

EMOSTASI: Equilibrio tra EMOFILIA e TROMBOFILIA

L'emostasi è un complesso fenomeno fisiologico posto in atto per bloccare eventuali perdite di sangue, per esempio a seguito di lesioni vascolari, che prevede l'intervento di sofisticati meccanismi biochimici cui contribuiscono vari fattori: vascolari, piastrinici ed ematici.

Dall'altra parte il meccanismo della coagulazione deve essere modulato e controllato per non cadere nella situazione opposta, ossia dare origine a situazioni trombotiche con occlusioni vasali e quindi generare condizioni patologiche di grande pericolosità.

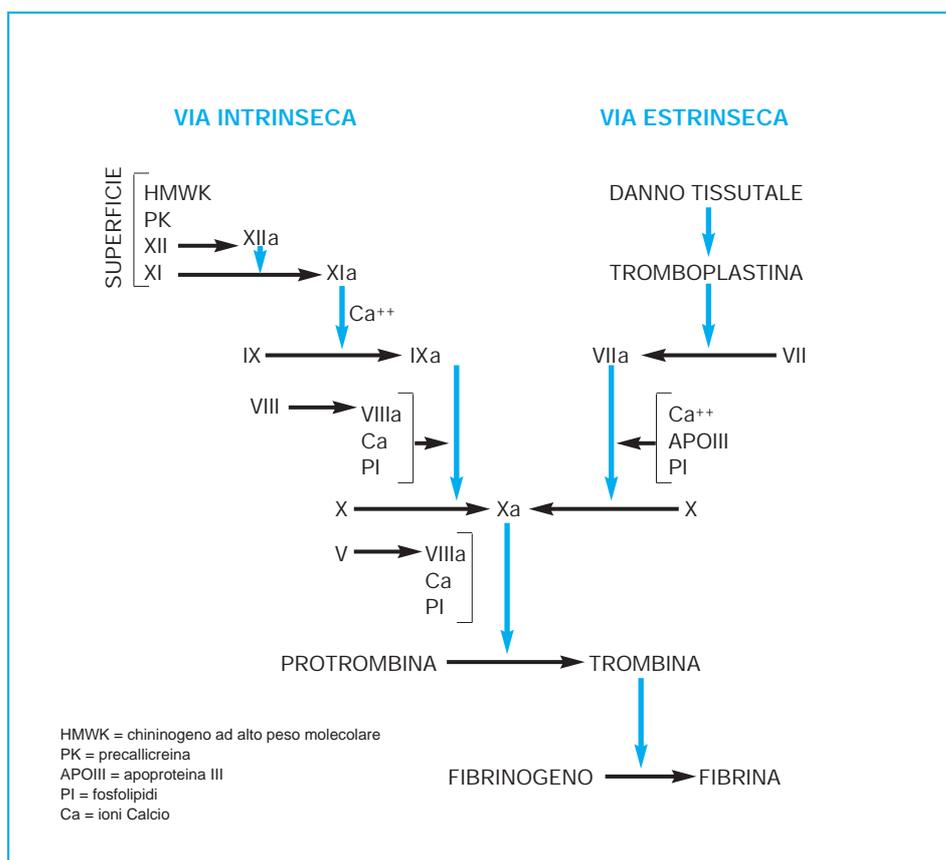
CASCATA COAGULATIVA

Nel corso del tempo molti studi hanno contribuito a chiarire i meccanismi biochimici che sono alla base della cascata coagulativa fino a rivoluzionare lo schema suggerito da McFarlane nel 1964.

Tra i concetti più innovativi la conferma che le reazioni del processo coagulativo non avvengono nel plasma ma su *superfici di reazione*, rappresentate in vivo dalle membrane cellulari (es.: endotelio e piastrine) e che i fosfolipidi di queste membrane giocano un ruolo fondamentale nell'attivazione dei vari fattori che attraverso trasformazioni a catena portano alla formazione di fibrina, base del coagulo.

Nell'organismo normalmente il processo coagulativo, anche se a livelli ridotti, è in attività continua; il che presuppone l'esistenza di meccanismi di controllo della coagulazione.

Cascata coagulativa secondo le classiche vie: intrinseca ed estrinseca



MECCANISMI DI CONTROLLO

La catena coagulativa una volta innescata non procede nel tempo fino ad un trombosi massiva, ma viene modulata e tenuta sotto controllo da meccanismi anticoagulativi che ne limitano l'azione e l'efficacia.

