

Il laboratorio consente di dosare una serie di FIBRINOPEPTIDI:

- **D-dimeri**, i più richiesti, derivanti dall'azione della plasmina sulla fibrina, indicano che nel pz si è realizzato un processo coagulativo, trombotico e che sul coagulo sta agendo la plasmina, responsabile della sua dissoluzione (fibrinolisi)

I livelli plasmatici di D-dimeri risultano, pertanto, aumentati in pz colpiti da eventi trombotici:

- Infarto miocardico
- Ictus ischemico
- Trombosi venosa profonda con o senza embolia polmonare

In tali condizioni, sebbene la fibrinolisi sia in atto, essa risulta inefficace nel determinare (in tempi compatibili con la sopravvivenza del soggetto) la dissoluzione del trombo.

Il dosaggio dei D-dimeri è molto richiesto anche perché consente di stabilire se, un pz colpito da una trombosi severa (es. infarto miocardico), risponde all'azione dell'urochinasi, farmaco (trombolitico) con una funzione molto simile a quella della plasmina (ma chiaramente più efficace, in termini di velocità di dissoluzione del trombo, perché le dosi somministrate consentono il raggiungimento di concentrazioni superiori a quelle di plasmina fisiologicamente presenti nell'organismo). Se, dopo somministrazione di urochinasi:

- Aumento dei D-dimeri → risposta del pz (dissoluzione del trombo)
- No aumento dei D-dimeri → mancata risposta del pz → inutile continuare con la somministrazione di urochinasi (anche in considerazione del fatto che tale farmaco risulta particolarmente costoso) → cambiare approccio terapeutico

Questo è un esempio di come le indagini di laboratorio risultano utili, non solo per la diagnosi, ma anche per orientare la terapia.

L'impiego dell'urochinasi serve essenzialmente per accelerare il processo fibrinolitico al fine di minimizzare il danneggiamento dei tessuti irrorati dal vaso in cui si è verificata la trombosi.

- **Fibrinopeptidi A e B**, si formano per conversione del fibrinogeno in fibrina ad opera della trombina, indicano che nel pz è in corso un processo coagulativo

L'ENDOTELIO gioca un ruolo fondamentale nella regolazione dei processi emostatico e fibrinolitico.

Interviene nella modulazione negativa della coagulazione attraverso:

Trombomodulina

Eparani

Per quanto riguarda le influenze dell'endotelio sulla fibrinolisi, esso è in grado sia di attivare che di inibire tale processo.

Se normalmente funzionante, l'endotelio, in presenza di una lesione vascolare, per consentire la dissoluzione del coagulo ed il ripristino dell'integrità del vaso, produrrà quantità maggiori di attivatori della fibrinolisi come il:

t-PA (Attivatore tissutale del plasminogeno), sintetizzata dalle cellule endoteliali in maniera costitutiva (senza bisogno di sollecitazione). Il t-PA converte il plasminogeno in plasmina che degrada la fibrina con formazione dei *prodotti di degradazione della fibrina (FDP)* tra cui i D-dimeri.

L'attivazione del plasminogeno da parte del t-PA avviene solo in presenza di fibrina. Questa stretta dipendenza dalla fibrina fa sì che la generazione di plasmina sia confinata alla sede in cui si è formato il tappo emostatico.

Un'endotelio disfunzionante, danneggiato, produrrà:

- Molto meno t-PA
- Molto più **PAI** (Inibitore dell'attivatore del plasminogeno)

Ciò impedisce all'endotelio di promuovere il processo della fibrinolisi.

Il principale inibitore della plasmina formatasi è l'**alfa₂-antiplasmina**, dosabile in laboratorio. L'alfa₂-antiplasmina interagisce con la plasmina impedendole di degradare la fibrina.

Solo in condizioni di completa attivazione del plasminogeno e conseguente saturazione dell'alfa₂-antiplasmina, l'eccesso di plasmina viene neutralizzato dall'**alfa₂-macroglobulina**.

