


EMOSTASI



FASI DELL'EMOSTASI

- L'emostasi è un meccanismo organico di difesa che permette l'arresto di un'emorragia da una lesione vasale attraverso interazioni di processi dinamici
 - L'entità del fenomeno è correlata all'importanza della lesione vascolare
 - Le componenti della normale emostasi sono:
 - 1) Vasi sanguigni
 - 2) Piastrine
 - 3) Fattori plasmatici della coagulazione
- 

- Si distinguono 3 fasi fondamentali dell'emostasi:

I) FASE VASCOLARE Vasocostrizione

II) FASE PIASTRINICA Adesione
 Agglutinazione
 Metamorfosi viscosa

III) FASE COAGULATIVA
 e POST-COAGULATIVA Tromboplastinogenesi
 Trombinogenesi
 Fibrinogenesi
 Strutturazione, retrazione, lisi
 del coagulo

Le fasi I e II costituiscono l'emostasi primaria, la III la secondaria

- In seguito alla lesione vascolare si ha vasocostrizione e adesione delle piastrine al vaso lesso (in particolare al collagene del sottoendotelio).
- Le piastrine liberano ADP ed adrenalina e danno luogo all'aggregazione con formazione di un tappo emostatico non compatto.
- La trombina rende successivamente il tappo emostatico compatto con aggregazione irreversibile.
- L'azione della trombina è resa possibile dall'attivazione della via intrinseca ed estrinseca della coagulazione.

Alterazioni delle piastrine

- Le piastrine giocano un ruolo fondamentale nella I fase dell'emostasi.
- Si distinguono anomalie quantitative (trombocitopenie) e qualitative (trombocitopatie).

Trombocitopenie

- Si parla di trombocitopenie quando i valori di PLT sono $<150 \times 10^3/\text{dl}$.
- Rappresentano una delle più frequenti cause di alterazione dell'emostasi e possono essere acquisite, primitive o secondarie, ed ereditarie.
- Da un punto di vista fisiopatologico possono essere ricondotte:
 - 1) ad una ridotta produzione midollare (forme c.d. centrali) con riduzione o assenza di megacariociti, nell'ambito di aplasie midollari, infiltrazioni, impiego di farmaci o sost. mielotossiche, irradiazioni, infez. virali, etc, nonché disturbi della trombopoiesi

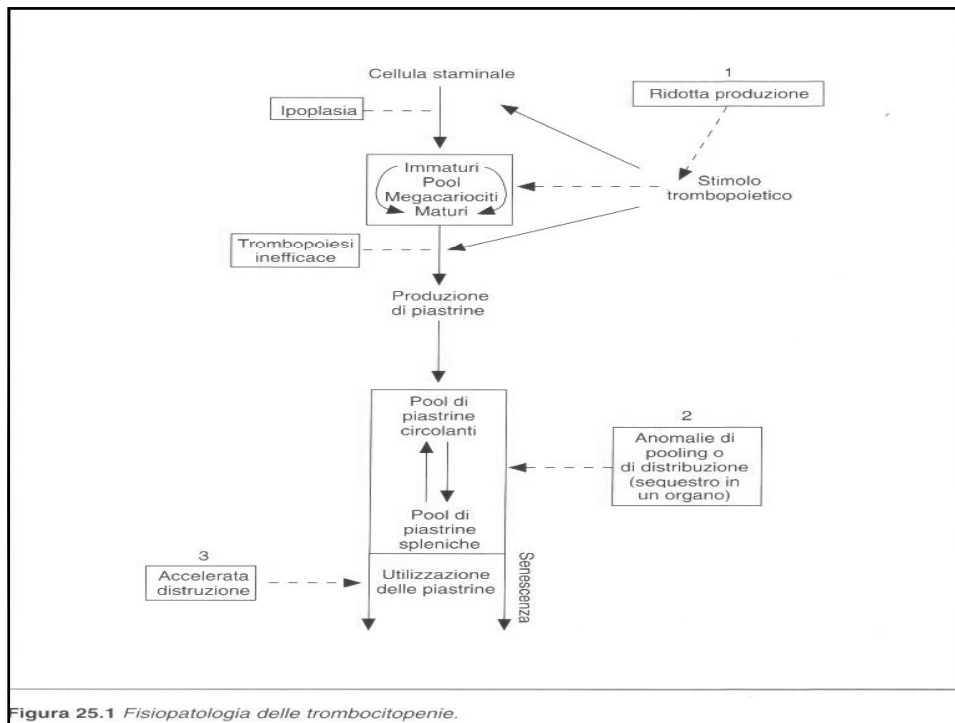
2) ad anomalie di pooling o di distribuzione per sequestro in un organo ipertrofico come si verifica nelle splenomegalie.

