fagociti e il legame al recettore linfocitario del frammento Fc delle IgG (1). Un'importante funzione della PCR è l'eliminazione delle cellule apoptotiche e dei loro prodotti, come il DNA, che possono essere tossici. PCR si lega alle cellule bersaglio solo quando la normale struttura della membrana cellulare viene persa, con esposizione dei fosfolipidi del foglietto interno (1).

Evidenze disponibili

PCR è considerata il marcatore di infiammazione per eccellenza, la sua concentrazione aumentando in corso di infiammazione sia acuta che cronica. L'aumento della sua concentrazione riflette il grado di flogosi e la massa di tessuto interessato, in particolare nelle situazioni acute (85). Tuttavia, concentrazioni plasmatiche di PCR entro l'intervallo di riferimento non consentono di escludere uno stato infiammatorio lieve o localizzato, nel quale l'entità della risposta di fase acuta sia modesta, come, ad esempio, disordini autoimmuni cronici, quali lupus eritematoso sistemico, sclerosi sistemica e dermatomiositi (86).

Determinazioni seriate di PCR consentono di monitorare la progressione della malattia e la risposta alla terapia, mentre una determinazione singola può essere poco informativa a causa dell'elevata variabilità biologica intraindividuale della proteina (CV 26%) e della sua rapida cinetica. Va però sottolineato che la ripetizione della misurazione prima di 24 ore dalla precedente risulta poco informativa sull'evoluzione dello stato di flogosi, data l'emivita ematica della proteina (87).

Dal momento che la misura della PCR viene utilizzata in una vasta gamma di condizioni cliniche, esiste una amplissima letteratura di lavori primari, mentre mancano in molti casi evidenze più robuste come raccomandazioni, linee guida o documenti di consenso. La misura della PCR è largamente usata nel monitoraggio delle infezioni, in quanto le endotossine batteriche hanno un potente effetto di stimolo sul rilascio delle citochine proinfiammatorie: infatti, le concentrazioni più elevate di PCR si osservano in corso di infezione batterica. Inoltre, i batteri Gram-negativi causano un incremento maggiore della PCR rispetto ai Gram-positivi. Le infezioni virali e parassitarie provocano solo lievi aumenti delle concentrazioni di PCR, mentre quelle fungine, se localizzate, non provocano aumento della PCR. Le infezioni fungine sistemiche nei pazienti marcatamente neutropenici sono invece associate a concentrazioni di PCR comparabili a quelle delle infezioni batteriche (1). Sebbene la PCR sia stata a lungo utilizzata come biomarcatore nella sepsi e nelle infezioni severe, più recentemente la procalcitonina è stata proposta come marcatore più specifico sia per la diagnosi di sepsi e shock settico che per la definizione della loro severità, ma anche per il monitoraggio della risposta alla terapia (88). Nei pazienti settici la misura della PCR dovrebbe quindi essere richiesta solo quando

la procalcitonina non è aumentata.

Nell'artrite reumatoide concentrazioni elevate di PCR si trovano nel 90% dei pazienti adulti. Alla diagnosi, alti valori di PCR consentono di identificare i pazienti con elevata attività di malattia e ad alto rischio di progressione, che possono quindi beneficiare di un approccio terapeutico più aggressivo. Nella pratica clinica la PCR è stata riconosciuta come utile biomarcatore di attività, progressione e risposta alla terapia nei pazienti con artrite reumatoide (89).

Nelle malattie infiammatorie croniche dell'intestino la dimostrazione di un quadro infiammatorio è un criterio primario per la diagnosi differenziale da altre patologie non infiammatorie (quali ad es. il colon irritabile), per la valutazione dell'attività della malattia e per il monitoraggio della terapia, ma occorre tener presente che alla diagnosi molti pazienti possono avere valori di PCR entro l'intervallo di riferimento. Esistono documenti di consenso della "European Crohn's and Colitis Organisation" (ECCO), che prevedono la misura della PCR nei pazienti con colite ulcerosa e morbo di Crohn alla diagnosi, per la definizione dell'attività della malattia, per monitorare la risposta alla terapia e, infine, solo per il Crohn, per la valutazione del rischio di ricaduta (90, 91).

Nelle neoplasie è frequente il riscontro di una risposta di fase acuta provocata dal rilascio di citochine da parte delle cellule tumorali, dall'infiltrazione dei macrofagi e dalla necrosi tissutale. È stato anche postulato un ruolo della PCR come fattore prognostico in diversi tipi di tumore, mentre non ci sono evidenze che supportino il suo utilizzo in fase di diagnosi (92). Recentemente sono stati pubblicati i risultati ottenuti in una sottopopolazione di soggetti arruolati nello studio HAPO ("Hyperglycemia and adverse pregnancy outcome study"), in cui è stato evidenziato come i valori di PCR materni siano inversamente correlati con il peso del neonato alla nascita, col numero di pieghe cutanee e la percentuale di grasso corporeo (93).

Indicazioni per la richiesta

- Il dosaggio di PCR è indicato nell'artrite reumatoide, al primo riscontro, per identificare i pazienti a rischio più elevato di progressione e per il monitoraggio della terapia con agenti anti-TNF- α (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Il dosaggio di PCR è indicato nei pazienti affetti da colite ulcerosa o morbo di Crohn, alla diagnosi, per la definizione dell'attività della malattia e per monitorare la risposta alla terapia; nel morbo di Crohn, anche per la valutazione del rischio di ricaduta (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Scarsamente sostenuto da evidenze, ma ampiamente diffuso nella pratica clinica è l'utilizzo della PCR, sia in fase di diagnosi che di monitoraggio delle situazioni flogistiche in genere e delle infezioni in particolare (*Classificazione dell'indicazione: $\pm$*).
- La PCR deve essere misurata, nei casi in cui, per la corretta interpretazione dei risultati di altri esami di

laboratorio deve essere tenuto conto dell'esistenza di un possibile stato flogistico [vedi AAT, APT e transtiretina (TTR)] (*Classificazione dell'indicazione: +*).

- Non è indicata la ripetizione del dosaggio prima che siano trascorse 24 ore (*Classificazione dell'indicazione: -*).

PCR come marcatore di rischio cardiovascolare

E' da tempo noto che l'infiammazione cronica svolge un ruolo fondamentale nello sviluppo delle patologie cardiovascolari e la persistenza del fenomeno infiammatorio rappresenta un importante fattore prognostico e di stratificazione del rischio. Vi sono state, e tuttora esistono nel mondo scientifico, numerose discussioni su quale sia il marcatore biochimico che meglio possa essere applicato nella pratica clinica per l'identificazione e il monitoraggio dell'infiammazione cronica. La PCR misurata con metodi caratterizzati da elevata sensibilità analitica (limite di rilevabilità, ~0,3 mg/L) è il marcatore che meglio risponde ai requisiti di praticabilità, adattabilità alla misura in automazione, che mostra soddisfacenti prestazioni analitiche e che quindi può attualmente essere considerato come parametro di scelta in quest'ambito diagnostico.

