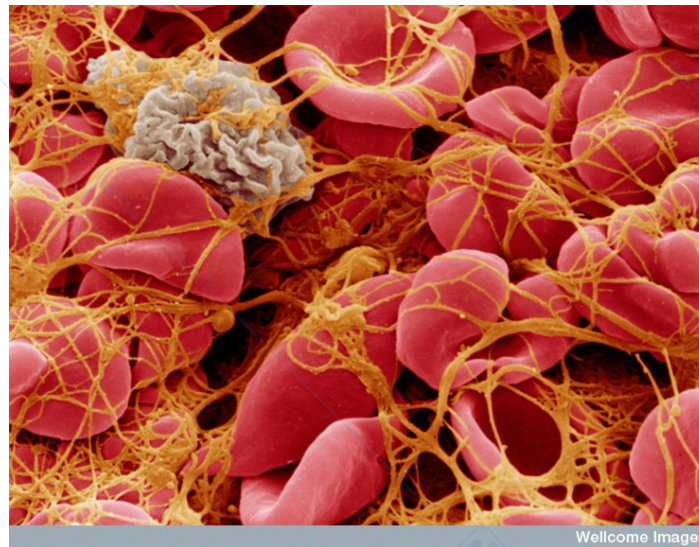


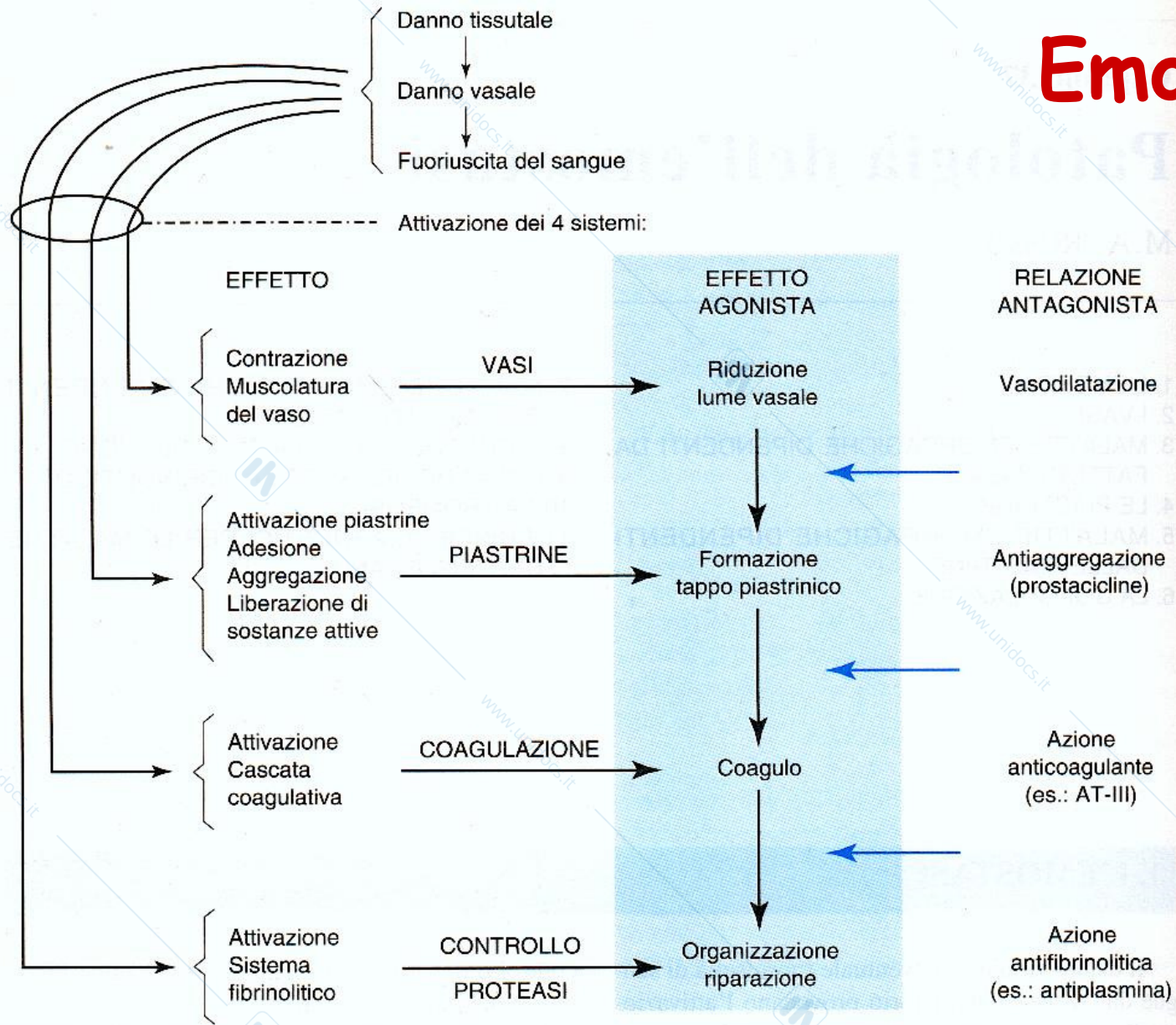
Emostasi

Arresto di una emorragia in risposta a danno vascolare
Sistema controllato che comprende:

- **Cellule** ematiche e tessutali
- Rete di **enzimi** attivanti ed inattivanti
- **Cofattori** derivati da cellule e tessuti



Emostasi



Sistemi di controllo

Fig. 37.1 - Sequenza dell'emostasi e relazioni tra i quattro sistemi coinvolti. A destra vengono anche mostrati i principali meccanismi antagonisti.

Fasi dell'emostasi

1. **vasocostrizione**
2. **adesione delle piastrine al sottoendotelio esposto in seguito a lesione endoteliale, attivazione ed aggregazione piastrinica (emostasi primaria)**
3. **attivazione del sistema della coagulazione → formazione di trombina e di fibrina → tappo emostatico permanente costituito da fibrina polimerizzata, piastrine ed eritrociti (emostasi secondaria)**
4. **Attivazione del sistema della fibrinolisi → rimozione del coagulo**

1. Vasocostrizione

- Dopo il danno vascolare si verifica una **transitoria vasocostrizione riflessa**
- Inoltre, fattori locali neuroumorali (es. endotelina) inducono vasocostrizione.

2. PIASTRINE

Granuli densi

serotonina
ADP
 Ca^{2+}

debole aggregante, vasocostrittore
forte aggregante
fattore della coagulazione

Granuli alfa

fibrinogeno (Fg)
fattore di von Willebrand (vWF)
trombospondina (Tsp)
fattore Va
PDGF, FGF

interazioni piastrina-piastrina
interazioni piastrine-subendotelio
fattore della coagulazione attivato
fattori di crescita

Citoscheletro

Microtubuli e microfilamenti (contrazione e secrezione)
Spettrina, anchirina, actinina (modificazione della forma)