La produzione di megacariociti aumenta, l'emivita piastrinica è modicamente ridotta.

3) ad aumentata distruzione: sono le forme di gran lunga più frequenti, con aumentata produzione di megacariociti.

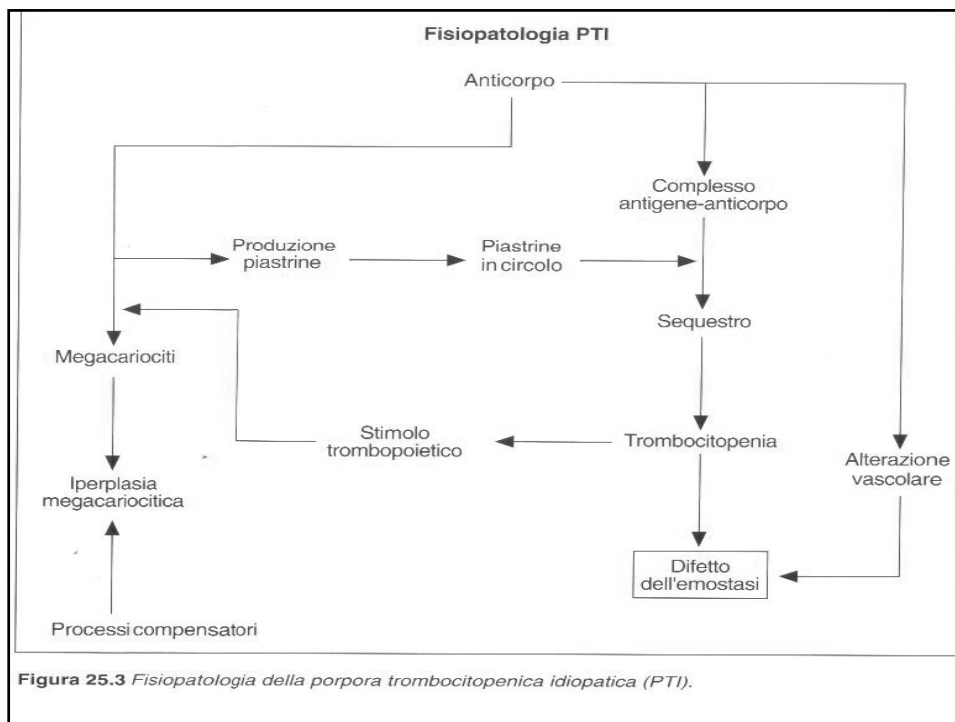
Spesso l'aumentata distruzione di PLT è di tipo immunologico da autoanticorpi: PTI, LES, da isoanticorpi, etc.

4) tra le forme non immunologiche acquisite da aumentata distruzione vanno ricordate le trombocitopenie in corso di CID, da processi microangiopatici, in corso di infezioni, trasfusioni massive etc.



Porpora Trombocitopenica Idiopatica (PTI)

- E' una trombocitopenia nella quale non è evidenziabile chiaramente un fattore etiologico.
- Caratteristico è l'incremento di megacariociti al mielogramma.
- Attualmente le PTI, che rappresentano le più frequenti forme di alterazioni piastriniche in tutte le età, vengono inquadrare su base immunologica.