Evidenze disponibili

Il consenso sul reale vantaggio di questa determinazione non è del tutto unanime e nelle raccomandazioni emesse dalle società americane di cardiologia e di biochimica vengono sollevate numerose perplessità: la forza delle evidenze è massima (classe IIa, livello di evidenza B) per la valutazione del rischio cardiovascolare in pazienti classificati a rischio intermedio, come pure per la valutazione della prognosi e la stratificazione del rischio di eventi cardiaci ricorrenti in pazienti con angina stabile o sindrome coronarica acuta (94-97). Al contrario, il suo utilizzo nel monitoraggio dell'efficacia della terapia e nella valutazione del rischio cardiovascolare globale in pazienti che non soffrono di cardiopatia (prevenzione primaria) presenta un livello di evidenza ancora poco robusto (classe III, livello di evidenza C). In anni più recenti sono stati pubblicati ulteriori studi, che hanno dimostrato l'importanza di introdurre la misura della PCR mediante metodi dotati di elevata sensibilità nei criteri di valutazione globale del rischio cardiovascolare in associazione ai parametri tradizionali, non solo in prevenzione secondaria ma anche in prevenzione primaria (98, 99). Benché tali risultati non abbiano ancora determinato una modifica formale delle linee guida cliniche, non può non essere sottolineata la loro notevole rilevanza clinica. Tra tutti, lo studio "Justification for the use of statins in prevention: an intervention trial evaluating rosuvastatin" (JUPITER), condotto a livello

internazionale per verificare l'efficacia della terapia con statine in soggetti apparentemente sani con basse concentrazioni di LDL colesterolo (<1,3 g/L), ma concentrazioni di PCR >2,0 mg/L, nel quale è stata dimostrata una riduzione fino al 44% di "end-point" combinati per malattie cardiovascolari (100). A seguito di tali risultati, è in corso di valutazione una proposta di variazione delle raccomandazioni per l'utilizzo nella pratica clinica della determinazione della PCR con metodi a elevata sensibilità sia in prevenzione primaria che secondaria. Appaiono infine molto interessanti i risultati ottenuti in altri studi, dai quali emergerebbe come le concentrazioni circolanti di PCR non sarebbero solo una "spia" del fenomeno infiammatorio, ma sembrerebbero anche avere un ruolo nello sviluppo e nell'estensione del danno miocardico (101): la somministrazione di farmaci che inibiscono l'attività della proteina limiterebbe allora significativamente l'entità del danno miocardico. Se tali dati saranno confermati, le concentrazioni circolanti di PCR potrebbero rappresentare nuovi obiettivi terapeutici.

Indicazioni per la richiesta²

- La misura della PCR può essere considerata un predittore indipendente di aumentato rischio cardiovascolare e va, quindi, richiesta in pazienti che presentano un rischio aterosclerotico globale intermedio (10%-20%) o basso (5%-10%). In base al grado di infiammazione cronica, valutato in funzione delle concentrazioni di PCR, tali pazienti potrebbero essere riclassificati in classi di rischio differenti consentendo un più adeguato e motivato approccio terapeutico (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- In pazienti clinicamente stabili, la misura di PCR dovrebbe essere eseguita due volte, a distanza di due settimane. In presenza di concentrazioni >10,0 mg/L, l'esame dovrà essere ripetuto e, se il risultato confermato, il paziente dovrà essere valutato clinicamente per escludere la presenza di patologie caratterizzate da processi infiammatori acuti (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Le concentrazioni di PCR che identificano le categorie di rischio relativo cardiovascolare sono le seguenti: <1,0 mg/L, basso rischio; 1,0-3,0 mg/L, rischio intermedio; >3,0 mg/L, alto rischio (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Non è raccomandato utilizzare la misura di PCR per il monitoraggio della terapia in prevenzione primaria, non essendovi sufficienti evidenze cliniche di efficacia (*Classificazione dell'indicazione: -*).
- La misura di PCR non dovrebbe essere utilizzata come esame di screening per la valutazione del rischio cardiovascolare nella popolazione adulta (prevenzione primaria) (*Classificazione dell'indicazione: -*).

²Va sottolineato che nonostante i numerosi studi pubblicati, gli ambiti clinici di applicazione dell'esame (prevenzione primaria vs. secondaria) sono tuttora molto controversi. Le linee guida attuali relative ai trattamenti terapeutici in prevenzione secondaria raccomandano il trattamento dei pazienti con terapie aggressive a prescindere dai valori di PCR.

PROTEINA LEGANTE IL RETINOLO

La proteina legante il retinolo (RBP4) è una proteina con PM di ~21 kDa, appartenente alla famiglia delle lipocaline, prodotta dal fegato e dal tessuto adiposo, la cui funzione è il trasporto nel plasma della vitamina A [retinolo (ROH)]. Il legame del ROH alla RBP4 garantisce la regolazione dell'omeostasi delle concentrazioni plasmatiche della vitamina. Negli individui sani RBP4 è prodotta prevalentemente dal fegato e secreta nel torrente circolatorio in un complesso 1:1:1 con ROH (olo-RBP4) e TTR. Il legame con TTR aumenta il PM del RBP4, impedendone la filtrazione glomerulare e il successivo catabolismo renale. Dopo il rilascio del ROH nella cellula bersaglio, l'apo-RBP4 viene rapidamente filtrata dal glomerulo e catabolizzata dalle cellule del tubulo prossimale. È da osservare che sia alterazioni della funzionalità epatica che l'insufficienza renale cronica possono influenzare l'omeostasi del RBP4 alterandone rispettivamente la sintesi e il catabolismo (102).

Evidenze disponibili

La misura di RBP4 viene generalmente impiegata per la valutazione della carenza di vitamina A, all'interno di studi epidemiologici nei paesi in via di sviluppo, come pure in medicina perinatale. E' da tener presente tuttavia che il "gold standard" diagnostico è costituito dalla misura di ROH in tessuto epatico bioptico, metodo peraltro non praticabile in entrambe le situazioni. D'altro canto, la misura diretta di ROH nel sangue può essere poco informativa in quanto le concentrazioni plasmatiche della vitamina, sottoposte a controllo omeostatico, non diminuiscono finché le riserve epatiche non sono esaurite. In più, RBP4 è una proteina negativa di fase acuta e quindi l'interpretazione delle sue concentrazioni plasmatiche non è univoca.

Le linee guida relative alla valutazione nutrizionale dei pazienti con fibrosi cistica suggeriscono una possibile utilità clinica dell'associazione della misura di ROH con quella di RBP4 nella valutazione della efficacia della supplementazione vitaminica (103). Più efficace nella valutazione delle riserve epatiche di ROH è l'esame dose-risposta. Poiché l'apo-RBP4 in caso di carenza di ROH si accumula nel fegato, la somministrazione della vitamina provoca la rapida formazione della olo-RBP4 che, complessata alla TTR, viene rilasciata in circolo (104). È stato quindi proposto di valutare la risposta allo stimolo attraverso la misura della proteina legante invece che della vitamina stessa, superando alcuni problemi di praticabilità metodologica nella determinazione del ROH (104, 105).

Esistono alcuni studi singoli circa l'utilità della misura di RBP4 in diverse condizioni cliniche, quali la valutazione dello stato nutrizionale (106), come fattore prognostico nei pazienti critici (107) e, infine, come fattore di rischio cardiovascolare (108).

Indicazioni per la richiesta

- Nei pazienti con fibrosi cistica per la valutazione

dell'efficacia della supplementazione vitaminica (congiuntamente alla misura di ROH) (*Classificazione dell'indicazione: ±*).

RECETTORE SOLUBILE DELLA TRANSFERRINA

Il recettore della transferrina (TfR) è una glicoproteina dimerica transmembrana costituita da due monomeri identici di 95 kDa uniti da una coppia di ponti di disolfuro. Ogni monomero contiene 760 amminoacidi organizzati in tre porzioni: un dominio carbossiterminale extracellulare di 671 amminoacidi, un dominio transmembrana di 28 amminoacidi e un dominio aminotermine citoplasmatico di 61 amminoacidi. Mediante un processo di proteolisi tra l'arginina-100 e la leucina-101 del dominio extracellulare del TfR, si separa la forma solubile del TfR, il recettore solubile della transferrina (sTfR), costituito da una singola catena polipeptidica di 85 kDa, misurabile nel sangue umano. La concentrazione plasmatica di sTfR correla direttamente con la quantità di recettori espressi sulla superficie cellulare e, di conseguenza, è strettamente correlata alle richieste di Fe cellulare e alla velocità di proliferazione eritroide (109).

Evidenze disponibili

Incrementi della concentrazione di sTfR si riscontrano nelle anemie da carenza di Fe (IDA) e in tutte quelle condizioni caratterizzate da un incremento della proliferazione eritroide (anemia emolitica autoimmune, sferocitosi ereditaria, α - e β -talassemia, policitemia vera, malattia da emoglobina H, anemia falciforme). Concentrazioni aumentate di sTfR si possono ritrovare nella mielofibrosi idiopatica, nella sindrome mielodisplasica e nella leucemia linfatica cronica. Nell'emocromatosi, nelle leucemie mieloidi acute e croniche, nei tumori solidi e nelle anemie da malattie croniche (ACD) le concentrazioni di sTfR non sono aumentate, mentre risultano diminuite nelle malattie renali croniche, nelle anemie aplastiche e dopo trapianto di midollo osseo.