Reticolo endoplasmatico liscio

Forma tubuli a T (depositi intracellulari di Ca^{2+})



Analogia di struttura e funzione con le cellule muscolari lisce

Platelets (PLT)

ADESIONE

Le PLT distinguono tra endotelio e sottoendotelio: evitano il primo ed aderiscono avidamente al secondo



ATTIVAZIONE

Degranulazione con la quale vengono rilasciati:

- molecole-ponte con il sottoendotelio e tra le PLT
- mediatori che attivano altre PLT



AGGREGAZIONE

Le PLT attivate aderiscono tra loro tramite molecole dell'adesione che interagiscono con i rispettivi ligandi



ARRESTO DELLA AGGREGAZIONE

Inattivazione e/o rimozione dei fattori attivati

ADESIONE

Recettore piastrinico

- VLA-2 (gpIa-IIa)
- VLA-5 (gpIc-IIa)
- VLA-6 (gpIc*-IIa)
- gpIb-IX
- gpIIb-IIIa

Ligando

collagene

fibronectina (Fn)

laminina

fattore di von Willebrand (vWF) adsorbito al collagene

fibrinogeno, fibronectina, vWF, trombospondina

Le PLT adese al collagene e al vWF vanno incontro ad attivazione

ATTIVAZIONE

1. **Modificazione della forma**, da discoidale a sferica
 2. **Degranulazione** (amplificazione della risposta)
 - secrezione di **ADP**, serotonina, ecc.
 - espressione di recettori per Tsp, Fn, Fg
 3. **Risposta biochimica**
 - aumento del **Ca²⁺** citosolico necessario per:
 - attivazione di enzimi (PLA₂, COX, lipossigenasi ...)
 - attività contrattile ed emissione di pseudopodi
 - attivazione del **metabolismo dell'AA**
 - sintesi di trombossano (TxA₂)
 - aumento di glicogenolisi, glicolisi e respirazione mitocondriale con produzione di **piruvato, ATP, ADP**
 - generazione di **trombina**, potente attivatore delle PLT
- Trombina e ADP reclutano nuove piastrine attivandole**