•Le PTI possono essere acute e croniche in base al decorso clinico:

Tabella 25.5 Elementi che caratterizzano la PTI acuta e cronica

	PTI acuta	PTI cronica
Incidenza per età	Bambini di 2-6 anni	Adulti 20-40 anni
Prevalenza per sesso	Nessuna	3 ♀/1 ♂
Precedenti infezioni	Frequenti, 1-3 settimane prima dell'inizio	Non abituali
Inizio delle emorragie	Improvviso	Insidioso
Presenza di vescicole emorragiche al cavo orale	Presenti in più casi	Abitualmente assenti
Conta piastrinica	< 20 x 10 ⁹ /l	30-80 x 10 ⁹ /l
Eosinofilia e linfocitosi	Frequenti	Rare
Durata	2-6 settimane, raramente oltre	Mesi o anni
Remissioni spontanee	Nell'80% dei casi	Non abituali

Quadro clinico

- L'esordio è improvviso nelle PTI acute, subdolo nelle croniche.
- All'anamnesi sono spesso evidenziabili infezioni antecedenti circa 3 settimane dall'esordio (m. esantematiche, virusi respiratorie, etc.) o vaccinazioni effettuate 2/3 settimane prima.
- Le manifestazioni emorragiche caratteristiche sono quelle di tipo purpuriche <petecchie> che non scompaiono alla digitopressione e sono presenti nelle zone sottoposte a maggiore pressione. Al cavo orale sono presenti spesso vescicole emorragiche.
- Le ecchimosi sono per lo più piccole e diffuse su tutta la superficie corporea. Gli ematomi sono più rari.
- Manifestazioni emorragiche tipo gengivorragie, epistassi, ematuria micro-macroscopica, ematemesi e melena, emorragie subcongiuntivali e retiniche sono correlate all'entità della piastrinopenia. In età pediatrica le emorragie a carico del SNC sono rare (<1%) per lo più subaracnoidee.
- La DD con le manifestazioni emorragiche da alterazione dei fattori plasmatici della coagulazione.

Tabella 25.6 Diagnosi differenziale clinica tra porpore da alterazioni dei vasi e delle piastrine e manifestazioni emorragiche da disturbi dei fattori plasmatici della coagulazione

Manifestazioni emorragiche	Porpore	Disturbi della coagulazione
Petecchie	Caratteristiche	Rare
Ematomi	Rari	Caratteristici
Ecchimosi superficiali	Caratteristiche, abitualmente piccole e multiple	Comuni, di solito grosse ed isolate
Ematriti	Rari	Caratteristici
Emorragie ritardate	Rare	Comuni
Emorragie da piccole scarificazioni	Persistenti, spesso profuse	Minime
Sesso del paziente	Relativamente più comuni nella femmina	80-90% delle forme ereditarie nei maschi
Anamnesi familiare positiva	Rara	Comune

Decorso e prognosi

- Nell'80% dei casi guarigione spontanea tra 4 settimane-4 mesi dall'esordio senza terapia.
- Nei casi in cui la remissione non si è verificata spontaneamente si può avere guarigione nello spazio di 2 mesi dall'inizio della terapia.
- Nelle forme croniche, a distanza di 6 mesi dall'esordio, la guarigione non si verifica né spontaneamente né dopo terapia.

Terapia

- Dovrebbero essere trattati pz con emorragie o rischio di emorragie e con numero di PLT $<20 \times 10^3/\text{ml}$.
- Il trattamento standard per bambini con IPT è il seguente:
 - Ig ev
400-800 mg/kg/die per 5 giorni, successivamente la dose può essere ripetuta dopo 15 giorni oppure 800 mg/kg per una sola volta.
 - In caso di emergenze emorragiche le Ig ev (800mg/kg) possono essere associate a corticosteroidi e trasfusioni di PLT.
 - Corticosteroidi
prednisone 4 mg/kg/die per os/ev per 7 giorni, riducendo gradualmente la dose nei • seguenti 7 giorni.
 - In caso di emergenza emorragica: metilprednisolone 8-10 mg/kg ev o desametasone 0.5-1mg/kg ev/os associato con Ig ev o trasfusione di PLT.
 - Ig anti-Rh(D)

Forme refrattarie:

solfato di vincristina, azatioprina, metilprednisolone ciclico ad alte dosi (20-30 mg/kg ev) o desametasone 1mg/kg os per 3-4 gg consecutivi ogni 4 settimane per 4 mesi (discutibile in età pediatrica), danazolo.