Dalla relativamente scarsa letteratura disponibile, il maggior vantaggio fornito dalla determinazione del sTfR potrebbe essere quello di fornire indicazioni sull'eventuale carenza di Fe non influenzate da concomitanti malattie croniche e stati infiammatori (110, 111). Risulterebbe quindi utile nella diagnosi differenziale tra IDA e ACD e sarebbe importante nella definizione della condizione di IDA coesistente allo stato infiammatorio (forme combinate IDA + ACD). L'indice di sTfR, calcolato come il rapporto tra la concentrazione plasmatica di sTfR e il logaritmo della concentrazione della ferritina (sTfR/log ferritina), sembrerebbe mostrare un'efficacia diagnostica superiore alla sola misura del sTfR nella diagnosi di IDA e di IDA + ACD (111, 112). Infine, la misura del sTfR sembrerebbe utile in quelle situazioni caratterizzate da diminuite riserve di Fe, come gravidanza e nei bambini di età compresa tra 1 e 6 anni, in cui le concentrazioni di ferritina sono basse, ma non

necessariamente associate a carenza di Fe (110). In generale, necessita sottolineare che sarebbero necessari ulteriori dati, eventualmente raccolti in metanalisi, per valutare la robustezza dell'indicazione relativa all'uso clinico del sTfR.

Indicazioni per la richiesta

- La misurazione del sTfR è indicata nella diagnosi di IDA, specialmente in presenza di concomitanti malattie croniche o tumori gastrointestinali (*Classificazione dell'indicazione: ++*).
- La misurazione del sTfR sembrerebbe utile in gravidanza e nei bambini di età <6 anni per evidenziare lo stato delle riserve di Fe (*Classificazione dell'indicazione: ±*).

SIERO AMILOIDE A

La siero amiloide A (SAA)³ è una proteina della risposta infiammatoria di fase acuta, prodotta dal fegato sotto il controllo trascrizionale di diverse citochine proinfiammatorie, in particolare IL-1, TNF- α e IL-6. In risposta a stimoli flogistici, la concentrazione sierica di SAA aumenta di 10-100 volte (da 1-3 mg/L fino ad oltre 1000 mg/L). L'incremento della SAA inizia dopo 3-6 ore dallo stimolo, raggiunge il picco a 48-72 ore e torna alle concentrazioni basali in 5-7 giorni. La SAA circola nel plasma legata alle HDL ed è pertanto un'apolipoproteina, la cui funzione biologica è tuttavia ancora in larga misura sconosciuta. Il suo aumento nel plasma nella fase acuta determina una sensibile modificazione della composizione delle HDL, che si arricchiscono in SAA a scapito dell'apolipoproteina A-I (apo A-I), che viene ceduta. Ne consegue una riduzione del processo di trasporto inverso del colesterolo dalla periferia al fegato mediato da apo A-I e un aumento del flusso di colesterolo verso i macrofagi, i neutrofili e le cellule endoteliali, per i quali SAA presenta siti di legame specifici. E' inoltre noto che SAA può interagire con costituenti della matrice extracellulare, come l'eparansolfato, la fibronectina e la laminina. Più recentemente è stata anche evidenziata la capacità della SAA di legare una proteina di membrana dei batteri Gram-negativi inducendo, con un meccanismo di opsonizzazione, un aumento della attività fagocitica dei macrofagi (113). Nell'insieme, queste proprietà suggeriscono che la SAA abbia un ruolo importante nella riparazione dei tessuti danneggiati nella flogosi acuta e nella modulazione della risposta infiammatoria, promuovendo la chemotassi, l'adesione di cellule effettrici della risposta immunitaria, l'attivazione delle metalloproteasi, la secrezione di collagenasi e inducendo la fagocitosi (113, 114).

Evidenze disponibili

SAA è un marcatore dell'infiammazione che, come la PCR, può trovare impiego nella diagnosi e nel monitoraggio di molteplici condizioni infettive e infiammatorie. Le concentrazioni plasmatiche di PCR e SAA sono in generale significativamente correlate. SAA e PCR rispondono infatti allo stimolo flogistico in modo parallelo, anche se SAA aumenta più precocemente e rapidamente e presenta un intervallo dinamico superiore. Come per la PCR, una determinazione singola di SAA può essere poco informativa, mentre valutazioni seriate sono utili per il monitoraggio dell'infiammazione e per la valutazione della risposta alla terapia.

Non esistono raccomandazioni o linee guida specifiche per l'impiego della SAA nella pratica clinica. Lavori singoli ne propongono l'utilizzo in rapporto alla PCR in specifiche condizioni infiammatorie, tra cui la sepsi neonatale, nel rigetto renale acuto e nella valutazione del rischio cardiovascolare nella prevenzione secondaria.

Una concorde e robusta letteratura è disponibile relativamente all'inquadramento diagnostico e al monitoraggio terapeutico nei pazienti affetti da amiloidosi AA. In questo contesto, SAA ha valore prognostico ed è utile per un efficace e accurato monitoraggio della risposta alla terapia. L'obiettivo terapeutico è costituito dal mantenimento di una concentrazione sierica di SAA <10 mg/L (115).

Indicazioni per la richiesta

- Anche se non esistono evidenze formali, la determinazione della SAA è da ritenersi importante nel monitoraggio dei pazienti con amiloidosi AA (*Classificazione dell'indicazione: +*).
- La frequenza delle determinazioni di SAA nei pazienti con amiloidosi AA dipende dall'attività della patologia infiammatoria di base, che alimenta la formazione di amiloide. Il monitoraggio deve pertanto essere più frequente, con determinazioni anche quindicinali, ogniquale volta si assista a fasi di riacutizzazione della patologia di base, che rendano necessaria l'implementazione della terapia di fondo. Quando si raggiunge un buon controllo della flogosi cronica, è indicato un monitoraggio quadrimestrale o semestrale della SAA (*Classificazione dell'indicazione: +*).

SISTEMA DEL COMPLEMENTO

Il sistema del complemento è costituito da importanti proteine: i fattori del complemento, che circolano nel sangue in forma inattiva, e le proteine di regolazione (inibitori, attivatori e recettori), dall'espressione delle

³In considerazione della sua diffusione internazionale, si è scelto di mantenere nel testo la denominazione siero amiloide A (e la relativa abbreviazione SAA), traducendo così il termine inglese "serum amyloid A", al posto del più corretto termine italiano "amiloido A sierico".

quali il sistema è altamente regolato. Il complemento è una cascata multienzimatica, attivata da tre distinti meccanismi, che conduce all'assemblaggio di un complesso proteico membranolitico comune (da C5 a C9) e alla formazione di frammenti proteici a elevata attività biologica, che mediano l'infiammazione (C3a, C5a) e aumentano la fagocitosi (C3b). Il complemento è il maggior componente dell'immunità innata e svolge un ruolo cruciale nel "killing" microbico, nel controllo della formazione degli immunocomplessi, nella "clearance" delle cellule apoptotiche e nella modulazione dell'immunità acquisita.

Le vie di attivazione del complemento sono:

- 1) la via classica (fattori C1q-C1r-C1s, C4, C2), innescata dal complesso antigene-anticorpo (immunocomplessi IgG e IgM), ma anche da alcuni virus e batteri Gram-negativi e dalla PCR, quando si legano al C1q;
- 2) la via alternativa (fattori C3, B, D, P, H), innescata da lipopolisaccaridi e polisaccaridi di superficie di virus, batteri, miceti, parassiti, da antigeni "self" alterati di cellule tumorali e dalle IgA;
- 3) la via della lectina (fattori C4, C2), simile alla via classica, ma innescata dalla lectina legante il mannosio (MBL), associata a due serinproteasi (MASP-1 e MASP-2), che riconosce specificamente residui di mannosio e di altri zuccheri presenti sulle superfici batteriche e di altri patogeni.