Vi sono tutta una serie di condizioni in cui l'endotelio è disfunzionante, attivato impropriamente in senso protrombotico. L'attivazione dell'endotelio in senso protrombotico si caratterizza per:

- Minore produzione di
 - Trombomodulina
 - t-PA (Attivatore tissutale del plasminogeno)
- Maggiore produzione di:
 - PAI

Il PAI è il più importante marcatore sierologico di uno stato protrombotico (in pz senza lesioni vascolari da traumi e da interventi chirurgici).

NB:

Il PAI è prodotto anche dall'endotelio sano quando, in caso di soluzioni di continuo delle pareti vascolari in caso di soluzioni di continuo delle pareti vascolari, è necessario che la dissoluzione del coagulo non si verifichi.

Un'altra condizione (fisiologica) in cui è i livelli plasmatici di PAI sono aumentati è la gravidanza. La gravidanza, infatti, mette la donna in un **atteggiamento procoagulativo** soprattutto negli ultimi mesi quando, il riscontro di un profilo protrombotico -aumento di fibrinogeno, PAI, ... - risulta fisiologico, a meno che non ci si trovi in presenza di una pre-eclampsia (gestosi). Ciò è da intendere come un meccanismo adattativo il cui scopo è quello prevenire imponenti emorragie al momento del parto.

Ciò aumenta il rischio di trombosi.

Tra le condizioni responsabili di disfunzione endoteliale rientrano:

- Invecchiamento

Perché?

Invecchiamento → indurimento pareti arteriose per fenomeni di calcificazione → riduzione elasticità arterie → modificazioni del flusso ematico con aumento delle turbolenze → perturbazione dell'endotelio con compromissione delle sue proprietà antitrombotiche.

- Patologie renali (Insufficienza renale)

Il pz nefropatico è un pz complicato in quanto presenta un incremento del rischio non solo di fenomeni trombotici ma anche di fenomeni emorragici perché nel corso di un'insufficienza renale vengono ritenute tossine uremiche capaci di influenzare negativamente il processo coagulativo.

Le indagini di laboratorio (e quelle strumentali) devono essere richieste sempre dopo un'accurata anamnesi ed un attento esame obiettivo.

Le indagini di laboratorio vanno differenziate a seconda che il pz si trovi o meno in una condizione di urgenza.

Gli esami da effettuare in un pz urgente sono i cdt "**esami salvavita**", il cui risultato fornirà informazioni circa le condizioni generali del pz, orienterà verso la diagnosi e condiziona l'approccio terapeutico. Ad esempio, qualora il pz debba essere sottoposto ad un intervento chirurgico, fondamentale è sapere se tale pz è o meno a rischio emorragico. Questa informazione viene fornita da esami di primo livello quali:

- aPTT
- PT
- Fibrinogenemia

Quando non sussiste una condizione di urgenza, gli esami di laboratorio che vengono praticati sono innanzitutto quelli **di base** o **di primo livello**. Tali esami danno un'idea generale dello stato di salute del pz. e talora possono già chiarire il sospetto diagnostico.

Gli esami laboratoristici di base o di primo livello sono:

- Molto limitati di numero
- Alla portata di tutti i laboratori

Quindi, si effettuano esami (di laboratorio) **di secondo livello** che consentono di giungere alla diagnosi della condizione morbosa (qualora non sia stata già posta con gli esami di primo livello), di risalirne alla causa e di monitorare la risposta alla terapia.

Es.

Pz con sospetto di anemia

Esame di primo livello

Esame emocromocitometrico

[Hb]<12 g/dL → diagnosi di anemia

Valore dell'MCV → tipizzazione dell'anemia (normo/macro/microcitica)

Valore MCH, MCHC → ulteriore tipizzazione anemia (normo/iper/ipocromica)

Conta dei reticolociti (da richiedere esplicitamente)

Caso di anemia ipocromica microcitica → sospetto anemia sideropenica

Esami di secondo livello

Assetto marziale

Sideremia

Indice di saturazione della transferrina

Ferritinemia

Ulteriori esempi di esami di primo livello:

Esame dello striscio periferico

Quando andrebbe richiesto?