Splenectomia indicata nei bb nei quali la trombocitopenia persiste da più di 1 anno con episodi emorragici ricorrenti.

Attualmente nelle forme croniche viene impiegata anche la trombopoietina.

Trombocitopenie da farmaci

- Alcuni farmaci come caf, fenilbutazone, ossitetracicline etc possono agire sopprimendo la produzione di PLT.
- Altri farmaci come l'acetazolamide (diamox), sedormid, chinina, sali d'oro possono provocare la formazione di Ab anti-PLT con un meccanismo di tipo allergico in cui il farmaco agisce da aptene.

Trombocitopenie erditarie

Tabella 25.2 Trombocitopenie ereditarie

I. Ereditarietà X cromosomica recessiva

- A. Sindrome di Wiskott-Aldrich
- B. Trombocitopenia isolata
- C. Trombocitopenie con aumento delle IgA e malattia renale

II. Ereditarietà autosomica dominante

- A. Trombocitopenia trombopatica
- B. Trombocitopenie isolate
- C. Varietà nelle quali la trombocitopenia rappresenta un carattere di un'alterazione generalizzata (May-Hegglin, Hb Köln)

III. Ereditarietà autosomica recessiva

- A. Distrofia trombocitaria emorragipara (sindrome di Bernard-Soulier)
- B. Varietà nelle quali la trombocitopenia fa parte di un disordine generalizzato (sindrome di Chediak-Higashi, anemia di Fanconi, sindrome di Shwachman, ecc.)

IV. Forme non classificate

- A. In associazione con anticorpi antiplastrine
- B. In associazione con anomalie della funzione piastrinica
- C. In associazione con altri disturbi ereditari dell'emostasi (malattia di von Willebrand)

Sindrome di Wiskott-Aldrich

- E' trasmessa con carattere X-cromosomico recessivo
- E' caratterizzata da gravi infezioni ricorrenti, porpora trombocitopenica e manifestazioni eczematose.
- Il gene mutante responsabile della malattia è sito al Xp11,4-p11-21.
- Il disturbo immunologico è caratterizzato da insufficiente risposta agli antigeni lipopolisaccaridici, da progressiva riduzione del numero e della funzione dei T linfociti, bassi livelli di IgM.
- Sono presenti alterazioni della membrana cellulare dei T linfociti (deficit di CD43) e della glicoproteina della membrana piastrinica (Gplb) con microtrombocitopenia.

- I bambini che sopravvivono oltre la I decade presentano rischio elevato di sviluppare malattie linfoproliferative
- La splenectomia migliora la trombocitopenia, ma aumenta il rischio di gravi infezioni, spesso mortali.
- Il trapianto di midollo osseo o cellule staminali da donatore compatibile segna un goal contro la malattia.



TROMBOCITOPATIE



Tromboastenia di Glanzmann

- E' un disordine ereditario della funzionalità piastrinica caratterizzato da un prolungato tempo di emorragia (TE) e da insufficiente retrazione del coagulo con numero di piastrine normale.
- Il difetto è a carico dell'aggregazione piastrinica come risultato di un deficit di integrina (GpIIb-IIIa,CD41/CD61).
- Si trasmette con carattere autosomico recessivo.
- Le manifestazioni cliniche possono iniziare precocemente con petecchie, ecchimosi, epistassi, gengivorragie, menorragie in età pubere.
- L'elemento diagnostico fondamentale è la completa insufficienza dell'aggregazione in risposta a tutti gli agonisti (ADP, collagene ecc.) per il difetto dell'integrina, recettore del fibrinogeno, che rappresenta la via comune per l'aggregazione piastrinica.

Emostasi Secondaria

- L'emostasi secondaria che rappresenta l'ultima e conclusiva fase coagulativa si esplica attraverso una serie di reazioni, alcune delle quali di natura enzimatica, tra i fattori coagulanti presenti nel sangue
- Le 2 vie della coagulazione, l'estrinseca e l'intrinseca, portano entrambe all'attivazione del FX.
- Nella via estrinseca il FVII in presenza del suo cofattore FT (fattore tissutale) attiva direttamente il FX.
- Nella via intrinseca l'esposizione dei fattori di contatto tra cui il FXII alla superficie, porta all'attivazione del FXI che attiva il FIX che a sua volta in presenza di FVIII attivato, attiverà il FX.
- Il complesso protrombinasi (FXa/FVa/FP3/Ca) agisce sulla protrombina con formazione di trombina che, a sua volta, agirà sul fibrinogeno con formazione di fibrina
- Il sistema fibrinolitico, in equilibrio dinamico con il sistema coagulativo, elimina poi i depositi di fibrina che si possono formare nel letto vascolare, mantenendolo intatto.

