

**Medicina di laboratorio**  
**Trombofilia (stati di ipercoagulabilità)**

**Trombofilia = tendenza a sviluppare trombosi**

**Gli stati di ipercoagulabilità possono essere classificati in disturbi in cui vi siano:**

- 1. Evidenze di laboratorio che indicano uno stato pretrombotico**
- 2. condizioni cliniche che comportano un rischio più elevato di eventi tromboembolici**

**La trombosi è un fenomeno multifattoriale dalla patologia complessa ed ancora in buona parte sconosciuta**

**L'identificazione di test dell'emostasi che possano essere predittivi nella trombosi deve necessariamente partire dallo studio:**

- 1. della coagulazione e dei suoi anticoagulanti naturali**
- 2. dell'interazione piastrine- parete vasale**

### **Esami di laboratorio negli stati trombofilici: significato e loro utilizzo**

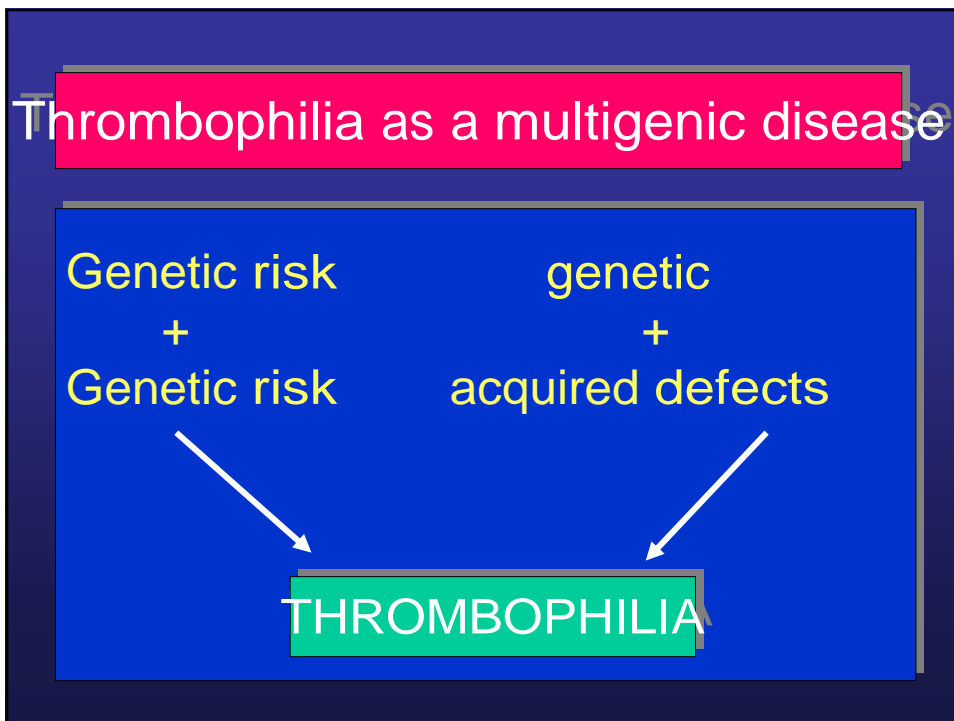
- 1. Per individuare la comparsa delle alterazioni che possono causare trombosi**
- 2. Approfondire sospetti diagnostici**
- 3. Seguire pazienti ad alto rischio**
- 4. Razionalizzare gli interventi terapeutici e monitorare le terapie con anticoagulanti, fibrinolitici o antiaggreganti piastrinici**

**Tabella 5-2. STATI DI IPERCOAGULABILITÀ**

**Primitivi (Genetici)**  
Mutazioni del Fattore V  
Deficienza di Antitrombina III  
Deficienza di Proteina C o S  
Difetti della fibrinolisi  
Omocistinemia  
Varianti alleliche della protrombina

**Secondari (Acquisiti)**  
**Ad alto rischio di trombosi**  
Prolungata degenza a letto o immobilità  
Infarto del miocardio  
Danno tissutale (interventi chirurgici, fratture, ustioni)  
Cancro  
Protesi valvolari cardiache  
Coagulazione intravascolare disseminata  
Trombocitopenia indotta da eparina  
Sindrome da anticorpi antifosfolipidi (sindrome anticogulante del lupus)

**A basso rischio di trombosi**  
Fibrillazione atriale  
Miocardipatia  
Sindrome nefrosica  
Stati di iperestrogenismo  
Uso di contraccettivi orali  
Anomia falciforme  
Fumo