Ogni qual volta che dall'esame emocromocitometrico esce una piastrinopenia severa, 30000-40000/mm³, soprattutto in assenza di una clinica suggestiva per manifestazioni emorragiche (petecchie).

Perché risulta necessaria la conferma del vetrino?

Perché esiste una "falsa piastrinopenia" dovuta ad errori di lettura da parte del conta globuli.

Transaminasemia

Bilirubinemia

Creatininemia

Azotemia

Quando proteico

Profilo di ingresso

Così definito perché si effettuano in tutti i pz alla prima osservazione

Profilo coagulativo

PT, aPTT, TT, fibrinogeno (del fibrinogeno viene chiesto un dosaggio quantitativo)

Screening trombofilico

Test di resistenza alla

proteina C, permette di evidenziare la presenza di un fattore V mutato (fattore V Leiden), non sensibile all'azione della proteina C

Dosaggio del fattore II (protrombina), quantitativo e qualitativo. Esistono, infatti, mutazioni che rendono la protrombina molto più attiva con aumento del rischio di fenomeni trombotici. Queste mutazioni, in forma omozigote, sono incompatibili con la vita.

Nei pz eterozigoti, se asintomatici e non portatori di condizioni che esaltano ulteriormente il rischio trombotico, non c'è la necessità di effettuare profilassi con anticoagulanti. L'utilizzo di anticoagulanti è indicato - anche se il pz non presenta fenomeni trombotici - in caso di:

Interventi chirurgici (durante il quale il processo coagulativo viene stimolato)

Diabete mellito

Iperensione arteriosa

Insufficienza renale

} perché comporta disfunzione dell'endotelio che sviluppa proprietà protrombotiche

- **Antitrombina III** **Dosaggio proteina C**
- **omocisteinemia** **Dosaggio**
- **anticoagulante (LAC)** **Dosaggio**
- **anticoagulante (LAC)** **Ricerca del Lupus**

Autoanticorpi prodotti da alcuni pz che si legano ai fosfolipidi di membrana delle piastrine di cui alterano la funzione, con ripercussioni su tutto il processo emostatico.

Sono stati inizialmente riconosciuti per le loro proprietà anticoagulanti. Poi si è visto che tali autoanticorpi, erano capaci di interagire con la proteina C e l'antitrombina III determinando inattivazione di questi anticoagulanti, incrementando il rischio di trombotosi. In vivo, l'effetto pro trombotico prevale su quello anticoagulante. Pertanto è necessario praticare profilassi con eparina.

Sono definiti Lupus anticoagulante perché, per la prima volta, sono stati isolati in pz con Lupus Eritematoso Sistemico.

In realtà si tratta di una famiglia eterogenea di autoanticorpi, prodotti anche da pz che non presentano LES, di cui i più conosciuti ed i più richiesti sono gli **anticardiolipina**.

Tali autoanticorpi sono correlati a diverse patologie ma, soprattutto, alla **poliabortività** perché responsabili di trombotosi placentari multiple con insufficiente ossigenazione fetale. Si è visto, infatti, che donne con difficoltà a portare avanti la gravidanza spesso presentano LAC. Quindi, una delle prime indagini effettuate in una donna con anamnesi di poliabortività, è proprio la ricerca dei LAC. In questa categoria di soggetti risulta altresì necessario effettuare tutto lo screening trombofilico perché anche altri disordini possono esser responsabili di poliabortività.

Se donna a rischio trombotico → profilassi con eparina o con altri anticoagulanti per consentire di portare a termine la gravidanza.