Tutte le vie di attivazione del complemento confluiscono attraverso il fattore C3 nella via terminale comune (fattori C3, C5, C6, C7, C8, C9), che culmina con la formazione del complesso di attacco litico alla membrana.

Le proteine del complemento sono prodotte principalmente dagli epatociti, ma anche da monociti e macrofagi e, all'interno del sistema nervoso centrale, da neuroni, microglia, astrociti e oligodendrociti. La diminuzione delle proteine del complemento può essere dovuta a un deficit di sintesi geneticamente determinato o a consumo per attivazione del sistema. Tuttavia, in presenza di attivazione del complemento la concentrazione plasmatica può risultare inalterata, se esiste contemporaneamente uno stato infiammatorio, in quanto le proteine del complemento sono proteine di fase acuta, la cui sintesi aumenta in risposta ad alcune citochine (IL-6, IL-1). L'incremento della loro concentrazione non riveste di per sé alcuna importanza clinica. Poiché il C3 è il punto centrale in cui confluiscono le tre vie di attivazione e il C4 è un fattore fondamentale della via classica e della via della lectina, la misura di queste due proteine fornisce con buona approssimazione una valutazione dello stato di attivazione del sistema del complemento.

Evidenze disponibili

Le maggiori evidenze disponibili sono relative al percorso diagnostico delle immunodeficienze ereditarie (74, 75) all'interno del quale, tuttavia, la determinazione delle proteine del complemento comunemente

disponibili in laboratorio (C3 e C4) non è appropriata, perché solo la valutazione funzionale del sistema del complemento (CH50 e APCH50) è in grado di identificare la deficienza di attività della via classica, alternativa o comune. Solo successivamente è appropriato eseguire la misura immunochimica della concentrazione proteica dei fattori della via non funzionante.

Una seconda importante evidenza è legata all'utilità nel monitoraggio dell'attività di malattia nelle malattie sostenute da immunocomplessi, quali il lupus eritematoso sistemico, le glomerulonefriti membranoproliferative, le crioglobulinemie e le vasculiti in genere (116, 117). Un'ultima evidenza è costituita dal percorso diagnostico dell'angioedema ereditario, che comprende non solo C3 e C4, ma anche C1q e C1 esterasi inibitore (118).

Indicazioni per la richiesta

- La richiesta della misura delle proteine del complemento risulta appropriata nei pazienti con infezioni severe, ricorrenti, atipiche o non facilmente risolvibili o con manifestazioni allergiche importanti (sospetta immunodeficienza congenita) (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- E' inoltre appropriata nel percorso diagnostico e di monitoraggio dei pazienti con malattie sostenute da immunocomplessi (*Classificazione dell'indicazione: +++*) e nel percorso diagnostico dei pazienti con sospetto angioedema ereditario (*Classificazione dell'indicazione: +*).

TRANSFERRINA

La transferrina (Tf) è una glicoproteina di ~80 kDa sintetizzata nel fegato, con un'emivita di 8-10 giorni. Dal punto di vista strutturale, la Tf è composta di una singola catena polipeptidica che forma due lobi, i domini N- (336 amminoacidi) e C-terminali (343 amminoacidi), ognuno dei quali dispone di un sito di legame specifico per uno ione ferrico (Fe^{3+}). La sintesi della Tf, e quindi la sua concentrazione plasmatica, sono modulate principalmente dallo stato metabolico del Fe e sono inversamente proporzionali alla quantità di Fe disponibile nell'organismo. La Tf è la principale proteina di trasporto del Fe nel sangue; ha la capacità di legare, trasportare e poi rilasciare alle cellule due ioni Fe^{3+} . Dagli enterociti e dai macrofagi, il Fe viene rilasciato nel plasma in forma bivalente (Fe^{2+}), dove, dopo ossidazione a Fe^{3+} , viene catturato dall'apo-Tf. La Tf cede il Fe a tutti i tessuti e in particolare ai precursori eritroidi, tramite i suoi recettori. In condizioni fisiologiche, la presenza di Fe libero nel plasma, estremamente tossico per le cellule, è prevenuta dalla Tf, sia perché la sua capacità legante per il Fe è molto forte ($K_d \approx 10^{-20}$ M), sia perché è saturata con il Fe^{3+} solo per circa il 30% della sua capacità legante. La Tf, inoltre, si comporta da proteina infiammatoria negativa di fase acuta. La concentrazione plasmatica della Tf e la saturazione della

transferrina (%TS) da essa derivata sono parametri usati nella valutazione dello stato marziale⁴.

Evidenze disponibili

Sulla base delle evidenze disponibili, il parametro da utilizzare nella pratica clinica è la %TS piuttosto che la semplice concentrazione plasmatica di Tf. La %TS è uno storico marcatore utilizzato nella diagnosi e nel monitoraggio sia dello stato di carenza marziale, soprattutto nei pazienti con insufficienza renale, che dello stato di sovraccarico di Fe. Inoltre, la %TS è stata più recentemente proposta come potenziale fattore di rischio per la malattia coronarica, il cancro e la mortalità generale. Tuttavia, non esistono evidenze definitive che possano supportare l'indicazione per la richiesta dell'esame né nel contesto di una sospetta carenza di Fe, né nella valutazione del rischio di malattia coronarica, cancro o di mortalità generale. L'utilizzo della %TS nel monitoraggio dello stato metabolico marziale nei pazienti con malattia renale cronica è stato indicato in alcune linee guida, soprattutto in associazione alla ferritina, anche se non esistono metanalisi che supportino questa indicazione (119).

Le maggiori evidenze relative all'utilità diagnostica della %TS riguardano la capacità di rilevare un sovraccarico di Fe nello screening del HH. Una revisione sistematica sull'utilità diagnostica della %TS nell'identificazione di pazienti ambulatoriali con HH ha valutato tre studi, che hanno utilizzato come "gold standard" per la diagnosi la biopsia epatica (70). A causa dell'invasività di questo esame, non è stato però possibile eseguirlo su tutti i soggetti, per cui sensibilità, specificità e i valori predittivi della %TS non sono stati riportati. Con lo sviluppo della biologia molecolare, la genotipizzazione ha conquistato un ruolo importante nella diagnosi della HH. Dei tre studi che hanno valutato l'utilità diagnostica della %TS per la diagnosi di HH utilizzando come "gold standard" la diagnosi genetica (120-122), solo uno ha eseguito la ricerca della mutazione C282Y del gene HFE in tutti i pazienti esaminati (122). In base ai risultati riportati in questo lavoro si può concludere che due determinazioni consecutive di %TS (valore decisionale: 55% per i maschi, 50% per le femmine) permettono di identificare accuratamente i soggetti maschi omozigoti per la mutazione C282Y (sensibilità: 90%, specificità: 99,6%, valore predittivo positivo: 64,3%), ma non le femmine (sensibilità: 55%, specificità: 99,4%, valore predittivo positivo: 43%). Bisogna aggiungere che la frequenza

dell'allele C282Y varia secondo la regione geografica, cosa che, insieme con la penetranza dell'omozigosi C282Y, condiziona la prevalenza della malattia. La prevalenza della malattia a sua volta condiziona, come noto, i valori predittivi dell'esame. I valori di accuratezza diagnostica sopra citati sono stati determinati in una popolazione norvegese, in cui la prevalenza della omozigosi C282Y è dello 0,75% (122). In accordo alle raccomandazioni della EASL la determinazione della %TS ha un ruolo importante nella diagnosi dell'emocromatosi HFE (71).

