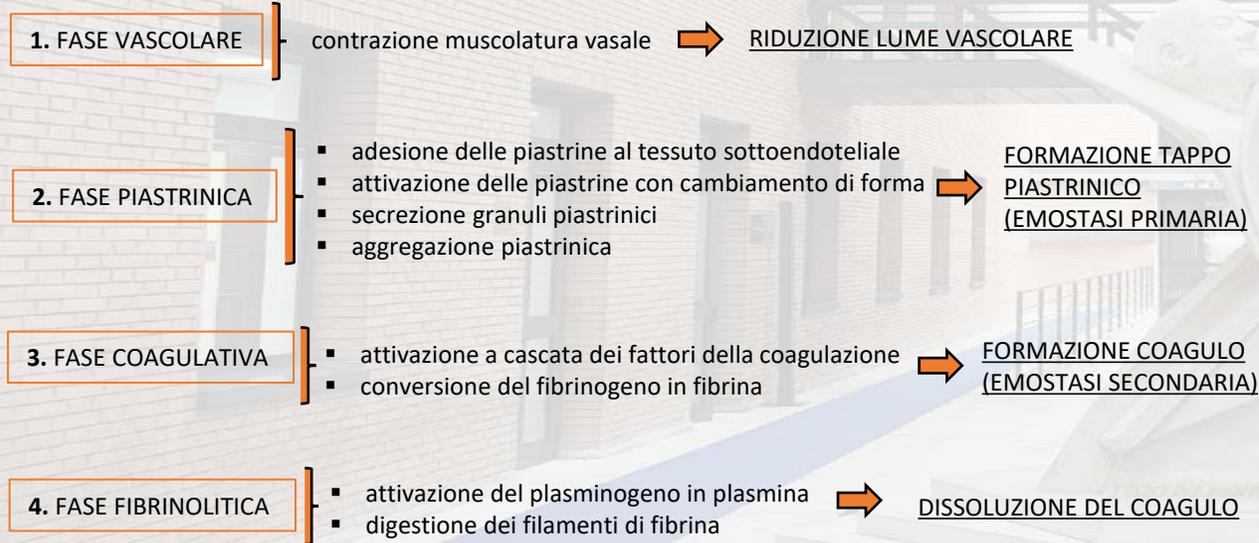


**IL PROCESSO EMOSTATICO:
SINTESI E RUOLO DEI TEST DI SCREENING IN LABORATORIO**

Di Padova Emily (AUSL Ferrara), Esposito Elena (AORN Caserta)

Introduzione. L'emostasi consiste in un processo fisiologico nel quale glicoproteine plasmatiche, piastrine circolanti e cellule dell'endotelio vascolare interagiscono. Il fine è quello di arrestare l'emorragia secondaria al danno vascolare senza provocare fenomeni di coagulazione massiva, concorrendo pertanto al mantenimento della fluidità del sangue. Il processo emostatico si articola in 4 fasi successivamente sintetizzate.



DIATESI TROMBOTICA

Fattori pro-coagulanti

- carenza di proteina C/S
- carenza di AT3
- Aumento fattore VII
- età, immobilità

DIATESI EMORRAGICA

Fattori anticoagulanti

- carenza di vitamina K
- carenza di fattori della coagulazione
- terapia con anticoagulanti

(Fig.1)

BILANCIA EMOSTATICA

Obiettivi. Il percorso diagnostico di una malattia trombotica/emorragica è complesso. Prima dell'effettuazione del prelievo di sangue venoso da indirizzare al Laboratorio, il clinico provvede ad una meticolosa anamnesi personale e familiare del paziente nonché ad un accurato esame obiettivo dello stesso. Il presente lavoro si propone di individuare il ruolo del Laboratorio nella valutazione del processo emostatico ed elencare gli esami di screening indicati per esplorare l'efficacia e la funzionalità del medesimo processo.

Materiali e metodi. La raccolta del sangue deve avvenire in provette addizionate di NaCitrato rispettando la proporzione tra sangue ed anticoagulante (9:1). Ogni variazione del rapporto volumetrico porta a risultati errati. (Fig.2) La stasi venosa prima del prelievo deve essere la più breve possibile e, comunque, non oltrepassare il minuto in quanto una stasi prolungata porta ad una attivazione locale della fibrinolisi. La puntura venosa deve essere rapida per evitare la liberazione di materiale tromboplastinico. Il plasma per l'analisi deve essere ottenuto mediante centrifugazione (10 min, 3000 rpm) e processato nelle quattro ore successive al prelievo.