Caratteristiche cliniche del sanguinamento che consentono di risalire alla natura del disturbo

Tabella 29-7. Caratteristiche e sanguinamento evidenti in disturbi dell'emostasi

	Disturbi dell'emostasi primaria (problemi piastrinico-vascolari)	Disturbi dell'emostasi secondaria (problemi di fattori della coagulazione)
Esordio del sanguinamento	Spontaneo o subito dopo un trauma	Ritardato dopo un trauma
Siti del sanguinamento	Superficie esterna	Tessuti profondi
Cute	Petecchie, ecchimosi comuni (nasale, orale, gastroenterica, genito-urinaria)	Ematomi
Membrane mucose		Rari
Altri siti	Rari	Comuni (muscoli delle articolazioni, retroperitoneali)
		Emartri (versamenti ematici intrarticolari)
Riduzione con la pressione	SI	No
Esempi	Trombocitopenia, difetti di formazione piastrinica, fragilità vascolare Coagulazione intravasale disseminata, insufficienza epatica	Carenza congenita di fattori della coagulazione inibitore acquisito Coagulazione intravasale disseminata, insufficienza epatica

Test di screening dell'emostasi

I **test di primo filtro** sono quelli che permettono, con buona approssimazione di evidenziare la maggior parte dei difetti emostatici più frequenti, quindi non i più importanti ma i più frequenti.

I **test di secondo filtro** vanno ad indagare solamente i difetti emostatici più rari, questo non significa che non siano altrettanto importanti.

Sarebbe un dispendio economico notevole fare test di secondo filtro su popolazioni grandi, proprio perché indagano i difetti più rari.

L'altra caratteristica è che i test di primo filtro non riguardano solo i test emocoagulativi ma tutti i test che vi ho detto prima e che devono essere semplici, sensibili, quindi devono rilevare anche le più piccole alterazioni emostatiche in modo tale da non esporre il paziente ad un rischio emorragico e, la cosa più importante, è che devono essere limitati in numero anche perché spesso i test di primo filtro coincidono con i test che vengono effettuati al paziente in urgenza, quindi devono essere limitati in numero perché per legge dei dati richiesti al laboratorio, in un paziente in emergenza/urgenza devono essere disponibili nel giro di un ora nei pazienti in emergenza, mentre nei pazienti in urgenza nell'arco di poche ore. Quindi necessariamente non possono né essere complicati da svolgere né essere molti.

Caratteristiche dei test di primo filtro

Sono test di screening e per questo devono essere :

- **Semplici**, perché devono essere alla portata di ogni laboratorio non specializzato
- **Sensibili**, così da rilevare non solo le più grossolane anomalie dell'emostasi, ma anche difetti minori, che peraltro aumentano notevolmente il rischio emorragico in seguito ad un intervento chirurgico
- **Limitati di numero**, in quanto il loro scopo è quello di mettere in evidenza il più velocemente possibile alterazioni delle fasi della coagulazione

Test di primo filtro

Nell'ambito dei test di primo filtro possiamo distinguere test che riguardano l'emostasi primaria, quindi la fase piastrinica e test che riguardano la seconda fase, quella coagulativa (emostasi secondaria).

TEST DI PRIMO FILTRO CHE RIGUARDANO LA FASE PIASTRINICA (emostasi primaria)

Dovrebbero includere (dico dovrebbero perché poi l'unica cosa che si fa di routine nel primo livello, è la conta delle piastrine)

- **Tempo di emorragia**: consente di valutare in maniera abbastanza accurata l'interazione delle piastrine con il vaso quindi se ci sono delle alterazioni nella prima fase di contatto piastrina-vaso.
- **Conta delle piastrine**

Tempo di emorragia

Dovrebbe misurare (non si fa quasi mai) il tempo necessario all'arresto del sanguinamento, quando un operatore impone al paziente un piccolo taglio di dimensioni standardizzate, che può essere a livello del lobo dell'orecchio o sull'avambraccio (varia da 1 a 9 minuti).

Valuta l'interazione delle piastrine con la parete vascolare (sottoendotelio del sito leso), e la successiva formazione del tappo emostatico primario

Quando può essere prolungato il tempo di emorragia?