## HEREDITARY THROMBOPHILIA

- Thrombotic episodes at venous and arterial vessels
  - at young age ( $\leq 50$  years)
  - familial
  - recurrent

**Table 3** Frequency and Relative Risk of Venous Thrombosis in Selected Hypercoagulable States<sup>a</sup>

Condition	Relative Risk <sup>b</sup>	Frequency <sup>c</sup>
Antithrombin III deficiency	High	1%–2%
Protein C deficiency	High	3%–4%
Protein S deficiency	High	2%–3%
Factor V Leiden	Modest	20%–25%
Prothrombin mutation, 20210A	Modest	10%
Hyperhomocysteinemia	Modest	10%
Oral contraceptive use	Modest	NA

<sup>a</sup>The incidence of venous thromboembolism in the normal population is estimated to be 0.03% a year (0.02% a year in patients who take oral contraceptives).

<sup>b</sup>Modest risk is defined as an approximate 2.5-fold to fivefold increase in thromboembolism, on the basis of data from the Leiden Thrombophilia Study<sup>11</sup>; high risk is defined as an approximate threefold to fourfold increase over that for factor V Leiden.<sup>1</sup>

<sup>c</sup>In unselected patients with venous thromboembolism.

## Thrombophilia: Clinical Relevance

Prevalence of Hereditary Defects

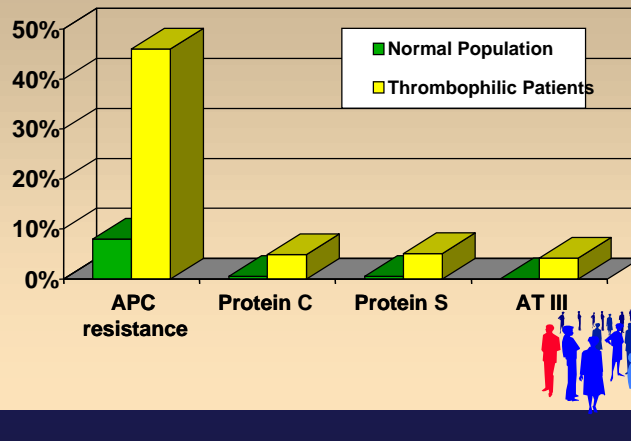


Tabella 5.10 Trombosi e su base ereditaria

Mutazioni	Proteina	Effetto clinico	Reperto di laboratorio a significato diagnostico
<b>Mutazioni di fattori della coagulazione</b>			
Fattore V, variante di Leida	1691 A → G (il gene è sul cromosoma 1)	Trombosi venosa	Resistenza alla proteina C attivata
Fattore II	20210 (G) A → G	Trombosi venosa	Livelli elevati di fattore II
Fattore VII	Diversi polimorfismi R535Q	Infarto miocardico o ictus con anamnesi familiare positiva	Di solito livelli elevati di fattore VII Aumento dei trigliceridi
<b>Mutazioni di anticoagulanti naturali</b>			
Antitrombina III	Il gene è sul cromosoma 1	Trombosi venosa	Diminuzione dell'attività o dei livelli di ATIII
Proteina C	Il gene è sul cromosoma 2	Trombosi venosa	Diminuzione dell'attività e dei livelli di proteina C
Proteina S	Il gene è sul cromosoma 3	Trombosi venosa	Diminuzione dei livelli di proteina S libera
<b>Mutazioni di componenti del sistema fibrinolitico</b>			
Inibitore dell'attivatore del plasminogeno	?	Trombosi venosa (a, forse, arteriosa)	Livelli elevati di PAI-1 Diminuzione della fibrinolisi
<b>Altre mutazioni</b>			
Mieloma monoclonale IgG (MTH-FIT)		Arteripatia precoce su base aterosclerotica	Aumento di omocisteina/omocisteina Diminuzione dei folati



## Stimoli **patologici** che portano alla deposizione ed attivazione delle piastrine

- Tutte le condizioni di "danno" \* che portano all'esposizione del TF
- Aumento dell'ematocrito (favorirà una diversa distribuzione delle cellule ematiche, forzando le piastrine verso la parete)
- L'età dell'individuo, dal momento che la composizione della parete vascolare cambia con l'età
- La velocità del flusso ematico\*\* (le piastrine sono responsabili della gran parte di trombi arteriosi, mentre l'endotelio di quelli venosi)