L'emostasi funzionale è il risultato di un perfetto equilibrio tra i meccanismi favorenti il processo emostatico e i sistemi ad esso antagonisti. Una incontrollata attivazione intravasale dà luogo a manifestazioni trombotiche, un deficit nel sistema emostatico dà luogo a manifestazioni emorragiche. Nella Fig.1 osserviamo le principali cause scatenanti l'una o l'altra condizione.



Fig.2

Per i pazienti in cui si sospetta un difetto nel processo emostatico si richiede di primo approccio la prescrizione di indagini di I livello che consentano di screenare la popolazione e individuare i soggetti a rischio. Dopodiché per poter definire con esattezza la diagnosi e l'entità del difetto dovranno essere eseguiti presso il Laboratorio gli esami di conferma di II livello. Successivamente verranno descritti i principali esami di screening nella valutazione del processo emostatico.

• **TEMPO DI PROTROMBINA, PT**

Il test esplora la funzionalità della via estrinseca e comune della coagulazione. Il plasma citratato viene messo a contatto con ioni calcio e tromboplastina tissutale e si calcola il tempo di formazione del coagulo di fibrina dal momento in cui il Ca⁺⁺ viene di nuovo aggiunto al plasma. I valori normali sono di 11-15 secondi. Come supporto nella diagnosi di sindromi emorragiche e trombofilia e nel monitoraggio dei pazienti in terapia con anticoagulanti orali, il tempo di formazione del coagulo è stato convertito in un rapporto che permette la standardizzazione dei risultati interlaboratorio superando le variabilità connesse al tipo di analizzatore adoperato e al tipo di tromboplastina tissutale utilizzato: PT INR (International Normalized Ratio). Fig.3.

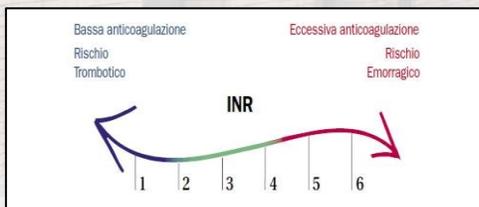


Fig. 3

• **TEMPO DI TROMBOPLASTINA PARZIALE, aPTT**

Il test esplora la via intrinseca e comune della coagulazione. Il plasma citratato viene messo a contatto con ioni calcio ed un'emulsione di fosfolipidi e si calcola il tempo di formazione del coagulo di fibrina dal momento in cui il Ca⁺⁺ viene di nuovo aggiunto al plasma. I valori normali sono di 32-46 secondi.



• **TEST DI CORREZIONE/TEST DI MISCELA**

In caso di riscontro di PT e/o aPTT allungati occorre distinguere se si tratta di una carenza di fattori o di una presenza di inibitori circolanti. Il test viene quindi ripetuto su una miscela preparata con il plasma del paziente e un pool di plasma normale in rapporto 1:1. I secondi necessari alla formazione del coagulo vengono dosati al tempo zero della miscela e ripetuti dopo 2 ore di incubazione a 37°C. Se il tempo di coagulazione eseguito sulla miscela infine si corregge si identifica una carenza fattoriale nel paziente (in genere è sufficiente solo il 50% del fattore carente fornito dal plasma normale a normalizzare il test); se persiste l'allungamento dei tempi di coagulazione siamo, con buona probabilità, dinanzi ad inibitori.

• **CONTA PIASTRINICA E STRISCIO DI SANGUE**

L'esame emocromocitometrico completo fornisce una stima del numero delle piastrine circolanti. I valori normali della conta piastrinica sono di 150.000-400.000/mm³. Anche se non esiste una correlazione assoluta tra il numero delle piastrine e la frequenza e gravità delle emorragie, una emorragia spontanea è rara al di sopra delle 40.000 piastrine/mm³; è frequente ma non costante al di sotto delle 40.000 ed è la regola al di sotto delle 20.000. Si consiglia di verificare i risultati del conteggio mediante striscio di sangue periferico colorato con May Grunwald-Giemsa: tale esame dà anche informazioni circa la morfologia e la distribuzione delle piastrine che possono essere utili nella valutazione clinica di un difetto dell'emostasi. (Fig.4)