I sistemi di controllo comprendono sistemi aspecifici (clearance dei fattori, diluizione ematica ecc..) e sistemi specifici tra i quali ricordiamo: **Antitrombina III** e **Sistema Proteina C/Proteina S**.

INDAGINI DI LABORATORIO

I test di laboratorio sono utilissimi nel rilevare, identificare e monitorare le due condizioni pericolose, riconducibili a disequilibri del sistema coagulazione:

Ipercoagulabilità che porta ad eventi tromboembolici

Ipo-coagulabilità nei due aspetti "congenita (es.: deficit di fattori) ed "acquisita" (es. terapia anticoagulante).

TEMPO DI PROTROMBINA (PT)

Detto anche test di Quick, si effettua aggiungendo al plasma in esame tromboplastina tissutale ed ioni Ca; la coagulazione dipende dai Fattori II, V, VII e X.

Il risultato viene espresso in secondi o in percentuale rispetto ad un plasma di riferimento.

Dal momento che il test è sensibile ai diversi parametri impegnati nella procedura (strumento, metodo, origine della tromboplastina) è invalso l'uso di esprimere il risultato come **INR** (*International Normalized Ratio*), che è un numero ricavato da un'equazione che tiene conto dei parametri critici del test. In tal modo i risultati sono indipendenti dalle variabili di labo-

ratorio e confrontabili su scala mondiale.

Il PT esplora i Fattori della via estrinseca, l'eventuale carenza di Vitamina K e quindi viene utilizzato per monitorare la terapia anticoagulante.

Nei soggetti normali il valore del PT è compreso tra **80 -140%**; nei soggetti in terapia anticoagulante il valore INR dovrebbe essere mantenuto tra **2,1 e 4,8**.

TEMPO DI TROMBOPLASTINA PARZIALE ATTIVATO (aPTT)

Si esegue aggiungendo al plasma in esame, povero in piastrine, ioni Ca, fosfolipidi ed un attivatore di contatto.

Il test esplora sia la via intrinseca che quella comune della coagulazione ed è sensibile ai fattori di contatto Callicreima e HMWK, ai Fattori I, VIII, IX, X, XI, XII, alla presenza di eparina, di LAC e di altri anticoagulanti.

Il valore dell'aPTT è considerato normale **fino a 40 secondi**

FIBRINOGENO

Grazie all'avvento di strumenti sempre più sofisticati, il metodo più comunemente adottato per la determinazione del fibrinogeno è il cosiddetto "PT-derivato".

In pratica le concentrazioni di fibrinogeno vengono calcolate sulla curva del tempo di Protrombina.

Il valore espresso in mg/dl prevede valori di riferimento compresi tra **200-400 mg/dl**.

Valori ridotti si rilevano normalmente in corso di terapia trombolitica, malattie epatiche; mentre i valori aumentati si hanno negli stati flogistici acuti e in corso di malattie degenerative.

TEMPO DI TROMBINA (TT)

Al plasma in esame, povero in piastrine, viene aggiunta trombina; il test esplora l'ultima fase della cascata coagulativa (trasformazione

del fibrinogeno in fibrina). Il tempo di formazione del coagulo, espresso in secondi, è in relazione alla concentrazione del fibrinogeno.

I valori di riferimento sono **16 - 20 secondi**.

ANTITROMBINA III (AT III)

E' una glicoproteina sintetizzata a livello epatico, ed è il più importante inibitore della Trombina, anche se la sua attività si esplica con altre proteasi coinvolte nel processo di coagulazione.

La sua azione inibitrice è fortemente influenzata dall'Eparina.

I metodi a disposizione del laboratorio sono di tipo immunologico o funzionale.

I valori di riferimento sono compresi tra **75 e 125 %**.

Livelli ridotti di AT III si riscontrano nel caso di diminuita sintesi (difetti congeniti o malattie epatiche), aumento del consumo (C.I.D.), eliminazione (sindrome nefrosica), assunzione di farmaci (estro-progestinici).

Carenze di AT III o alterazioni della sua funzione possono predisporre il soggetto ad un aumentato rischio tromboembolico.

PROTEINA C

Glicoproteina Vitamina K dipendente, viene attivata dalla Trombina in presenza di trombomodulina ed inibisce, con il contributo della Proteina S, i fattori V *attivato* ed VII *attivato*.