AGGREGAZIONE

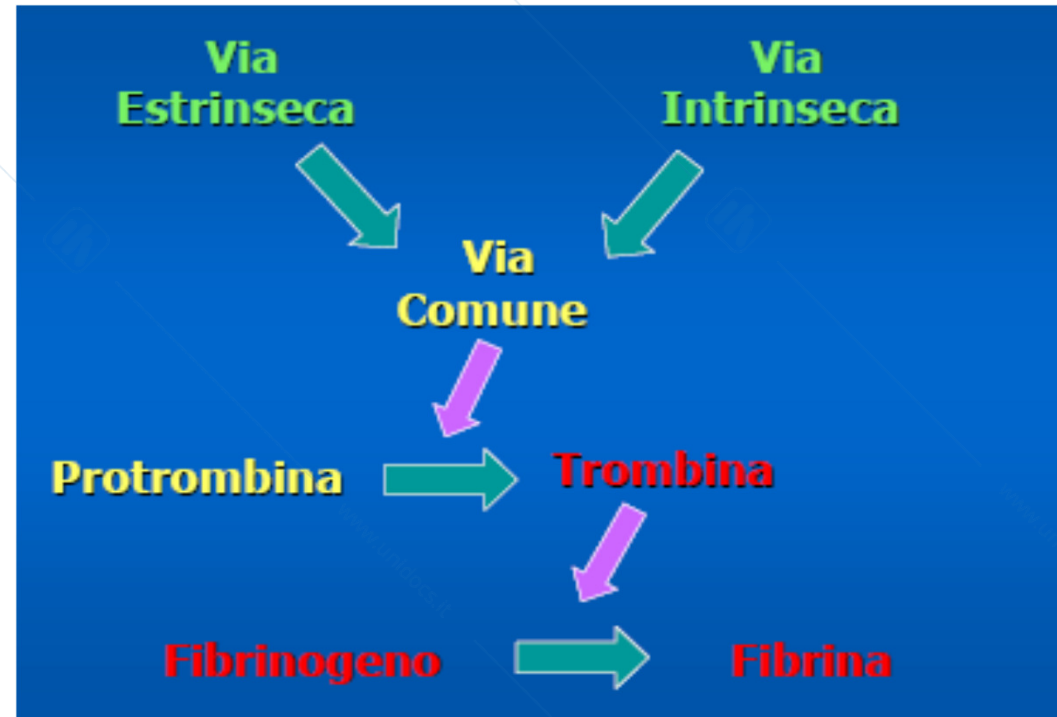
1. Sulle prime PLT adese si depositano fibrinogeno, trombospondina, vWF, fibronectina
2. Le molecole dell'adesione attivate legano queste proteine adesive.
3. Formazione di un complesso macromolecolare Ca^{2+} -dipendente responsabile della **aggregazione piastrinica irreversibile.**



Formazione del tappo piastrinico

3. CASCATA DELLA COAGULAZIONE

- In vitro, si distinguono due vie di attivazione della cascata della coagulazione:
- **via intrinseca**
- **via estrinseca**,
convergono in una **via comune** a livello del **fattore X**



Le due vie differiscono principalmente per:

- 1) l'agente iniziale che le attiva;
- 2) il numero di fattori coinvolti nella cascata.

I FATTORI DELLA COAGULAZIONE

- Indicati con numero romano secondo l'ordine di scoperta dei singoli fattori
- Tutti i fattori, eccetto il TF, circolano nel plasma in una forma inattiva (zimogeno o precursore)
- Le forme attive sono contraddistinte da una lettera "a" in basso a dx del numero romano.

Caratteristiche dei fattori di coagulazione

- Proteasi Seriniche;
- Cofattori;
- Proteine strutturali.

