

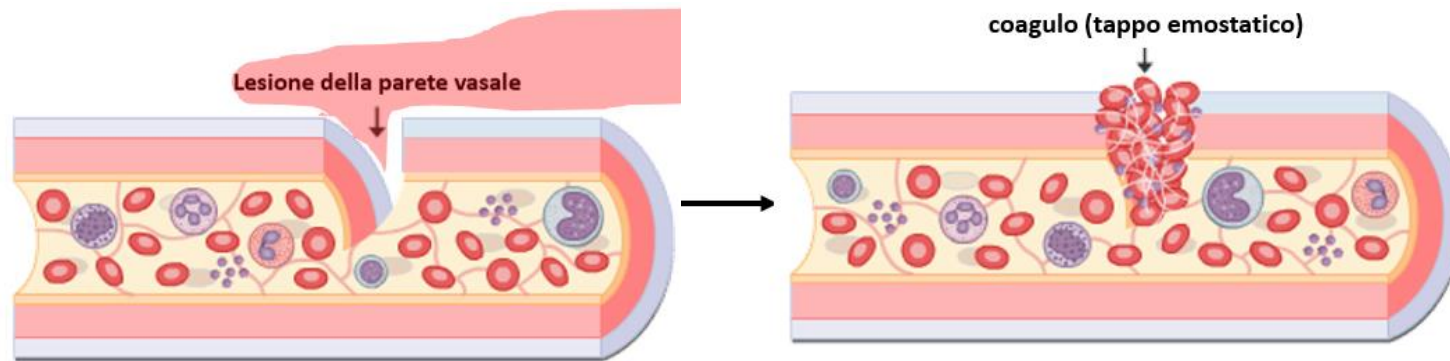
4. IL SISTEMA DELL'EMOSTASI E LE SUE ALTERAZIONI

Il sistema dell'emostasi provvede al mantenimento dell'integrità strutturale dei vasi sanguigni, e previene un sanguinamento eccessivo associato a lesioni della parete vascolare. Un sistema emostatico inadeguato può causare emorragie e, al contrario, una sua inappropriata attivazione può ostacolare il flusso ematico (trombosi).



Argomenti trattati. L'emostasi fisiologica: componenti cellulari e molecolari, processo di formazione del tappo emostatico e meccanismi di regolazione (meccanismi antitrombotici, fibrinolisi). La bilancia emostatica e il ruolo delle cellule endoteliali. Disordini emorragici: difetti dell'emostasi primaria (alterazioni piastriniche e malattia di von Willebrand) e secondaria (disordini della coagulazione). Trombosi: danno endoteliale, anomalie di flusso, ipercoagulabilità; evoluzione dei trombi; tromboembolia polmonare.

EMOSTASI: sistema di cellule e molecole deputato (i) alla prevenzione di un sanguinamento eccessivo associato a lesioni della parete vascolare e, più in generale, (ii) al mantenimento dell'integrità dei vasi sanguigni e della fluidità del sangue.

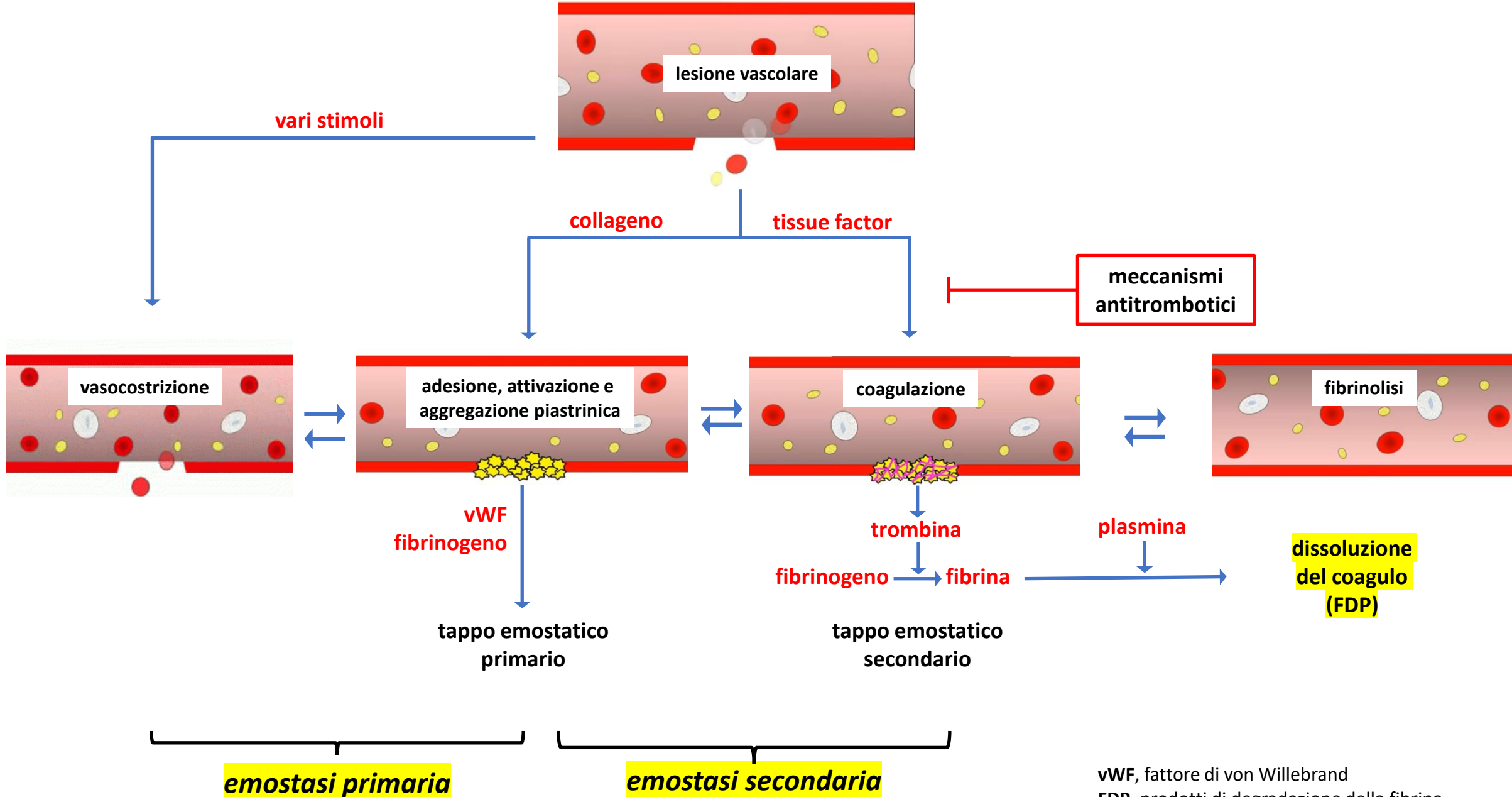


- L'interruzione della fuoriuscita di sangue dal vaso lesionato è ottenuta per mezzo di una matrice provvisoria, detta **coagulo** (o **tappo emostatico**), formata a partire da componenti del sangue circolante e posta in corrispondenza della lesione.
- Il sistema dell'emostasi partecipa anche al processo di riparazione della lesione, e quindi al ripristino dell'integrità anatomica della parete vascolare.

Emostasi: componenti anatomico-funzionali e terminologia

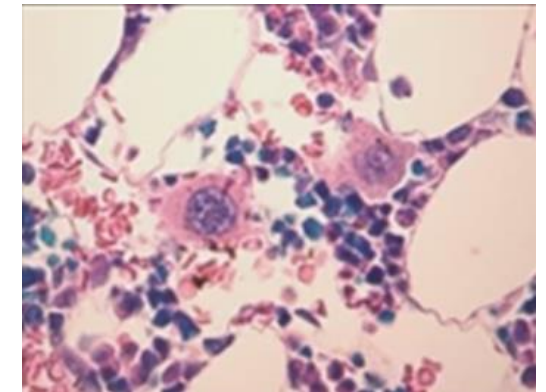
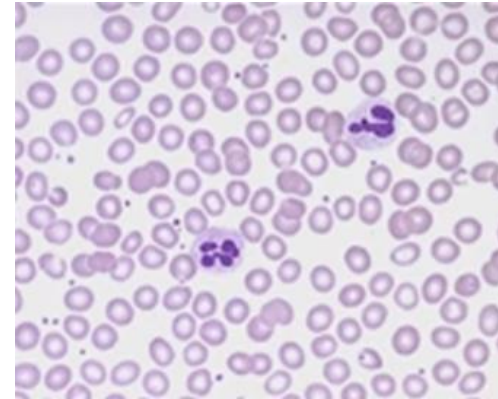
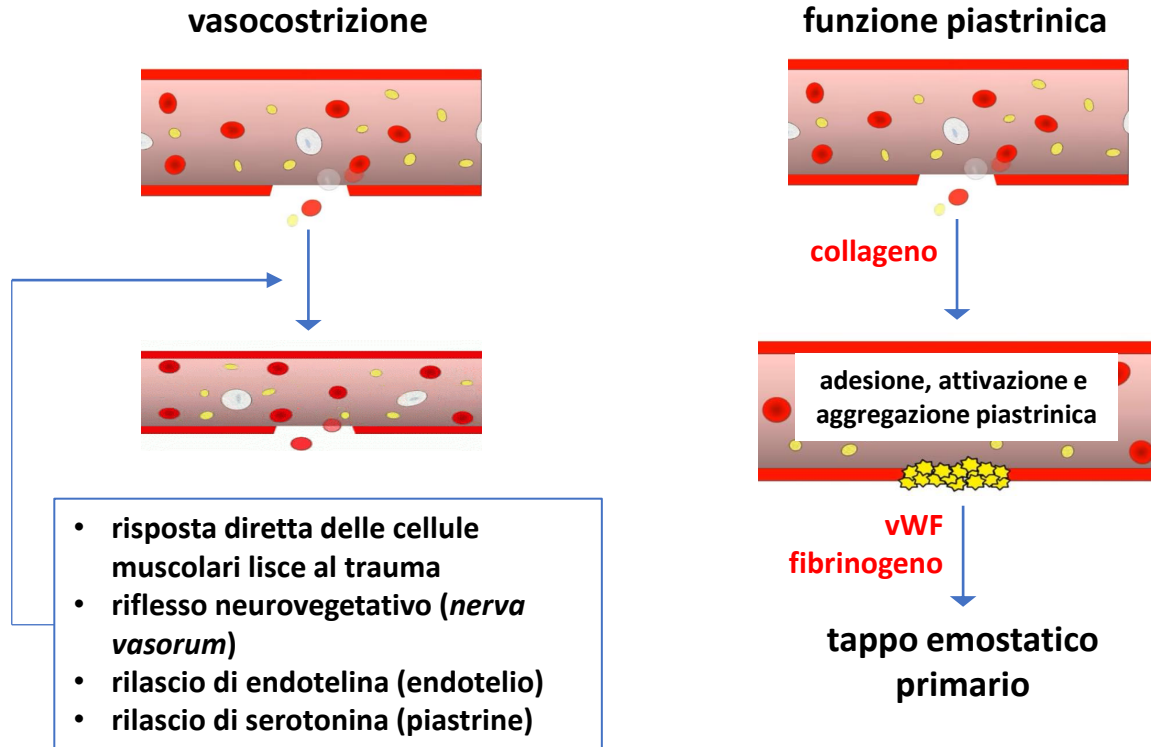
componente	funzione	terminologia
parete vascolare	<i>vasocostrizione</i>	→ <i>Emostasi primaria</i>
piastrine	<i>adesione, attivazione e aggregazione</i>	
sistema della coagulazione	<i>generazione di trombina e formazione di fibrina</i>	→ <i>Emostasi secondaria</i>
sistema della fibrinolisi	<i>dissoluzione del coagulo</i>	→ (<i>emostasi terziaria</i>)

emostasi: schema generale



vWF, fattore di von Willebrand
FDP, prodotti di degradazione della fibrina

emostasi primaria: vasocostrizione e funzione piastrinica



Le piastrine sono frammenti cellulari anucleati derivanti dai megacariociti midollari; forma tondeggiate; $150000\text{--}300000/\text{mm}^3$; vita media 5-9 gg; contenenti RNA (codificante e non), ribosomi, mitocondri, vari altri organelli, e recettori di superficie. Le piastrine rilevano alterazioni dell'integrità della parete vascolare, e svolgono un ruolo fondamentale nell'emostasi primaria.

- specifici organelli citoplasmatici: granuli α , e granuli δ (o densi).
- recettori glicoproteici (GP) di superficie
 - GP Ib: lega vWF immobilizzato sul collagene
 - GP Ia/IIa, e GP VI: legano il collagene
 - GP IIb/IIIa: lega fibrinogeno libero e vWF libero

Fattore von Willebrand (vWF)

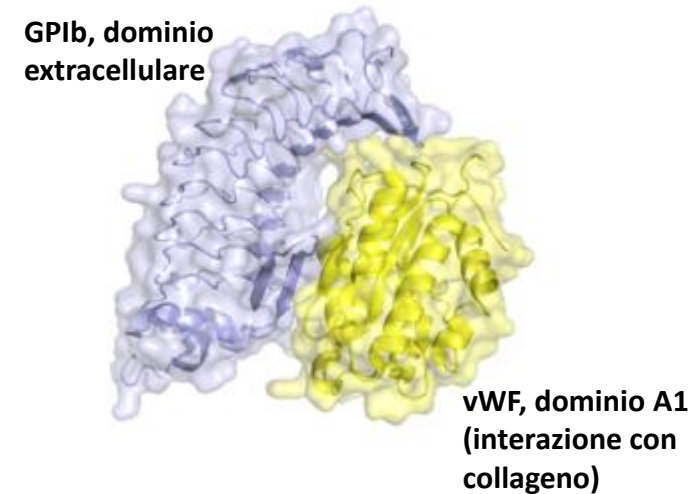
ruolo fondamentale nell'adesione e aggregazione piastrinica, e nella coagulazione

- Grande glicoproteina multimerica e multivalente **(1)** circolante in forme a basso, intermedio ed alto PM.
- Prodotto da cellule endoteliali e rilasciato in circolo in quantità basale; è anche contenuto, assieme a sel-P, in granuli citoplasmatici, ed è associato alla superficie cellulare in condizione di attivazione/disfunzione endoteliale.
- Prodotto da megacariociti, è presente nei granuli α delle piastrine.