In laboratorio si preferisce la determinazione funzionale della Proteina C in quanto più adatta a rilevarne i deficit.

Il test prevede l'attivazione della Proteina C mediante una sostanza estratta dal veleno di un rettile; dopo attivazione la Proteina C in presenza di Proteina S, fosfolipidi ed ioni Ca, inibisce i Fattori Va e VIIa, prolungando il test aPTT.

Deficit quali-quantitativi di Proteina C possono esporre il sog-

getto a manifestazioni tromboemboliche.

I valori di riferimento sono **50 - 140%**.

PROTEINA S

Proteina Vitamina K dipendente, sintetizzata prevalentemente dal fegato, presente nel plasma sia in forma libera (attiva) che legata (inattiva) ad una proteina del sistema complemento (C4b-BP).

Il metodo funzionale coagulativo è il più utilizzato in laboratorio e si basa sull'allungamento del PT in presenza di Tromboplastina, ioni Ca, Proteina C attivata e di un plasma carente di Proteina S cui viene aggiunta il plasma in esame.

I valori di riferimento sono **50 - 140%**.

Bassi valori di Proteina S corrispondono ad un alto rischio tromboembolico.

RESISTENZA ALLA PROTEINA C ATTIVATA E FATTORE V LEIDEN

La resistenza alla Proteina C attivata (APC), venne descritta nel 1993 e la causa è da attribuirsi ad una mutazione del gene del Fattore V.

Il Fattore V mutato Leiden, non viene inibito dalla Proteina C attivata, determinando così uno stato di ipercoagulabilità e di conseguenza un aumento del rischio trombotico.

Nel 90% dei casi la resistenza alla Proteina C attivata è riconducibile alla mutazione Leiden del Fattore V, mentre situazioni transitorie di "APC resistance" possono essere riscontrate durante la gravidanza o a seguito dell'assunzione di contraccettivi.

La diagnosi di Fattore V Leiden passa attraverso il test funzionale dell' APC resistance e l'analisi del DNA del gene del Fattore V.

APC resistance è un test basato sull'allungamento dell'aPTT a seguito di aggiunta di APC.

Il valore di riferimento è **Ratio > 2,1**.

MUTAZIONE DEL FATTORE II

Nel 1996 è stata identificata una mutazione a carico del gene che codifica per la Protrombina e che comporta aumenti significativi delle concentrazioni di protrombina plasmatica ed è associata ad un aumento del rischio tromboembolico.

La diagnosi passa attraverso l'analisi del DNA del gene del Fattore II.

LUPUS ANTICOAGULANT (LAC)

Gli anticorpi antifosfolipidi sono una famiglia eterogenea di autoanticorpi di cui **LAC** e **aCL** (anticardiolipina) sono associati a sindromi caratterizzate da trombosi, sia venose che arteriose, ed eventi abortivi.

Le immunoglobuline LAC sono in grado di ritardare i test della coagulazione fosfolipido-dipendenti (es.: PT e aPTT).

La procedura di laboratorio per confermare che l'allungamento di un test coagulativo dipende dalla presenza di inibitori diretti contro i fosfolipidi prevede l'esecuzione di un test aPTT e del test di coagulazione al caolino (**KCT**).

Il KCT è un aPTT effettuato in assenza di fosfolipidi esogeni. Qualora si confermasse un allungamento dei test suddetti, si procede ad un'analisi di conferma eseguendo un test KCT, utilizzando una miscela in parti uguali del plasma in esame ed un plasma normale.

FRAMMENTI DI DEGRADAZIONE DEL FIBRINOGENO (FDP) E D-DIMERO (D-D)

L'attività litica della plasmina si esplica sul fibrinogeno dando luogo agli FDP e sulla fibrina stabilizzata generando D-D.

Un aumento del valore FDP è indice di attivazione della plasmina con aumento della fibrinogenolisi e fibrinolisi.

Un aumento dei livelli di D-D è indice di attività trombinica e quindi di coagulazione.

La determinazione del D-D si sta affermando come marcatore importante nel caso di Trombosi Venosa Profonda ed Embolia Polmonare.

I valori di riferimento per FDP sono **< 10 µg/ml**.

Accanto ai test descritti il laboratorio per lo studio dell'Emostasi ha a disposizione molti e sofisticati strumenti per esplorare lo status coagulativo di un soggetto.