\* nella sede del danno gli eritrociti rilasciano ADP

\*\* L'elevato flusso determina l'attivazione del recettore per vWF

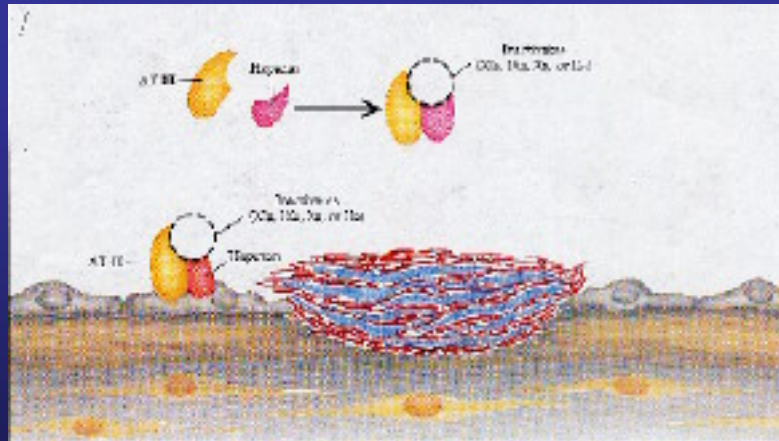
Tabella 4 – **Screening di laboratorio consigliato nei pazienti con trombofilia venosa e arteriosa**

### **Trombofilia venosa**

- Omocisteina
- Antitrombina III
- Proteina C
- Resistenza alla PC attivata
- Proteina S
- Ricerca della disfibrinogenemia
- Ricerca dell'anticoagulante lupico

### **Trombofilia arteriosa**

- Fibrinogeno
- Fattore VII
- Ricerca della disfibrinogenemia
- Ricerca dell'anticoagulante lupico



**AT- III è il più importante inibitore della coagulazione**

### **Quando va fatta diagnosi di carenza congenita di AT III ?**

- **Quando i livelli sono ridotti di circa il 50%**
- **Siano state escluse le cause di carenza acquisita quali, epatopatie, CID, sindrome nefrosica, condizioni nelle quali AT III può essere diminuita per ridotta sintesi, aumentato consumo o perdita renale**
- **Alla identificazione di un soggetto carente deve sempre seguire lo studio di laboratorio su tutti i familiari disponibili anche se asintomatici**





Fig. 16.52 Homozygous protein C deficiency: the patient, a 15-year-old girl, presented with skin necrosis and multiple venous thrombosis at 2 years of age.

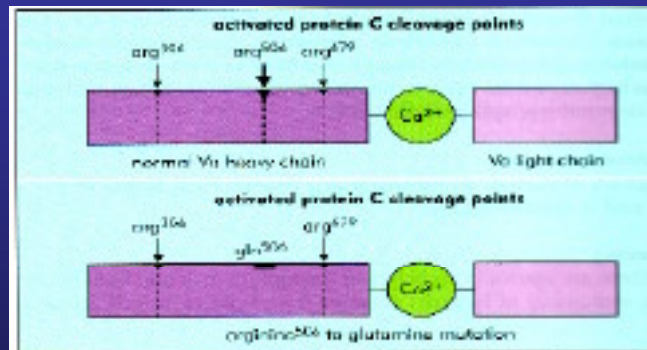
**Manifestazione peculiare della carenza congenita è la necrosi cutanea**

### **Resistenza alla proteina C attivata:**

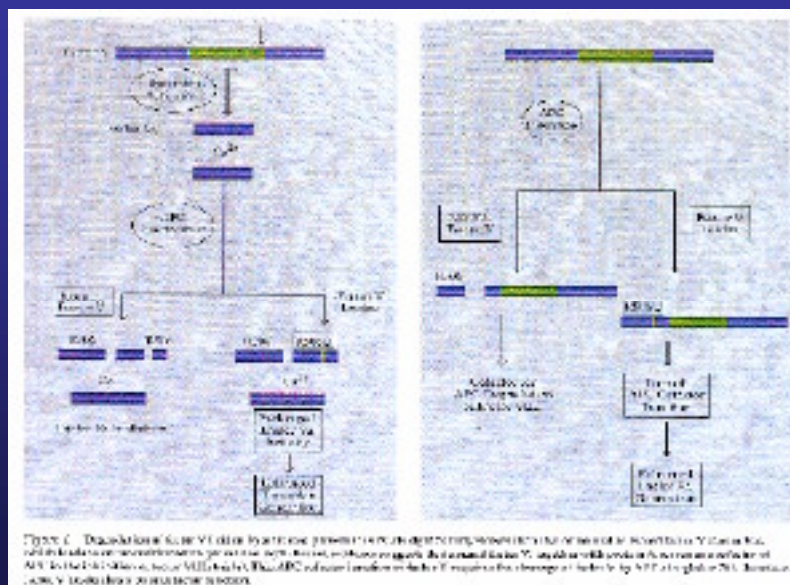
**Il test si basa su questo principio: Se al plasma umano normale si aggiungono concentrazioni crescenti di PC attivata, si assiste ad un prolungamento proporzionale del tempo di coagulazione conseguente alla inattivazione dei fattori V e VIII.**