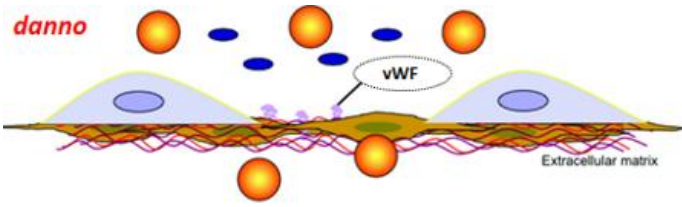
(1) vWF ha numerosi siti di legame, per: collagene, GPIb, GP IIb/IIIa, Fattore VIII (legato al vWF circolante), ...

Funzione nell'emostasi primaria

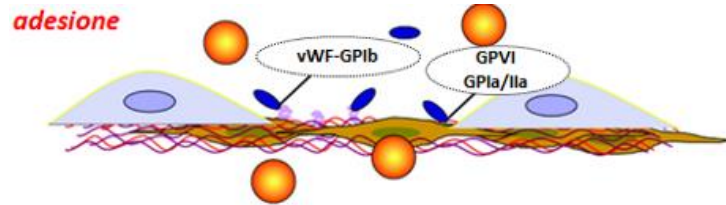
- il vWF circolante si lega al collagene sottoendoteliale e, sottoposto allo shear stress, espone numerosi siti di legame per il recettore piastrinico GPIb (anche multimeri circolanti possono legarsi al vWF che ha già interagito col collagene).
- L'interazione vWF-GPIb è alla base dell'iniziale rotolamento delle piastrine sulla superficie.



Emostasi primaria, funzione piastrinica



L'esposizione del collagene sottoendoteliale, effetto della lesione della parete vascolare, determina l'interazione con il vWF circolante che a sua volta espone i siti di interazione con il recettore piastrinico GPIb.

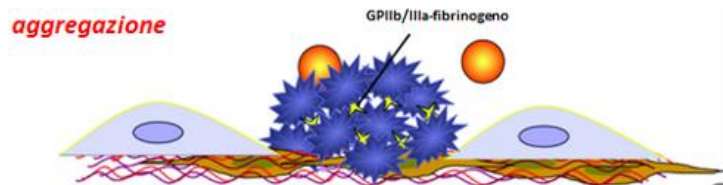


L'interazione collagene-vWF-GPIb determina il rotolamento delle piastrine; queste ultime aderiscono poi più saldamente grazie all'interazione diretta dei recettori GPIIb/IIIa e GPIIb/IIIa con il collagene. Tali interazioni, nel loro insieme, determinano l'attivazione piastrinica.

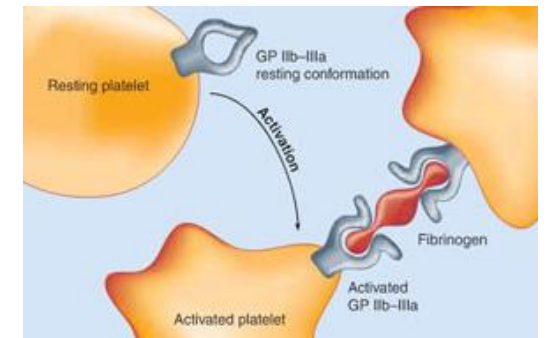


L'attivazione piastrinica ha numerosi effetti funzionali, per la maggior parte mediati da \uparrow [Ca²⁺] citosolico:

- modificazioni del citoscheletro e cambiamento di forma (facilitazione delle interazioni con altre piastrine)
- attivazione del recettore GPIIb/IIIa (interazione con fibrinogeno ai fini dell'aggregazione)
- attivazione metabolismo AA e produzione di TXA₂ (interagendo con recettori TP, TXA₂ contribuisce all'attivazione e aggregazione piastrinica, e alla vasocostrizione).
- rilascio del contenuto dei granuli δ e α (vedi)
- esposizione di fosfatidilserina sulla superficie (approntamento della superficie per le reazioni coagulative).



L'aggregazione piastrinica è principalmente mediata da interazioni fra piastrine attivate adiacenti, sostenute dal legame del fibrinogeno (e vWF) e recettori GPIIb/IIIa.



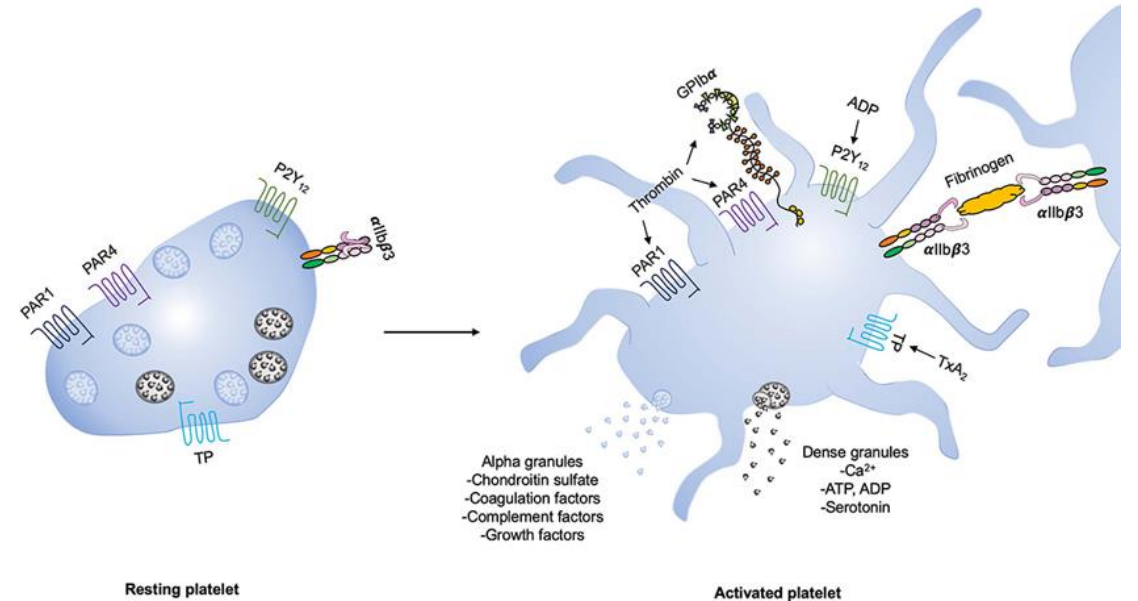
Attivazione piastrinica, la reazione di degranulazione

Granuli δ (delta)

- **ADP**: interagendo con recettori P2Y, determina attivazione piastrinica, e contribuisce all'aggregazione.
- **Ca²⁺**: reazioni coagulative.
- **Serotonina**: vasocostrizione.

Granuli α : tipologia predominante, contengono >300 proteine coinvolte in varie funzioni: emostasi, infiammazione/risposta immunitaria, riparazione tissutale.

- **vWF**: interagendo con recettori GPIIb/IIIa contribuisce all'aggregazione.
- **Fibrinogeno**: interagendo con recettori GPIIb/IIIa è fondamentale per l'aggregazione; substrato della trombina (coagulazione).
- **Fattori V, XIII, protrombina, HMWK**: reazioni coagulative.
- **PAI-1, antiplasmina**: reazioni antifibrinolitiche.
- **Antitrombina, C1INH**: reazioni anti-coagulative.
- **P-sel** (interazione con endotelio attivato, e leucociti); **chemochine** (reclutamento leucocitario); **proteine microbicide e componenti del complemento** (reazione infiammatoria)
- **Fattori di crescita**: regolazione angiogenesi; proliferazione cellule mesenchimali (riparazione tissutale).

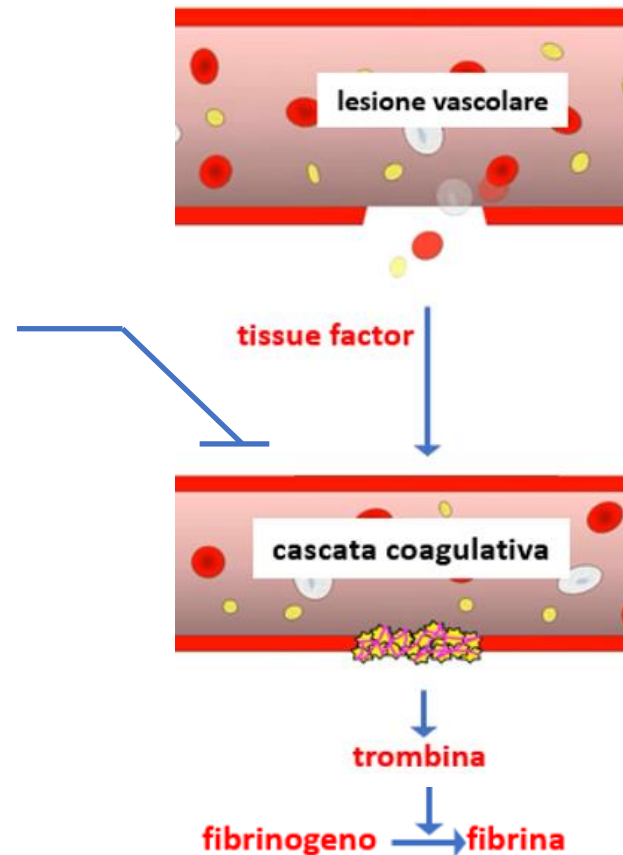


Schema riassuntivo delle modificazioni associate all'attivazione piastrinica.

In vivo, i principali induttori dell'attivazione piastrinica sono: collagene, ADP, TXA₂ e trombina.

Emostasi secondaria: la cascata coagulativa e il suo controllo

Distinti meccanismi di controllo impediscono che il coagulo si accresca eccessivamente all'interno del vaso: **meccanismi antitrombotici**.



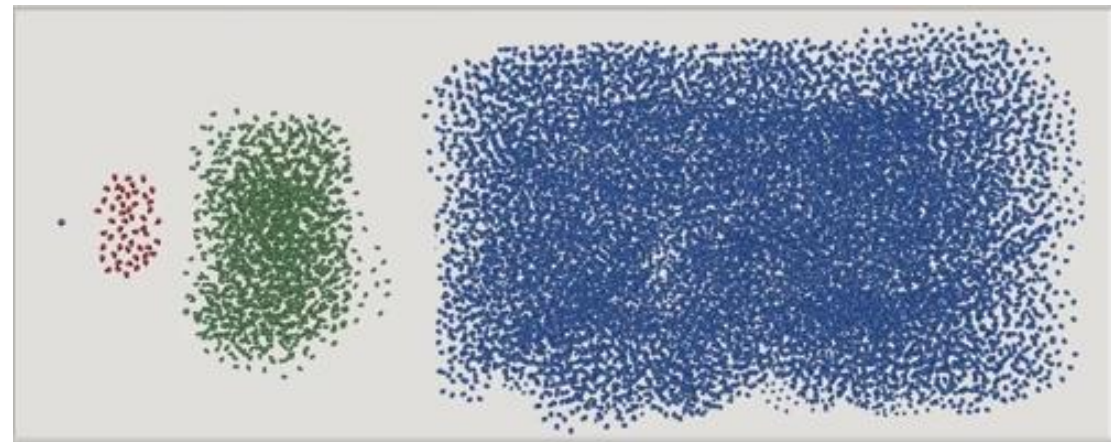
L'emostasi secondaria è costituita da una serie di reazioni biochimiche (**cascata coagulativa**) che hanno sede sulla superficie di piastrine attivate e culminano con la produzione di **trombina**.

La **trombina converte il fibrinogeno in fibrina**, così realizzando l'obiettivo di questa fase del processo: la stabilizzazione (consolidamento) dell'aggregato piastrinico.

Cascata coagulativa: una serie di conversioni enzimatiche in cui un enzima attivo converte un pro-enzima in enzima attivato.



Uno degli effetti principali di una reazione a cascata è quello di aumentare enormemente i prodotti di reazione.



La cascata coagulativa è una serie di reazioni enzimatiche in cui fattori della coagulazione inattivi (pro-enzimi) sono convertiti in fattori della coagulazione attivati (enzimi).

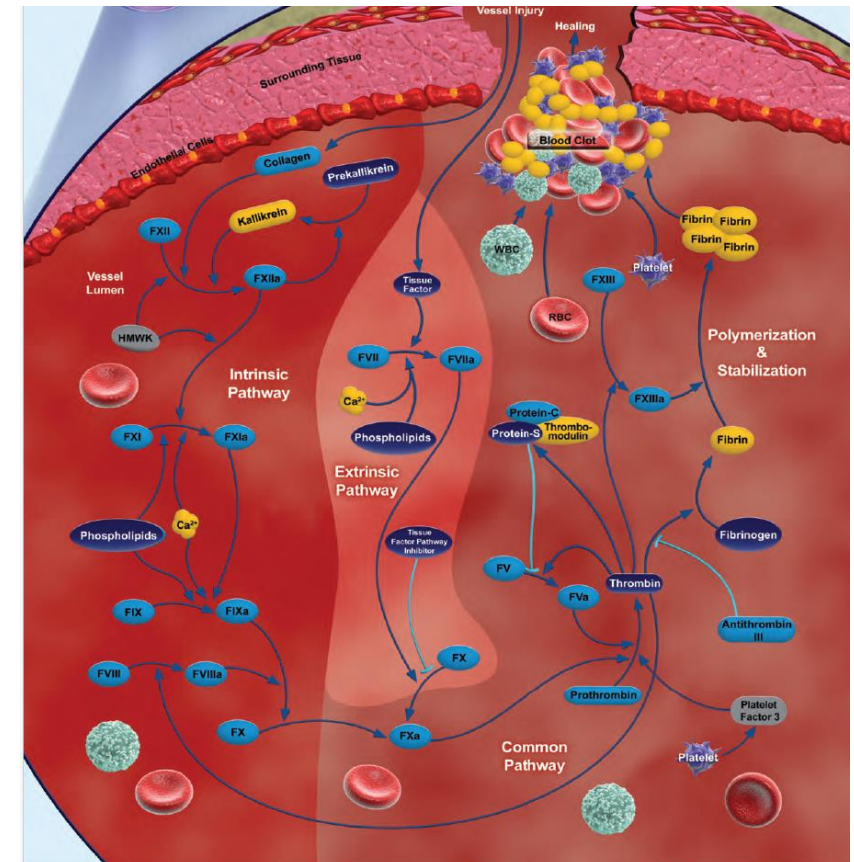
Cenni storici

- L'interesse sulla coagulazione, fino al secolo XIX attribuita a un «processo di raffreddamento», venne riacceso dal riscontro di possibili alterazioni della coagulazione su base ereditaria riportate in pz sottoposti a operazioni chirurgiche.
- Nei primi decenni del '900, si ipotizzò un modello di reazione coagulativa a 4 componenti: fibrinogeno (FI), protrombina (FII), tromboplastina tissutale (FIII) e Ca^{2+} (FIV). Il riscontro di coagulopatie non legate ai fattori I-IV stimolò la successiva identificazione degli altri fattori della coagulazione (I-XX).