In caso di *piastrinopenia*, grave, perché la piastrina ha una riserva infinita, poiché anche 10-20 mila piastrine sane servono ad evitare un allungamento del tempo di sanguinamento; quindi più che nelle *piastrinopenie* andrebbe indagata in caso di piastrinopatie, quindi quando c'è deficit di adesione e di aggregazione piastrinica. Soprattutto deficit di aggregazione (malattia di Bernard Soulier -SBB)

Alterazioni del fibrinogeno

Alterazioni del fattore di Von Willenbrand

Vi ricordo che il fibrinogeno partecipa all'aggregazione piastrinica mentre il fattore di Von Willenbrand all'adesione piastrinica.

Come si esegue?

Esistono diversi metodi. Tutti sono modifiche di due tecniche: quella di Duke, che prevede l'incisione del lobo di un orecchio, e quella di Ivy, in cui si esegue un'incisione della cute dell'avambraccio, mantenendo costante la pressione ematica (40 mm Hg) mediante un manicotto

Perché non viene quasi mai effettuato il tempo di emorragia/di sanguinamento?

Perché questo dipende dall'operatore, perché il taglio può essere di diversa altezza, diversa profondità; queste sono tutte condizioni che possono fortemente influenzare la risposta; quindi c'è una grande variabilità che non dipende dal paziente, ma dipende dall'operatore, ci sono troppe variabili che rendono questo test non standardizzabile.

Poi pensate se si dovesse fare a tutti i pazienti che entrano per la prima volta in un ospedale...ci sarebbero delle file enormi.

Tuttavia diventa determinante farlo nei pazienti in cui si sospetta un deficit di adesione piastrinica. Questo tempo è influenzato anche dalla presenza di farmaci; ad esempio tutti i *FANS*, a cominciare dall'*acido acetilsalicilico*, sono dotati di attività antiplastrinica, perché bloccano la COX piastrinica, e quindi come tali possono influenzare il tempo di sanguinamento. È importante quindi, nel caso in cui si debba farlo, effettuare una corretta anamnesi farmacologica.

Conta piastrinica

È l'unico test di primo livello che indaga le piastrine.

Viene definito piastrinopenico un paziente che presenta <100.000 piastrine per mm^3 .

Normalmente la conta delle piastrine viene fuori da un esame emocromocitometrico effettuato mediante una macchina, un contaglobuli automatico che, in base ad alcune caratteristiche come il diametro, la grandezza, distingue le piastrine dagli elementi cellulari del sangue.

In alcune situazioni è importante richiedere la **verifica su vetrino** come nella *pseudo-piastrinopenia*.

Tale condizione dipende dal fatto che le piastrine presenti nel sangue di alcuni pazienti, in presenza dell'EDTA (acido etilen-diamino-tetracetico), anticoagulante che sta nella provetta dell'emocromo, conoscono agglutinazione.

Non si tratta di malattia bensì di una peculiarità del paziente, che però bisogna conoscere.

Quindi, tali pazienti, se fanno l'esame emocromocitometrico con una provetta contenente questo tipo di anticoagulante (EDTA), potrebbero risultare dei forti piastrinopenici, perché gli agglutinati piastrinici vengono riconosciuti dal conta-globuli come singole unità (visto che la macchina differenzia le cellule in base al volume)

Pertanto, se in pz senza alcun segno clinico di piastrinopenia, l'emocromo rivela un numero di piastrine particolarmente basso, si impongono due cose al laboratorio o al reparto:

- Ripetere il prelievo al paziente (quello che oggi si fa) utilizzando poi un altro anticoagulante, ad esempio il *citrato*.

In funzione di questo problema molte aziende, usano già la provetta per l'emocromo contenente citrato o *eparina*; molte altre invece continuano ad utilizzare l'EDTA perché è molto più economico, e anche perché il fenomeno della pseudopiastrinopenia non è poi così frequente.

- Effettuare in laboratorio uno striscio di sangue su cui si esegue la conta piastrinica al microscopio, dove si possono riconoscere questi grossi aggregati piastrinici sul vetrino ed in presenza di EDTA; chiaramente il paziente in questo caso non ha una piastrinopenia e quindi non va trattato.