**Esistono individui in cui non si osserva questo prolungamento. Tale anomalia è dovuta nella maggior parte dei casi ad una mutazione nel gene del fattore V (definito fattore di Leiden)**

## RESISTENZA ALLA PROTEINA C ATTIVATA



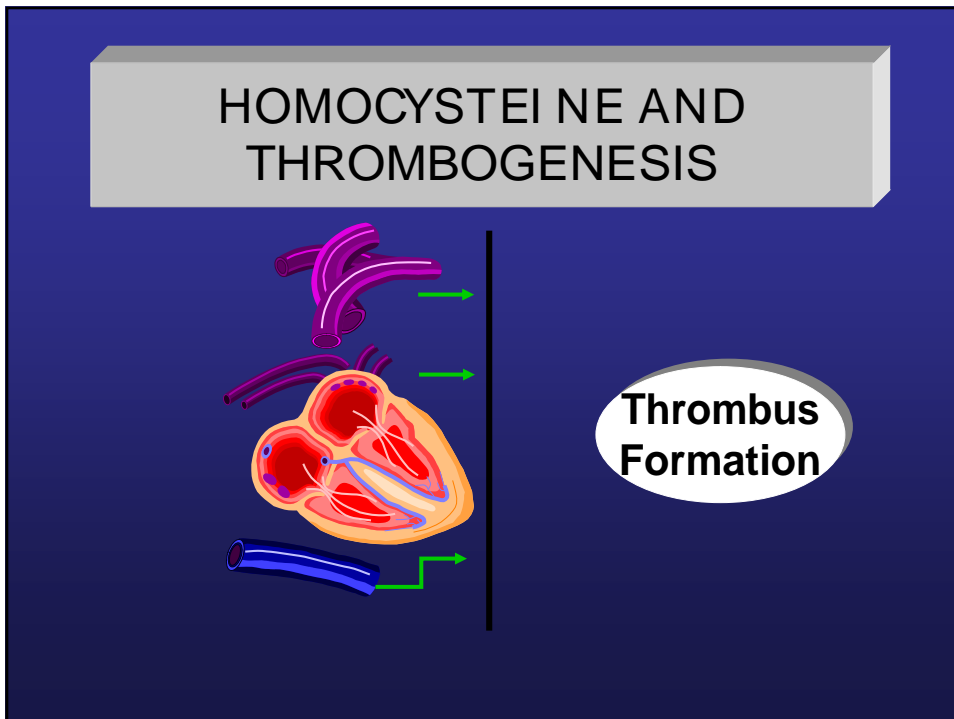
**Fig. 16.53** Inactivation of factor Va: activated protein C inactivates membrane-bound factor Va through proteolytic cleavage at three points in the Va heavy chain. In the factor V Leiden mutation, arginine at position 506 is replaced by glutamine, which renders this position resistant to activated protein C cleavage. The mutant factor V molecule can still be inactivated, but more slowly, at the remaining cleavage sites.



**FIGURE 16-10** The activation of factor X by factor IXa and factor VIIIa is the final step in the intrinsic pathway of activation of factor X. Factor Xa then acts on factor II (prothrombin) to form factor IIa (thrombin). Thrombin converts fibrinogen to fibrin, which is cross-linked by factor XIIIa to form a stable fibrin mesh. The diagram also shows the role of factor V in the activation of factor X.

**Table 2 Screening Tests for Patients with Suspected Hypercoagulable State**

Underlying State	Laboratory Evaluation
Venous thrombosis	Resistance to activated protein C Factor V Leiden (genetic test) Clotting assay (if necessary, if the genetic test for factor V Leiden is positive) Prothrombin mutation (20210A) (genetic test) Antithrombin (AT) (functional assay) Protein C (functional assay) Protein S Functional assay Anticardiolipin assay for free protein S
Arterial thrombosis	Anticardiolipin antibodies with hyperhomocysteinemia? Chronic (glomerular) intravascular coagulation (Thrombotic thrombocytopenia)? Lipoprotein(a)
Venous thrombosis and/or arterial thrombosis	Homocysteinemia: Fasting level Level after methionine loading (if thrombophilic and strongly suggestive) Antiphospholipid antibody Clotting assays for lupus anticoagulant ELISA for anticardiolipin antibodies IgG and IgM Dysfibrinogenemia (if thrombophilia is strongly suspected) Functional assay for fibrinogen level Thrombin time, reptilase time