- La cascata coagulativa è attivata dal danno della parete vascolare, e culmina con la formazione di trombina.

Schema di svolgimento della cascata coagulativa

- **attivazione:** formazione in tracce di fattori della coagulazione attivi.
- **amplificazione:** aumento della concentrazione di fattori della coagulazione attivi.
- **propagazione:** localizzazione dei fattori della coagulazione attivi sulla superficie delle piastrine attivate; la trombina, prodotto finale della cascata, agisce sul fibrinogeno e produce la fibrina.



Fattori della coagulazione

Fattore	Nome comune	Fonte
I	fibrinogeno	fegato
II	protrombina	fegato
III	Tissue Factor (tromboplastina)	VSMC, F, EC e leucociti attivati
IV	Ca ²⁺	ossa, assorbimento intestinale
V	proaccelerina	fegato e piastrine
VI	-	-
VII	proconvertina	fegato
VIII	Fattore anti-emofilico	piastrine e EC
IX	Fattore Christmas	fegato
X	Fattore Stuart Prower	fegato
XI	Antecedente plasmatico della tromboplastina	fegato
XII	Fattore di Hageman	fegato
XIII	Fattore stabilizzante la fibrina	fegato

VSMC: cellule muscolari lisce vascolari; F: fibroblasti

I fattori della coagulazione sono usualmente designati con numeri romani (ad es. fattore X). L'indice «a» indica il fattore attivato (ad es. Xa).

La maggior parte dei fattori attivati ha attività enzimatica, tranne:

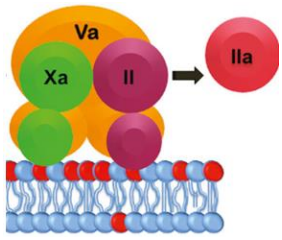
- Ia (fibrina)
- Va, VIIIa (cofattori)

Alcuni fattori sono più comunemente indicati con il loro nome:

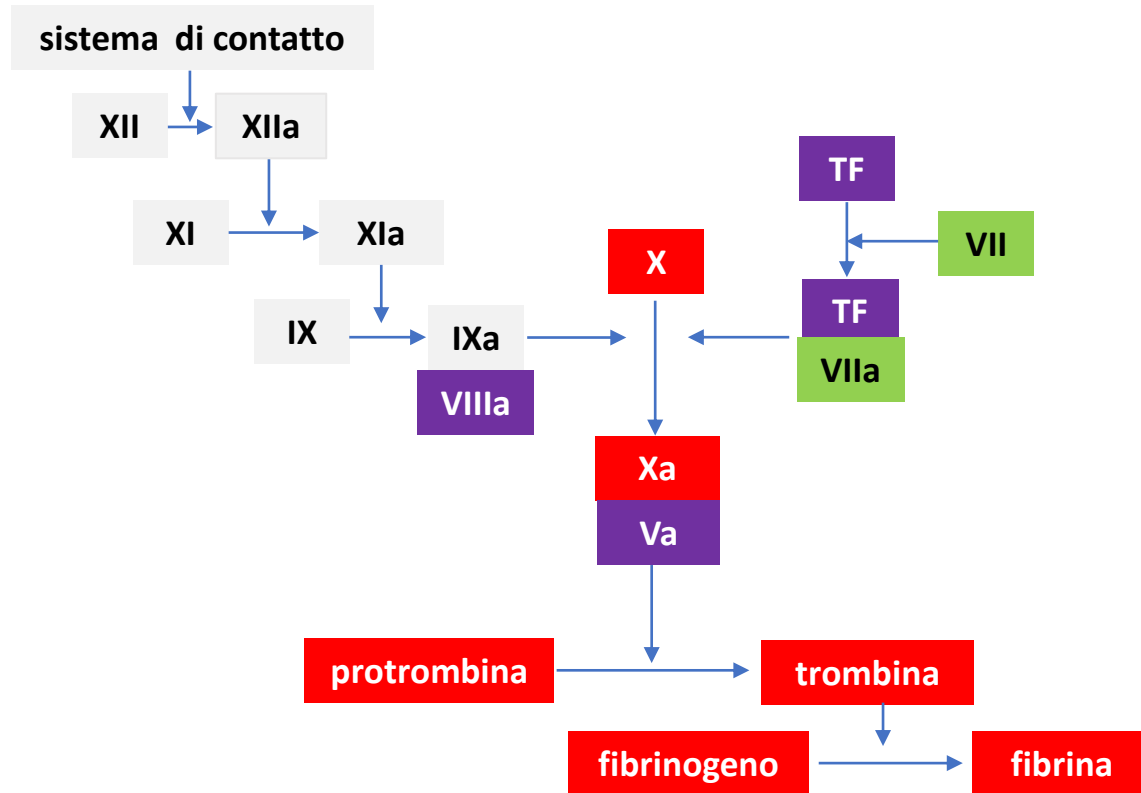
- fibrinogeno e fibrina (non I e Ia)
- protrombina e trombina (non II e IIa)
- tissue factor (non III)
- Ca²⁺ (non IV)

Si noti che:

- i fattori sono tutti prodotti dal fegato, tranne:
 - il Ca (FIV), e i cofattori
 - tissue factor (III)
 - V (piastrine e fegato)
 - VIII (piastrine e cellule endoteliali).
- i fattori II, VII, IX e X sono detti fattori vit-K dipendenti.



La produzione di trombina (IIa nella figura) è mediata dal fattore Xa, che taglia il substrato protrombina (fattore II nella figura) in presenza del cofattore Va. Si noti che la reazione avviene sulla superficie cellulare carica negativamente (esposizione della fosfatidilserina), e in presenza di ioni Ca^{2+} (non mostrati) che si interpongono fra fosfatidilserina e residui γ -carbossilati dei fattori II e X.



Cascata coagulativa, modello tradizionale

1. Due vie di attivazione parallele

- via intrinseca (XII, XI, IX, VIII) (fondo grigio)
- via estrinseca (TF, VII) (fondo verde)

2. Convergenza delle due vie parallele nella via comune (X, trombina, fibrina) (fondo rosso)

3. Risultato finale della via comune:

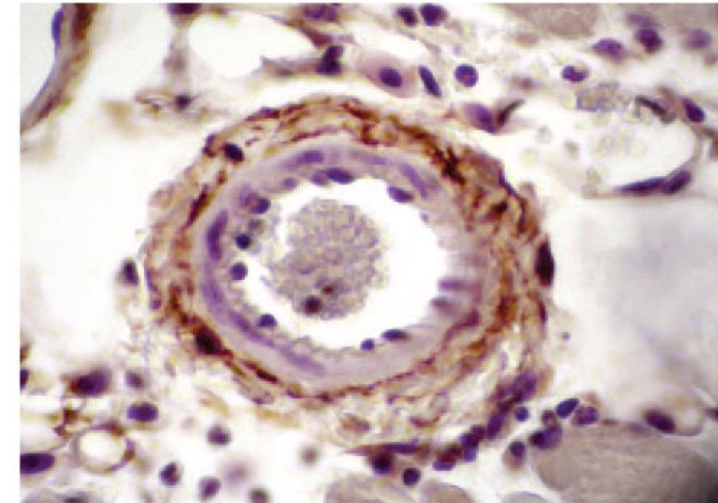
- Formazione della trombina, che converte il fibrinogeno in fibrina.

Lo schema tradizionale (due possibili vie di attivazione) non è più accettato come modello fisiologico della cascata coagulativa, perché

- la deficienza del XII (o di HMWK, o di PK) non è associata a emorragie.
- la deficienza del fattore XI è associata a lievi emorragie.
- la deficienza dei fattori V, VII, VIII, IX e X è associata a disturbi emorragici da moderati a severi (in relazione all'entità del difetto).

Cascata coagulativa, il tissue factor (o tromboplastina tessutale)
proteina transmembrana, recettore di VII/VIIa, cofattore del VIIa

- Nella parete vascolare, il TF è espresso costitutivamente da cellule muscolari lisce, da periciti, e da fibroblasti residenti nell'avventizia.*
- Quando il sangue supera la barriera endoteliale, sia il VII che la piccola quota di VIIa già presente in circolo (<1%) interagiscono con il TF.
- Il complesso TF-VIIa è già attivo, mentre il meccanismo di attivazione del VII nel complesso TF-VII è incerto: autoattivazione, o azione di proteasi presenti nel microambiente.

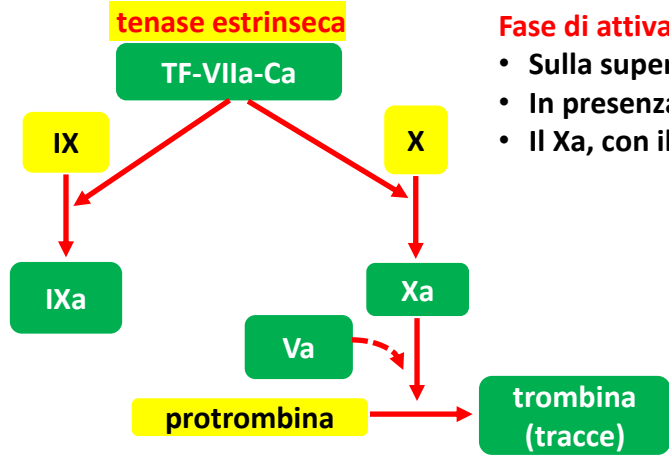


TF espresso nella parete arteriolare (marrone)

* In condizioni normali, il TF è espresso a bassa intensità anche dalle cellule endoteliali, ed è inibito dal TFPI (inibitore fisiologico). Vari mediatori infiammatori (ad es. amine vasoattive, citochine infiammatorie, LPS) ne aumentano l'espressione, innescando la sua capacità di attivare la cascata coagulativa. NB: il TF è espresso anche in leucociti attivati (MØ).

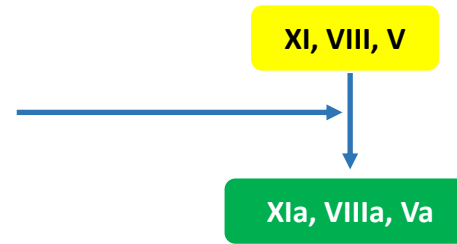
Cascata coagulativa, modello corrente

(il modello a cascata, essenzialmente biochimico, è integrato da un modello «cellulare»)



Fase di attivazione

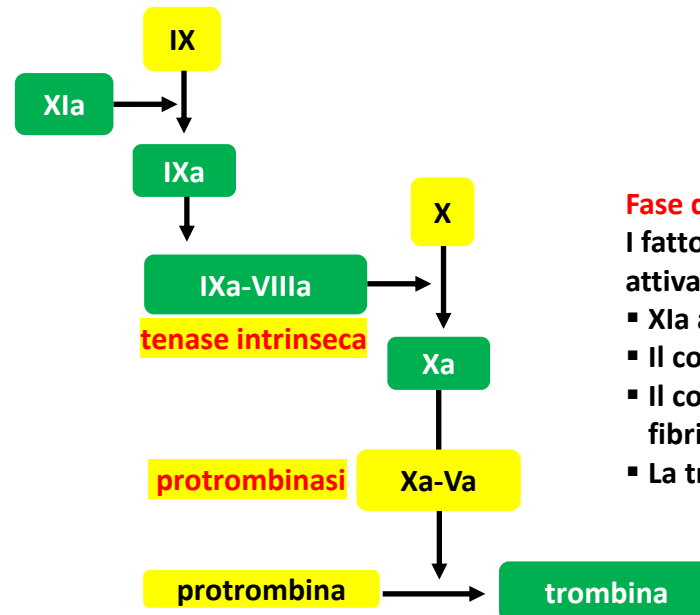
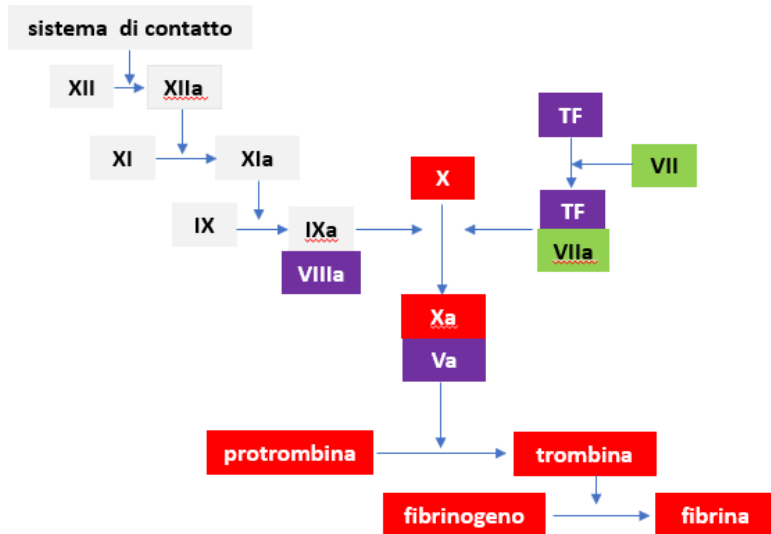
- Sulla superficie delle cellule che presentano il TF, la coagulazione inizia con la formazione del complesso TF-VIIa.
- In presenza di Ca^{2+} , TF-VIIa attiva il X e il IX.
- Il Xa, con il Va, produce piccole quantità di trombina (scarsa disponibilità di Va).