Indicazioni per la richiesta

- Due determinazioni consecutive della %TS risultano appropriate per lo screening dello stato omozigote della mutazione C282Y del gene HFE, ma solo nei pazienti maschi (valore decisionale per %TS: 55%) (*Classificazione dell'indicazione: +*).
- Nei pazienti con sospetto di sovraccarico di Fe e/o malattia epatica conclamata si raccomanda la determinazione della %TS a digiuno prima dell'indagine genetica per la ricerca della mutazione C282Y del gene HFE, che deve essere eseguita solo nei soggetti con %TS elevata (*Classificazione dell'indicazione: +++*).
- Non esistono sufficienti evidenze che possano supportare l'indicazione per la richiesta dell'esame nel sospetto di una carenza di Fe (*Classificazione dell'indicazione: -*).

TRANSTIRETINA

TTR (o prealbumina) è una proteina globulare non glicosilata con un PM di ~55 kDa (123). TTR è un tetramero composto da 4 subunità identiche. Sebbene ciascuna subunità contenga un sito di legame per RBP4, il tetramero lega con alta affinità solo una molecola di RBP4 e forse una seconda con minore affinità (124). Ogni monomero di TTR ha anche un sito di legame per gli ormoni tiroidei, che mostra una maggiore affinità per la tiroxina rispetto alla triiodotironina. Il complesso TTR-RBP4 lega circa il 20% degli ormoni tiroidei circolanti (124). Praticamente tutta la TTR presente nel plasma viene sintetizzata dalle cellule parenchimali del fegato; piccole quantità di TTR, che probabilmente non influenzano la sua concentrazione ematica, sono prodotte anche dal plesso corioideo, dal pancreas e dalla retina. La sintesi della TTR è sotto il controllo del fattore nucleare C/EBP, che viene controregolato dallo stimolo delle citochine proinfiammatorie, come IL-6. Di

⁴La capacità ferro-legante totale ["total iron-binding capacity", (TIBC)] è la capacità delle proteine plasmatiche di legare il Fe. Dal momento che la Tf è la principale proteina a capacità legante per il Fe, la TIBC è utilizzata per determinare funzionalmente la concentrazione plasmatica di Tf. La TIBC comprende sia la quota proteica saturata che quella non saturata, che si definisce capacità ferro-legante non saturata ["unsaturated iron-binding capacity" (UIBC)]. Il rapporto percentuale fra sideremia e TIBC indica quanta Tf è saturata dal Fe e rappresenta la %TS. La concentrazione della Tf nel plasma può essere misurata direttamente con metodi immunologici e, in assenza di determinazione di TIBC o di UIBC, è possibile eseguire una stima teorica della %TS usando il seguente calcolo: %TS = [ferro (μg/dL)/Tf (mg/dL)] x 70,9. Il calcolo della %TS risente inevitabilmente della variabilità totale della determinazione della sideremia ed eventualmente della Tf.

conseguenza, durante la risposta infiammatoria di fase acuta, la sintesi della TTR e le sue concentrazioni ematiche diminuiscono, come avviene anche per ALB e Tf (125). Quando TTR è legata al RBP4 raggiunge un PM di ~76 kDa, dimensione che è sufficientemente piccola da far sì che possa rapidamente diffondere nello spazio extra-vascolare, così come succede per ALB e Tf: infatti, in circolo si ritrova solo ~50% di queste proteine. TTR viene catabolizzata prevalentemente nel fegato ed eliminata a livello del rene e del tratto gastrointestinale. La sua emivita è di ~2,5 giorni e non è influenzata dallo stress o dai quadri infiammatori acuti. La concentrazione della TTR è molto bassa durante la vita fetale e nel neonato, cresce lentamente fino alla quinta decade di vita, dopodiché le concentrazioni circolanti diminuiscono. Inoltre, le concentrazioni di TTR sembrano essere più basse nelle donne in pre-menopausa. Gli intervalli di riferimento devono quindi essere stratificati per età e per sesso (126).

Evidenze disponibili

TTR è comunemente considerata un marcatore dello stato nutrizionale; le indicazioni cliniche per una richiesta appropriata di questo esame sono state riviste nel 2007 dalla Commissione Proteine dell'IFCC (126). Le considerazioni che seguono sono state tratte da questo documento, di cui è stata anche pubblicata la versione italiana su questa rivista (127). La concentrazione plasmatica di TTR è influenzata da molteplici fattori e, sebbene la misura della TTR sia stata raccomandata in alcuni studi per lo screening di infiammazione, malnutrizione o per entrambe le condizioni, è stato osservato che:

1. stati prolungati di severa malnutrizione possono essere associati a concentrazioni fisiologiche di TTR, mentre basse concentrazioni di TTR sono più spesso associate alla risposta infiammatoria di fase acuta. Di conseguenza sensibilità e specificità della misura della TTR per la diagnosi di malnutrizione sono basse;
2. l'aumento delle concentrazioni di TTR in seguito al trattamento è generalmente accompagnato da una diminuzione delle concentrazioni di PCR e delle altre proteine di fase acuta. Di conseguenza è difficile determinare con certezza se questo sia o no dovuto alla terapia nutrizionale;

3. l'utilizzo del rapporto TTR/PCR può aumentare la sensibilità di rilevazione della risposta di fase acuta, ma il contributo dato dalla TTR è modesto e la misura della sola PCR è probabilmente sufficiente a questo scopo.

Successivamente alla pubblicazione del documento dell'IFCC sono apparsi alcuni studi primari riguardanti la malnutrizione (studi clinici randomizzati di intervento e studi osservazionali di esito) in diverse condizioni cliniche (128, 129). In questi studi la misura della TTR viene utilizzata per la definizione dello stato nutrizionale in associazione a numerosi altri parametri clinici e di laboratorio. Sono apparsi inoltre alcuni studi che hanno valutato l'accuratezza diagnostica del parametro, fornendo risultati non univoci circa l'utilità della misura di TTR come marcatore di malnutrizione (130, 131). L'unica revisione sistematica disponibile riguarda la relazione tra mortalità e concentrazioni di PCR, ALB e TTR nei pazienti in trattamento emodialitico a lungo termine (132). La metanalisi eseguita non ha rilevato una significativa correlazione tra concentrazioni di TTR e mortalità, ma va notato come la notevole disomogeneità degli studi inclusi non consenta di arrivare a conclusioni definitive (132).

Indicazioni per la richiesta

- Allo stato attuale non ci sono evidenze così robuste da consentire di raccomandare la TTR come marcatore di malnutrizione: la storia clinica e l'esame obiettivo restano i punti cardine per la definizione dello stato nutrizionale. Considerato che la malnutrizione è un riconosciuto fattore di rischio in numerose condizioni cliniche, la misura della TTR (sempre affiancata da quella della PCR) può tuttavia in alcuni casi integrare i parametri di valutazione clinica (*Classificazione dell'indicazione: ±*).

RINGRAZIAMENTI

Gli Autori ringraziano per il contributo alla stesura del testo Gianni Fuzzi (Firenze), Antonio La Gioia (Livorno) e Mauro Panteghini (Milano). Gli Autori ringraziano Giancarla Chesini per la collaborazione editoriale nella preparazione del manoscritto.

