

Olotranscobalamina: nuovo parametro per la diagnosi tempestiva di stati carenziali di vitamina B₁₂

Giugno 2010

Mélissa de Joffrey
Tecnica in analisi biomediche presso la SSMT di Locarno
3° anno di formazione

Lavoro di Diploma eseguito presso il Laboratorio di analisi dell'ospedale regionale
la Carità di Locarno

Responsabile di stage : Dr. Roberto Della Bruna

INDICE

1.INDICE DELLE TABELLE E DELLE FIGURE.....	3
1.1 Abbreviazioni	
2. RIASSUNTO.....	4
2.1 Abstract	
3.INTRODUZIONE.....	6
3.1 La vitamina B12	
3.2 Il metabolismo della vitamina B12	
3.3 Le cause di carenza della cobalamina	
3.4 Le conseguenze cliniche della carenza	
3.5 L'anemia megaloblastica da carenza di vitamina B12	
3.6 Obiettivo del lavoro	
4.MATERIALE E METODI.....	10
4.1 Strategia di realizzazione	
4.1.1 Campioni	
4.1.2 Procedimento	
4.2 Materiali	
4.3 Metodi	
4.4 Imprecisione delle analisi	
4.5 Inaccuratezza delle analisi	
4.6 Confronto metodi	
5. RISULTATI.....	16
5.1 Imprecisione delle analisi	
5.2 Controlli di qualità	
5.3 Inaccuratezza delle analisi	
5.4 Confronto metodi	
5.4.1 Secondo Spearman	
5.4.2 Secondo Deming	
5.4.3 Secondo Passing Bablok	
6. DISCUSSIONE.....	23
6.1 L'anemia megaloblastica da carenza di vitamina B12	
7. CONCLUSIONI.....	27
8. BIBLIOGRAFIA.....	28
9. RINGRAZIAMENTI.....	28
10. ALLEGATI	

1. INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1:	Proteine liganti la cobalamina
Tabella 2:	Riassunto delle cause di deficit della vitamina B ₁₂
Tabella 3:	Riporta i risultati dei controllo di qualità della vitamina B ₁₂ in uso attualmente nella routine ospedaliera, misurati in pmol/l
Tabella 4:	Riporta i risultati dei controllo di qualità della Active-B ₁₂ (olotranscobalamina) forniti dal kit della ditta Abbott, misurati in pmol/l
Tabella 5:	Imprecisione calcolata per il metodo della vitamina B ₁₂
Tabella 6:	Imprecisione calcolata per il metodo dell'Active-B ₁₂ (olotranscobalamina)
Tabella 7:	Inaccuratezza calcolata per il metodo della vitamina B ₁₂
Tabella 8:	Inaccuratezza calcolata per il metodo dell'Active-B ₁₂ (olotranscobalamina)
Tabella 9:	Dati delogarithmati
Tabella 10:	Risultati dei campioni con MCV > 95 fl

1.INDICE DELLE FIGURE

Figura 1:	Algoritmo diagnostico per il dosaggio della vitamina B ₁₂
Figura 2:	Analisi dei risultati secondo il metodo statistico Spearman
Figura 3:	Analisi dei risultati secondo i metodi statistici Deming e Passing & Bablock
Figura 4:	Grafico a dispersione che mostra la relazione tra le due misure
Figura 5:	Analisi dei risultati secondo il metodo Passin & Bablok, (MCV / Holo-TC)
Figura 6:	Analisi dei risultati secondo il metodo Passing & Bablok (MCV / Vit B ₁₂)

1.INDICE DEGLI ALLEGATI

Allegato 1:	Risultati delle analisi eseguite
Allegato 2:	Metodica originale Vitamina B ₁₂ , Beckman Coulter
Allegato 3:	Curva di calibrazione del metodo della Vitamina B ₁₂
Allegato 4:	Metodica originale Active B ₁₂ , Abbott
Allegato 5:	Curva di calibrazione del metodo della olotranscobalamina

1.1 ABBREVIAZIONI

Cbl:	cobalamina
HC:	aptocorrina
TC:	transcobalamina
Holo-TC:	olotranscobalamina
Hcy:	omocisteina
FI:	fattore intrinseco
MCV:	volume corpuscolare medio
EOLAB:	Dipartimento di medicina di laboratorio dell'ente ospedaliero cantonale
EOC:	Ente ospedaliero cantonale

2. RIASSUNTO

Introduzione

La vitamina B₁₂, chiamata anche cobalamina, è una sostanza importante coinvolta in due funzioni metaboliche vitali; la normale crescita cellulare e la sintesi del DNA. Chiamata anche cobalamina

La vitamina B₁₂ nel circolo sanguigno circola legata a due differenti proteine; la transcobalamina e l'aptocorrina.

