



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

Dipartimento di Medicina Diagnostica, Clinica e di Sanità Pubblica

**CORSO DI LAUREA IN TECNICHE DI
LABORATORIO BIOMEDICO**

Presidente: Prof. Claudio Cermelli

TITOLO TESI DI LAUREA:

Valutazione proteomica della LDL-aferesi in pazienti con Ipercolesterolemia Familiare: studio preliminare

STUDENTE: Sandra Martinelli

RELATORE: Dott.ssa Stefania Bergamini

CORRELATORE: Dott.ssa Elisa Bellei

A.A: 2016-2017

TESI SPERIMENTALE ☒

COMPILATIVA ☐

MESE ED ANNO DI LAUREA: Aprile 2018

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

L'ipercolesterolemia Familiare (FH) è una dislipidemia ereditaria autosomica, caratterizzata da elevati livelli di colesterolo totale e LDL. La patologia è determinata da mutazioni che possono interessare più geni (gene che codifica per il recettore delle LDL, gene codificante l'Apolipoproteina B-100, gene che codifica per PCSK9).

Può manifestarsi in due forme (eterozigosi e omozigosi), le quali differiscono per gravità, incidenza e approccio terapeutico:

- forma eterozigote: forma meno grave con un'incidenza di 1/500 individui. La terapia si basa generalmente su un intervento dietetico e l'utilizzo di farmaci. Qualora tale approccio terapeutico non sia efficace si ricorre alla LDL-aferesi (metodica extracorporea che rimuove lipoproteine contenenti Apo B-100 e Lp(a));
- forma omozigote: è la più grave con un'incidenza di 1/1.000.000 di individui. Per questa forma la terapia si basa sull'utilizzo della LDL-aferesi.

Secondo dati di letteratura la tecnica aferetica rimuove selettivamente le LDL ma altera anche i livelli di altri composti ematici (proteine pro-infiammatorie, proteine di adesione e fattori della coagulazione) giustificando il suo utilizzo per la cura di altre patologie (sindrome nefrosica e piede diabetico). In letteratura tuttavia non sono riportati studi sistemici sulle effettive modificazioni indotte da questo trattamento.

Al fine di definire le reali potenzialità della tecnica, il profilo proteomico sierico di 9 pazienti con diagnosi di FH regolarmente sottoposti a LDL-aferesi con sistema H.E.L.P. (Herapin induced Extracorporeal LDL Precipitation) è stato analizzato prima e dopo trattamento aferetico al fine di individuare possibili modificazioni del proteoma indotte dal trattamento aferetico stesso.

Lo studio è stato eseguito su pool sierici depletati di Albumina e IgG i quali sono stati sottoposti ad elettroforesi monodimensionale (1-DE) e a elettroforesi bidimensionale (2-DE) associata alla spettrometria di massa (MS).

La 1-DE è stata eseguita in condizioni denaturanti seguendo il protocollo di Laemmli e su gel al 10% di poliacrilammide; la 2-DE invece è stata condotta utilizzando IPG strip a ampio range di pH

(pH 3-10) per la separazione in prima dimensione, e su gel a gradiente 8-16% di poliacrilammide (seconda dimensione). L'analisi delle mappe proteiche mediante PDQuest ha permesso di rilevare spot differenzialmente espressi i quali sono stati successivamente analizzati mediante LC-MS: 1200 Nano HPLC/Chip microfluidic device associato a spettrometro di massa ESI-Q-ToF, il 6520 Accurate-Mass Quadrupole-Time-of-Flight.

Luogo, data 13/04/2018

Firma studente Sandra Martinelli

Firma relatore Stefano Bagnan

Firma correlatore Edoardo Bagnan



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

Dipartimento di Medicina Diagnostica, Clinica e di Sanità Pubblica

**CORSO DI LAUREA IN TECNICHE DI
LABORATORIO BIOMEDICO**

Presidente: Prof. Claudio Cermelli

**TITOLO TESI DI LAUREA: VALUTAZIONE DEI RISULTATI OTTENUTI CON METODICA
CITOFUORIMETRICA IN UNA CASISTICA DI LEUCEMIE ACUTE**

NOME - COGNOME STUDENTE: Giacomo Silingardi

NOME - COGNOME RELATORE: Giuliano Bergonzini

A.A: 2016/2017

TESI SPERIMENTALE



COMPILATIVA



MESE ED ANNO DI LAUREA: 04/2018

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

La tesi, eseguita presso il Laboratorio Analisi chimico-cliniche, si propone di analizzare i risultati ottenuti con metodica citofluorimetrica in una casistica selezionata (16 diagnosi d'esordio) di leucemie acute. In particolare si è valutata innanzitutto l'efficacia dell'informazione fornita dalla tipizzazione immunofenotipica dei leucociti circolanti nell'identificare e quantizzare la popolazione di blasti patologici, fondamentale per confermare e supportare il sospetto diagnostico iniziale prodotto dall'esame emocromocitometrico e dall'osservazione microscopica dello striscio di sangue periferico.

Si è poi valutato il profilo immunofenotipico complessivo e la concordanza e congruenza con la diagnosi conclusiva ottenuta al termine del percorso diagnostico che prevede l'utilizzo di tutti gli strumenti di indagine precedentemente esposti.