Fase di amplificazione

La trombina, presente in tracce sulla superficie delle cellule che presentano TF, attiva:

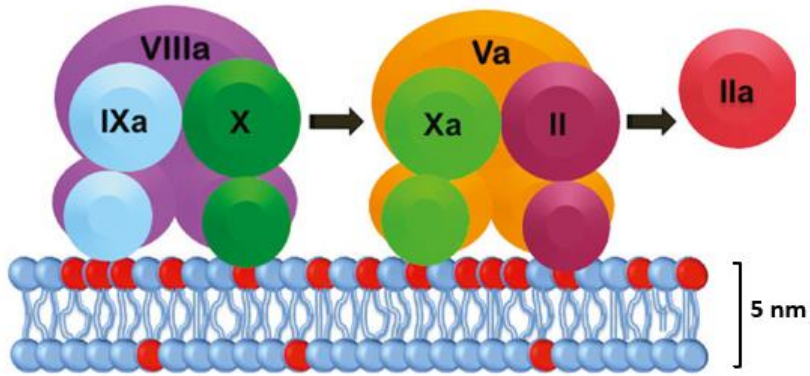
- i cofattori V e VIII → Va e VIIIa
- il fattore XI → XIa.
- piastrine, EC e leucociti (non mostrato)



Fase di propagazione

I fattori della coagulazione attivati si legano sulla superficie delle piastrine attivate (fosfolipidi procoagulanti):

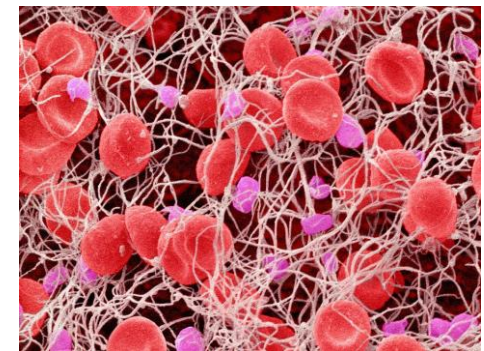
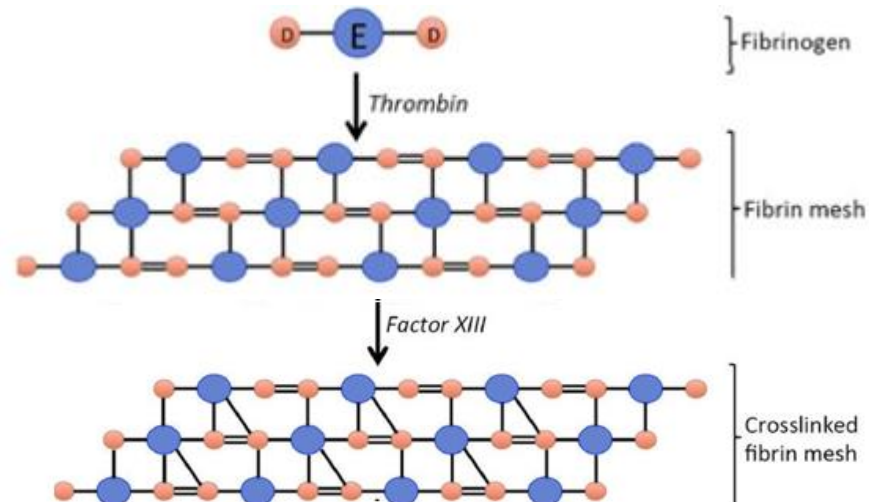
- XIa attiva il IX
- Il complesso IXa-VIIIa attiva il X in Xa (principale fonte di Xa)
- Il complesso Xa-Va attiva la protrombina nella trombina necessaria a produrre fibrina in modo massivo
- La trombina attiva il XIII in XIIIa (non mostrato)



Fase di propagazione della coagulazione, produzione della trombina. La tenase intrinseca (IXa-VIIIa) è caratterizzata da un'alta omologia con la protrombinasi (Xa-Va). Entrambi i complessi si assemblano sulla superficie carica negativamente di piastrine attivate (esposizione di fosfatidilserina). Le reazioni avvengono in presenza di Ca^{2+} (non mostrato, si interpone fra fosfatidilserina e residui γ -carbossilati dei fattori vit. K-dipendenti II, VII, IX, e X). Le dimensioni delle proteine e dei lipidi sono in scala.

Nella fase finale della coagulazione, la trombina converte il fibrinogeno in monomeri di fibrina, che polimerizzano.

La trombina attiva il XIII, e il XIIIa lega e rinforza la fibrina polimerizzata.



Il controllo regolatorio delle reazioni coagulative (meccanismi antitrombotici)

meccanismi aspecifici e specifici (TFPI, AT, APC)

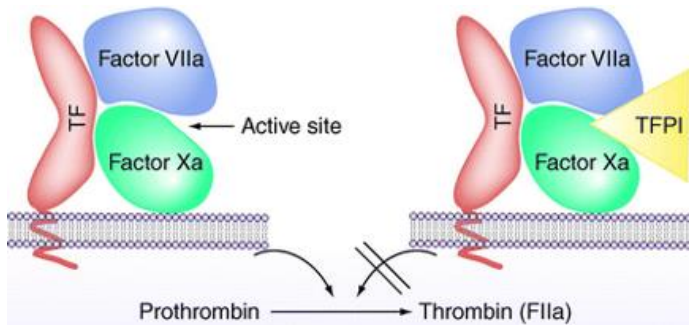
fondamentale per evitare che il coagulo, estendendosi oltre la zona lesionata, riduca il calibro del vaso.

Meccanismi aspecifici: diluizione (scorrimento del sangue); clearance (i macrofagi a livello splenico eliminano dal sangue circolante i fattori attivati); intrappolamento della trombina (si lega alla fibrina neoformata).

Meccanismi specifici

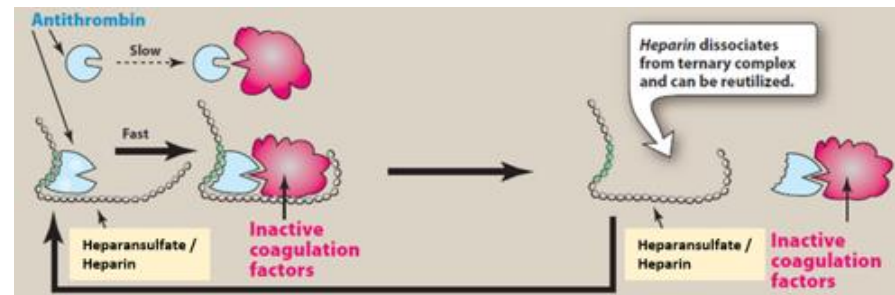
TFPI (tissue factor pathway inhibitor)

- polipeptide a singola catena, prodotto da cellule endoteliali, si lega a proteoglicani sulla superficie cellulare.
- inibisce reversibilmente il Xa
- il complesso TFPI-Xa inibisce il complesso TF-VIIa



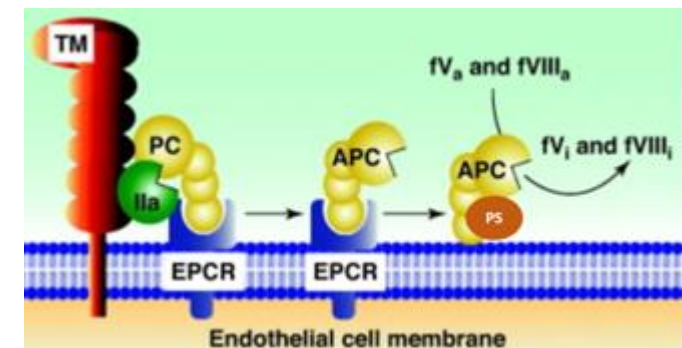
AT (antitrombina)

- piccola glicoproteina prodotta dal fegato, è capace di inattivare la trombina e XIIa, XIa, IXa, Xa
- AT inibisce anche VIIa, callicreina, plasmina e C1 attivato.
- nella reazione di inattivazione, AT rende il sito attivo della proteasi inaccessibile al substrato
- per un'efficace reazione di inattivazione, AT e T si associano ad HSPG (eparansolfato proteoglicani) della superficie cellulare, così facilitando la reciproca interazione. Dopo la formazione, il complesso AT-T viene rilasciato, e in questa forma la trombina non è attiva.
- **NB: l'anticoagulante eparina (ad alto PM) funziona come HSPG; l'eparina a basso PM ha maggiore affinità e attività di inibizione per il Xa.**



APC (proteina C attivata)

- APC è una proteina vit. K-dipendente, derivante dal precursore PC (prodotto dagli epatociti), con attività proteasica nei confronti di Va e VIIIa (cofattore di APC è la proteina S, anch'essa prodotta dal fegato e vit. K-dipendente).
- la reazione di attivazione PC → APC è effettuata dalla trombina, e avviene sulla superficie endoteliale dopo che la trombina ha interagito con il recettore trombomodulina e, nelle immediate vicinanze, PC si è legata al recettore EPCR.



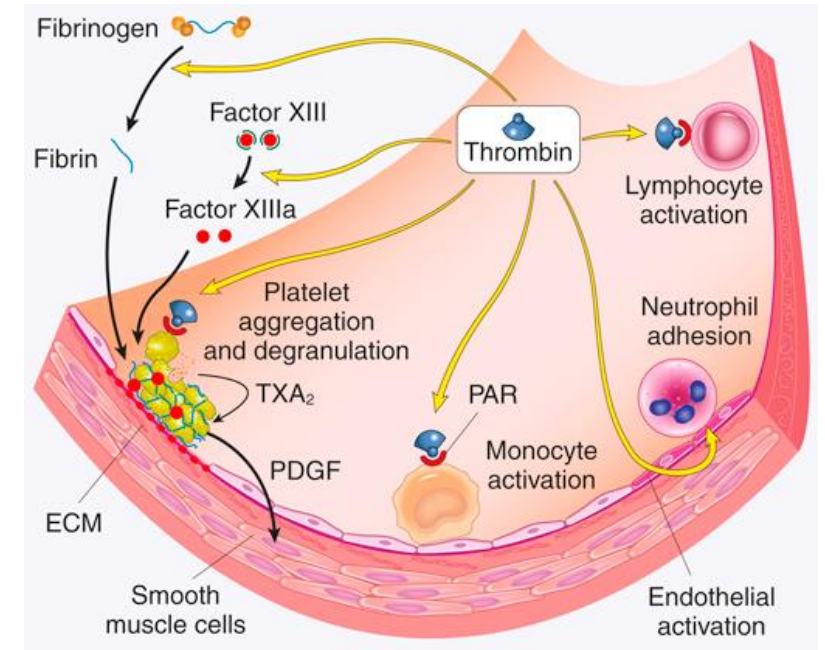
Trombina: una proteasi multifunzione

attivazione delle piastrine ■ induce attivazione e aggregazione delle piastrine, attivando PAR (protease-activated receptor: GPCR attivati dal taglio di parte del dominio extracellulare, che funziona da ligando).

conversione del fibrinogeno in fibrina ■ la trombina prodotta inizialmente è fondamentale per l'amplificazione delle reazioni coagulative (attivazione del V e dell'VIII)
■ rende insolubile il coagulo (producendo fibrina)
■ stabilizza il coagulo definitivo (attivazione del XIII).

effetti anticoagulanti ■ interagendo con cellule endoteliali integre, la trombina media effetti di inibizione della coagulazione (APC), così impedendo al coagulo di estendersi oltre i limiti della lesione vascolare.
■ NB: in aggiunta, la trombina è implicata anche nella fibrinolisi (vedi).

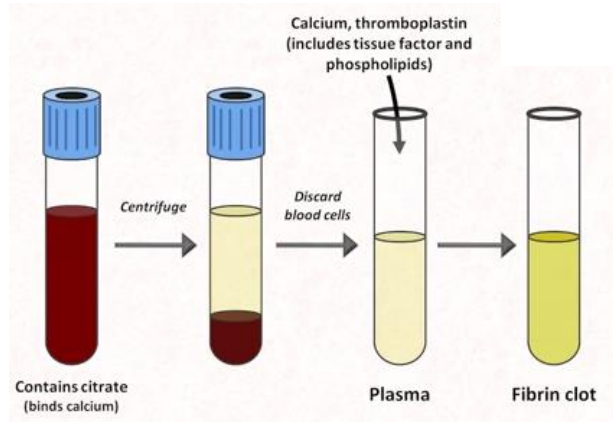
azione pro-infiammatoria ■ leucociti, cellule endoteliali (e altre cellule) esprimono PAR e l'attivazione media le interazioni endotelio-leucocitarie.



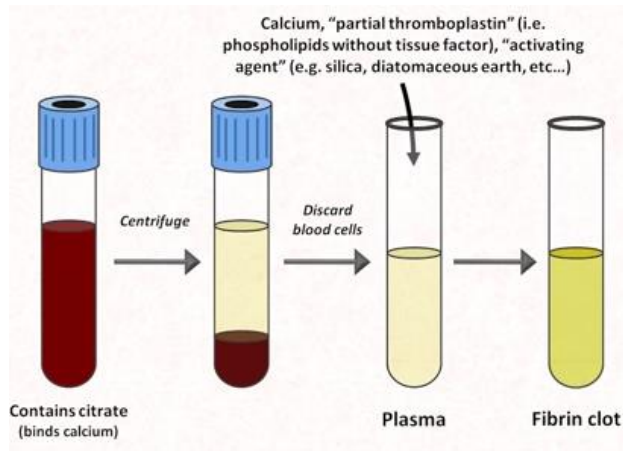
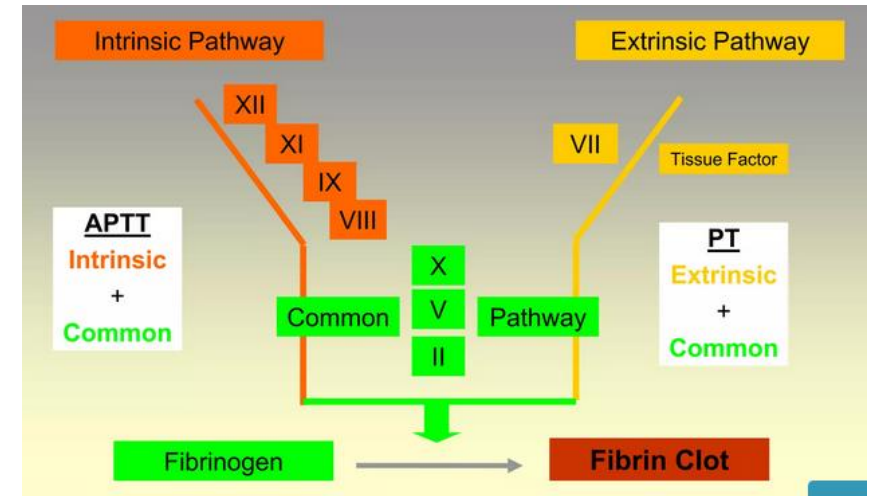
Test diagnostici di base per la valutazione dell'emostasi

-conta delle piastrine (vedi esame emocromocitometrico)

-valutazione della cascata coagulativa



tempo di protrombina (PT)*: tempo (10-15 sec) di formazione del coagulo di fibrina. È determinato aggiungendo TF esogeno al plasma del paziente, ed è utilizzato per valutare l'efficienza della via **estrinseca** (TF, VII) e della via comune (X,V, II, I).



tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT, PTT): tempo (25-40 sec) di formazione del coagulo di fibrina. È determinato aggiungendo al plasma del paziente la «tromboplastina parziale», cioè fosfolipidi, silice, o caolino **ma non TF**, in modo da attivare il sistema di contatto. PTT misura l'efficienza della **via intrinseca** e (XII, XI, IX, VIII) della via comune (X,V, II, I).