APPENDICE

SINOSSI DELLE RACCOMANDAZIONI

Proteina	Classificazione delle raccomandazioni				
	(+++)	(++)	(+)	(±)	(-)
Albumina	- pazienti emodializzati (adeguatezza terapeutica) - stadiazione mieloma multiplo	- terapia sostitutiva con albumina umana - danno renale acuto		- funzionalità epatica - perdita proteica	
α_1 -Antitripsina	percorso diagnostico del deficit della proteina				

Proteina	Classificazione delle raccomandazioni				
	(+++)	(++)	(+)	(±)	(-)
α ₁ -Glicoproteina acida					nessuna indicazione
α ₂ -Macroglobulina				fibrosi epatica	
Aptoglobina				DD anemie emolitiche vs.non emolitiche	
β ₂ -Microglobulina	- pazienti con MGUS (valutazione iniziale) - stadiazione mieloma multiplo - pazienti emodializzati (efficacia della terapia)		fattore prognostico nei linfomi		misurazione nelle urine
Catene leggere libere	- percorso diagnostico delle discrasie plasmacellulari (con elettroforesi sieroproteica e immunofissazione) - pazienti con MGUS, mieloma multiplo, mieloma indolente, plasmocitoma solitario, amiloidosi AL (fattore prognostico) - monitoraggio terapeutico per la definizione della "risposta stringente completa"		pazienti con rene da mieloma (verifica della rimozione dal circolo con dialisi)		misurazione nelle urine
Ceruloplasmina		percorso diagnostico per malattia di Wilson	sospetto di malattia di Menkes		
Cistatina C		- funzionalità renale - fattore di rischio CV in pazienti con ridotta funzionalità renale		danno renale acuto	
Fattore reumatoide	percorso diagnostico dell'AR		pazienti con AR fattore-negativi (fattore prognostico)		
Ferritina	pazienti con CKD per identificare i candidati alla terapia con eritropoietina		- percorso diagnostico della carenza marziale - gestione pazienti HH (C282Y omozigoti) - parametro predittivo di steatosi epatica o cirrosi (HH)		screening di HH
Immunoglobuline (IgA, IgG, IgM, IgD)	- percorso diagnostico nei deficit immunitari - percorso diagnostico della malattia celiaca (IgA) - primo riscontro e monitoraggio del paziente con CM (qualora la misura densitometrica della immunoglobulina monoclonale non sia possibile) - valutazione iniziale del paziente con CM (misura delle immunoglobuline non coinvolte)			cirrosi biliare (monitoraggio della terapia con acido ursodeossicolico) (IgM)	misura delle catene leggere legate

Proteina	Classificazione delle raccomandazioni				
	(+++)	(++)	(+)	(±)	(-)
Proteina C reattiva	- pazienti con AR (fattore di rischio di progressione e monitoraggio della terapia) - pazienti con colite ulcerosa o morbo di Crohn (DD, monitoraggio della malattia e della terapia) - pazienti a rischio CV basso o intermedio per la riclassificazione del rischio		per la valutazione di esami di laboratorio per la cui corretta interpretazione debba essere verificata l'esistenza di un processo flogistico	diagnosi e monitoraggio delle situazioni flogistiche e delle infezioni	- ripetizione della misura entro le 24 ore - screening del rischio CV - monitoraggio della terapia per il rischio CV
Proteina legante il retinolo				fibrosi cistica (valutazione efficacia supplementazione vitaminica)	
Recettore solubile della transferrina		percorso diagnostico dell'anemia da carenza marziale		gravidanza e bambini <6 anni (valutazione riserve marziali)	
Siero amiloide A			monitoraggio amiloidosi AA		
Sistema complemento	- percorso diagnostico nei deficit immunitari - percorso diagnostico e monitoraggio malattie da immunocomplessi		percorso diagnostico dell'angioedema ereditario		
Transferrina (% saturazione)	pazienti con sospetto sovraccarico di ferro (e/o malattia epatica conclamata) per selezione candidati all'esame genetico (mutazione C282Y del gene HFE)		screening dello stato omozigote della mutazione C282Y del gene HFE (evidenza solo per il sesso maschile)		percorso diagnostico delle carenze marziali
Transtiretina				stato nutrizionale	

DD, diagnosi differenziale; MGUS, gammopatia monoclonale di incerto significato; CV, cardiovascolare; AR, artrite reumatoide; CKD, malattia renale cronica; HH, emocromatosi ereditaria; CM, componente monoclonale.

BIBLIOGRAFIA

- Lothar T. Proteins in clinical and laboratory medicine. Frankfurt, GE: TH-Books Verlagsgesellschaft, 2008.
- Friedman AN, Fadem SZ. Reassessment of albumin as nutrition marker in kidney disease. J Am Soc Nephrol 2010;21:223-30.
- Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Albumin synthesis. N Eng J Med 1972;286:816-21.
- Fleck A, Raines G, Hawker F, et al. Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminemia in disease and injury. Lancet 1985;8432:781-4.
- Liumbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, et al. Raccomandazioni SIMTI sul corretto utilizzo degli emocomponenti e dei plasma derivati. Raccomandazioni per l'uso dell'albumina. Milano. Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia (SIMTI) ed., 2008:45-58.
- Alderson P, Bunn F, Li Wan Po A, et al. Human albumin solution for resuscitation and volume expansion in critically ill patients. Cochrane Database Syst Rev 2004;18:CD001208.
- European Best Practice Guidelines for Haemodialysis. Nephrol Dial Transplant 2002;17(suppl 7):1-111.
- Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, et al. International staging system for multiple myeloma. J Clin Oncol 2005;23:3412-20.
- Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, et al. Guidelines for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. Blood 2011;117:4701-5.
- Wiedermann CJ, Wiedermann W, Joannidis M. Hypoalbuminemia and acute kidney injury: a meta-analysis of observational clinical studies. Intensive Care Med 2010;36:1657-65.
- Gooptu B, Ekeowa UI, Lomas DA. Mechanisms of emphysema in alpha1-antitrypsin deficiency molecular and cellular insights. Eur Respir J 2009;34:475-88.
- Ferrarotti I, Thun GA, Zozetto M, et al. Serum levels and genotype distribution of α 1-antitrypsin in the general population. Thorax 2012 10.1136/thoraxjnl-2011-201321.
- Ferrarotti I, Torrini M, Scabini R, et al. Diagnosi di laboratorio del deficit ereditario di α 1-antitripsina. Biochim Clin 2009;33:39-44.
- Silverman EK, Sandhaus RA. α 1-antitrypsin deficiency. N Engl J Med 2009;360:2749-57.
- Miravittles M, Herr C, Ferrarotti I, et al. Laboratory testing of individuals with severe α 1-antitrypsin deficiency in three

