

# **ANEMIE EMOLITICHE RARE E DI DIFFICILE DIAGNOSI**

## **DIAGNOSTICA DI II LIVELLO**

**Cristina Vercellati**

**Fondazione IRCCS Ca' Granda  
Ospedale Maggiore Policlinico, Milano.**



**1° PATIENT'S DAY 13 NOVEMBRE 2010**

# **Esami di II livello nei difetti della membrana eritrocitaria: Sferocitosi ed Ellissocitosi Ereditaria**

**Studio delle proteine della membrana eritrocitaria**

**Analisi funzionale della spettina**

Utile per per spiegare i casi più complessi o gravi

L'identificazione del difetto di base è la premessa per un eventuale studio molecolare

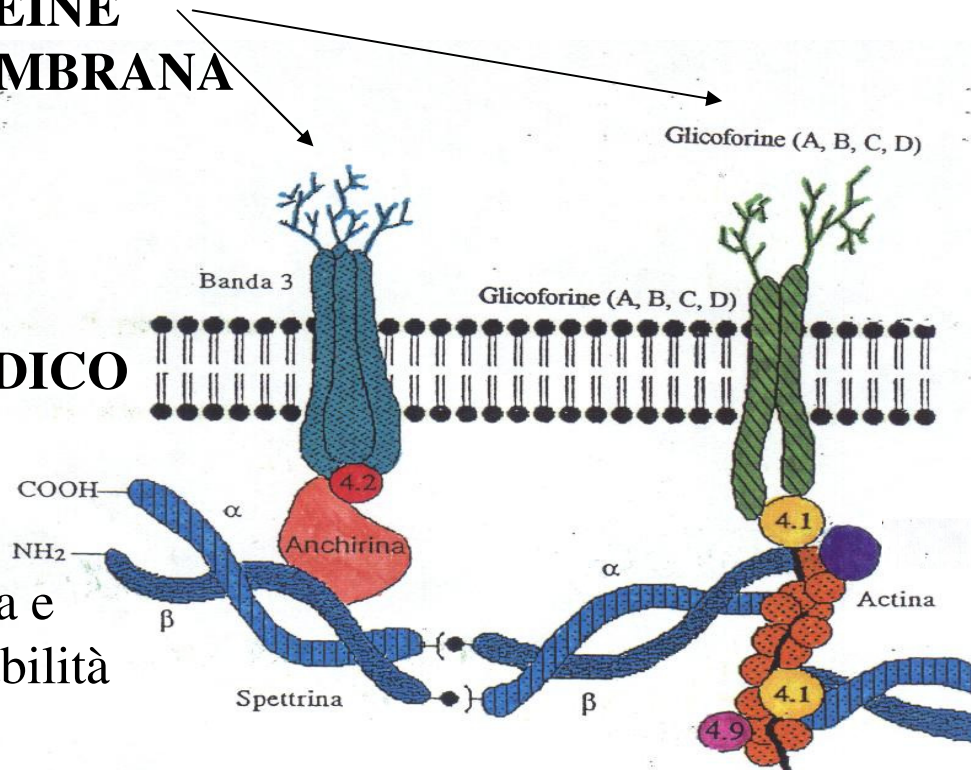


# MEMBRANA DEL GLOBULO ROSSO

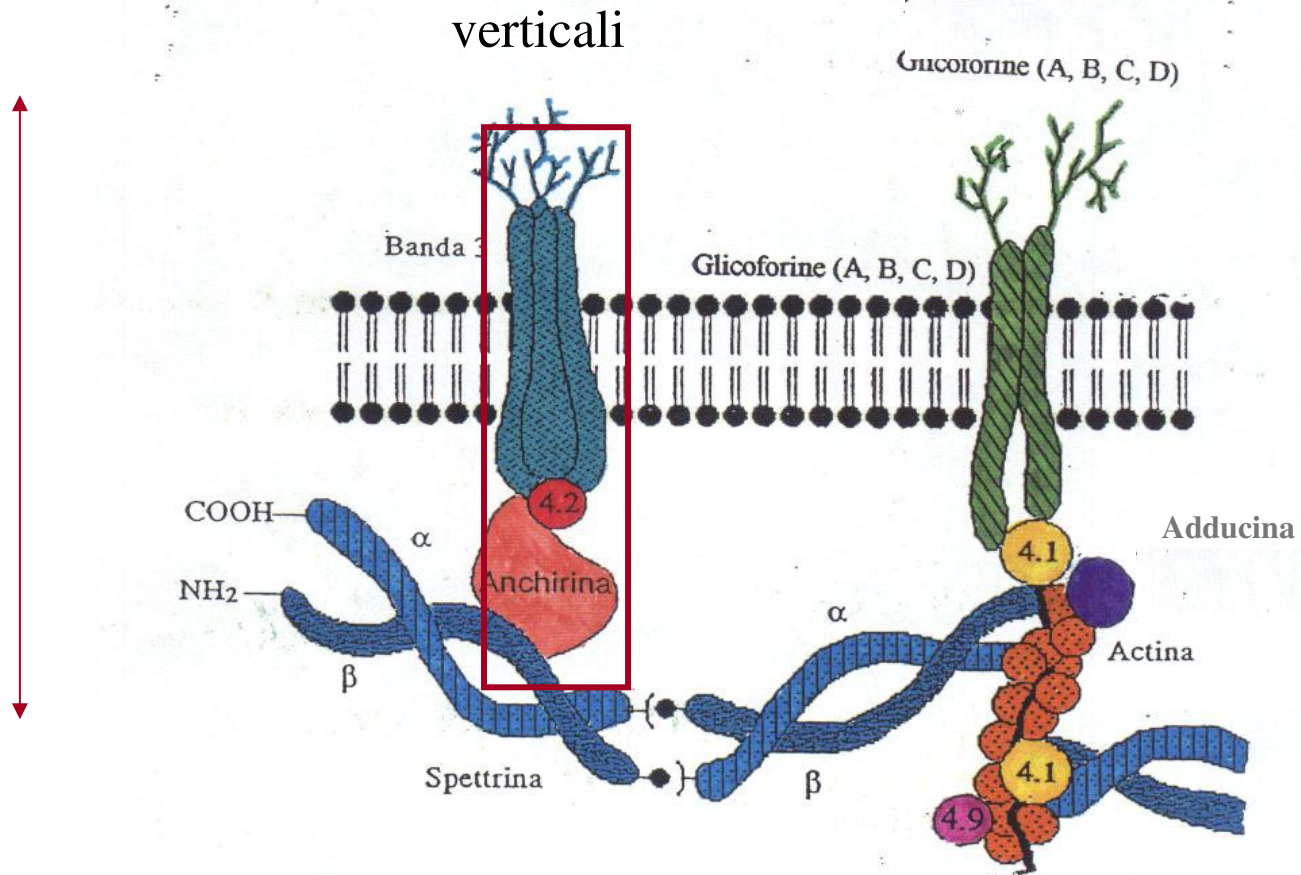
## PROTEINE TRANSMEMBRANA

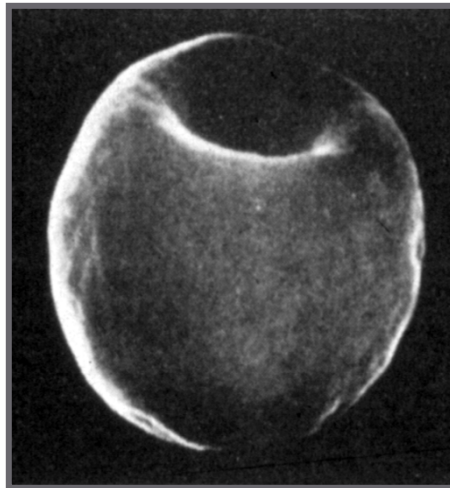
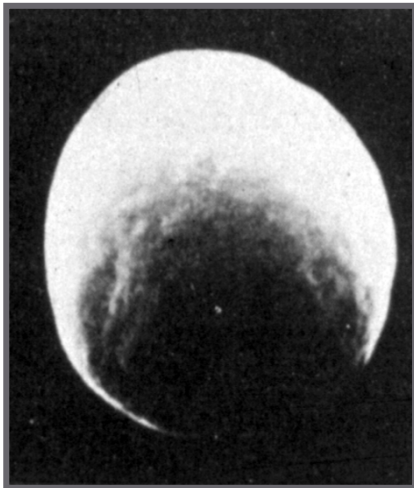
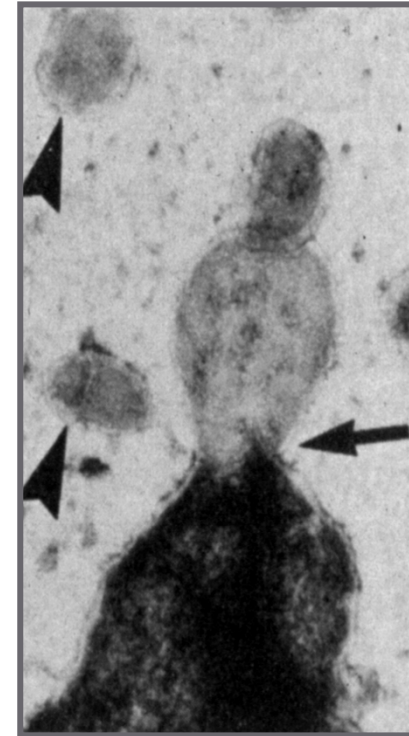
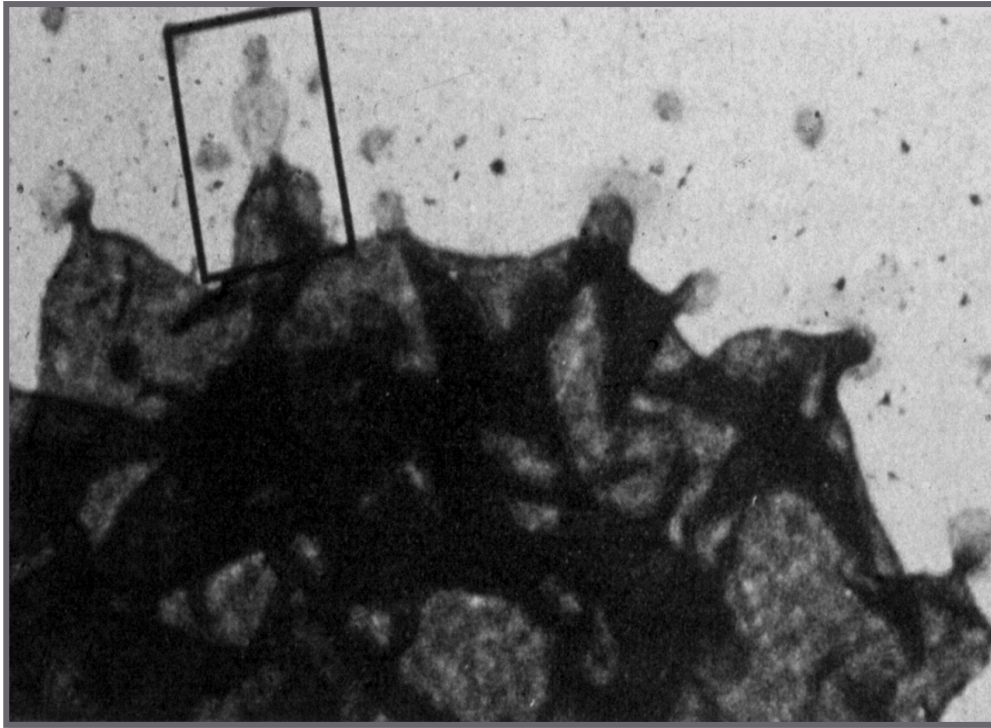
## DOPPIO STRATO LIPIDICO