Inoltre viene analizzata la metodica citofluorimetrica in tutte le sue parti, dalla composizione dello strumento ai principi che ci consentono di effettuare l'analisi: light scatter e fluorescenza, approfondendo l'argomento riguardante i fluorocromi più utilizzati.

I risultati ottenuti con metodica citofluorimetrica risultano essere in linea sia con la classificazione morfologica FAB sia con la definitiva classificazione secondo le indicazioni WHO, quindi analizzando i dati ricavati dalle differenti metodiche prese in considerazione si può affermare che l'analisi citofluorimetrica ricopre un ruolo irrinunciabile nella diagnostica integrata delle leucemie acute, in quanto l'analisi risulta essere: rapida, sensibile e specifica sia per la conferma iniziale del sospetto diagnostico, sia per la successiva classificazione ed inquadramento di queste condizioni.

Luogo, data MODENA 04/04/18

Firma studente Giacomo Liliuzardi

Firma relatore 



Dipartimento di Medicina Diagnostica, Clinica e di Sanità Pubblica

**CORSO DI LAUREA IN TECNICHE DI
LABORATORIO BIOMEDICO**

Presidente: Prof. Claudio Cermelli

TITOLO TESI DI LAUREA: Performance del marker *Candida albicans* germ tube antibody (CAGTA) nella diagnosi di candidiasi invasiva

NOME - COGNOME STUDENTE: Monia Benassi

NOME - COGNOME RELATORE: Elisabetta Blasi

NOME - COGNOME CORRELATORE: Bruna Colombari

A.A: 2016/2017

TESI SPERIMENTALE

MESE ED ANNO DI LAUREA: Aprile 2018

RIASSUNTO O ABSTRACT (max 3000 caratteri):

Il genere *Candida* include diverse specie responsabili di micosi opportunistiche, la cui gravità è legata allo stato di salute dell'ospite; in particolare, la candidiasi invasiva (CI), causata soprattutto da *Candida albicans*, ha un tasso di letalità molto elevato (30-100%). La diagnosi di CI è difficile a causa dell'assenza di sintomi patognomici e dei limiti dell'emocoltura, saggio gold standard, che risulta positiva solo nel 50% dei casi; anche i tempi di refertazione sono lunghi, per cui spesso si rende necessario un trattamento empirico, purtroppo gravato da alti costi, effetti collaterali e induzione di farmaco-resistenza. Per questi motivi, sono stati messi a punto diversi saggi ancillari per la ricerca di marcatori precoci di CI, tra cui il (1→3) β -D glucano (BG) e, più recentemente, i CAGTA (*Candida albicans* germ tube antibody), ovvero le IgG specifiche contro antigeni parietali del micelio di *Candida*.

Obiettivo di questo studio è valutare la performance del marker CAGTA, utilizzato da solo o in combinazione con il marker BG, nella diagnosi di CI, valutando accuratezza, sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e valore predittivo negativo.

Sono stati analizzati 58 sieri, anonimizzati e già saggiati per BG: n. 30 sieri provenienti da pazienti con CI documentata (gruppo CI) e n. 28 sieri da pazienti senza CI (gruppo di controllo). Tali sieri sono stati saggiati con il kit commerciale CAGTA (Vircell, Granada, Spagna), che prevede una lettura al microscopio (presenza o meno di fluorescenza sulla superficie delle ife di *Candida*) e fornisce perciò risultati qualitativi.

Innanzitutto, abbiamo modificato il protocollo per la determinazione dei CAGTA, utilizzando varie diluizioni di siero e quantificando l'intensità di fluorescenza di ciascun campione (espressa in unità arbitrarie: UA), mediante acquisizione di immagini al microscopio e loro elaborazione con software dedicato. Utilizzando il criterio di Jacobson, abbiamo identificato il valore "cut-off" che individua i sieri positivi ($\geq 26,8$ UA). Abbiamo quindi potuto dimostrare che la performance del marker CAGTA è elevata nei casi con emocoltura positiva per *C.albicans*, mentre non è possibile rilevare i casi associati ad infezione da *C.glabrata*. La valutazione quantitativa dei dati in fluorescenza consente di rilevare eventuali fluttuazioni dei livelli di anticorpi CAGTA nel tempo, in relazione all'evoluzione del quadro clinico. Infine, abbiamo osservato che la performance dell'iter diagnostico migliora significativamente quando

i due marker, CAGTA e BG, vengono saggiati insieme.

In conclusione, il presente studio dimostra che l'analisi quantitativa del marker CAGTA permette di superare i limiti del test commerciale (soggettività nella lettura e dato qualitativo) e consente di monitorare in cinetica la risposta anticorpale nel paziente con CI. In prospettiva, l'associazione di due marker fungini, CAGTA e BG, offre un nuovo strumento di indagine particolarmente utile nella gestione del paziente con sospetta CI, possibilmente consentendo una scelta terapeutica precoce e mirata.

Modena, 05/04/18

Firma studente: Luca Benati

Firma relatore: Eleonora Benati

Firma correlatore: Giuseppe Benati