- European centres. *Eur Respir J* 2010;35:960-8.
16. American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:818-900.
 17. Fournier T, Medjoubi-N N, Porquet D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim Biophys Acta* 2000;1482:157-71.
 18. Chu CT, Howard GC, Misra UK, et al. Alpha2-macroglobulins: a sensor for proteolysis. *Ann N Y Acad Sci* 1994;10:291-307.
 19. Dodel RC, Du Y, Bales KR, et al. Alpha2-macroglobulin and the risk of Alzheimer's disease. *Neurology* 2000;25:438-42.
 20. Gangadharan B, Antrobus R, Dwek RA, et al. Novel serum biomarker candidates for liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem* 2007;53:1792-9.
 21. Jeppsson JO. Haptoglobin. In: Ritchie RF, Navolotskaia O, eds. *Serum proteins in clinical medicine*. Scarborough: Foundation for Blood Research, 1996:7.04-1-6.
 22. Tabbara IA. Hemolytic anemias. Diagnosis and treatment. *Med Clin North Am* 1992;76:649-68.
 23. Dhaliwal G, Cornett PA, Tierney LM. Hemolytic anemia. *Am Fam Physician* 2004;69:2599-606.
 24. Marchand A, Galen RS, van Lente F. The predictive value of serum haptoglobin in haemolytic disease. *JAMA* 1980;243:1909-11.
 25. Berggård I, Bearn AG. Isolation and properties of a low molecular weight β 2-globulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem* 1968;243:4095-103.
 26. Kyle RA, Durie BGM, Rajkumar SV, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010;24:1121-7.
 27. Nikhil C, Munshi C, Anderson P, et al. Guidelines for risk stratification in multiple myeloma: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 2. *Blood* 2011;117:4696-700.
 28. Khouri IF, Saliba RM, Okoroji GJ, et al. Long term follow up of autologous stem cell transplantation in patients with diffuse mantle cell lymphoma in first disease remission. *Cancer* 2003;98:2630-5.
 29. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, et al. Follicular lymphoma international prognostic index 2: A new prognostic index for follicular lymphoma developed by the International Follicular Lymphoma Prognostic Factors Project. *J Clin Oncol* 2009;27:4555-62.
 30. Kim HA, Jeon JY, Yoon JM, et al. Beta 2-microglobulin can be a disease activity marker in systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2010;339:337-40.
 31. Elefsiniotis IS, Moulakakis A, Pantazis KD, et al. Relationship between serum beta-2-microglobulin levels and virological breakthrough in HBeAg negative chronic hepatitis B patients, under long-term treatment schedules including lamivudine. *World J Gastroenterol* 2005;11:1922-8.
 32. Davey PG, Gosling P. Beta 2-microglobulin instability in pathological urine. *Clin Chem* 1982;28:1330-3.
 33. Katzmman JA, Clark RJ, Abraham RS, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 2002;48:1437-44.
 34. Albertini R, Merlini G. La misura delle catene leggere libere delle immunoglobuline nel siero: aspetti analitici e clinici. *Biochim Clin* 2010;34:26-9.
 35. Te Velthuis H, Knop I, Stam P, et al. N Latex FLC - new monoclonal high performance assays for the determination of free light chain kappa and lambda. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1323-32.
 36. Dolci A, Vernocchi A. Aspetti metodologici per la ricerca e la caratterizzazione delle componenti monoclonali nel siero. *Biochim Clin* 2012;36:84-8.
 37. Dispenzieri A, Kyle RA, Merlini GP, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23:215-24.
 38. Bird J, Behrens J, Westin J, et al. UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol* 2009;147:22-42.
 39. Berenson JR, Anderson KC, Audell RA, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: a consensus statement. *Br J Haematol* 2010;150:28-38.
 40. Hutchison CA, Cook M, Heyne N, et al. European trial of free light chain removal by extended haemodialysis in cast nephropathy (EuLITE): a randomised control trial. *Trials* 2008;9:55.
 41. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. on behalf of the International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:1467-73.
 42. Koschinsky ML, Funk WD, Van Oost BA, et al. Complete cDNA sequence of human preceruloplasmin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:5086-90.
 43. Hellman N, Gitliff J. Ceruloplasmin metabolism and function. *Annu Rev Nutr* 2002;22:439-58.
 44. Roberts EA, Schilsky MI. Diagnosis and treatment of Wilson Disease: An update. *Hepatology* 2008;47:2089-111.
 45. Mak CM, Lam CW. Diagnosis and treatment of Wilson's Disease: A comprehensive review. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2008;45:263-90.
 46. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. European Association for Study of Liver. *J Hepatol* 2012;56:671-85.
 47. Kaler SG. Diagnosis and therapy of Menkes syndrome, a genetic form of copper deficiency. *Am J Clin Nutr* 1998;67:1029S-34S.
 48. Mussap M, Plebani M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004;41:467-550.
 49. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2002;40:221-6.
 50. Roos JF, Doust J, Tett SE, et al. Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children: a meta-analysis. *Clin Biochem* 2007;40:383-91.
 51. Chew JS, Saleem M, Florkowski CM, et al. Cystatin C. A paradigm of evidence based laboratory medicine. *Clin Biochem Rev* 2008;29:47-62.
 52. Bagshaw SM, Bellomo R. Cystatin C in acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care* 2010;16:533-9.
 53. <http://www.renal.org/clinical/GuidelinesSection/AcuteKidneyInjury.aspx>
 54. Taglieri N, Koenig W, Kaski JC. Cistatina C e rischio cardiovascolare. *Biochim Clin* 2011;35:46-55.
 55. Ghidoni R, Benussi L, Glionna M, et al. Plasma cystatin C and risk of developing Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment. *J Alzheimer Dis* 2010;22:985-91.
 56. Dorner T, Hansen A. Autoantibodies in normals: the value of predicting rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*

- 2004;6:282-4.
57. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010;62:2569-81.
 58. Rheumatoid arthritis. The management of rheumatoid arthritis in adults. www.nice.org.uk/CG79
 59. Chatzidionysiou K, Lie E, Nasonov E, et al. Highest clinical effectiveness of rituximab in autoantibody-positive patients with rheumatoid arthritis: pooled data from 10 European registries. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1575-80.
 60. Finch CA, Bellotti V, Stray S, et al. Plasma ferritin determination as a diagnostic tool. *West J Med* 1986;145:657-63.
 61. Guyatt GH, Oxman AD, Ali M, et al. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview. *J Gen Intern Med* 1992;7:145-53.
 62. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, et al. Ferritin for the clinician. *Blood Rev* 2009;23:95-104.
 63. Means RT Jr, Allen J, Sears DA, et al. Serum soluble transferrin receptor and the prediction of marrow aspirate iron results in a heterogeneous group of patients. *Clin Lab Haematol* 1999;21:161-7.
 64. Suominen P, Möttönen T, Rajamäki A, et al. Single values of serum transferrin receptor and transferrin receptor ferritin index can be used to detect true and functional iron deficiency in rheumatoid arthritis patients with anemia. *Arthritis Rheum* 2000;43:1016-20.
 65. Rimon E, Levy S, Sapir A, et al. Diagnosis of iron deficiency anemia in the elderly by transferrin receptor-ferritin index. *Arch Intern Med* 2002;162:445-9.
 66. Mast AE, Blinder MA, Lu Q, et al. Clinical utility of the reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 2002;99:1489-91.
 67. Fernández-Rodríguez AM, Guindeo-Casasús MC, Molero-Labarta T, et al. Diagnosis of iron deficiency in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1999;34:508-13.
 68. Intragumtornchai T, Rojnukkarin P, Swasdikul D, et al. The role of serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency anaemia in patients with liver cirrhosis. *J Intern Med* 1998;243:233-41.
 69. KDOQI. Clinical practice guideline and clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney disease: 2007 update of hemoglobin target. *Am J Kidney Dis* 2007;50:476-530.
 70. Schmitt B, Golub RM, Green R, et al. Screening primary care patients for hereditary hemochromatosis with transferrin saturation and serum ferritin level: systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2005;143:522-36.
 71. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *J Hepatol* 2010;53:3-22.
 72. Crawford DH, Murphy TL, Ramm LE, et al. Serum hyaluronic acid with serum ferritin accurately predicts cirrhosis and reduces the need for liver biopsy in C282Y hemochromatosis. *Hepatology* 2009;49:418-25.
 73. Di Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, et al. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1992;102:2108-13.
 74. Geha RS, Notarangelo LD, Casanova GL, et al. Primary immunodeficiency diseases: An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:776-94.
 75. de Vries E, Dreissen G. Primary immunodeficiencies in children: a diagnostic challenge. *Eur J Pediatr* 2011;170:169-77.
 76. Yel L. Selective IgA deficiency. *J Clin Immunol* 2010;30:10-6.
 77. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009;51:237-67.
 78. Behrens BJ, Westin J, Turesson I, et al. UK Myeloma forum (UKMF), and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol* 2009;147:22-8.
 79. Karen DF, Jeffrey S, Warren JS, et al. Strategy to diagnose monoclonal gammopathies in serum: high-resolution electrophoresis, immunofixation, and κ, λ quantification. *Clin Chem* 1988;34:2196-201.
 80. Bianchi P, McNamara E, Bergami MR, et al. Immunochemical evaluation of monoclonal gammopathies. Heavy chain to light chain ratio is of little practical value for detecting IgD myelomas and free light chains. *Clin Chem* 1992;38:317-9.
 81. American Gastroenterology Association: Institute Medical Position Statement on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* 2006;131:1977-80.
 82. Chen K, Cerutti A. New insight into the enigma of immunoglobulin D. *Immunol Rev* 2010;237:160-79.
 83. Ammouri W, Cuisset L, Rouage S, et al. Diagnostic value of serum immunoglobulinemia D level in patients with a clinical suspicion of hyper IgD syndrome. *Rheumatology* 2007;46:1597-600.
 84. Szalai AJ, Agrawal A, Greenhough TJ, et al. C-reactive protein: structural biology and host defense function. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:265-70.
 85. Kushner I, Gewurz H, Benson MD. C-reactive protein and acute phase response. *J Lab Clin Med* 1981;97:739-49.
 86. Schultz DR, Arnold PI. Properties of four acute phase proteins: C-reactive protein, serum-amyloid A protein, α_1 acid-glycoprotein and fibrinogen. *Semin Arthritis Rheumatism* 1990;86:129-47.
 87. Colley CM, Fleck A, Goode AW, et al. Early time course of the acute phase response in man. *J Clin Pathol* 1983;36:1203-7.
 88. Simon L, Gauvin F, Amre DK, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004;39:206-17.
 89. Emery P, Gabay C, Kraan M, et al. Evidence-based review of biologic markers as indicators of disease progression and remission in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2007;27:793-806.
 90. Stange EF, Travis SPL, Vermeire S, et al. European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis* 2008;2:1-23.
 91. Van Assche G, Dignass A, Panes J, et al. The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis* 2010;4:7-27.
 92. Heikkilä K, Ebrahim S, Lawlor DA. A systematic review of the association between circulating concentrations of C-reactive protein and cancer. *J Epidemiol Community Health* 2007;61:824-32.
 93. Lowe P, Metzger BE, Lowe WL jr, et al. Inflammatory mediators and glucose in pregnancy: results from a subset of the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5427-34.
 94. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice. A statement for