MALATTIA di VON WILLEBRAND

Disordine della coagulazione trasmesso ereditariamente con carattere autosomico dominante o recessivo.

Il gene codificante è situato sul braccio corto del cromosoma 12.

Le emorragie si verificano per alterazione dell'adesività piastrinica e riduzione del F VIII, in seguito alla riduzione o disfunzione del Fattore Von Willebrand .

Il F.vW è una proteina adesiva che ha 2 funzioni:

- 1) serve da ponte tra il collagene sottoendoteliale e le piastrine
- 2) circolando con il FVIII lo protegge da un rapido allontanamento dal circolo

Rappresenta il più comune disordine ereditario della coagulazione, tuttavia solo il 10% delle persone affette presenta sintomatologia emorragica

Le manifestazioni cliniche più comuni sono i sanguinamenti muco-cutanei, le epistassi, le gengivorragie, le ecchimosi e le menorragie.

Si distinguono 3 forme di m. di von Willebrand:

Tipo I: è la forma più frequente (75-80%) ed è caratterizzata da una riduzione del FvW, qualitativamente normale.

I pazienti presentano modeste o moderate emorragie.

I tests di laboratorio mostrano allungamento del TE, attività del FVIII alterata solo nei casi a sintomatologia più grave, riduzione dell'attività del FvW e dell'antigene, nonché dell'aggregazione piastrinica indotta da ristocetina

Tipo II: include 4 sottotipi, ed è meno frequente del tipo I (10-15%). Il FvW è qualitativamente alterato per sostituzioni.

I tests di laboratorio evidenziano alterazioni del TE, attività del FvW più marcatamente ridotta rispetto all'antigene, riduzione dell'aggregazione piastrinica indotta da ristocetina, FVIII normale o ridotto.

Tipo III: è raro e si presenta con grave deficit di FvW e moderato deficit di FVIII. Le mutazioni sono per lo più delezioni.

I tests di laboratorio evidenziano alterazioni del TE, notevole riduzione dell'attività del FvW e dell'antigene, dell'aggregazione piastrinica da ristocetina; il FVIII è circa il 5%.

Terapia

I pazienti che necessitano di terapia possono essere trattati con:

- 1) DDAVP (desmopressina acetato)
- 2) Terapia sostitutiva con concentrati plasma-derivati di FVIII/FvW
- 3) Terapie aggiuntive quali agenti antifibrinolitici e farmaci ad azione topica

La maggior parte dei pazienti con sintomatologia modesta o moderata (tipol o II) può essere trattata con DDAVP (0.3 µg/ev in 50ml di fisiologica 1-3 dosi in 12h, o mediante spray nasale: 150-300 µg)



Emofilia

Malattia ereditaria X cromosomica recessiva

A → deficit del fatt VIII

B → deficit del fatt IX

- Il deficit del fatt VIII prevale (5 volte in più rispetto al IX)
- Prevalenza nel mondo è di 1:10000- 1:50000
- L'alta incidenza relativa di Emofilia A è dovuta all'alta quantità di mutazioni e al pattern legato al cromosoma X
- In 1/3-1/2 di bambini con nuova diagnosi non si riscontra storia familiare del disordine, e la malattia è attribuibile ad una neo-mutazione

il fatt VIIIa ed il IXa agiscono nella formazione del fatt Xa e della trombina: è quindi evidente lo stesso fenotipo per il deficit di F VIII e F IX

- Grave emofilia: concentrazione di F VIII/F IX < 0.01 IU/ml
- Moderata emofilia: F VIII/F IX 0.01-0.05 IU/ml (2-5% del normale)
- Modesta emofilia: F VIII/F IX 0.05-0.4 IU/ml (5-40% del normale)