**CITOSCHELETRO**  
Che funge da impalcatura e  
conferisce forma e deformabilità  
al globulo rosso

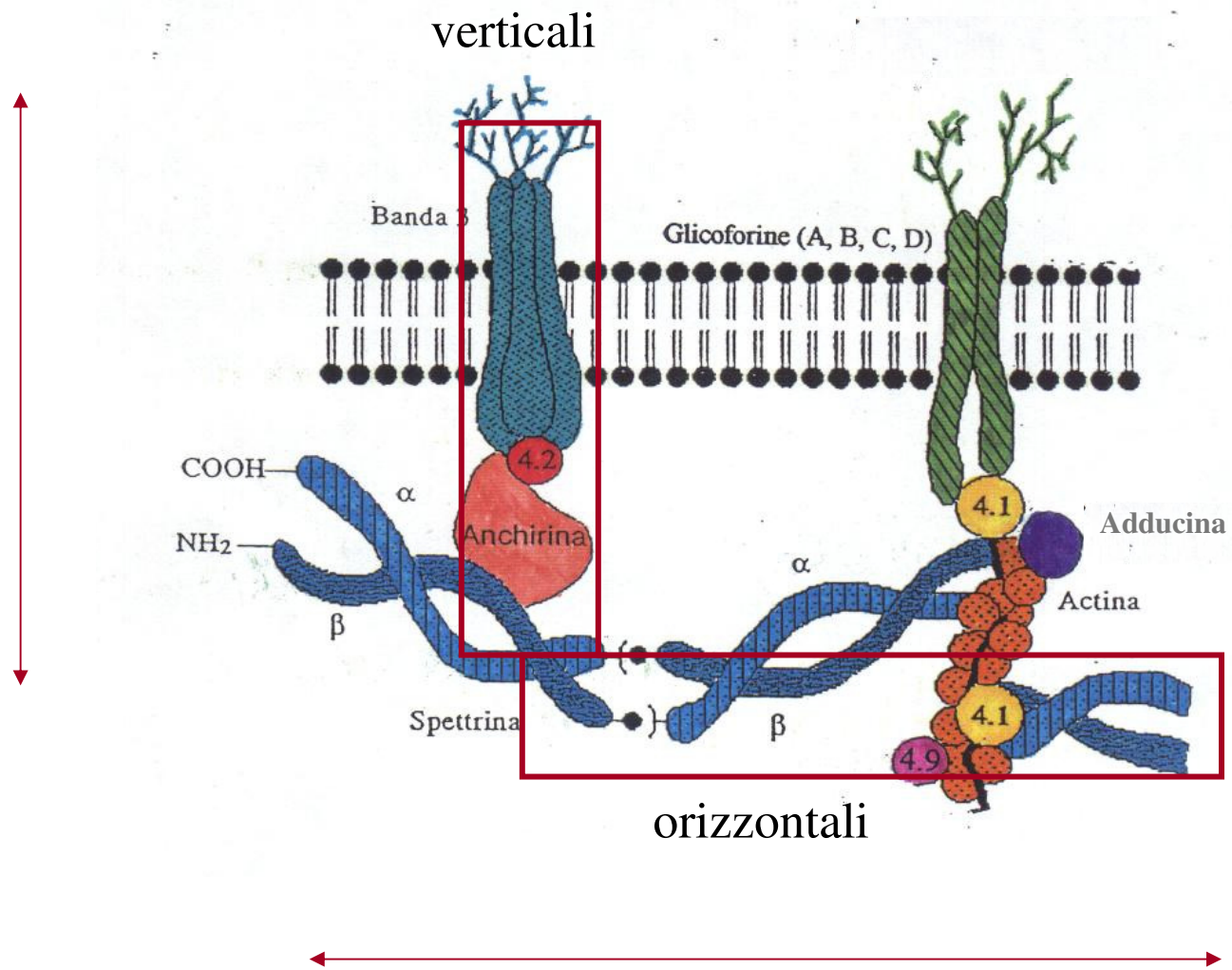


# Citoscheletro della membrana eritrocitaria: interazioni verticali

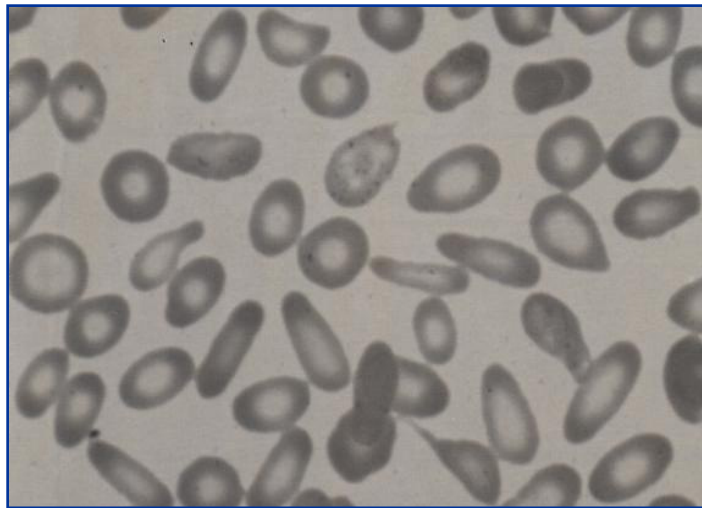
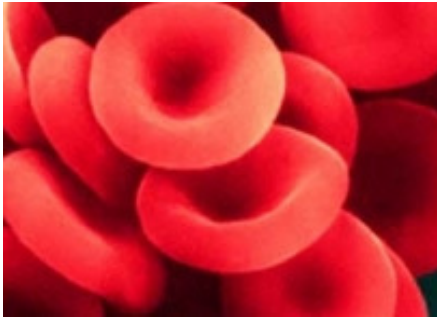