La tabella seguente riassume i test più frequentemente utilizzati e la fase dell'emostasi cui si riferiscono, tenendo tuttavia conto che i meccanismi biochimici possono essere comuni a diverse fasi:

FASE PRIMARIA:

Tempo di emorragia,
Conta delle piastrine

FASE COAGULATIVA:

PT, aPTT, Fibrinogeno, TT,
Determinazione dei singoli
Fattori, AT III, Proteina C e S,
APC resistance, Mutazione
Fattore II e V, LAC, aCL

FASE PIASTRINICA:

Adesività ed Aggregazione
piastrinica
Determinazione del Fattore
Von Willebrand

FASE FIBRINOLITICA:

Plasminogeno, D-D, tPA
(attivatore tissutale del
Plasminogeno), FDP

Dr. L. Valentini
Responsabile Coagulazione - CAM

OMOCISTEINA

L'omocisteina è un prodotto intermedio del metabolismo della Metionina, aminoacido solforato introdotto con la dieta. Difetti genetici a carico degli enzimi impegnati nella via metabolica, oppure deficit di cofattori (acido folico, Vitamina B6 e B12) possono determinare uno stato di iperomocisteinemia, che sta alla base di alcune teorie patogenetiche dell'arteriosclerosi oltre che essere spesso associata a patologie tromboemboliche, venose ed arteriose.

E' probabile che livelli elevati di omocisteina determinino condizioni favorevoli per l'insorgenza di trombosi.

L'iperomocisteinemia potrebbe inoltre essere un marcatore di rischio atero-trombotico più che un indicatore di progressione della malattia

(vedi CAMinforma n° 2 del Gennaio 2000: OMOCISTEINA Un importante fattore di rischio)

Diabete di Tipo 1 - Diagnosi precoce

Durante la 61^a Sessione Scientifica dell'ADA (American Diabetes Association) tenutasi a Philadelphia il 22-26 Giugno 2001, sono stati presentati i primi dati di uno studio denominato DPT-1 (Diabetes Prevention Trial - Type 1).

Più comune nei bambini, ma osservato anche negli adulti, il Diabete di Tipo 1 ha luogo quando il sistema immunitario si attiva e distrugge le cellule del pancreas che producono insulina (cellule β). I sintomi di tale malattia non si manifestano finchè quasi tutte le cellule non sono distrutte ed il diabete viene quindi diagnosticato quando ormai i danni sono irreversibili. Per questa ragione i ricercatori sono impegnati sul versante della prevenzione della progressione della malattia ma soprattutto su quello del modo di diagnosticare tale patologia.

Il criterio adottato per identificare i soggetti a rischio per il Diabete di Tipo 1 è stata la positività per gli autoanticorpi anti insula pancreatico (ICA) cui facevano seguito altri test di approfondimento (intolleranza al glucosio, risposta dell'insulina, screening genetici). I dati preliminari indicano che gli individui ICA positivi di età inferiore a 10 anni, hanno il 65% di rischio di sviluppare il Diabete di Tipo 1. Secondo i coordinatori dello studio tuttavia, la sola determinazione degli ICA può mostrare qualche limite nello screening della popolazione generale.

Per una maggiore utilità diagnostica agli ICA andrebbero abbinate le determinazioni della Decarbossilasi dell'acido Glutammico (GAD) e degli autoanticorpi IA-2 .

(vedi CAMinforma n° 5 del Settembre 2000: Il Diabete Mellito)

 **Centro Analisi Monza**

MONZA:

Laboratorio analisi mediche · via Missori, 9 · tel. 039 2397350
Polidiagnostico · viale Brianza, 21 ang. via Bellini · tel. 039 2397.1
Sezione di ecologia · via Missori, 12 · tel. 039 2397247
BRESSO: via XXV Aprile, 16 · tel. 02 6104946
CARUGATE: via Italia, 22 · tel. 02 92157477
CESANO MADERNO: via Como, 4 · tel. 0362 540550
DESIO: via Pozzo Antico, 24 · tel. 0362 623156
SEREGNO: piazza Risorgimento, 21 · tel. 0362 234251
VAREDO: via Italia ang. S. Aquilino · tel. 0362 582945
VILLASANTA: piazza Giovanni XXIII, 12 · tel. 039 302366