Sintomatologia

- Forma grave: emorragie spontanee a livello di articolazioni e muscoli nei primi 2aa di vita, meno frequenti sono le emorragie del SNC, testa, collo, GI ed emorragie dopo traumi o vaccinazioni
- Forma moderata: emorragie post-traumatiche, post-estrazioni dentarie ma anche emorragie spontanee occasionali
- Forma modesta: spesso non diagnosticabile fino all'adolescenza o età adulta



Diagnosi

- Allungamento di APTT
- Normale PT
- ↓ attività di F VIII (VIII:C) o F IX (IX:C)

Una variante: deficit F VIII:C misurato con i comuni standards coagulativi risulta normale mentre è ridotto con metodi diversi (cromogenico)

Il metodo cromogenico deve essere preso in considerazione

- Se esiste storia familiare di deficit F VIII con normalità del comune standard coagulativo in un familiare affetto
- In bb con normale indagine standard ma sospetta emofilia

Diagnosi

- Allungamento di APTT
- Normale PT
- ↓ attività di F VIII (VIII:C) o F IX (IX:C)

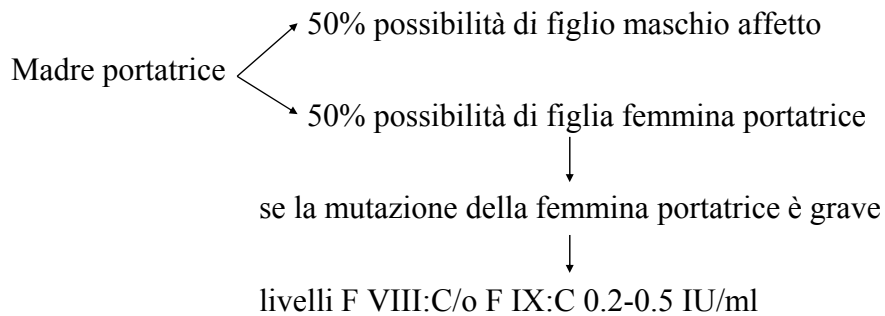
Una variante: deficit F VIII:C misurato con i comuni standards coagulativi risulta normale mentre è ridotto con metodi diversi (cromogenico)

Il metodo cromogenico deve essere preso in considerazione

- Se esiste storia familiare di deficit F VIII con normalità del comune standard coagulativo in un familiare affetto
- In bb con normale indagine standard ma sospetta emofilia

Genetica

- X linked



Raramente femmine affette:

- Inattivazione a caso del cromosoma X
- Ereditarietà paterna e materna di cromosomi affetti o sind Turner

I difetti genetici F VIII e IX possono essere suddivisi in diverse categorie

- Grave riarrangiamento genetico
- Inserzioni/delezioni
- Sostituzioni di singole basi risultanti in mutazioni missense, nonsense o di splicing mRNA.
- Sono state riportate oltre 2500 mutazioni

La singola e più importante mutazione è quella coinvolgente l'introne 22 del gene F VIII, riscontrata in circa il 50% dei casi

L'introne contiene un'isola F8A ed F8B

Per identificare lo stato di portatore:

- albero geneologico
- Livelli di F VIII:C/ F IX:C
- Analisi di mutazioni (indagine molecolare)
- Consultorio genetico

Terapia

Fin dal 1840 trasfusioni di sangue

Dal 1950 plasma (piccole quantità di F VIII)

1964 :Crioprecipitati (ricchi di fatt antiemofilico, rapido congelamento di plasma fresco-4 C. piccolo volume contenente alte quantità di fattore, possibilità di trattamento domiciliare subito dopo il trauma. < incidenza deformità

Successivamente: fattori liofilizzati concentrati. Facoltà di conservare il prodotto in casa e diluirlo con acqua al momento. Necessari migliaia di donatori

Media di sopravvivenza nel 1920: 11aa; 1970: normale vita

Decade successiva: forma purificata. Pericoli di m virali (HIV, Epatite C).
Primo caso HIV 1982

Successivamente: qualificazione donatori, testati gli ac. nucleici,
monofiltrazione