**Tabella 5.10** Trombosi su base ereditaria

Mutazioni	Proteina	Effetto clinico	Reperto di laboratorio a significato diagnostico
<b>Mutazioni di fattori della coagulazione</b>			
Fattore V, variante di Leida	1691 A → G (il gene è sul cromosoma 1)	Trombosi venosa	Resistenza alla proteina C attivata
Fattore II	20210 G → A	Trombosi venosa	Livelli elevati di fattore II
Fattore VII	Diversi polimorfismi R353Q	Infarto miocardico o ictus con eredità familiare positiva	Di solito livelli elevati di fattore VII Aumento dei trigliceridi
<b>Mutazioni di anticoagulanti naturali</b>			
Antitrombina III	Il gene è sul cromosoma 1	Trombosi venosa	Diminuzione dell'attività e dei livelli di ATIII
Proteina C	Il gene è sul cromosoma 2	Trombosi venosa	Diminuzione dell'attività e dei livelli di proteina C
Proteina S	Il gene è sul cromosoma 3	Trombosi venosa	Diminuzione dei livelli di proteina S libera
<b>Mutazioni di componenti del sistema fibrinolitico</b>			
Inibitore dell'attivatore del plasminogeno	?	Trombosi venosa (e, forse, arteriale)	Livelli elevati di PAI-1 Diminuzione della fibrinolisi
<b>Altre mutazioni</b>			
Mutazione tetraidrotiofolato reduttasi (MTHFR)	★	Arteriopatia precoce su base aterosclerotica	Aumento di omocisteina/omocistina Diminuzione dei folati

**L'iperomocisteinemia è un fattore di rischio di patologia cardiovascolare molto alto**

**E' stato stimato che per ogni aumento di omocisteina di 5 μmol/l sopra i livelli normali (<10 μmol/l a digiuno), il rischio relativo di sviluppare una cardiopatia coronarica aumenta del 40%**

**La determinazione va effettuata nei soggetti che sviluppano precocemente aterosclerosi o con anamnesi familiare fortemente positiva**