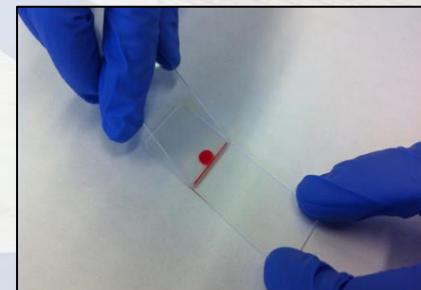


Fig.4



Il Convegno Nazionale SITLaB Chieti 10-11 giugno 2023



• **FIBRINOGENO, FATTORE I DELLA COAGULAZIONE**

Trattasi di una glicoproteina sintetizzata a livello epatico con lo scopo di favorire il processo emostatico: viene rilasciata in circolo a seguito di danno vascolare e innesco di emorragia. Negli ultimi step della cascata coagulativa il fibrinogeno viene convertito in filamenti di fibrina che si intrecciano a formare una rete che aderisce al sito danneggiato fino alla completa guarigione. Il test del fibrinogeno è utile per indagare su un possibile disordine emostatico in difetto o in eccesso laddove si siano verificati episodi di sanguinamento o episodi trombotici, il PT e/o l'aPTT risultino allungati, il paziente presenti una pregressa storia familiare per anomalia o carenze ereditarie di fibrinogeno. I valori normali sono 150-400 mg/dl.

• **D-DIMERO**

Dopo aver tamponato l'emorragia, il coagulo di fibrina deve essere rimosso. Dal processo di dissoluzione del coagulo ad opera enzimatica si ottengono prodotti di degradazione della fibrina e del fibrinogeno, tra cui il D-dimero. Dal momento che la fibrina non è normalmente presente nel sangue come tale, ma sottoforma del precursore fibrinogeno attivato da lesioni vascolari, la presenza in circolo di D-dimero correla con una precedente attivazione della cascata coagulativa. Il D-dimero rappresenta un marcatore laboratoristico di ipercoagulabilità mostrando una tendenza alla formazione inappropriata di coaguli. L'intervallo di riferimento è pari a 0-500 ng/ml.

• **TEMPO DI EMORRAGIA**

Rappresenta ad oggi l'unico indicatore "in vivo" dei difetti qualitativi e quantitativi a carico delle piastrine. Negli ultimi anni si è cercata una sempre più accurata standardizzazione della metodica al fine di garantire l'affidabilità della risposta. Il test prevede una incisione superficiale in modo che siano incisi solo i vasi più piccoli. La sede indicata per l'incisione è la faccia volare dell'avambraccio sia per l'uniformità del calibro dei microvasi sia per l'assenza di grossi vasi. La direzione dell'incisione deve essere orizzontale, la massima sensibilità della metodica si raggiunge con una pressione di 40 mm Hg che induce una stasi venosa. Si procede quindi ad asciugare il sangue con carta da filtro ogni 30" facendo attenzione a non toccare l'incisione per evitare di disturbare la formazione del plug piastrinico ed ottenere dei risultati falsamente allungati. I valori normali sono 1-9 minuti.

SITLaB - Società Scientifica Italiana dei TSLB

Discussioni e conclusioni. Le malattie emorragiche e trombotiche interessano una parte rilevante della popolazione, con esordio che si estende dall'età neonatale a quella più avanzata in cui la principale causa di morte è rappresentata dalle patologie cardiovascolari. Queste malattie colpiscono entrambi i sessi, con particolare rilevanza e peculiari manifestazioni nella donna in età fertile; sono spesso malattie di natura congenita e/o ereditaria. La gestione delle malattie legate all'emostasi richiede una specifica integrazione tra la professionalità e l'esperienza settoriale del clinico e la diagnostica e le competenze del Laboratorio. (Fig.5) Tutti i Laboratori sono in grado di eseguire in modo accurato i test emocoagulativi di I livello; per l'effettuazione dei test di II livello e l'impostazione di terapie sostitutive adatte occorre invece rivolgersi a specifici centri Hub di riferimento. L'affidabilità dei risultati di Laboratorio deriva innanzitutto dall'osservazione di una corretta fase pre-analitica: è cruciale il ruolo dei TSLB nel redigere istruzioni operative chiare e definite da consegnare ai reparti circa le corrette modalità di prelievo e trasporto dei campioni. Inoltre la partecipazione a controlli di qualità intra ed inter-laboratorio assicura adeguate performance strumentali.



(Fig.5)

Bibliografia.

1. Il processo emostatico. Botoni Marco.
2. Emostasi: fisiopatologia e diagnostica. Caleidoscopio Italiano, G.Fanetti, Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale Ospedale "Le Scotte", Siena, 1989.
3. Identificazione e ruolo dell'esperto in emostasi e trombosi nel Sistema Sanitario Nazionale Italiano. Documento Intersocietario a cura di Siset, AICE, FADOI, FCSA, SIBioC, SIE, SIMeL, SIMI, SIMTI. F. Rodeghiero, M. Morfini, C. Nozzoli, C. Manotti, F.Viola, G. Castaldo, F. Pane, B. Blasioli, C. Velati.