***Nei pazienti in terapia anticoagulante**, il risultato è espresso come **INR** (International normalized ratio): rapporto fra PT del paziente e PT controllo (al fine di standardizzare il risultato in base ai reagenti e strumenti utilizzati).

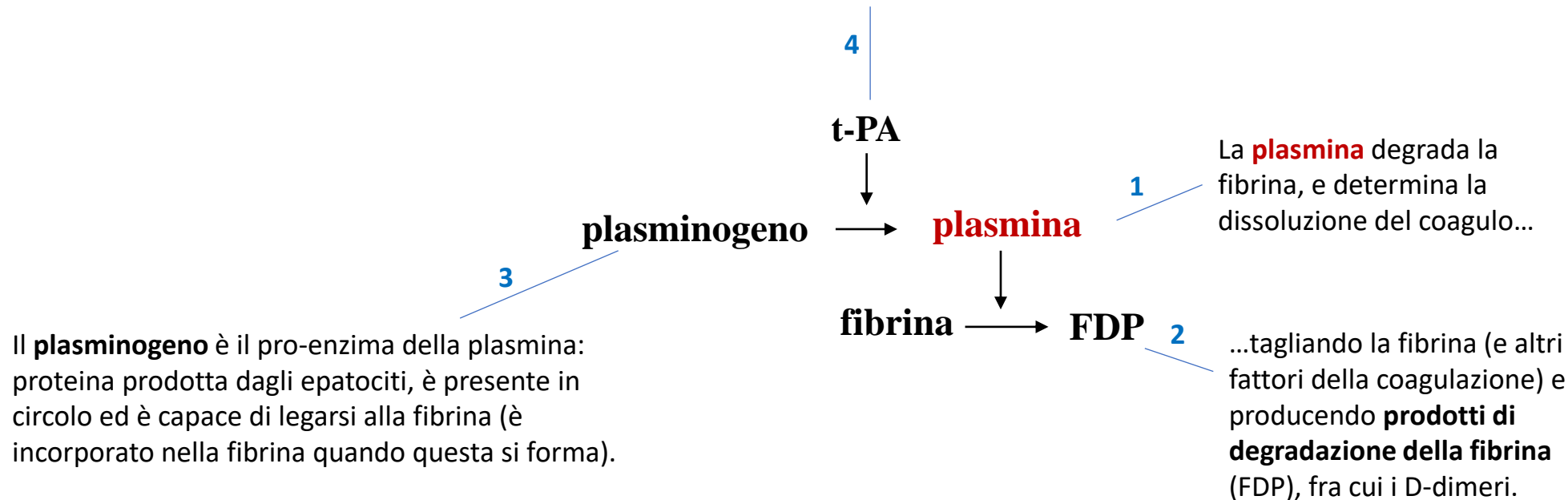
Altri test:

-**dosaggio del fibrinogeno**. La riduzione può dipendere da difetti ereditari, gravi epatopatie, CID (da consumo). Un aumento si osserva generalmente nell'infiammazione (proteina di fase acuta).

Fibrinolisi e dissoluzione del coagulo

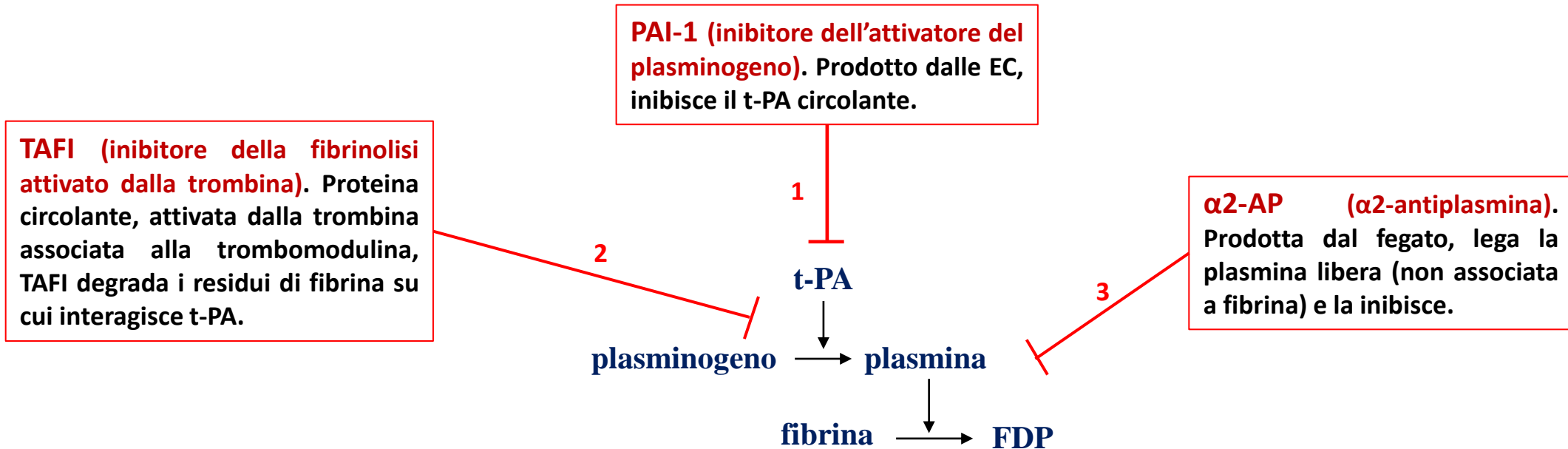
Il plasminogeno legato sulla fibrina viene convertito in plasmina dall'**attivatore tessutale del plasminogeno (t-PA)** prodotto come enzima attivo dalle EC. *

*anche l'**attivatore del plasminogeno tipo urochinasi (u-PA)**, prodotto da MØ ed epitelio delle vie urinarie, può catalizzare la reazione, ma non è ritenuto importante in condizioni fisiologiche.

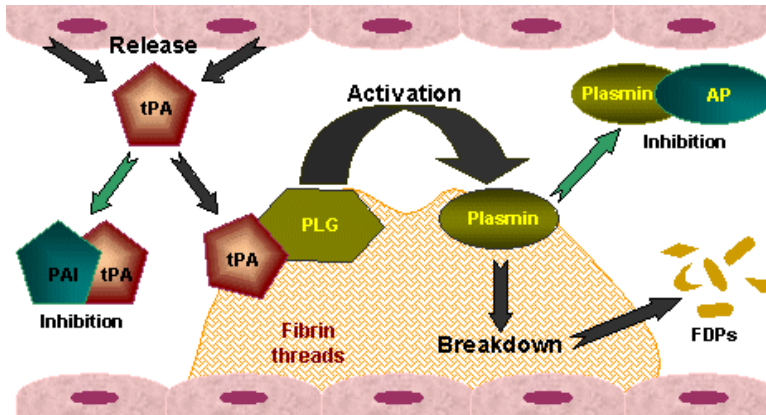


Fibrinolisi: meccanismi di controllo

Il processo di fibrinolisi è controllato da tre principali inibitori



Regolazione della fibrinolisi (reazioni pro-fibrinolitiche e anti-fibrinolitiche)



La fibrina espone siti di legame per t-PA e per il plasminogeno: il t-PA attiva il plasminogeno in plasmina, e la plasmina degrada la fibrina.

Come dire:

-non appena si forma la fibrina, si determina anche la condizione per la sua degradazione.

- man mano che la plasmina degrada la fibrina, vengono esposti nuovi siti di legame per t-PA e plasminogeno, per cui la fibrinolisi prosegue fino alla completa degradazione della fibrina.

- dissolto il coagulo (quindi in assenza di fibrina), la plasmina residua libera interagisce con α 2-AP e viene inattivata.



Ma se è la stessa formazione di fibrina ad attivare la fibrinolisi, com'è possibile costruire e mantenere il tappo emostatico per il tempo necessario alla riparazione della parete vascolare?



Nell'emostasi fisiologica, il tappo emostatico si forma più velocemente di quanto venga degradato.

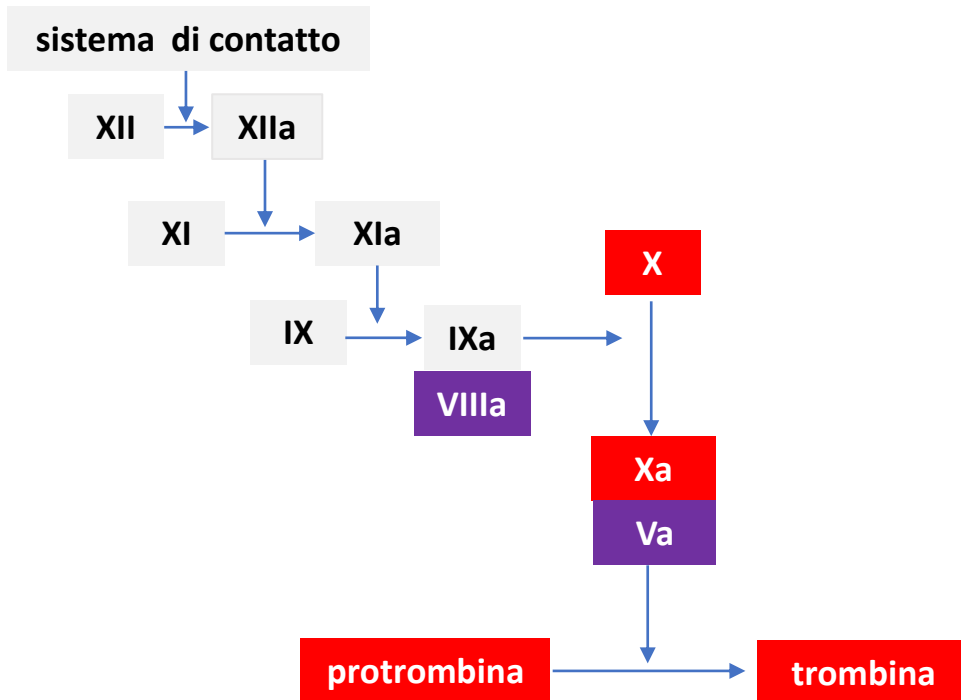
Questa diversa cinetica viene mantenuta per il tempo necessario alla riparazione del vaso.

Considerazioni aggiuntive 1: la via intrinseca e il sistema di contatto (HMWK, PK, XI, e XII)



L'attivazione del XII da parte della callicreina (sistema di contatto) può avviare la cascata coagulativa (cosiddetta via intrinseca).

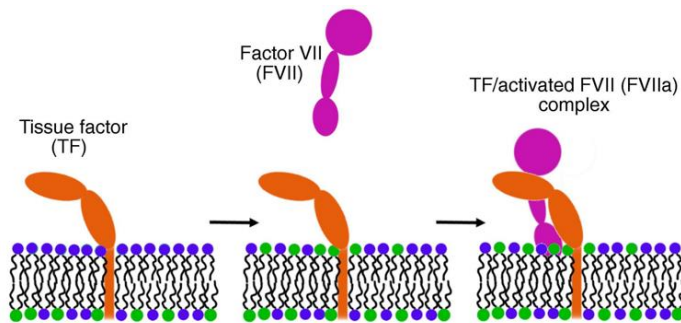
Il sistema di contatto, importante nell'infiammazione, è considerato meno rilevante nell'emostasi fisiologica. Infatti, difetti totali del XII, di PK, o di HMWK non compromettono il processo emostatico e quindi non comportano manifestazioni emorragiche. Solo il difetto di XI è associato a emorragia lieve-moderata.



Alcune superfici capaci di attivare la via intrinseca: collagene, polifosfati (di derivazione cellulare e piastrinica), e NET.

Considerazioni aggiuntive 2: i cofattori TF, VIII, e V

Non hanno attività enzimatica, ma combinandosi con l'appropriato fattore attivato, accelerano la reazione enzimatica.

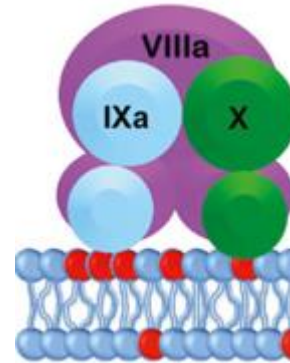


TF (tissue factor)

-proteina transmembrana presente su molti tipi cellulari, a espressione variabile, maggiore nella tonaca media dei vasi (cell muscolari), e soprattutto nell'avventizia (fibroblasti).

-legandosi al VIIa, ne accelera le reazioni di attivazione del X e del IX.

-in condizioni patologiche, cellule circolanti (monociti) e cellule endoteliali aumentano l'espressione di TF.



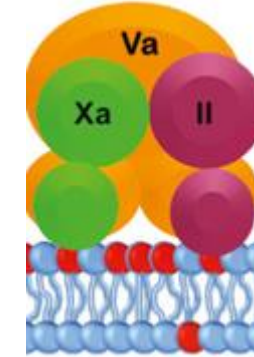
VIII

-prodotto da EC renali ed epatiche, circola in forma stabile associato a vWF.

-si stacca dal vWF per azione della trombina.