Proteasi Seriniche

Fattore VII *
Fattore IX *
Fattore X *
Fattore XI
Fattore XII
Protrombina *
Proteina C *

Cofattori

Fattore VIII
Fattore V
Fattore Tissutale
Fattore di
von Willebrand

Proteine strutturali

Fibrinogeno

(* Tali fattori insieme a Proteina S, quest' ultima con funzione regolatoria sono vitamina K dipendenti)

Vitamina K

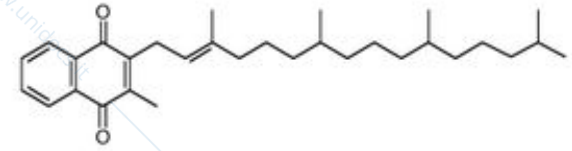
Alimenti

- Vegetali verdi (Fillochinone)
- Fegato, pancetta, uova

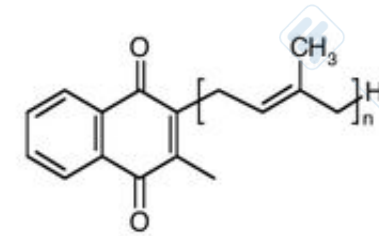
Sintesi endogena da parte della normale flora batterica intestinale (*E. coli*) (Menachinoni)

Metabolismo

- Assorbimento nell'ileo e nel colon dipendente da normale funzionalità biliare e pancreatica, favorito dalla contemporanea presenza di grassi.
- Incorporazione nei chilomicroni → fegato → VLDL → trasporto ai tessuti.
- Accumulo modesto nel fegato e in altri organi.
- Richiesto un apporto continuo con la dieta



Fillochinone (vit. K1)



Menachinoni (vit. K2)

Vitamina K

Coenzima di una carbossilasi → carbossilazione di residui di acido glutammico con formazione di **acido gamma-carbossiglutammico (Gla)** i cui residui carbossilici sono in grado di legare ioni Ca^{2+}

La reazione di carbossilazione interessa:

- La protrombina ed i fattori VII, IX e X della coagulazione,
- L'ostetocalcina a livello dell'osso

Idrochinone (KH₂) è la forma attiva della vit.K ottenuto da reazione di riduzione catalizzata da una riduttasi NADPH-dipendente

Farmaci anticoagulanti (es. warfarin) inibiscono la riduttasi → blocco della formazione di KH₂ → ridotta produzione di fattori della coagulazione maturi.

La via estrinseca della coagulazione

- La lesione di un vaso sanguigno produce la liberazione, dalle cellule danneggiate, di fosfolipidi e del fattore tissutale (TF).



Attivazione del fattore VII

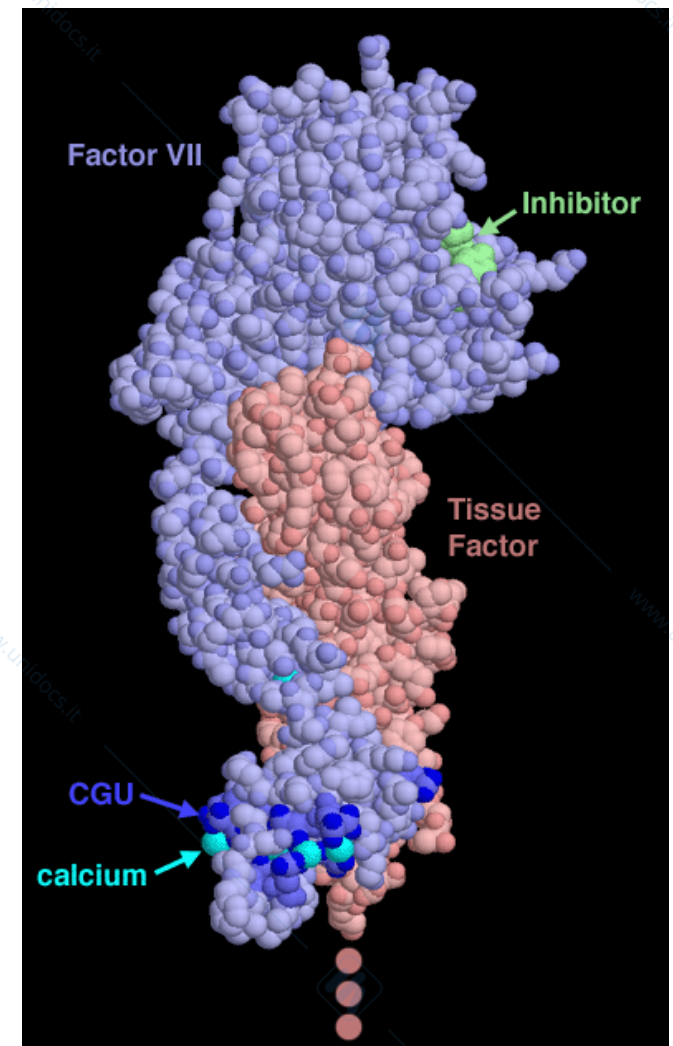


Attivazione della "via comune"

- La via estrinseca è più rapida per il minor numero di fattori che vi prendono parte.

