

Coagulazione

Per poter svolgere tutte le sue funzioni, il sangue deve poter circolare nei vasi allo stato liquido. A causa di un danno vascolare esso può subire un cambiamento dello stato chimico-fisico, con conseguente attivazione enzimatica e passaggio dallo stato fluido allo stato “solido”, attraverso il processo di coagulazione. Quando il coagulo di fibrina ha terminato la sua funzione di “tappo” emostatico, si riattivano reazioni enzimatiche che riportano il sangue allo stato fluido ed alla risoluzione del danno parietale.

E' importante notare che tutte le varie funzioni del sangue sono legate al suo fluido, connesso a sua volta al movimento; il trasporto di acqua, ossigeno, anidride carbonica, metaboliti ed ormoni è appunto assicurato dal passaggio del sangue attraverso i polmoni, gli organi e i tessuti del corpo. Le due funzioni, emostatica e fibrinolitica, coinvolgono due sistemi enzimatici interdipendenti i cui elementi appartengono o al sangue stesso o alle pareti vascolari con cui esso si trova a contatto.

Il processo **emocoagulatorio-emostatico** è un complesso di eventi fisiologici deputati all'arresto delle emorragie, spontanee o provocate, mediante la formazione del *trombo emostatico*. In tale processo si possono distinguere due fasi:

- ↳ l'**emostasi primaria**, fase precoce (fase vasopiastrinica), che porta alla formazione del cosiddetto “trombo bianco”;
- ↳ l'**emostasi secondaria** o coagulazione del sangue, più tardiva, con formazione del “trombo rosso”.

La fase vasopiastrinica

La prima risposta all'insulto ai tessuti dell'organismo è la **vasocostrizione**. In seguito ad una lesione vasale, la contrazione delle arterie e delle arteriole è parzialmente sotto controllo neurale, mentre metaarteriole, sfinteri precapillari e capillari rispondono a stimoli adrenergici. Gli endoteli lesi liberano *endoteline* e le piastrine attivate rilasciano *ADP*, *serotonina* e *trombossano A2* ad azione vasocostrittrice. Quando il vaso sanguigno subisce una lesione, le piastrine aderiscono (fase si **adesione**), stimulate da alcuni fattori come l'esposizione delle fibre collagene e della membrana basale, la presenza della componente von Willebrand del fattore VIII e della fibronectina.

All'adesione segue l'**aggregazione** che avviene in quattro fasi:

- ↳ *cambiamento della forma piastrinica*: la piastrine regiscono allo stimolo aggregante modificando la loro forma da discoidale in sfera, con formazione di pseudopodi;
- ↳ *aggregazione primaria*, reversibile: per effetto dell'agente aggregante esogeno (*ADP*, collagene, trombina, adrenalina, serotonina ecc.) le piastrine si avvicinano l'una all'altra e centralizzano i granuli intracellulari. Se lo stimolo non è sufficiente gli aggregati si disperdono, i granuli si distribuiscono all'interno del citoplasma e la piastrina ritorna allo stato di riposo;
- ↳ *reazione di liberazione* con attivazione dell'acido arachidonico e liberazione delle sostanze contenute nei granuli centralizzati;
- ↳ *aggregazione secondaria*, irreversibile: le sostanze contenute nei granuli (*ADP*, serotonina ecc.) e quelle formate dall'acido arachidonico (prostaglandine e trombossani) aggregano le piastrine irreversibilmente.

Il meccanismo biochimico che sta alla base del fenomeno di aggregazione piastrinica è l'aumento del livello intracitolasmatomico degli ioni Ca^{++} , che è regolato dall'AMP ciclico e dal metabolismo dell'acido arachidonico. L'aggregazione piastrinica è un fenomeno che ha risvolti importanti sul piano clinico e terapeutico. Durante la reazione di liberazione, le piastrine mettono a disposizione del processo emocoagulativo la loro membrana attivata (cosiddetto fattore piastrinico 3 o *FP3*),

importante per la via intrinseca della coagulazione plasmatica. Il primo fattore condizionante il rischio emorragico dei pazienti piastrinopenici è il numero delle piastrine. E' nota l'esistenza di una relazione diretta tra la conta piastrinica e il bleeding time: a conte inferiori a $50 \times 10^9/L$, il bleeding time è superiore a 20 minuti e al di sotto di $20 \times 10^9/L$ è prolungato indefinitivamente.