-sulla superficie delle piastrine, accelera la reazione del IXa sul X

NB: la tenase intrinseca è la maggiore fonte di Xa.



V

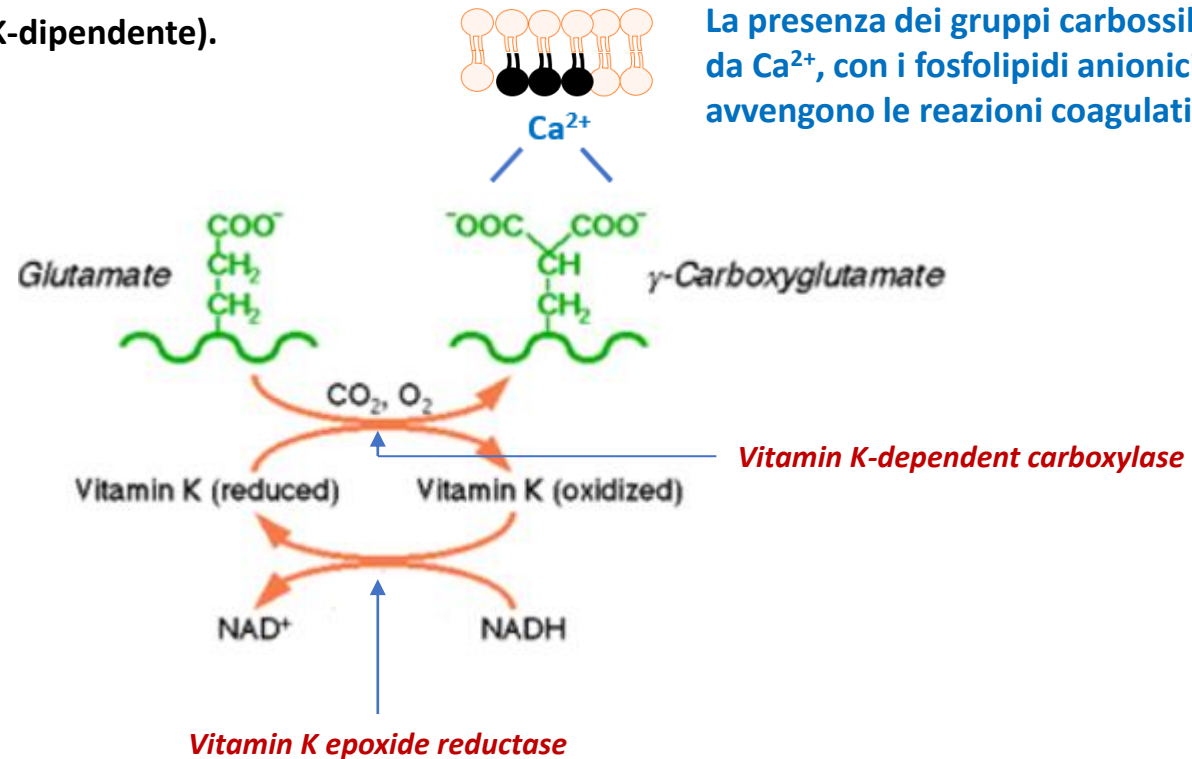
-prodotto dagli epatociti, circola come molecola singola.

-si lega a piastrine attivate, ed è attivato dalla trombina.

-accelera la reazione del Xa, e quindi la produzione di trombina. Si noti che il V deriva anche dalle piastrine (granuli α).

Considerazioni aggiuntive 3: i fattori vit. K-dipendenti

Sintetizzati dagli epatociti, i fattori **II (protrombina)**, **VII**, **IX** e **X** (nonché **APC** e **PS**) possiedono una decina di residui di ac. glutammico γ -carbossilati (carbossilasi vit K-dipendente).

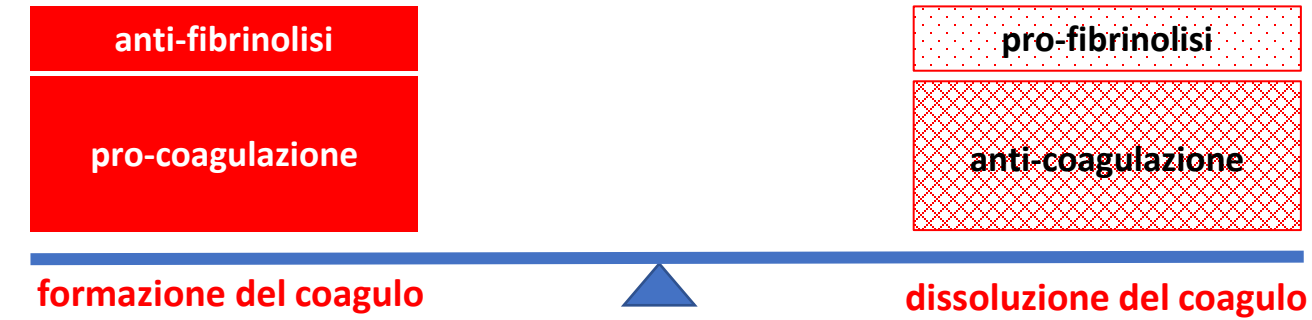


La presenza dei gruppi carbossilici consente l'interazione, mediata da Ca^{2+} , con i fosfolipidi anionici della superficie cellulare su cui avvengono le reazioni coagulative.

La vit. K (Koagulation vitamin), liposolubile, è presente in vari alimenti, e sintetizzata anche dai batteri intestinali.

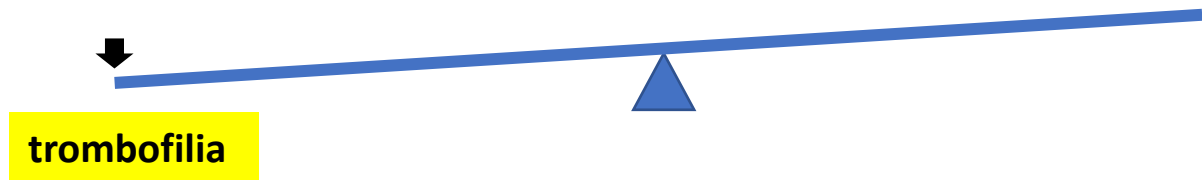
Nella reazione di carbossilazione, la vit. K viene ossidata e, per essere riutilizzata, deve essere ridotta da una epossido reduttasi epatocitaria (enzima inibito da warfarin).

bilancia emostatica

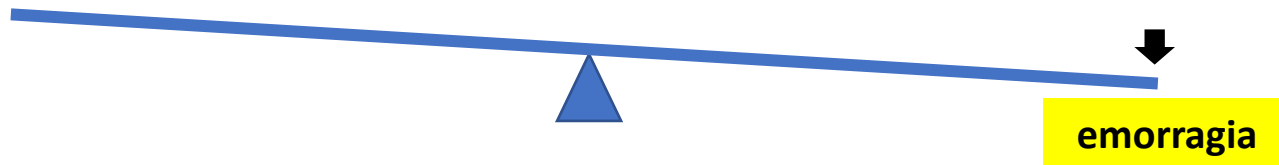


La bilancia emostatica è il risultato di forze pro-coagulanti e anti-fibrinolitiche da una parte e di forze anti-coagulanti e pro-fibrinolitiche dall'altra.

- Se la parete vascolare è integra, il sistema è in equilibrio (neutro).
- In corrispondenza di una lesione vascolare, le forze PC e AF prevarranno su quelle AC e PF, al fine di formare il coagulo e riparare la lesione. In tale circostanza, l'equilibrio delle forze che concorrono a determinare la bilancia emostatica è finemente regolato in modo da impedire sia un eccessivo sanguinamento sia un'eccessiva coagulazione.



Se a causa di condizioni patologiche si verificasse un'anomala prevalenza dei sistemi PC e/o AF, la conseguenza sarebbe una coagulazione eccessiva (trombofilia).



Se a causa di condizioni patologiche si verificasse un'anomala prevalenza dei sistemi AC e/o PF, la conseguenza sarebbe un'emorragia.

Le cellule endoteliali e la bilancia emostatica

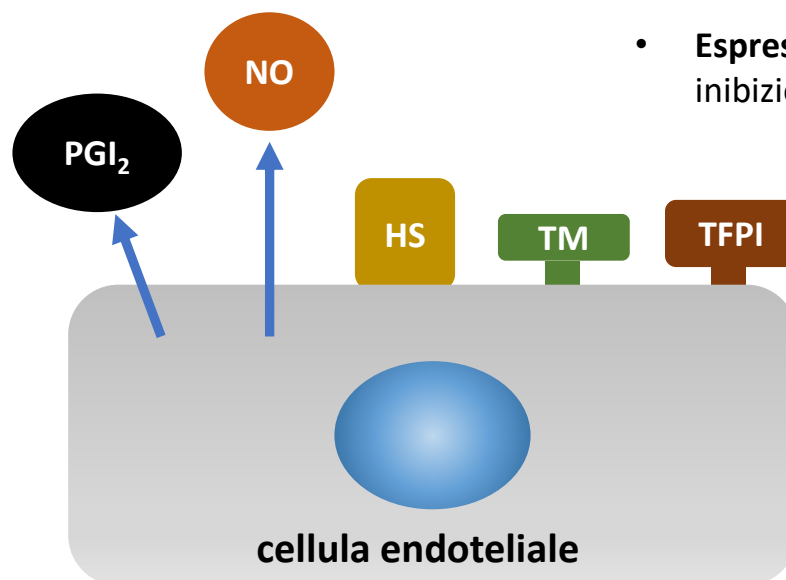
L'endotelio ha una funzione fondamentale nel mantenimento della bilancia emostatica: in condizioni normali, le cellule endoteliali integre inibiscono la formazione di coaguli, e quindi contribuiscono a mantenere la fluidità del sangue, influenzando più componenti del sistema emostatico.

(1) calibro vascolare e funzione piastrinica

- **secrezione di PGI₂**: vasodilatazione, inibizione di attivazione e aggregazione piastrinica.
- **secrezione di NO**: vasodilatazione, inibizione di attivazione e aggregazione piastrinica.

(2) funzione coagulativa

- **Espressione di HS** (eparan solfato): attivazione di antitrombina.
- **Espressione di trombomodulina**: modifica la funzione della trombina dall'attivazione di eventi pro-coagulativi a quella di eventi anti-coagulativi.
- **Espressione di TFPI** (tissue factor pathway inhibitor): inibizione dell'attivazione della cascata coagulativa.



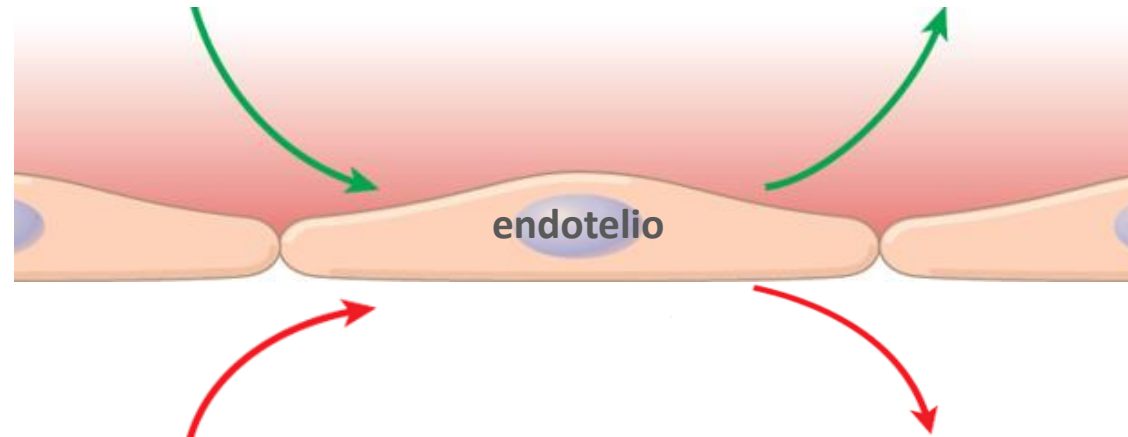
L'endotelio in condizioni normali e patologiche

Integrità anatomo-funzionale

- flusso laminare
- pressione sanguigna normale
- omeostasi tessutale normale

Condizione funzionale basale (costitutiva)

- superficie non trombogenica
- superficie non adesiva



Alterazioni emodinamiche

(ipertensione arteriosa e altre condizioni di turbolenza)

Alterazioni metaboliche

(iperlipidemia, iperglicemia, ipossia, acidosi)

▪ **Abitudini voluttuarie** (fumo di sigaretta)

Processi infiammatori

(citochine, complemento, prodotti batterici)

disfunzione/danno endoteliale

- ↑ reazioni pro-coagulative
- ↑ espressione di molecole di adesione
- modificazione espressione e rilascio di citochine, chemochine, fattori di crescita

Alterazioni del processo emostatico

patologie emorragiche

- alterazioni della parete vascolare
- alterazioni piastriniche
- alterazioni della coagulazione



trombofilia/trombosi

attivazione inappropriata/eccessiva del processo emostatico

Patologie emorragiche: principali segni e sintomi associati a disordini delle piastrine e della coagulazione

1. Disordini delle piastrine: emorragie spontanee ed eccessive, dovute a ridotto numero o ad alterata funzione.

- Il sospetto clinico che un'emorragia possa dipendere da un disordine delle piastrine, piuttosto che da un disordine della coagulazione, si basa sulle caratteristiche e sulla localizzazione del sanguinamento.

Un disordine piastrinico è suggerito nel caso di:

- sanguinamento cutaneo immediato ed eccessivo da traumi di lieve entità, controllabile con la compressione.
- sanguinamento spontaneo a livello della cute (petecchie, porpora, ecchimosi), e delle mucose (gengivorragia, rinorragia/epistassi).

2. Disordini della coagulazione: tendenza al sanguinamento prolungato o eccessivo (diatesi emorragica), sia spontaneo sia indotto da trauma o procedure medico-odontoiatriche.

A seconda della gravità del difetto, il sanguinamento può essere di entità

- lieve-moderata (ad es. rinorragia, gengivorragia)
- potenzialmente disabilitante (ematomi, emartri)
- pericoloso per la vita (ad es. emorragie del sistema nervoso centrale, del tratto gastro-intestinale).

conseguenze cliniche dell'emorragia

Quantità/velocità della perdita

- Una perdita rapida di una quantità fino al 20% della volemia, può avere un impatto relativo, mentre una perdita rapida di quantità maggiori può determinare shock ipovolemico.
- perdite croniche o ricorrenti (ad es. patologie gastro-enteriche e mestruazioni) producono perdita di Fe e anemia.