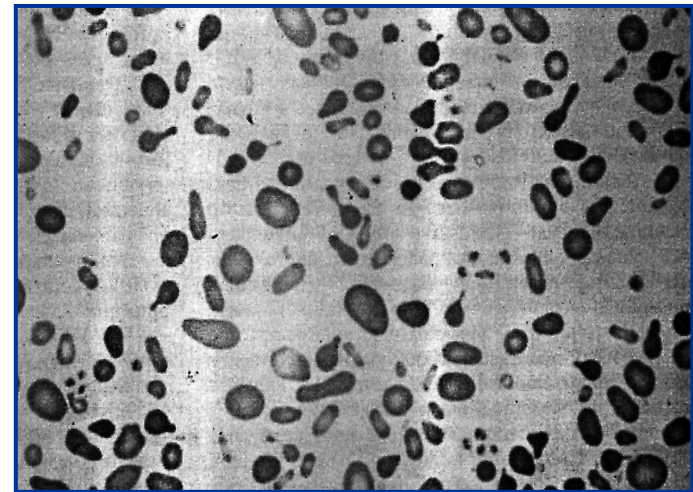
# Citoscheletro della membrana eritrocitaria: interazioni orizzontali



# Ellissocitosi ereditaria: lassità del citoscheletro



**HE (carenza di 4.1)**



**HPP ( $\alpha$ I74/  $\alpha$ LELY)**

# STUDIO DELLE PROTEINE DELLA MEMBRANA DEL GLOBULO ROSSO

**Sangue intero**



**Estrazione delle membrane nella forma più pura possibile**

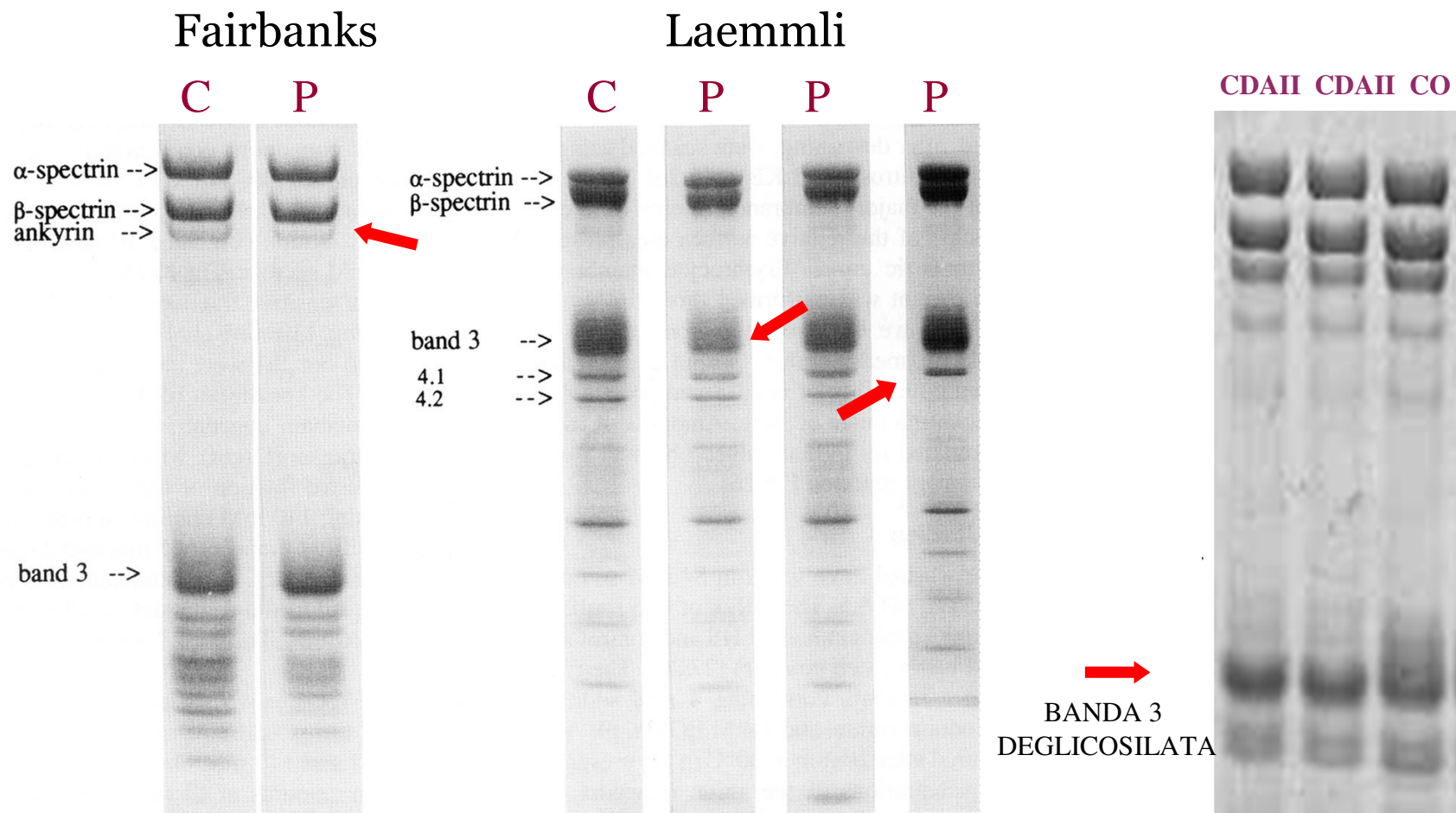
Separazione dei globuli rossi da plasma e leucociti  
Lisi dei globuli rossi ed eliminazione dell'emoglobina  
Membrane eritrocitarie