TEST DI PRIMO FILTRO CHE RIGUARDANO LA FASE COAGULATIVA (emostasi secondaria)

PT

Indaga la via estrinseca quindi mette in evidenza le alterazioni del fattore VII;

PTT

Indaga la via intrinseca e mette in evidenza i deficit della gran parte dei fattori della coagulazione che intervengono in questa via.

Se il PTT vi esce alterato, soprattutto se il PTT è aumentato (rischio emorragico), bisogna chiedere al laboratorio test di secondo livello per capire qual è il fattore della coagulazione alterato; il laboratorio ha quindi la capacità di testare tutti i fattori della coagulazione, chiaramente però non come indagine di primo livello.

Fibrinogeno

Dosaggio quantitativo, quindi mi definisce solo i livelli di fibrinogeno che il paziente ha.

È molto difficile trovare una ipofibrinogenemia; molto più facile invece trovare una *iperfibrinogenemia*. Infatti, tutte le condizioni di attivazione endoteliale, possono essere associate ad una iperfibrinogenemia quindi ad uno stato di rischio tromboembolico;

Tempo di trombina

Consente di riconoscere deficit di fattori della via comune, dal fattore X in poi.

INCISO

Tutti i test emocoagulativi vanno fatti in plasma citrato, povero di piastrine; (il sangue lo si rende povero di piastrine per centrifugazione, in laboratorio); perché si impoverisce il sangue di piastrine?

Perché poi si cerca di mimare la funzione delle piastrine aggiungendo i fosfolipidi, indispensabili per la coagulazione perché garantiscono l'attivazione dei fattori coagulativi.

In alternativa aggiungo, nel caso voglia sapere il PT, quindi la via intrinseca, la *tromboplastina parziale*, cioè un liofilizzato di tessuto di origine animale che mima l'azione del fattore tissutale, che mi fa attivare la via intrinseca; il tutto deve avvenire in presenza di calcio, perché se io blocco il calcio, la parte coagulativa non avviene; la puntura ovviamente è venosa.

FINE INCISO

Approfondimento su PT (Tempo di protrombina)

Indaga la via estrinseca e normalmente, il PT rispetto al PTT, proprio perché viene fatto attraverso l'aggiunta di un estratto tissutale di origine umana o animale, cioè la tromboplastina, può dare un risultato variabile a seconda del laboratorio; il tempo di protrombina così come il tempo di tromboplastina parziale può essere espresso sia in sec e min o in percento (%) rispetto ad una attività di controllo, quindi ad esempio il paziente ha il 40% dell'attività rispetto ad uno standard. Perché è importante quello che vi sto dicendo?

Perché, poiché la tromboplastina che io aggiungo nel dosaggio è di origine umana o animale, l'attività di questo tromboplastina può variare a seconda della ditta che me la procura e a seconda della preparazione, perché ci può essere una tromboplastina più efficace nell'attivare la via estrinseca ed un'altra meno efficace; è ovvio che in funzione della capacità della tromboplastina di attivare l'azione del fattore tissutale, si avrà un'attivazione più o meno veloce della via estrinseca, quindi il PT mi risulterà più o meno allungato in funzione della tromboplastina che utilizzo.

Questo era un grosso problema quando si doveva monitorare strettamente alcuni pazienti, come i pazienti in terapia anticoagulante. Voi sapete che tali pazienti devono essere monitorati ogni 10-15 giorni, facendo la valutazione della loro attività coagulativa, perché devono essere tenuti al limite del sanguinamento, quindi devo ottenere un risultato che sia attendibile e confrontabile tra i vari laboratori, perché non posso costringere il paziente ad andare sempre nello stesso laboratorio, né è pensabile poi che lo stesso laboratorio abbia sempre la stessa tromboplastina.