Sede anatomica

- Una piccola perdita -innocua nel sottocutaneo- può essere fatale nel cervello (aumento della pressione endocranica ed erniazioni).

Patologie emorragiche associate a disordini ereditari della parete vascolare

- **telangectasia emorragica ereditaria**. **Patologia**: telangectasie emorragiche cutaneo-mucose, e malformazioni arterovenose viscerali (MAV). **Clinica**: emorragie (epistassi), e possibili complicazioni legate alle MAV (polmonari, cerebrali). **Patogenesi**: mutazioni con perdita di funzione a carico di proteine coinvolte nella via di segnalazione TGF- β ; condizione trasmessa in modo autosomico dominante.
- **Sindrome di Ehler-Danlos**. Gruppo di disordini genetici (almeno 13) causati da mutazioni di uno o più componenti strutturali del collagene; si manifesta anche con disordini emorragici.

Patologie emorragiche associate a disordini acquisiti della parete vascolare

- **Scorbuto (deficienza di vit. C)**. L'integrità del tessuto connettivo dipende dal collagene, e la vit. C è essenziale per la formazione del collagene.
- **Porpora di Schonlein-Henoch**. **Patologia e patogenesi**: vasculite da immunocomplessi (IgA) a carico di cute, intestino e reni. Comune nell'infanzia dopo un'infezione acuta, si manifesta con porpora, dolore addominale, ed ematuria.
- **Porpora da corticosteroidi**. Possibile evenienza in corso di terapia cortisonica a lungo termine e di sindrome di Cushing.
- **Porpora senile**. Comune, associata all'atrofia dei tessuti di supporto ai vasi cutanei.



Porpora di Schonlein-Henoch

Patologie emorragiche associate a disordini del numero delle piastrine (piastrinopenia, o trombocitopenia)

Riduzione del numero delle piastrine (vn = 150.000 -300.000/ μ L)

Classificazione patogenetica

Insufficiente produzione da parte del midollo

- Neoplasie primitive e secondarie
- Aplasia midollare. Riduzione del numero di cellule staminali emopoietiche, e quindi di tutte le popolazioni cellulari derivanti.
 - Primitiva, su base genetica: anemia di Fanconi
 - Idiopatica (causa sconosciuta, 80% dei casi)
 - Secondaria: danno immuno-mediato; radiazioni ionizzanti, agenti chimici (incluso alcuni farmaci antitumorali), alcuni virus.

«Intrappolamento» delle piastrine nella milza ingrossata

- Cirrosi con ipertensione portale e splenomegalia

Aumentata distruzione o utilizzazione delle piastrine

- Trombocitopenia immune (nel corso di malattie autoimmuni come il lupus)
- Trombocitopenia virale (HIV, virus epatite C, patogenesi immuno-mediata)
- Trombocitopenia da farmaci (formazione di neoantigeni sulla superficie piastrinica)
- Trombocitopenia in corso di CID (coagulazione intravascolare disseminata)
- Porpora trombotica trombocitopenica (PTT)*, e Sindrome emolitico-uremica (HUS)*

* PTT e HUS sono gravissime malattie acute dovute alla formazione diffusa di filamenti di fibrina e piastrine lungo i piccoli vasi e conseguenti trombocitopenia da consumo e anemia da distruzione traumatica dei globuli rossi. Nei bambini, consegue a infezioni di batteri produttori di tossine tipo shiga (Shigella, alcuni E. Coli). Negli adulti sono più spesso idiopatiche.

Patologie emorragiche associate a disordini della funzione delle piastrine (piastrinopatie)

Patologie ereditarie

- **Sindrome di Bernard-Soulier**: difetto di GP Ib (recettore per VWF) → difetto di adesione.
- **Tromboastenia di Glanzmann**: difetto di GP IIb-IIIa (recettore per il fibrinogeno) → difetto di aggregazione.
- **Altre condizioni**: sono noti numerosi difetti genetici che compromettono la reazione di degranulazione.

SBS e TG sono entrambe condizioni rare, autosomiche recessive, caratterizzate da sanguinamento muco-cutaneo.

Patologie acquisite

- **Da farmaci**
 - usati per la terapia o profilassi di malattie su base aterosclerotica (ad es. ASA, tienopiridine, dipiridamolo)
 - NSAIDs
- **In associazione a condizioni di trombocitopenia**

Malattia di von Willebrand (VWD)

La VWD è la più comune malattia emorragica ereditaria (autosomica dominante), caratterizzata da deficit o da disfunzione del fattore VW (mediatore dell'adesione e aggregazione piastrinica, e stabilizzatore del fattore VIII).

Il fattore VW è sintetizzato e secreto dalle cellule endoteliali; è anche sintetizzato dai megacariociti, e presente nelle piastrine (granuli α).

- **VWD tipo 1**: Difetto quantitativo parziale del fattore VW (70-80% dei casi)
- **VWD tipo 2**: Difetto qualitativo del fattore VW (20-25% dei casi)
- **VWD tipo 3**: Assenza del fattore VW (e assenza secondaria del fattore VIII) (1% dei casi)

Le manifestazioni cliniche emorragiche sono legate alla gravità del difetto.

Patologie emorragiche associate a disordini ereditari della coagulazione

- **Emofilia A ed Emofilia B.** Difetto del fattore VIII (emofilia A) e del fattore IX (emofilia B). Condizioni recessive, con ereditarietà legata al cromosoma X, dovute a varie alterazioni mutazionali.
 - Clinicamente indistinguibili, anche se il deficit di VIII è generalmente più severo. La gravità è inversamente proporzionale all'attività dei fattori VIII e IX.
- **Deficit del fattore XI** (noto anche come emofilia C). Condizione autosomica recessiva, più frequente in famiglie ebraiche Ashkenazi. È l'unica evenienza di deficit di un componente del sistema di contatto associato ad alterazioni emorragiche, generalmente meno severe di quelle dell'emofilia.
- **Deficit di altri fattori della coagulazione.** Generalmente condizioni rare, sono descritti deficit dei fattori XIII, del fibrinogeno, del fattore V, dei fattori vit. K-dipendenti II, VII, e X.

Patologie emorragiche associate a disordini acquisiti della coagulazione

- **farmaci anticoagulanti**
 - warfarin (interferenza con la sintesi dei fattori vit. K-dipendenti (II, VII, IX, X, PC, PS)
 - eparina (inibizione di serin-proteasi come trombina e Xa)
- **deficit di vit. K** (ittero ostruttivo e sindromi da malassorbimento)
- **epatopatie** (difetto di vit. K, difetto di sintesi dei fattori della coagulazione, ipertensione portale)
- **CID** (coagulazione intravascolare disseminata, e consumo dei fattori della coagulazione).

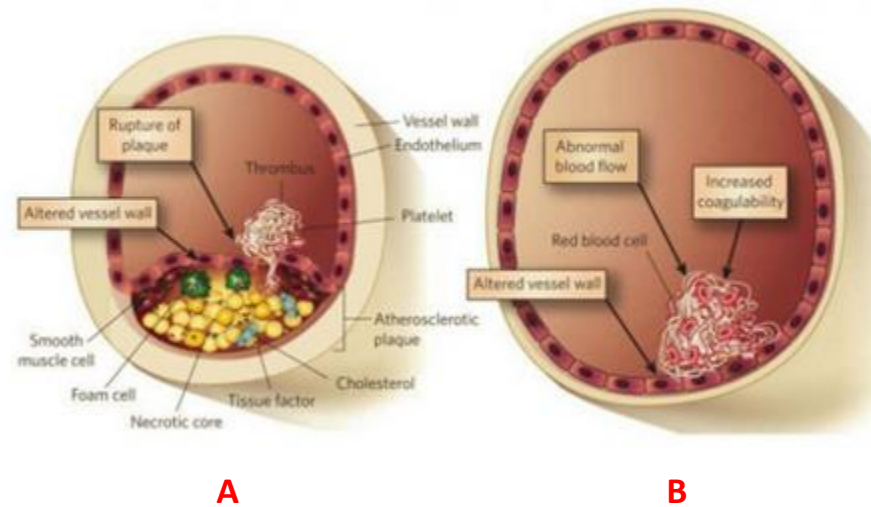
Trombosi

Formazione di un coagulo, denominato trombo in quanto ostacola il flusso sanguigno, all'interno di un vaso come conseguenza di un'attivazione inappropriata del processo emostatico.

Un trombo può formarsi ovunque nel sistema circolatorio, ed è più o meno tenacemente ancorato alla parete vascolare.

Forme clinico/patologiche

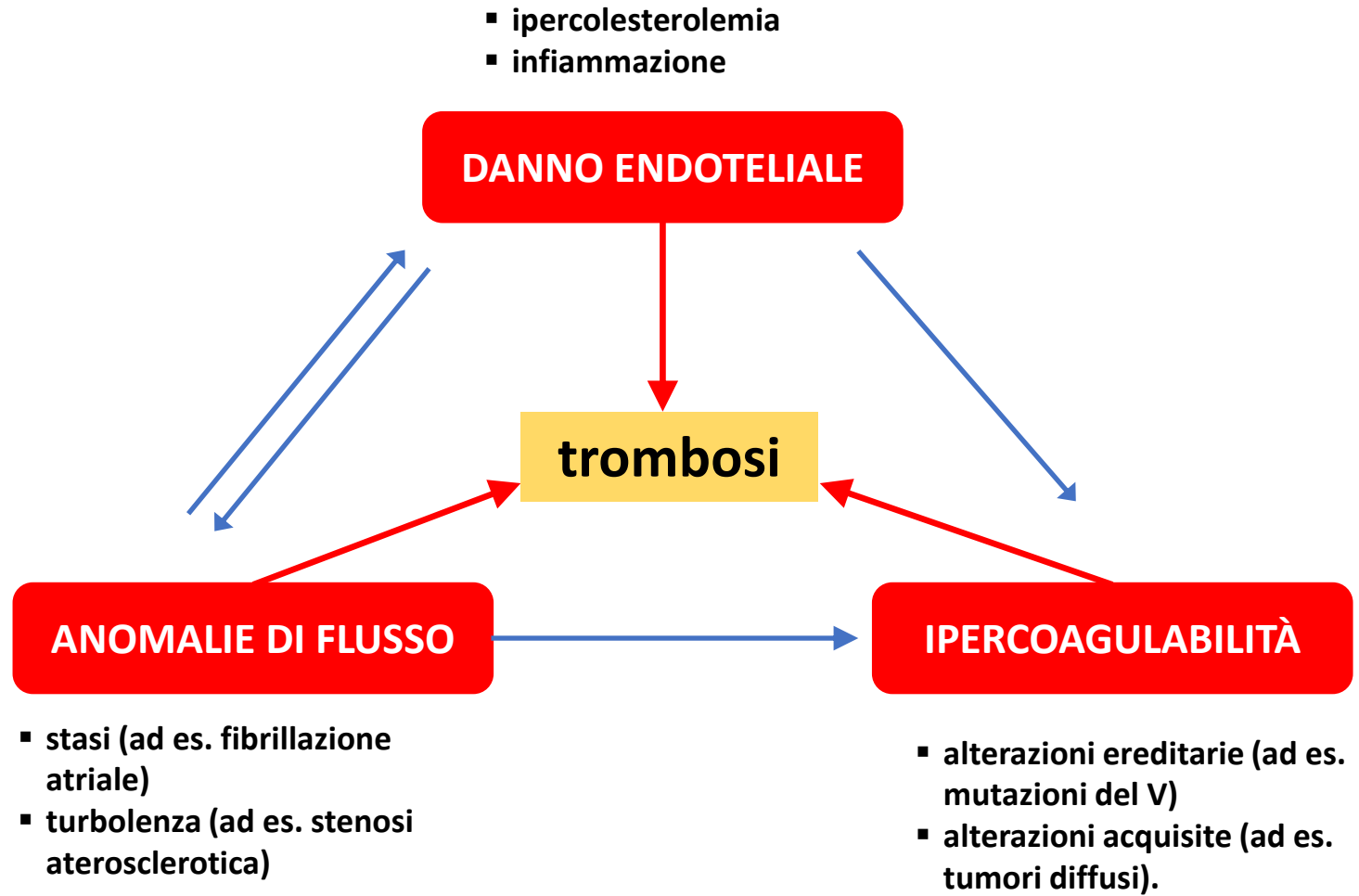
- **trombosi arteriosa (A)**
- **trombosi venosa (B)**
- **trombosi cardiaca (meno comune).**



Patogenesi della trombosi, la triade di Virchow: danno endoteliale, ipercoagulabilità, e anomalie di flusso.

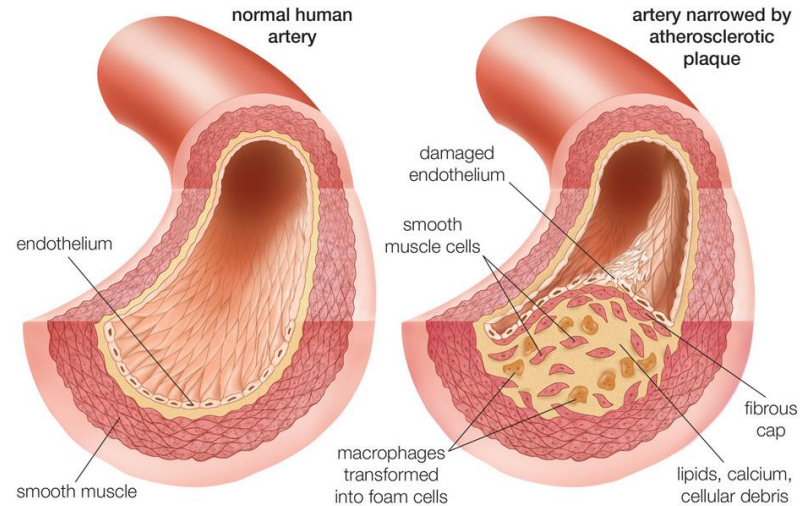


Rudolf Virchow
(1821-1902)



danno endoteliale e trombosi

Il danno endoteliale ha un'influenza dominante nella formazione dei trombi arteriosi e dei trombi cardiaci (la velocità di flusso normalmente più alta in tali sezioni contrasta l'adesione piastrinica e diluisce rapidamente la concentrazione dei fattori della coagulazione).