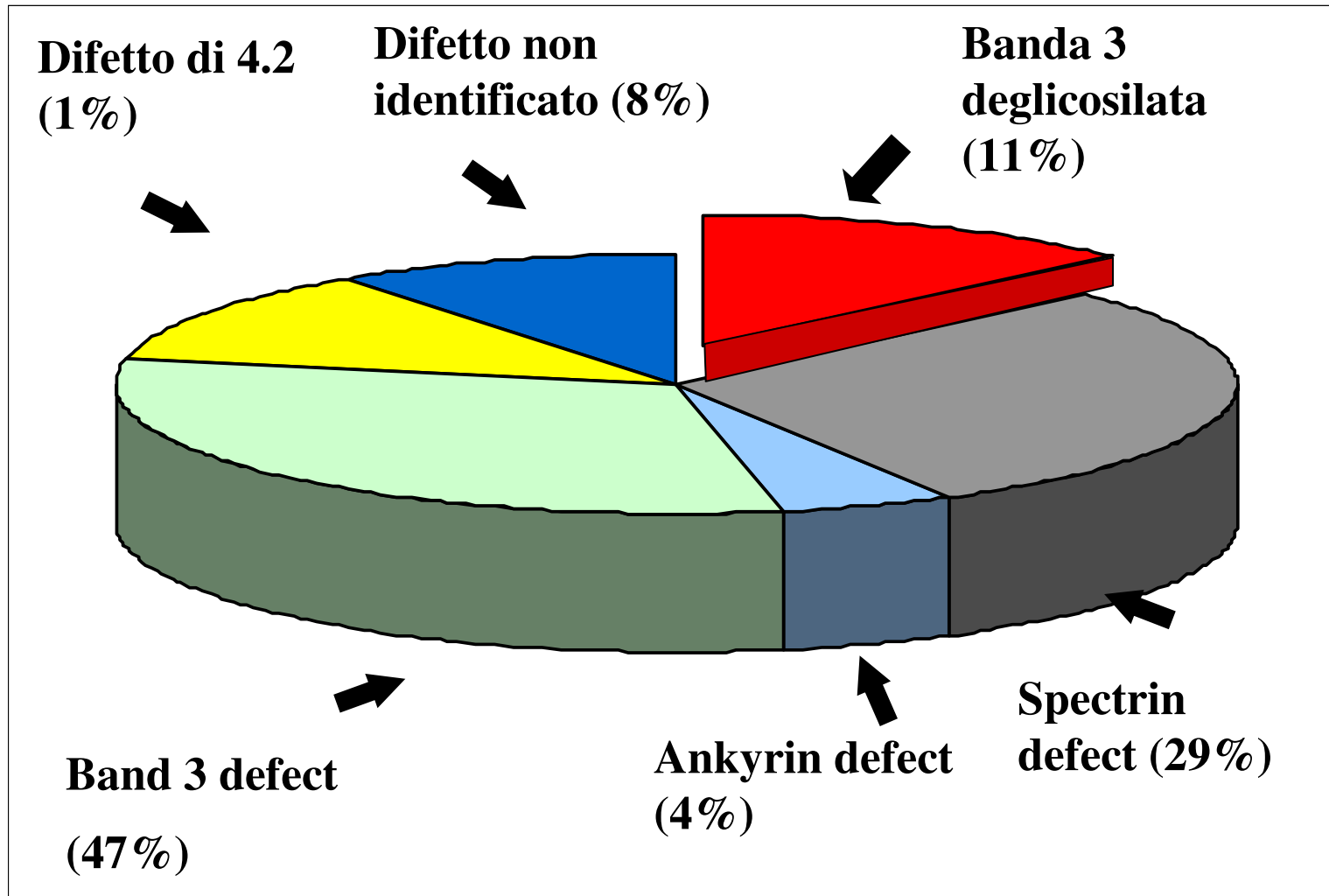
**Analisi proteine della membrana mediante elettroforesi  
su gel di poliacrilammide (SDS-PAGE)**

Le proteine denaturate e caricate negativamente migrano sul gel con una velocità proporzionale al loro peso molecolare evidenziando delle bande tipiche che sono quantizzate mediante un densitometro