Quindi c'è la necessità di avere degli standard di riferimento, a cui posso riportare il valore del PT espresso in *unità di attività*, in modo tale che sono sicura che in qualunque posto il paziente vada si ha un valore confrontabile con quelli precedenti e con quelli futuri; per tale motivo oggi il valore del PT viene normalizzato secondo il metodo definito **INR**.

INR - International normalized ratio

Mette in relazione una tromboplastina utilizzata da uno specifico laboratorio, quindi che ha una attività "x" con un reattivo standard; al reattivo standard viene dato il valore di 1, quindi preso come riferimento.

Quindi se io faccio il PT al paziente io potrò avere un INR che:

- è 1, o intorno ad 1, in un paziente che non fa terapia, un paziente che coagula bene e sta bene;
- il paziente invece che deve fare terapia anticoagulante normalmente ha un INR molto allungati che possono andare da 2 a 5;
- un paziente che ha fatto un infarto dovrebbe essere tenuto tra 4 e 5; quindi questo è un paziente al quale se si sbaglia la terapia gli si potrebbe causare un sanguinamento.
- Un paziente che ha fatto una trombosi e quindi deve stare scoagulato, ha un INR molto basso ed è ancora a rischio di fare trombosi.

Esiste uno standard, delle tabelle per cui a seconda delle patologie si consiglia di mantenere determinati livelli di INR;

un paziente che ha una fibrillazione atriale deve stare in terapia anticoagulante per tutta la vita, soprattutto se anziano, deve essere mantenuto in valori di INR compresi tra 2,5-3 quindi 2 volte e mezzo il tempo del PT, più o meno.

Questa possibilità di standardizzare il valore del PT, attraverso l'INR permette (almeno in linea teorica, perché poi ci sono delle cose che il medico deve guardare perché a volte il laboratorio può sbagliare) di avere una minore variabilità tra laboratori diversi.

TEST DI SECONDO FILTRO

Indagano le alterazioni molto rare come per esempio il deficit del fattore XIII; questo fattore consente una ottima polimerizzazione della fibrina. Quindi in caso di deficit del fatto XIII tutta la parte coagulativa fino alla formazione dei primi frammenti di fibrina è assolutamente normale. Tuttavia il paziente risulta emorragico per mancata stabilizzazione del reticolo di fibrina. Questa condizione è abbastanza rara, quindi il test che la indaga (**dosaggio del fattore XIII**) è un test di secondo livello.

Dosaggio dell' α -2-antiplasmina. Alterazioni dell' α -2-antiplasmina comprometteranno la fibrinolisi.

Dosaggi del t-PA e del PAI vanno sempre a studiare l'assetto fibrinolitico.

Dosaggio del fattore piastrinico 3

Il fattore piastrinico 3 è una molecola di natura proteica che viene liberata dalle piastrine attivate, quindi cercare il fattore piastrinico 3 e trovarlo in circolo (normalmente è assente) significa che c'è un'attivazione piastrinica da qualche parte nel circolo; quindi è una di quelle molecole che entrano in circolo soltanto quando la piastrina è attivata. Quindi le piastrine "resting" che sono a riposo, che hanno la forma discoidale, non producono fattore piastrinico 3.

Tempo di trombina (TT), viene ormai considerato di secondo filtro e non viene mai svolto come test di primo filtro.

Quando vi è un allungamento del TT ?

In tutte le condizioni di ipofibrinogenemia e disfibrinogenemia a cui i test PT e PTT sono poco sensibili, o in presenza di inibitori come eparina (inibisce il fattore II, X, proteasi in genere) o prodotti di degradazione della fibrina che interferiscono con la sua polimerizzazione.

Poi parleremo del **tempo di reptilase** che diventa un tempo molto utile soprattutto nei pazienti che fanno terapia eparinica.

Quando vi è un allungamento del RT ?