- healthcare professional from the Centers for Disease Control and Prevention and American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
95. Pearson TA, Bazzarre TL, Daniels SR, et al. American Heart Association guide for improving cardiovascular health at the community level: a statement for public health care practitioners, health providers and health policy makers from the American Heart Association Expert Panel on Population and Prevention Science. *Circulation* 2003;107:645-51.
 96. Myers GL, Rifai N, Tracy RP, et al. CDC/AHA workshop on markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and health public practice. Report from the laboratory science discussion group. *Circulation* 2004;110:e545-9.
 97. Myers GL, ed. National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory Medicine Practice Guidelines. Emerging biomarkers for primary prevention of cardiovascular disease and stroke. Washington DC: American Association for Clinical Chemistry, 2009.
 98. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004;350:1387-97.
 99. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, et al. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *JAMA* 2007;297:611-9.
 100. Ridker PM, MacFayden J, Libby P, et al. Relation of baseline high-sensitivity C-reactive protein level to cardiovascular outcomes with rosuvastatin in the Justification for Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER). *Am J Cardiol* 2010;106:204-9.
 101. Pepys MB, Hirschfield GM, Tennent GA, et al. Targeting C-reactive protein for the treatment of cardiovascular disease. *Nature* 2006;440:1217-21.
 102. Frey SK, Nagl B, Henze A, et al. Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic diseases of the kidney but not of the liver. *Lipids Health Dis* 2008;7:29.
 103. Nutritional management of cystic fibrosis. UK Cystic Fibrosis Trust. Nutrition Working Group 2002 <http://www.cftrust.org.uk/aboutcf/publications/consensusdoc/>
 104. Tanumihardjo SA. Assessing vitamin A status: past, present and future. *J Nutrition* 2004;134:290S-3S.
 105. Fujita M, Brindle R, Rocha A, et al. Assessment of the relative dose-response test based on serum retinol-binding protein instead of serum retinol in determining low hepatic vitamin A stores. *Am J Clin Nutr* 2009;90:217-24.
 106. Drescher T, Singler K, Ulrich A, et al. Comparison of two malnutritional risk screening methods (MNA and NRS 2002) and their association with markers of protein malnutrition in geriatric hospitalized patients. *Eur J Clin Nutr* 2010;64:887-93.
 107. Koch A, Weiskirchen R, Sanson E, et al. Circulating retinol binding protein 4 in critically ill patients before specific treatment: prognostic impact and correlation with organ function, metabolism and inflammation. *Crit Care* 2010;14:R179.
 108. Duntas RH, Biondi D. New insight into subclinical hypothyroidism and cardiovascular risk. *Semin Thromb Hemostas* 2011;37:27-34.
 109. Speeckaert MM, Speeckaert R, Delanghe JR. Biological and clinical aspects of soluble transferrin receptor. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2011;47:213-28.
 110. Skikne B. Serum transferrin receptor. *Am J Hematol* 2008;83:872-5.
 111. Skikne B, Punnonen K, Caldron PH, et al. Improved differential diagnosis of anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: A prospective multicenter evaluation of soluble transferrin receptor and the sTfR/log ferritin index. *Am J Hematol* 2011;86:923-7.
 112. Koulaouzidis A, Said E, Cottier R, et al. Soluble transferrin receptors and iron deficiency, a step beyond ferritin. A systematic review. *J Gastrointest Liver Dis* 2009;18:345-52.
 113. Yamada T. SAA: review of biology, assay methods and clinical usefulness. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:381-8.
 114. Obici L, Donadei S, Albertini R, et al. Siero amiloide A e flogosi. *Biochim Clin* 2010;34:326-30.
 115. Lachmann HJ, Goodman HJ, Gilbertson JA, et al. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *New Engl J Med* 2007;356:2361-71.
 116. Mosca M, Tani C, Aringer M, et al. European League Against Rheumatism. Recommendations for monitoring patients with systemic lupus erythematosus in clinical practice and in observational studies. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1269-74.
 117. Dammacco F, Sansonno D, Piccoli C, et al. The cryoglobulin: an overview. *Eur J Clin Invest* 2001;31:628-38.
 118. Zuraw BL, Christiansen SC. Pathogenesis and laboratory diagnosis of hereditary angioedema. *Allergy Asthma Proc* 2009;30:487-92.
 119. National Clinical Guideline Centre. Anaemia management in chronic kidney disease. Rapid update 2011. NICE Clinical Guidelines No. 114. National Clinical Guideline Centre (UK). London: Royal College of Physicians (UK), 2011.
 120. Milman N, Albeck MJ. Distinction between homozygous and heterozygous subjects with hereditary haemochromatosis using iron status markers and receiver operating characteristic (ROC) analysis. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:95-8.
 121. Murtagh LJ, Whitley M, Wilson S, et al. Unsaturated iron binding capacity and transferrin saturation are equally reliable in detection of HFE hemochromatosis. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2093-9.
 122. Thorstensen K, Kvitland MA, Irgens WO, et al. Screening for C282Y homozygosity in a Norwegian population (HUNT2): The sensitivity and specificity of transferrin saturation. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70:92-7.
 123. Ingbar SH. Pre-albumin: a thyroxine binding protein of human plasma. *Endocrinology* 1958;63:256-9.
 124. Monaco HL. The transthyretin-retinol-binding protein complex. *Biochim Biophys Acta* 2000;1482:65-72.
 125. Ritchie RF, Palomaki GE, Neveux LM, et al. Reference distributions for the negative acute-phase serum proteins, albumin, transferrin and transthyretin: a practical, simple and clinically relevant approach in a large cohort. *J Clin Lab Anal* 1999;13:273-9.
 126. Johnson AM, Merlini G, Sheldon J, et al. Clinical indications for plasma protein assays: transthyretin (prealbumin) in inflammation and malnutrition. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) Scientific Division Committee on Plasma Proteins (C-PP). *Clin Chem Lab Med* 2007;45:419-26.
 127. Johnson AM, Merlini G, Sheldon J, et al. La transtiretina (prealbumina) nella infiammazione e malnutrizione. *Biochim Clin* 2007;31:97-104.
 128. Suyama Y, Adachi K, Notsu Y, et al. Efficacy of corrected rapid turnover protein increment index (CRPI) for early detection of improvement of nutrition status in patients with malnutrition. *J Clin Biochem Nutr* 2009;45:44-8.
 129. Molnar MZ, Keszei A, Cizra ME, et al. Evaluation of the malnutrition-inflammation score in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2010;56:102-11.

130. Fiedler R, Jehle PM, Onsten B, et al. Clinical nutrition scores are superior for the prognosis of haemodialysis patients compared to lab markers and bioelectrical impedance. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:3812-7.
131. Caporali R, Caccialanza R, Bonino C, et al. Disease-related malnutrition in outpatients with systemic sclerosis. *Clinical Nutrition* 2012: doi:10.1016/j.clnu.2012.02.010
132. Herselman M, Esau N, Kruger JM, et al. Relationship between serum protein and mortality in adults on long-term hemodialysis: exhaustive review and meta-analysis. *Nutrition* 2010;26:10-32.