Nelle arterie, il danno endoteliale ⁽¹⁾ è quasi sempre conseguente ad una condizione di ipercolesterolemia e di infiammazione, nel quadro dell'aterosclerosi.

(1) È preferibile la denominazione «disfunzione/danno endoteliale»: infatti, qualsiasi alterazione dell'equilibrio dinamico degli effetti pro- e anti-trombotici dell'endotelio può avere effetto sugli eventi coagulativi anche in assenza di un'evidenza morfologica di danno cellulare (ad es., si ricordi che anche le cellule endoteliali attivate possono esprimere il tissue factor).

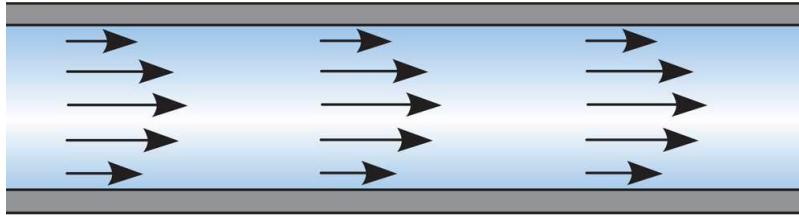


Nella cavità cardiaca, i trombi possono formarsi sulla superficie endocardica corrispondente ad una zona di lesione ischemica.

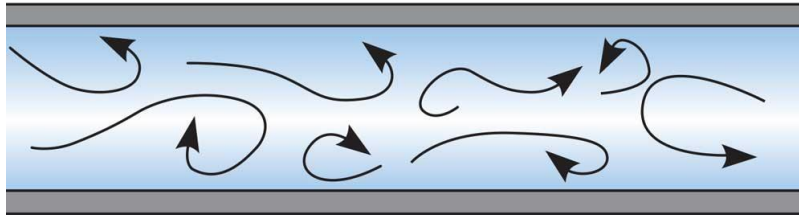
alterazioni del flusso e trombosi

Sia la stasi che la turbolenza perturbano il flusso laminare, e hanno effetti pro-adesione piastrinica e pro-coagulazione.

Flusso laminare: v flusso contenuta e costante



Flusso turbolento: $\uparrow v$, o riduzione del calibro per stenosi o biforcazione



- La stasi ha un'influenza dominante sulla trombosi venosa
- La turbolenza contribuisce alla trombosi arteriosa (il fattore dominante è il danno endoteliale).

- **Effetti pro-adesione:** sia nella stasi che nella turbolenza il normale flusso laminare è alterato, e ciò facilita il contatto fra piastrine ed endotelio.
- **Effetti pro-coagulazione.** Le alterazioni del normale flusso laminare possono
 - promuovere l'attivazione delle EC
 - modificare le concentrazioni locali di fattori della coagulazione attivati e/o di fattori inibitori della coagulazione (alterazione della bilancia emostatica).

Condizioni patologiche associate a stasi e/o turbolenza del flusso

- Placca aterosclerotica → turbolenza
- Dilatazione atriale → stasi
- Infarto miocardico → stasi
- Aneurisma → stasi

ipercoagulabilità e trombosi

Alterazioni della cascata coagulativa, ereditarie e non ereditarie. Elemento della triade meno frequentemente coinvolto nella trombosi arteriosa, ma importante fattore di rischio nella trombosi venosa.

condizioni di ipercoagulabilità primarie

- **mutazione del fattore V** (fattore V Leiden e resistenza alla APC) ⁽¹⁾
- **mutazione della protrombina** (aumentata quantità)
- **aumentati livelli di fattore VIII, IX, XI, e fibrinogeno**

(1) il rischio di trombosi venosa è presente (5x) anche in eterozigosi, da cui la necessità di considerare possibili alterazioni ereditarie in pazienti <50enni, pur in presenza di fattori di rischio acquisiti.

condizioni di ipercoagulabilità secondarie

- **prolungati periodi di immobilizzazione o allettamento**
- **uso di contraccettivi, gravidanza** (aumentata sintesi di fattori coagulativi e diminuita sintesi di AT)
- **neoplasie** (prodotti tumorali pro-coagulanti, ad es. mucina)
- **Condizioni autoimmunitarie** (sindrome trombocitopenica indotta da eparina non frazionata e sindrome da anticorpi antifosfolipidi).

COSTITUZIONE, TIPOLOGIA, ED EVOLUZIONE DEI TROMBI

costituzione

arteriosi e cardiaci	pallidi e consistenti (piastrine e fibrina), con laminazioni.
venosi	-rossastri (presenza maggiore di globuli rossi) e gelatinosi (scarsa fibrina), senza laminazioni.

tipologia

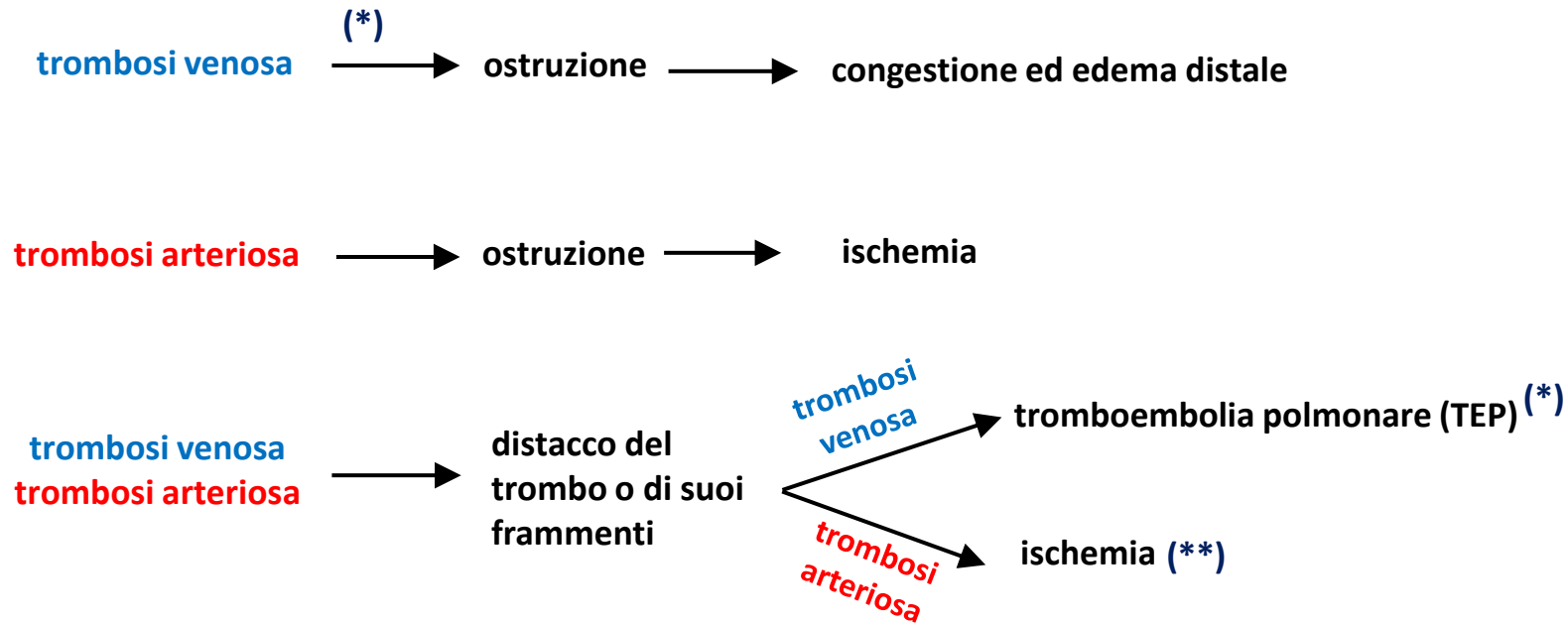
occlusivo	In vasi di piccolo e medio calibro, bloccano il flusso sanguigno.
parietale	Trombo che cresce sulla parete del vaso, senza occluderlo.

evoluzione

propagazione	Il trombo si accresce (in direzione del cuore), aumentando le probabilità di occlusione vascolare o di embolizzazione.
embolizzazione	Il trombo si stacca, in parte o interamente, e viene trasportato in altri punti del sistema vascolare.
dissolvimento	Il processo fibrinolitico, se agisce entro poche ore dalla formazione del trombo, ne determina la dissoluzione.
ricanalizzazione	nei trombi più vecchi, i processi riparativi (fibrinolisi, proliferazione di cellule endoteliali, cellule muscolari e fibroblasti) possono produrre canalizzazioni che ripristinano il flusso attraverso la massa del trombo.

la trombosi: conseguenze patologiche

Per definizione, il trombo è un coagulo che ostacola il flusso di sangue nel vaso in cui si forma: le conseguenze patologiche dipendono dal tipo di trombo (parietale o occlusivo), dalla sede della trombosi, e dal possibile distacco del trombo o di suoi frammenti.

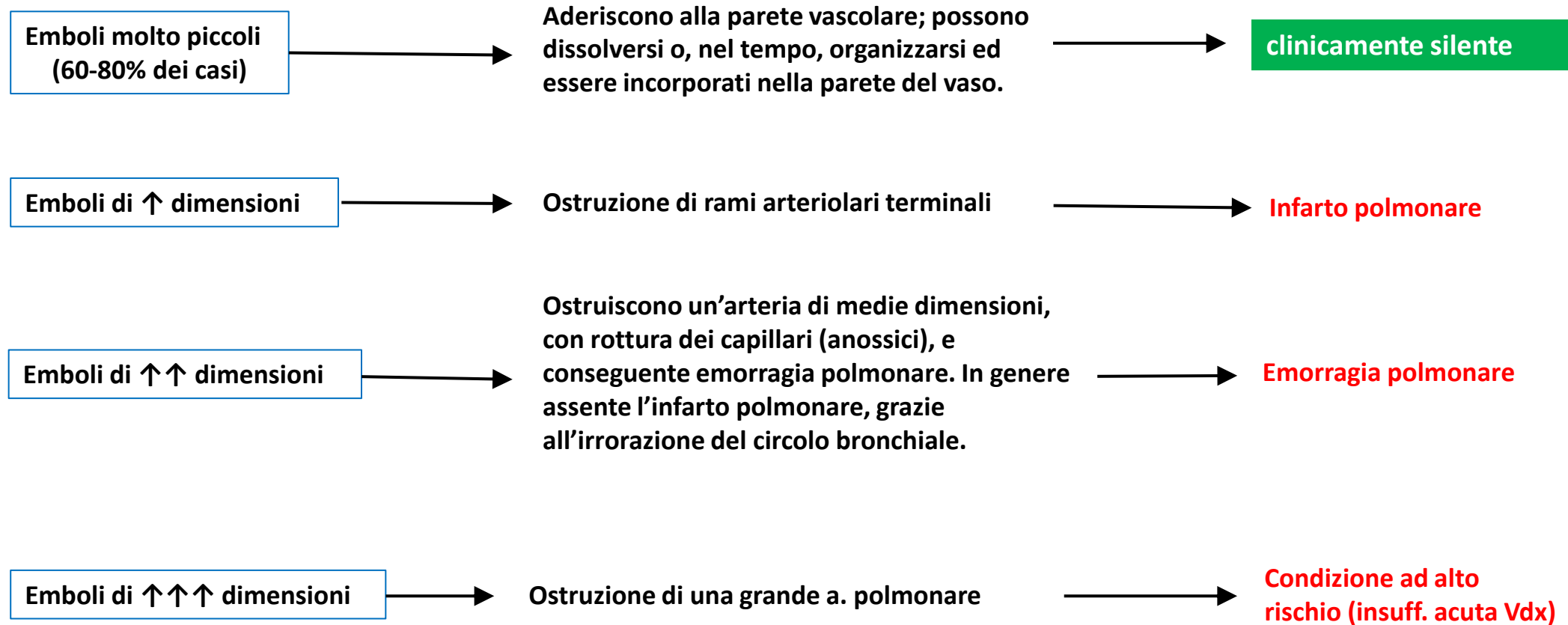


(*) Di particolare importanza clinica è la TVP (trombosi venosa profonda) delle vene profonde degli arti inferiori, il cui esordio nel 50% dei pazienti è rappresentato dalla TEP.

(**) Per quanto i trombi arteriosi possano embolizzare e determinare ischemia, la loro tendenza a ostruire i vasi è di gran lunga più importante.

TROMBOEMBOLIA POLMONARE

- Quasi sempre (>95% dei casi) dovuta a trombosi venosa profonda degli arti inferiori (fossa poplitea).
- A livello polmonare, i trombi possono arrestarsi a livello del tronco dell'arteria polmonare, della sua biforcazione, o delle diramazioni via via più piccole, determinando varie conseguenze cliniche.



IV. Sistema emostatico e sue alterazioni (domande d'esame)

1. Sistema dell'emostasi: definizione e schema generale del funzionamento.
2. Ruolo delle piastrine nel processo emostatico (e nell'infiammazione).
3. Funzione piastrinica nell'emostasi: principali mediatori molecolari.
4. Emostasi fisiologica: attivazione, amplificazione e propagazione della cascata coagulativa.
5. Il processo fibrinolitico: caratteristiche generali, meccanismi di attivazione e di controllo inibitorio.
6. Principali funzioni dell'endotelio, e ruoli nel mantenimento della bilancia emostatica.
7. Trombosi: definizione e meccanismi patogenetici.
8. Trombosi: definizione, e ruolo delle alterazioni del flusso ematico nella sua determinazione.
9. Trombosi arteriosa: definizione, e ruolo delle alterazioni del flusso ematico nella sua determinazione.
10. Trombosi arteriosa: definizione, e ruolo del danno endoteliale nella sua determinazione.
11. Trombosi venosa profonda: costituzione del trombo, meccanismi patogenetici, e conseguenze cliniche.
12. Tromboembolia polmonare: definizione, patogenesi e principali conseguenze cliniche.
13. La piastrinopenia: definizione, cause e conseguenze.
14. Malattie emorragiche da alterazioni della coagulazione: definizione, caratteristiche generali, e classificazione.