Fattore tissutale (TF)

- TF (fattore III, trombochinasi o CD142): glicoproteina di membrana presente a livello dei tessuti subendoteliali dai quali viene liberato in seguito ad un trauma. Ne è stata identificata anche una forma solubile.
- Funziona da recettore ad alta affinità per il fattore VII della coagulazione.
- Il complesso TF-fattore VII è responsabile dell'avvio della via estrinseca della coagulazione.
- Le cellule endoteliali normalmente non esprimono TF, eccetto quando esposte a citochine pro-infiammatorie: TNF- α , IL-1, ecc.



Tromboplastina

- Reagente di laboratorio di origine placentale, utilizzato per la misurazione del tempo di protrombina (PT).
- **Combinazione di fosfolipidi e di TF necessari** entrambi per l'attivazione della via estrinseca della coagulazione.
- La tromboplastina parziale è costituita dai soli fosfolipidi senza TF. Viene utilizzata per misurare la via intrinseca della coagulazione con il test aPTT (activated partial thromboplastin time).

La via intrinseca della coagulazione

- Attivazione del **fattore XII (fattore di Hageman)** in seguito al contatto del sangue/plasma con una superficie con carica negativa: es. macromolecole di collagene delle membrane basali e dei tessuti connettivi o vetro.
- Segue l'attivazione a cascata degli altri fattori
- Via più lenta rispetto alla via alternativa perché comprende un maggior numero di fattori (XII, XI, IX e VIII).

Ruolo della superficie piastrinica

- **I fosfolipidi favoriscono la cascata coagulativa**
 - concentrando e posizionando i diversi fattori.
 - limitando spazialmente la formazione del coagulo
- **Gli ioni Ca^{2+} si legano ai gruppi gamma-carbossilici presenti sui fattori della coagulazione;**
- **la presenza dei gruppi carbossilici è dipendente dalla vit.K**

Regolazione e controllo biochimico della coagulazione

- La coagulazione è circoscritta nel punto di lesione.
- fattori inibenti evitano la propagazione e la coagulazione di tutto il sangue,
 - **Antitrombina III (AT-III)**: legata all'eparina, plasmatica o presente sulle superfici endoteliali, agisce sulla maggior parte dei fattori attivati, in particolare trombina.
 - **Proteina C**: Sintesi epatica vit.K-dipendente. Presente nel plasma o adesa alle cellule endoteliali. Viene attivata dal complesso trombina-trombomodulina. Inattiva i fattori Va e VIIa in presenza del cofattore **proteina S**.

Effetti molteplici della trombina

- **Feed back positivo:** attiva diversi fattori della coagulazione: fattori XIII, V, VIII e XI.
- **Feed back negativo:** interagisce con la trombomodulina ed attiva la proteina C
- La trombina è **inattivata dall'antitrombina III (AT-III)** la cui azione è potenziata dall'eparina.

Sistema della fibrinolisi

- Il coagulo è reso instabile dalla attivazione dell'enzima del sistema fibrinolitico, la **plasmina**
- Durante la formazione del coagulo il **plasminogeno è legato alla rete di fibrina**
- Le cellule endoteliali sintetizzano un **attivatore del plasminogeno (PA)** che converte il plasminogeno in plasmina;
- La plasmina degrada la fibrina provocando la lisi del coagulo.
- Le cellule endoteliali sintetizzano anche l'**inibitore dell'attivatore del plasminogeno di tipo 1 (PAI-1)** mentre la plasmina è inibita dalla **antiplasmina- α_2** .

Riepilogo delle fasi della emostasi

A. Dopo il danno vascolare, fattori locali neuro-umorali inducono una transitoria vasocostrizione.

B. Le piastrine aderiscono alla membrana basale esposta (collagene) grazie al vWF; vanno incontro ad attivazione modificando la forma e rilasciando il contenuto dei granuli. L'ADP e il TXA₂ rilasciati inducono ulteriore aggregazione piastrinica e formazione del tappo primario

Riepilogo delle fasi della emostasi

C. L'attivazione locale della cascata della coagulazione (che coinvolge TF e fosfolipidi piastrinici) provoca la polimerizzazione della fibrina che "cementa" le piastrine fino alla formazione di un tappo emostatico secondario.