In tutte le situazioni in cui è aumentato il TT, con una importante differenza: Reptilase non è inibito da eparina. Dunque un lungo TT ed un normale RT distingue per un effetto da eparina accidentale o terapeutico da una condizione di ipo e disfibrinogenemia in cui tutti e due i test sono modificati

Dosaggio del fattore di Von Willenbrand che serve per:

Vedere se il paziente ha la malattia di Von Willenbrand

Per vedere se è una condizione di tipo quantitativo o qualitativo

Esistono condizioni molto eterogenee che vanno sotto il nome di malattia di Von Willenbrand. La malattia di Von Willenbrand può essere una condizione in cui il deficit di questo fattore può essere quantitativo o qualitativo; entrambe le condizioni sono abbastanza gravi e per fortuna anche abbastanza rare.

Il deficit quantitativo potrebbe portare il paziente ad emorragie serie e gravi perché il fattore VIII non viene più protetto dall'azione proteolitica.

Le alterazioni qualitative invece sono meno gravi; il fattore di Von Willenbrand è una molecola molto grossa e complessa, formata da più sub unità; è una molecola che viene sintetizzata sotto forma di precursore molto grande e va incontro ad una serie di processi definiti di maturazione, in cui il fattore tende a perdere alcune parti della sua struttura e a diventare attivo attraverso questa maturazione. È una molecola multimerica cioè formata da tante sub unità, e fanno parte di questo complesso molecole molto grosse e molecole molto piccole, il così detto fattore di von Willenbrand maturo, ha una configurazione particolare in cui questi componenti multimeri devono essere tutti rappresentati; ci sono delle condizioni di malattia di Von Willenbrand da deficit delle molecole più piccole di questo multimerico che rendono il fattore insufficiente e ci sono situazioni

molto gravi in cui i frammenti piccoli non sono presenti e particolarmente presenti invece le molecole di grosso peso molecolare.

La presenza di un'alterazione del fattore di Von Willenbrand di questo tipo, cioè con la comparsa di multimeri di alto peso molecolare può dare luogo ad una malattia trombotica molto grave che è la *malattia trombotica trombocitopenia* (studiata nell'ambito della anemie); malattia di difficile risoluzione, e quasi sempre mortale. Questa malattia è dovuta alla presenza di grosse, anomale molecole del fattore di Von Willenbrand in cui non è andato avanti il processo di maturazione, per cui sono presenti le molecole di grosso peso molecolare che rimangono applicate vicino alle piccole molecole.

Perché questo induce la trombosi?

Questa è una conoscenza recente; in questi pazienti mancano degli enzimi, delle proteasi, che serve proprio a permettere la maturazione del fattore di Von Willenbrand e quindi permangono le molecole di grosso peso molecolare; queste grosse molecole, poiché all'inizio sul fattore di Von Willenbrand, che tra l'altro tende già a legarsi ad altri fattori come il fattore VIII, diventano talmente grosse che nel flusso ematico va a sbattere contro la parete dell'endotelio determinando una perturbazione importante di esso che si atteggia in senso pro trombotico; quindi comincia a produrre il PAI; inoltre mentre l'endotelio sano produce la molecola antiaggregante più potente che è rappresentata dalle prostacicline, l'endotelio perturbato ne produce una quantità molto inferiore.

Quindi l'endotelio si atteggia in senso protrombotico come conseguenza del danno che subisce da queste grosse molecole del fattore di Von Willenbrand che sbattono contro la parete. Ecco perché poi avete la trombosi diffusa con piastrinopenia da consumo.

Alterazioni emostatiche acquisite

Cause:

Epatopatie, possono determinare sia emorragie perché i fattori coagulativi non vengono prodotti che trombosi per mancata sintesi di antitrombina III e proteina C

Anticorpi anti fattore VIII possono comparire in pz politrasfusi. Tali Ab legando il fattore VIII fanno sì che esso non possa più essere protetto dall'azione di proteasi

DD con emofilia, mediante:

- Anamnesi
Pz in età pediatrica → Più probabile che si tratti di emofilia
Pz adulto con storia di trasfusioni multiple → Più probabile che ci si trovi in presenza di Ab anti fattore III
- Dosaggio fattore VIII
Riduzione significativa → emofilia
Quantità normale → presenza di Ab anti fattore VIII