Il *test di adesività piastrinica* si basa sul principio che le piastrine normali, mentre in vivo aderiscono alla parete endoteliale lesa, in vitro sono in grado di aderire ad una superficie estranea rappresentata dalla parete di vetro. Una piccola quantità di sangue venoso viene fatta scorrere a velocità costante e per un tempo costante sulla superficie di numerosissime palline di vetro contenute in un tubo standard di plastica. La riduzione percentuale del numero delle piastrine nel sangue filtrato, rispetto al sangue non filtrato, dà una misura dell'adesività delle piastrine. (v.n. >70%).

Il *test di aggregazione piastrinica* si basa sul principio che la trasmissione della luce attraverso un plasma ricco di piastrine è direttamente proporzionale al grado di aggregazione piastrinica, indotta in vitro da alcuni stimoli aggreganti quali ADP, adrenalina, collagene, trombina, serotonina, ristocetina, acido arachidonico. Il test è utilizzato in genere per la determinazione di alcuni difetti di funzione piastrinica. L'aggregazione da ristocetina, realizzandosi solo in presenza di recettori specifici sulla membrana piastrinica (glicoproteina Ib) o in presenza del *fattore von Willebrand*, è utilizzata nella diagnosi della *piastrinopenia di Bernard-Soulier* e della *malattia di von Willebrand*.

I fattori della coagulazione

La coagulazione del sangue è un complesso di reazioni enzimatiche finalizzate alla trasformazione del fibrinogeno plasmatico in fibrina, per la costituzione del coagulo emostatico. Le reazioni emocoagulative si svolgono per mezzo di proteine presenti nel plasma come proenzimi inattivi, concatenate fra loro, così che ciascuno di essi viene trasformato in fattore attivato, e di altri fattori che sono substrati per dette reazioni (fattori plasmatici della coagulazione): si realizza così la "*cascata coagulativa*" che porta alla formazione del coagulo fibrinico.

La coagulazione è attivata da due meccanismi differenti.

↳ l'attivazione da contatto (*via intrinseca*);

↳ l'azione del fattore tissutale (*via estrinseca*).

Questi due meccanismi convergono attivando una *via comune* che porta alla formazione della fibrina.

Tutti i fattori plasmatici della coagulazione sono proteine. La loro struttura e produzione sono determinate ereditariamente. I dosaggi del fibrinogeno e del calcio sono determinati come concentrazione (mg/dL), mentre gli altri fattori sono determinati in percentuale, paragonando la loro attività a quella di un plasma normale.

Il **fibrinogeno** (*fattore I*) è una glicoproteina sintetizzata dagli epatociti, mentre le cellule del sistema del reticolo endoteliale (SRE) hanno la funzione di fagocitare i prodotti di degradazione del fibrinogeno-fibrina (FDP). Il fibrinogeno normalmente si trova oltre che nel plasma in concentrazione di 200-400 mg/dl, anche a livello piastrinico, dove svolge, assieme al fattore von Willebrand, un importante ruolo nell'adesione e aggregazione piastrinica.

Il **complesso protrombinico** è costituito dai fattori II, IX, VII e X poiché hanno le funzioni di attivare la trombina. La sintesi di tali fattori avviene nell'epatocita ad opera della vitamina K; infatti sono anche chiamati fattori vitamina K dipendenti. Bassi valori di questi fattori si riscontrano nella terapia con anti-coagulanti orali.

Il **fattore V** è fondamentale per la formazione della protrombina nella via comune della coagulazione. E' una glicoproteina plasmatica sintetizzata dal fegato e dai megacariociti. Il fattore V e Va si legano alla superficie delle piastrine.

Il **fattore antiemofilico A (fattore VIII)** è una glicoproteina con elevato peso molecolare. Il luogo di produzione non si conosce, secondo alcune ipotesi la produzione avviene a livello del reticolo endoteliale. La parte coagulante attiva della molecola del fattore VIII viene indicata come fattore VIII-C (o fattore antiemofilico) . La stessa molecola ha una parte che viene indicata come fattore VIII-R:vW, che ha un ruolo importante nella adesione attiva delle piastrine sulle pareti dei vasi. Questa attività manca nella malattia di von Willebrand.

La carenza del fattore VIII porta ad una sindrome emorragica nota con il nome di *emofilia A*.

Il **fattore XII** non sembra avere un importante ruolo fisiologico in vivo, in quanto soggetti con una ridotta concentrazione non presentano disordini emorragici. Il gene del fattore XII si trova sul cromosoma 5.

Il **fattore XIII (fattore stabilizzante la fibrina)**, dopo il legame con il calcio, viene attivato dalla trombina. Il **fattore XIIIa** trasforma la fibrina solubile in fibrina insolubile o stabile.