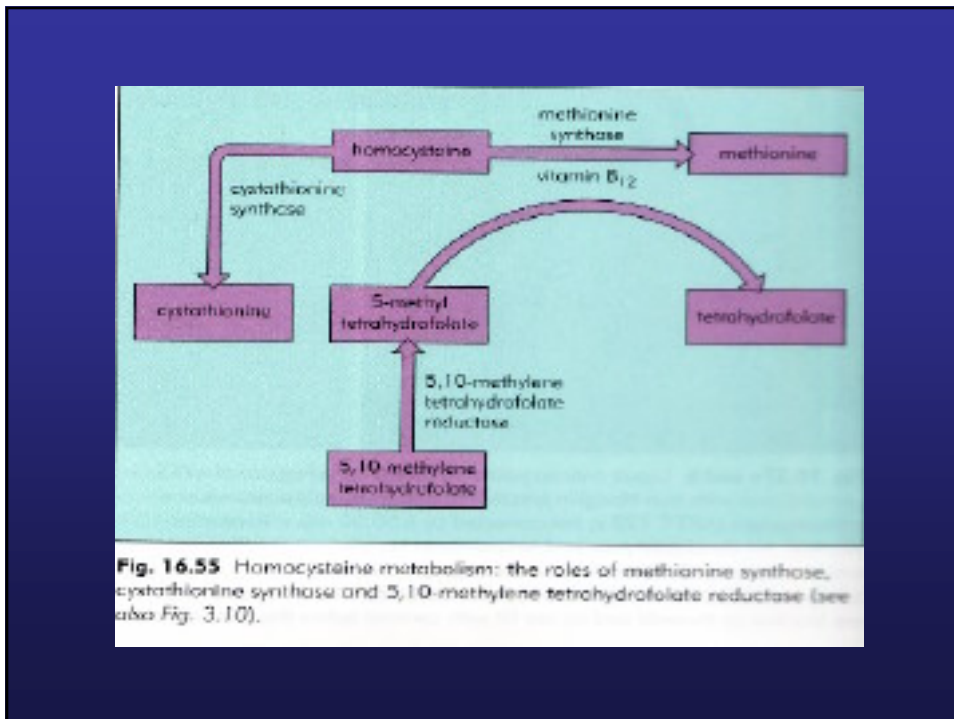
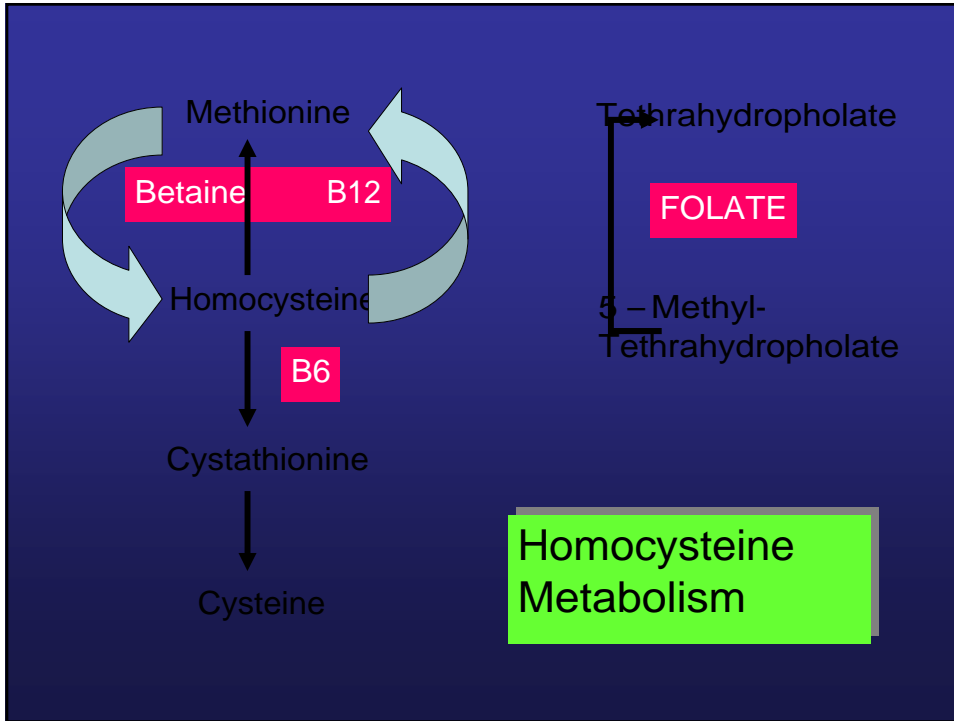
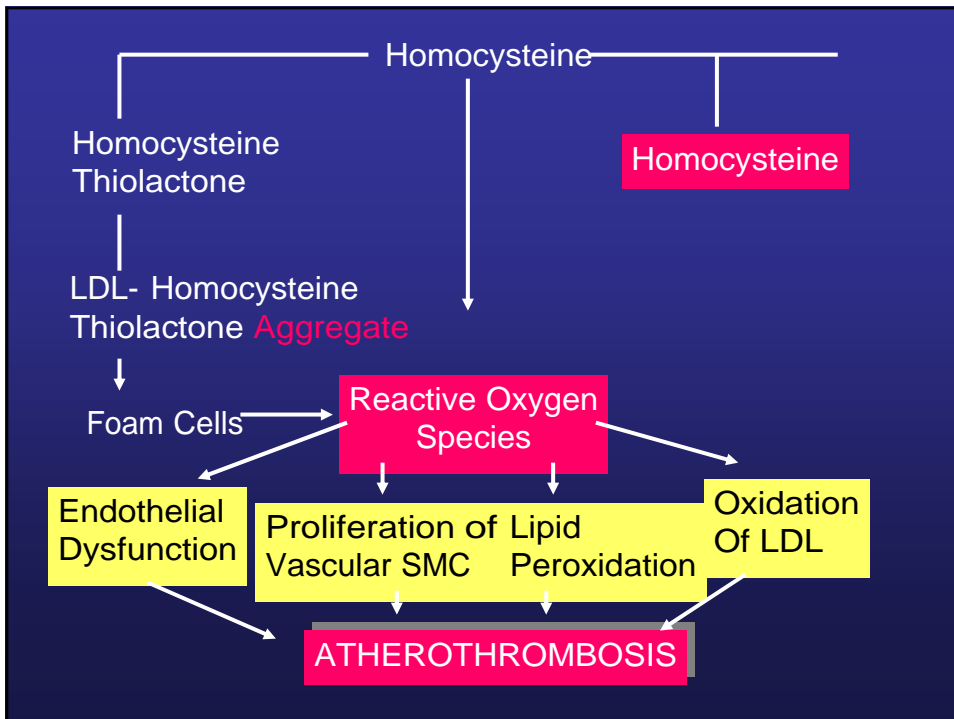
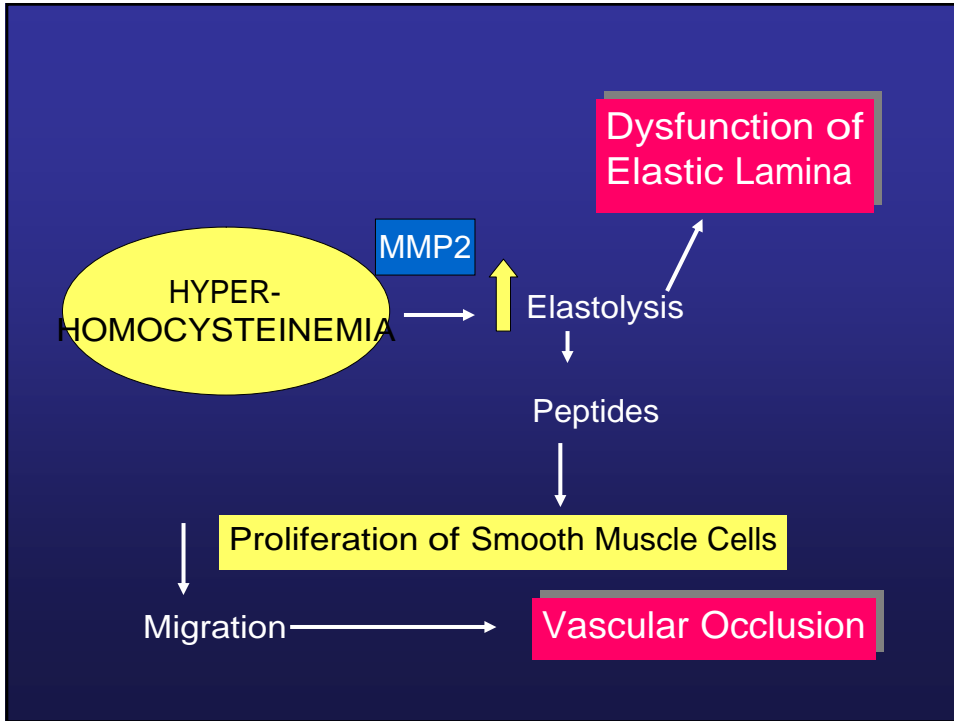