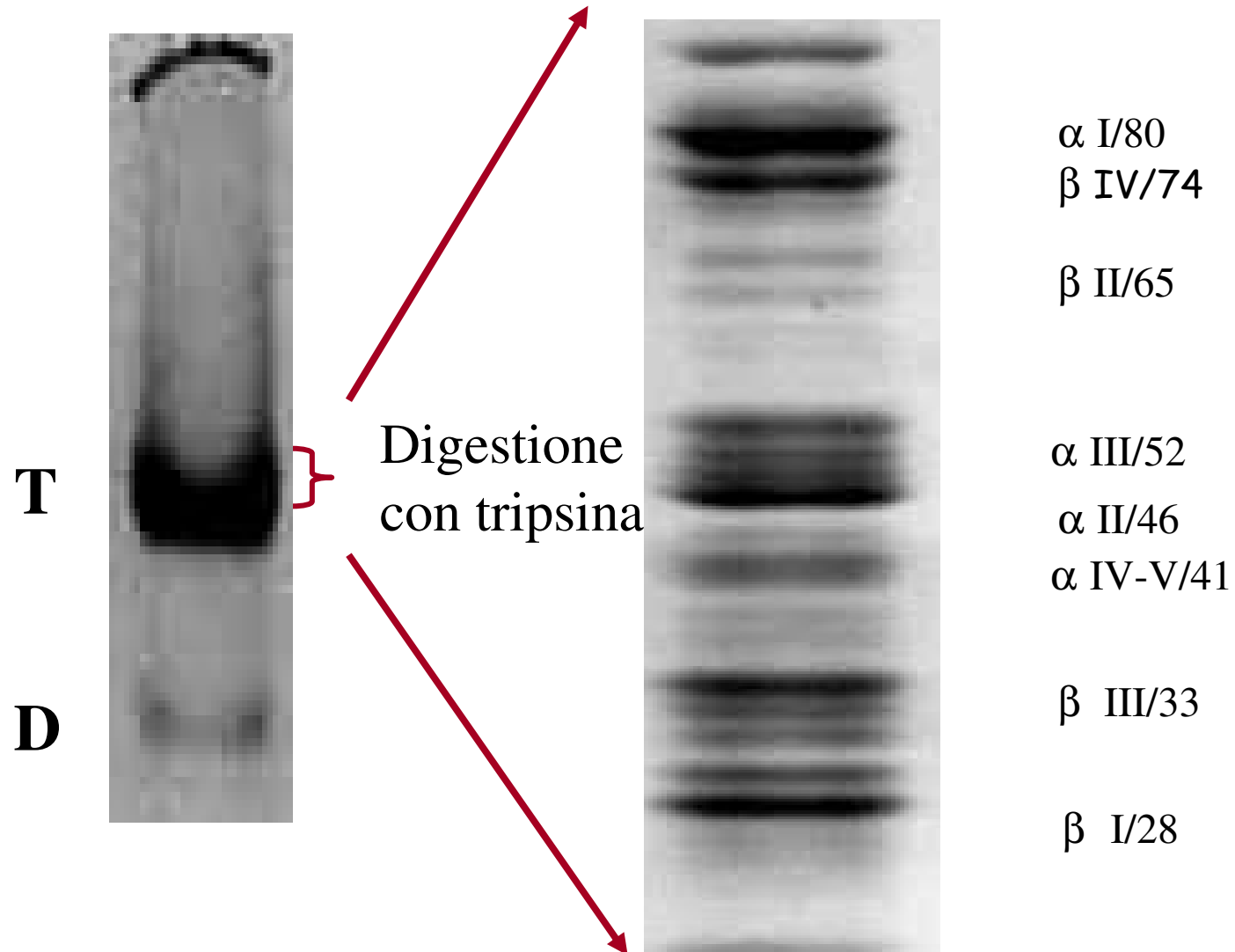
# SEPARAZIONE PROTEINE DI MEMBRANA MEDIANTE SDS-PAGE



# Analisi della membrana eritrocitaria in SDS-PAGE (336 cases)

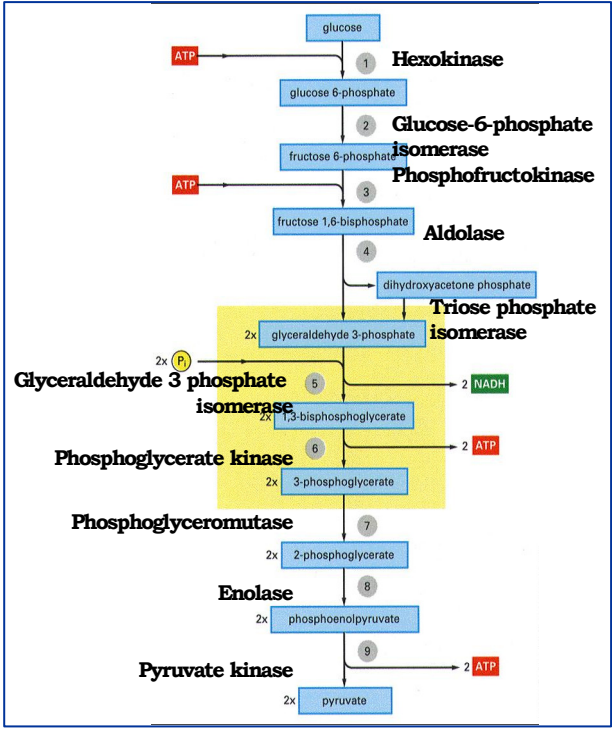


## Ellissocitosi ereditaria: Studio funzionale della spettrina

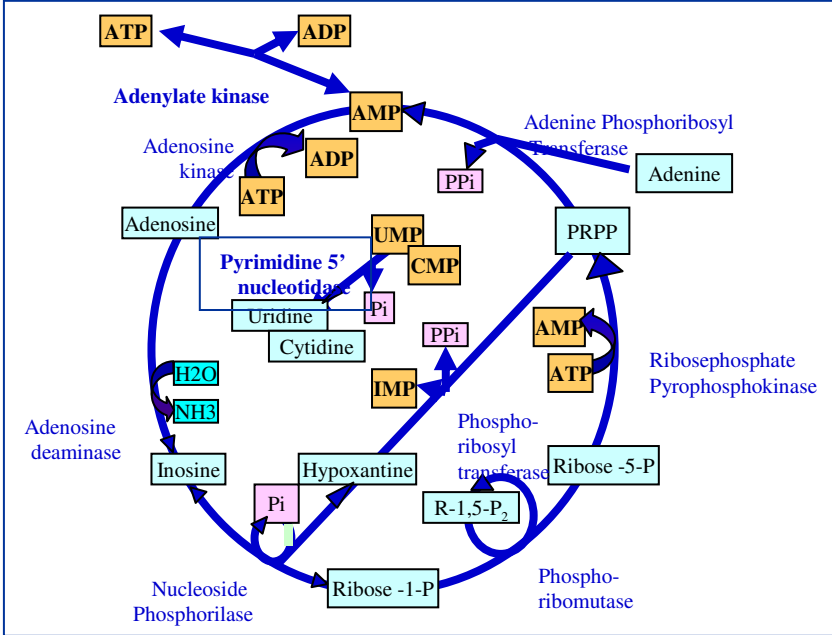


# Difetti congeniti del metabolismo del globulo rosso

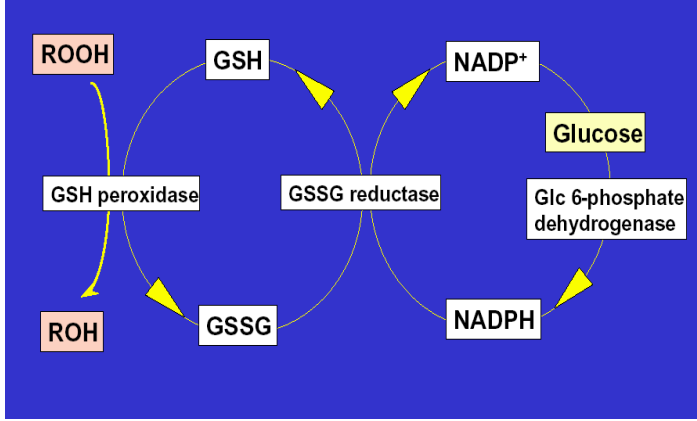