Terapia

- Le emorragie nella forma modesta e severa possono iniziare dopo la nascita, ad es con la circoncisione
- Per l'emostasi il minimo livello di F VIII è tra 30 e 50%
- I pz con grave deficit: ripetute e spontanee emorragie, ematridi; se non trattati adeguatamente possono evolvere in sinoviti croniche ed artropatie gravi. Altre emorragie possono mettere in pericolo la vita. La terapia si basa su un' adeguata ed immediata somministrazione di fatt F VIII 1 IU/Kg che aumenta il F VIII plasmatico del 2%
- Unità F VIII richiesta = Peso(Kg) * livelli desiderati * 0.5
- Desmopressina: (1 deamino-8-D arginina vasopressina DDAVP) aumenta da 2 ad 8 volte i livelli di F VIII circolante agendo con il rilascio di vWF dai depositi endoteliali con conseguente stabilizzazione del F VIII-C.

Usata nelle forme moderate con risposta nel 57-77% dei pz

Nel deficit di F IX-C la DDAVP non aumenta il fatt pur prevenendo ed intervenendo nel processo emorragico, forse causando cambiamenti che bypassano la necessità di F IX normale

Tests di laboratorio utili per la diagnosi di disturbi dell'emostasi

- I) Identificazione e diagnosi dei disordini emorragici
- II) Indagini sugli stati protrombotici e monitoraggio della terapia antitrombotica

Tests per la diagnosi di disordini emorragici

Tests di screening cd di I livello, alla portata di ogni laboratorio.

- Per esplorare in maniera sufficiente i disturbi dell'emostasi è necessario che siano effettuati contemporaneamente 3 tests:
 - 1) Tempo di emorragia (TE) che esplora l'emostasi primaria, cioè la fase vasopiastrinica nel suo insieme, ed è tipicamente alterato nelle trombocitopenie e trombocitopatie
Si pratica con un'incisione di dimensioni costanti e sotto pressione sull'avambraccio ed è patologico se il sanguinamento supera i 10 minuti (test di Ivy). Praticato al lobo dell'orecchio è meno sicuro ed è patologico se il sanguinamento supera i 4 minuti.
 - 2) Tempo di protrombina o di Quick (PT) esplora la via estrinseca della coagulazione ed è alterato per carenza dei Fattori VII, X, V, protrombina e fibrinogeno

- 3) Tempo di Tromboplastina Parziale attivato (aPTT) che esplora la via intrinseca della coagulazione e risulta alterato per carenza dei Fattori XII, XI, IX, VIII, V, X, protrombina e fibrinogeno.

In conclusione PT ed aPTT indagano su un gruppo comune di Fattori: V, X, Protrombina e Fibrinogeno, mentre solo il PT è sensibile alla carenza di FVII e solo l'aPTT alle carenze di Fattori XII, XI, IX, VIII.

- TESTS Specifici o di II livello da eseguirsi se i tests di screening sono alterati, per una diagnosi etiologica

- TE alterato con PT ed aPTT normali:

- Conta piastrinica: a) ridotta: trombocitopenia

b) normale: anomalia funzionale: valutazione mediante analizzatore della funzione piastrinica PFA-100r (sangue citrato incontra una membrana con apertura centrale con collagene ed epinefrina o ADP: l'adesione e l'aggregazione piastrinica porta alla chiusura dell'apertura ed il tempo di chiusura viene valutato in secondi). Il test è sensibile alla presenza di FvW ed è prolungato in presenza di anemia (Ht <25%) o trombocitopenia (PLT <100000/mmc)

Se l'alterazione riguarda il PT e/o l'aPTT è necessario considerare 2 eventualità:

- a) la carenza di uno o più Fattori
- b) la presenza di inibitori o anticoagulanti

Si procede quindi alle prove di correzione e si ripete il test usando plasma del paziente da solo e miscelato con plasma normale:

- a) Correzione del test in esame se è carente un Fattore
- b) Mancata correzione se sono presenti inibitori

Se la prova di correzione è positiva si procede alla determinazione del Fattore carente (impiegando plasmi substrati carenti nei vari Fattori) con determinazione quantitativa del F. carente (metodi immunologici)