Fig. 16.55 Homocysteine metabolism: the roles of methionine synthase, cystathionine synthase and 5,10-methylene tetrahydrofolate reductase (see also Fig. 3.10).



### Attività anticoagulante tipo lupus (LAC)

**Determina la condizione definita “sindrome da anticorpi antifosfolipidi”, caratterizzata da trombosi arteriosa o venosa, trombocitopenia, aborti ricorrenti**

**La definizione di “anticoagulante è del tutto impropria, in quanto definisce solo l’attività che la sostanza ha in vitro, cioè quella di prolungare i tempi di coagulazione del sangue in provetta, mentre in realtà la sua presenza in vivo è associata a condizione di trombofilia**

**I due anticorpi meglio caratterizzati sono il LAC e l’anticorpo anticardiolipina (ACA)**

**Tabella 3 - Caratteristiche epidemiologiche del fattore VII e del fibrinogeno**

Fattore VII	Fibrinogeno
<b>Livelli elevati</b>	
Età avanzata	Età avanzata
Obesità	Obesità
Contraaccettivi orali	Contraaccettivi orali
Menopausa	Menopausa
Diabete	Diabete
Dieta "occidentale"	Fumo di sigaretta Stress
<b>Livelli ridotti</b>	
Moderato consumo di alcool	Moderato consumo di alcool
Portatori di HbsAg	Portatori di HbsAg
Racca nera	
Dieta vegetariana	