## GLICOLISI ANAEROBIA



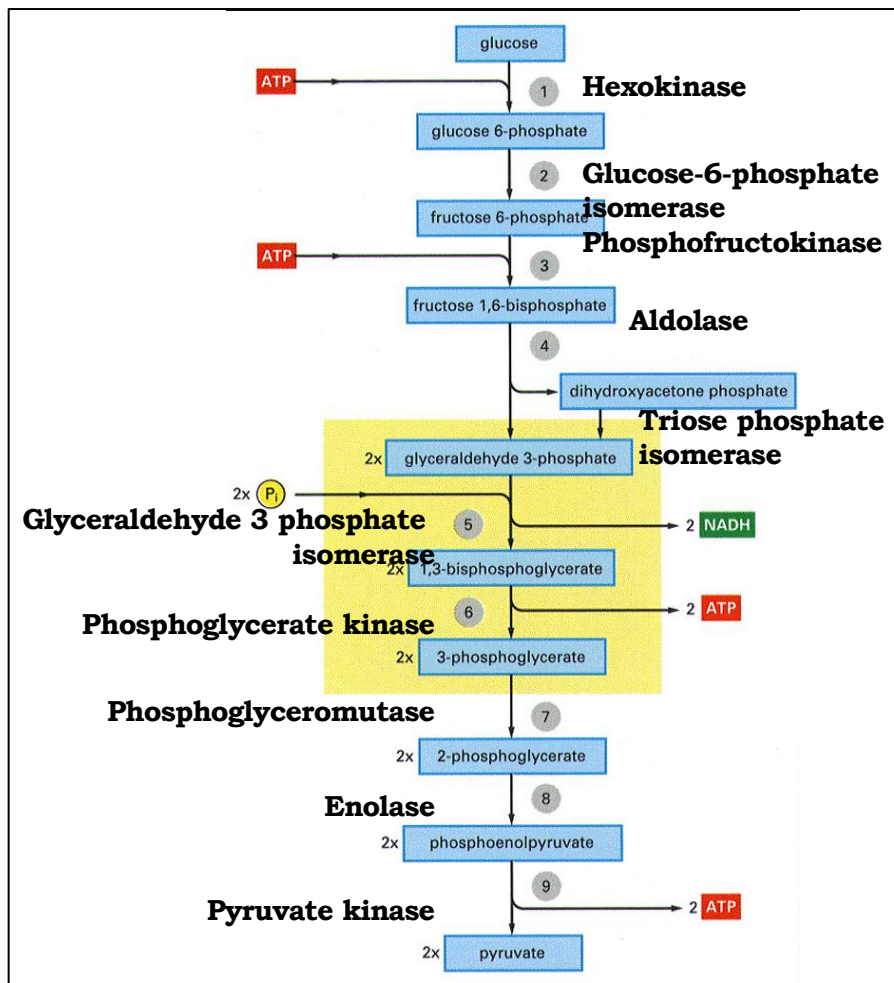
## METABOLISMO NUCLEOTIDICO



## SHUNT DEI PENTOSOFOSFATI



# GLICOLISI ANAEROBIA



PIRUVATO CHINASI ←

ESOCINASI ←

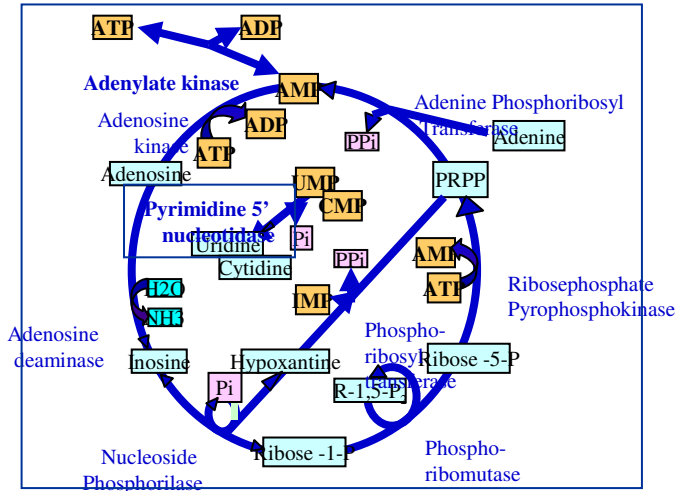
GLUCOSIO FOSFATO ISOMERASI ←

FOSFOFRUTTOCHINASI

TRIOSOFOSFATO ISOMERASI

FOSFOGLICERATO CHINASI

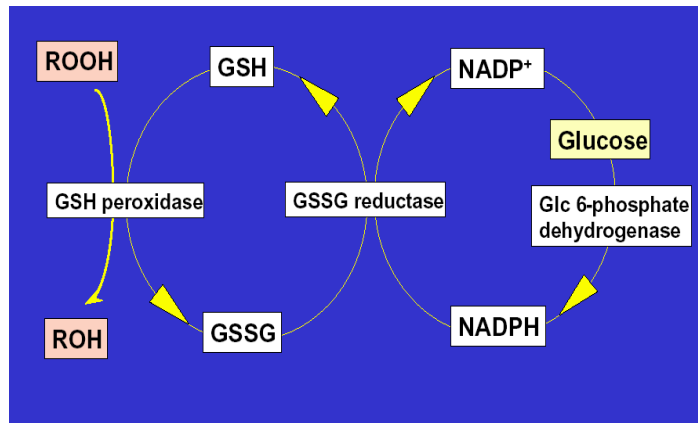