Lo studio della coagulazione, mediante la determinazione del *Tempo di Trombina (TT)*, del *Tempo di Protrombina (PT)* e del *fibrinogeno*, permette di analizzare a scopo diagnostico il complesso di reazioni enzimatiche finalizzate alla trasformazione del fibrinogeno plasmatico in fibrina, per la costituzione del coagulo emostatico.

Per la limitazione e la localizzazione del processo emocoagulatorio sono indispensabili sistemi di controregolazione che fisiologicamente lo modulino e lo inibiscano (*inibitori della coagulazione*).

Tale ruolo inibitore è svolto da alcune proteine plasmatiche, tra cui l'inattivatore della frazione C1 del complemento, inibitore anche delle fasi iniziali della coagulazione e della fibrinolisi, l' α 2-macroglobulina e l' α 1-antitripsina, inibitori della callicreina, della trombina e del FIXa, ma particolarmente importanti sono i cofattori eparinici e il sistema della proteina C e S.

L'**antitrombina III (ATIII)**, è il maggiore inattivatore della trombina e delle altre proteasi seriniche presenti nel plasma in condizioni normali. La sua azione antiproteasica si esplica nei confronti di numerosi enzimi della coagulazione, della fibrinolisi e del sistema delle chinine. L'azione di inattivazione dell'ATIII nei confronti della trombina avviene lentamente e progressivamente, ma è fortemente accelerato dalla presenza di eparina. L'eparina si lega all'ATIII inducendo una modificazione conformazionale della molecola, che ne facilita il legame con la trombina. Si forma così un complesso stabile e inattivo, successivamente eliminabile, mentre l'eparina staccandosi dal complesso ATIII-trombina, si renderebbe di nuovo disponibile per la sua azione anticoagulante.

La **proteina C** è una proteina plasmatica, vitamina K dipendente, la cui forma attiva esplica una potente attività anticoagulante, inattivando i fattori VIII e V della coagulazione. La proteina C sembra avere, anche, una potente attività fibrinolitica. Queste proprietà fanno pensare che deficit congeniti o acquisiti possano avere un ruolo importante in condizioni cliniche associate a fenomeni tromboembolici. La proteina C viene attivata (diventando APC) ad opera del complesso trombina-trombomodulina e richiede la presenza di ioni calcio.

La **proteina S**, anch'essa vitamina K-dipendente, sintetizzata dal fegato, dall'endotelio e dai megacariociti midollari, circola nel plasma in parte libera (40%) e in parte legata alla C4b-binding-

protein (60%). La proteina S libera funziona da cofattore dell'APC, mentre la forma legata è funzionalmente inattiva. Il complesso *APC-proteina S* degrada specificamente i fattori V e VIII attivati legati ai fosfolipidi sulle membrane cellulari endoteliali e piastriniche. In questo modo l'azione enzimatica della trombina, sotto il controllo della trombomodulina, innesca il sistema APC-proteina S ad effetto anticoagulante.

La **fibrinolisi** fisiologica ristabilisce il flusso ematico interrotto da un evento trombotico agendo sul coagulo fibrinico per mezzo di interventi coordinati di fattori attivatori e inibitori, in modo tale da mantenere l'equilibrio della bilancia emostatico-emocoagulatoria. La fibrinolisi è dovuta alla trasformazione di un proenzima plasmatico, il plasminogeno, in un enzima proteolitico, plasmina, il cui compito fisiologico si esplica sul fibrinogeno o sulla fibrina dando luogo ad una serie di frammenti minori fra cui i prodotti di degradazione del Fibrinogeno (FDP). Il sistema fibrinolitico è coinvolto anche in altre funzioni, quali la riparazione delle ferite, la metastatizzazione tumorale, la funzione macrofagica, l'ovulazione e l'impianto dell'embrione.

Il **plasminogeno** è una glicoproteina a catena singola, presente nel fegato, nel rene e negli eosinofili midollari. Il legame del plasminogeno con la fibrina viene inibito dai farmaci antifibrinolitici. E' considerata una proteina della fase acuta, infatti il suo tasso plasmatico aumenta negli stati infettivi acuti e in gravidanza, mentre diminuisce nel neonato immaturo, nelle epatopatie croniche e in corso di DIC.

La **plasmina**, forma attiva del plasminogeno, esercita la sua attività serinproteasica sul fibrinogeno e sulla fibrina, ma anche sui fattori V, VIII e XI. Ha grande affinità per la fibrina dei trombi, mentre in circolo viene inattivata dall' α_2 -antiplasmina.