D. Meccanismi di controllo, come il rilascio del t-PA (sistema fibrinolitico) e la trombomodulina (che blocca la cascata della coagulazione), limitano il processo emostatico.

Esami di laboratorio per lo studio della coagulazione

- **Tempo di emorragia:** permette di valutare, dopo aver punto il polpastrello o il lobo di un orecchio, il tempo necessario per l'arresto dell'emorragia
- **Il tempo di trombina (TT):** Misura il tempo di formazione del coagulo dopo aggiunta di trombina esogena
- **Tempo di Quick o PT (tempo di protrombina):** valuta la via estrinseca e le tappe finali della cascata coagulativa.
- **Tempo di tromboplastina parziale (PTT o aPTT):** valuta la via intrinseca e le tappe finali della coagulazione
- **Dosaggio dei singoli fattori della coagulazione:** conferma di carenza di uno o più fattori, in caso di alterazioni del PT e/o del PTT.
- **Dosaggio degli inibitori della coagulazione:** sospetto di trombosi familiare o in giovani con trombosi venosa e/o arteriosa (es. AT-III).

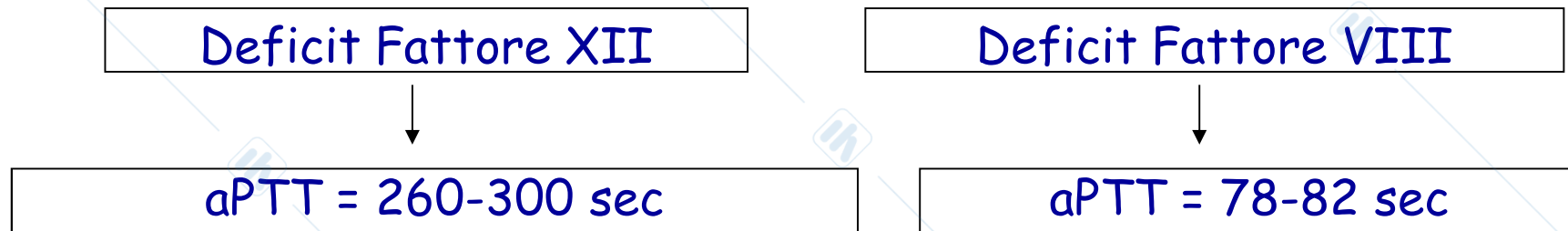
PT (tempo di protrombina o tempo di Quick)

- Plasma + tromboplastina (TF+fosfolipidi) + Ca^{2+}
- tempo necessario alla formazione del coagulo di fibrina
- valori normali 10-12"
- Valuta la **via estrinseca** della coagulazione
- L'allungamento del PT indica possibili deficit acquisiti o congeniti dei fattori VII, X, V, protrombina (II) e fibrinogeno (I).
- Viene utilizzato principalmente per il monitoraggio della terapia anticoagulante con dicumarolici e **Warfarin** che inibiscono l'attività dei fattori VII, X e della protrombina.

APTT (activated partial tromboplastin time) o PTT (partial tromboplastin time)

- Plasma + fosfolipidi + Ca^{2+}
- "parziale" perché tra i reagenti non c'è il TF
- tempo necessario alla formazione del coagulo di fibrina
- Valore normale 28-40"
- Valuta la **via intrinseca**
- incrementi dell'APTT fanno sospettare deficit dei fattori XII, XI, IX, VIII
- Utilizzo comune: **monitoraggio della terapia anticoagulante con eparina.**

L'allungamento dell'APTT è maggiore
quanto più è a monte la carenza



Nuovi farmaci anticoagulanti

TAO: terapia anticoagulanti orali

- Dabigatran: inibitore della trombina
- Rivaroxaban: inibitore fattore Xa
- Ipaxaban: inibitore fattore Xa

Cosa può succedere in caso di difettoso funzionamento dei sistemi emostatici?

Ridotta attività \Rightarrow malattie emorragiche



Eccessiva o inappropriata attività \Rightarrow trombosi



Malattie cardiovascolari: principale causa di morte nel mondo occidentale

LA CASCATA DELLA COAGULAZIONE