# METABOLISMO NUCLEOTIDICO



**ADENILATO CHINASI**

**PIRIMIDIN-5'-NUCLEOTIDASI**

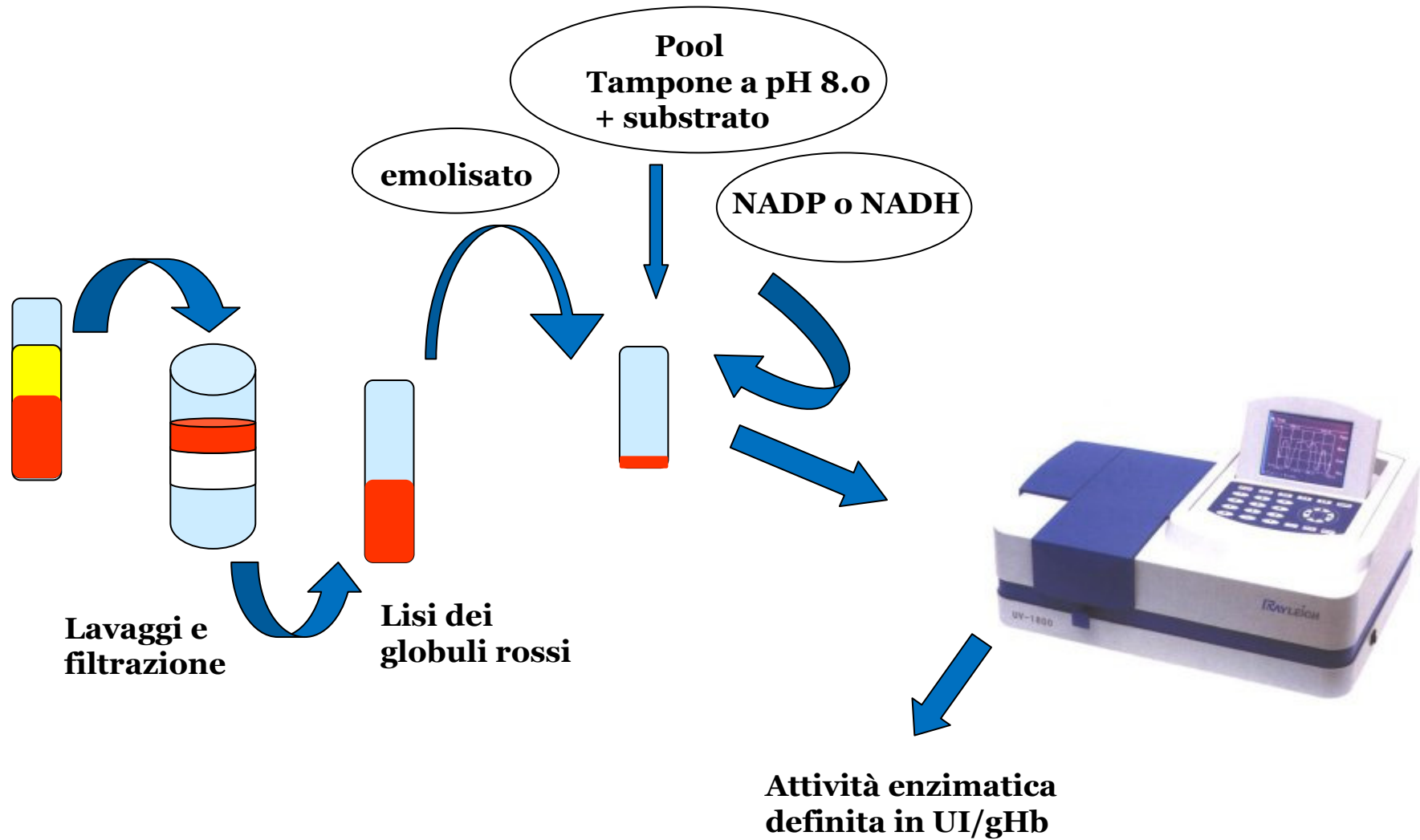
# SHUNT DEI PENTOSOFOSFATI



**GLUCOSIO-6-FOSFATODEIDROGENASI**

**GLUTATIONE REDUTTASI**

# Dosaggio enzimatico



## **CAUSE DI FALSA NEGATIVITA' NELLA DETERMINAZIONE ENZIMATICA**

- contaminazione leucocitaria
- trasfusione recente
- elevata reticolocitosi
- varianti ad attività normale

FINE