**TABELLA VIII. Alterazioni spurie degli indici eritrocitari causate da artefatti**

- 1. Aumento isolato di MCHC e MCH, con MCV normale**
  - Emolisi del campione in vitro
  - Emolisi intravasculari in vivo
  - Mirmectosi eritrocitaria molto raramente (MCV < 50 fl)
  - Torbidità del campione da
    - iperleucocitosi (altera anche aumento di MCV)
    - pseudoleucocitosi per lisi eritrocitaria incompleta
  - paraproteine, crioglobuline e ipercrioglobulinemia polyclonale
  - iperipemia
  - iperbilirubinemia
  - Ipo-osmolarità plasmatica (MCHV e PCV ridotti)
- 2. Aumento isolato di MCV (o MCH) con riduzione di MCHC**
  - Obstruzione parziale dell'apertura nei sistemi a resistenza
  - Iperosmolarità plasmatica (disidratazione con ipernatremia, con iperglicemia)
  - Agitazione ripetuta o provetta chiusa (effetto di Cl<sub>2</sub>)
- 3. Aumento contemporaneo di MCV, MCH e MCHC**
  - Agglutinazione eritrocitaria da autoanticorpi IgM (o IgG)
  - Pan-agglutinazione da anticorpi EDTA-dipendenti

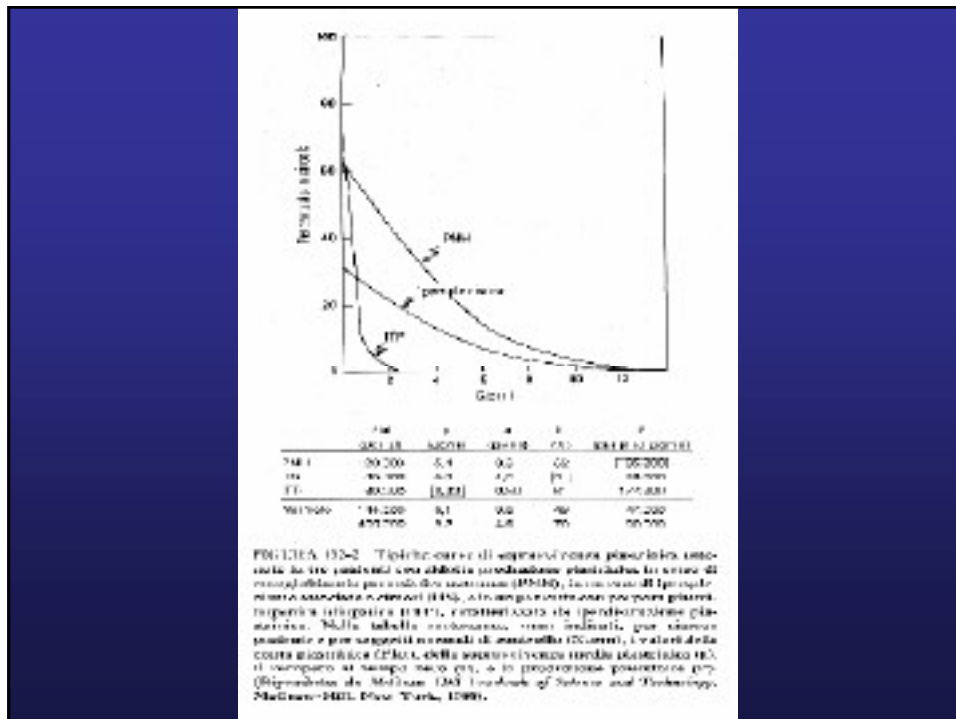
**TABELLA VII. Indirizzamento e conversione dei risultati automatici di tipo Coulter\***

HematoCR	Ritiro di risultati	
MCV (fl)	Moltiplicare i risultati di base per 100	
Ematocrito (critic)	$\frac{MCV (fl) \times 1000 \times 10^9/l}{100}$	
MTH (g/l)	$\frac{\text{Emoglobina (g/l)}}{\text{Globulina (g/l)}}$	
MCHC (g/l)	$\frac{\text{Emoglobina (g/l)}}{\text{Ematocrito (crit)}}$	$\frac{\text{Emoglobina (g/l) \times 1000}}{MCV (fl) \times 1000 \times 10^9/l}$

\* MCHC = MCV x MTH x 100; e MCHC = critic x Hct; Hct = Hb x 100 ÷ Hb x MCV







### Classificazione delle anemie in base al volume dei globuli rossi, MCV (Mean corpuscular Volume)

- **Microcitica:** MCV < 78 fL (femtolitri o  $\mu\text{m}^3$ )
- **Normocitica:** MCV = 78 - 100 fL
- **Macrocitica:** MCV > 100 fL

**Classificazione delle anemie in base alla presenza o assenza di anisopoichilocitosi, RDV (red cell distribution Width)**

L'RDW è un parametro misurato da alcuni contaglobuli, che riflette la variabilità nella taglia dei globuli rossi.

- **Normale RDW = 11.5-14.5% (Assenza di anisopoichilocitosi)**
- **Alto RDW > 14.5% (presenza di anisopoichilocitosi)**