L'aptocorrina lega il 70-90% della vitamina B₁₂, è un composto biologicamente inerte, inoltre il complesso può venire assorbito solo al livello del fegato in quanto i ricettori per la Holo-HC si trovano soltanto nel fegato.

La transcobalamina lega invece il 10-30% di vitamina B₁₂. Questa percentuale rappresenta la quota di vitamina B₁₂ biologicamente attiva.

Obiettivo del lavoro

Il lavoro ha come obiettivo generale di indagare sulla possibilità di individuare tempestivamente stati carenziali di vitamina B₁₂ attraverso la misurazione della quota biologicamente attiva la olotranscobalamina (Holo-TC).

Si ha come ambizione di ottenere più sensibilità nel dosaggio della Holo-Tc in modo di raggiungere una maggiore prevenzione degli stati carenziali di vitamina B₁₂.

Materiale e metodi

Le misure sono state effettuate su di un totale di 150 campioni di plasma litio-eparina, provenienti dal dipartimento di medicina di laboratorio dell'ente ospedaliero cantonale, EOLAB.

Per ogni campione sono state dosate sia la vitamina B₁₂ con il DxC 800 Access, ditta Beckman Coulter, e la olotranscobalamina con l'AxSYM, ditta Abbott.

Entrambe le metodiche sfruttano le caratteristiche dei metodi MEIA, (Microparticule Enzyme Immunoassay) è un test immunoenzimatico che cattura microparticelle.

I risultati sono stati analizzati e confrontati con il programma Analyse-it in uso presso il laboratorio dell'ospedale San Giovanni di Bellinzona.

Risultati e conclusione

I risultati ottenuti con i metodi statistici eseguiti non mostrano una preferenza per uno dei due parametri. Come screening per la carenza della vitamina B₁₂ la misurazione della olotranscobalamina non ha dimostrato di essere più sensibile del dosaggio della vitamina B₁₂ attualmente in uso presso EOLAB.

Il dosaggio della olotranscobalamina non sembra mostrare miglioramenti significativi, tuttavia è da tenere in considerazione che i campioni utilizzati per questo studio derivano dalla routine ospedaliera e non è stata eseguita nessuna stratificazione dei campioni. Quindi non si possono trarre conclusioni definitive per quanto riguarda il dosaggio della olotranscobalamina.

2.1 ABSTRACT

Introduction

Vitamin B₁₂, also called cobalamin, is a water soluble vitamin with a key role in the normal functioning of the brain and nervous system, and for the formation of blood it is normally involved in the metabolism of every cell of the body, especially affecting the DNA synthesis and regulation

Vitamin B₁₂ circulates in the bloodstream linked to two different proteins, the transcobalamin and haptocorrin. Haptocorrin binds 70-90% of vitamin B₁₂, but is a biologically inert substance, because, only the cells of the liver have the receptor for this compound.

The remaining 10-30% of vitamin B₁₂ binds with the other protein, the transcobalamin. This percentage represents the proportion of biologically active vitamin B₁₂. This compound is also called olotranscobalamin (HOLO-TC).

Purpose

The purpose of this study was to investigate the possibility of early detection of vitamin B₁₂ deficiency states by measuring the proportion of biologically active olotranscobalamin (HOLO-TC)

Increased sensitivity in the assay of HOLO-TC would result in greater prevention of deficiency states of vitamin B₁₂.

Materials and methods

Measurements were performed on a total of 150 lithium-heparin plasma samples available from the Department of Laboratory Medicine of the cantonal hospital (EOLAB).

For each sample vitamin B₁₂ was measured with DxC 800 Access, Beckmann Coulter Company. Then olotranscobalamin was measured with AxSYM, Abbott Company.

Both methods exploit the characteristics of the MEIA methods, (Microparticle Enzyme Immunoassay), which is a microparticle capture enzyme immunoassay.

The results were analyzed and compared with the Analyse-it program in use at the laboratory of the San Giovanni in Bellinzona.

Results and discussion

The results obtained with statistical methods performed show no preference for either parameter. As for the lack of screening vitamin B₁₂ measurement, holotranscobalamin was not shown to be a more sensitive assay of vitamin B₁₂ in use at EOLAB.

The dosage of holotranscobalamin does not seem to show significant improvements, however it should be taken into consideration that the samples used for this study result from hospital routine and no stratification of the samples was performed. So no definitive conclusions can be drawn concerning the dosage of holotranscobalamin.