

Approccio multidisciplinare alla diagnosi delle malattie emorragiche congenite

Massimo Franchini¹, Giuseppe Lippi²

¹Servizio di Immunoematologia e Trasfusione, Azienda Ospedaliera di Verona

²Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologiche e Biomediche, Università degli Studi di Verona, Verona

ABSTRACT

Multidisciplinary approach to the diagnosis of congenial bleeding disorders

Congenital bleeding disorders are puzzling pathologies. Correct and accurate diagnostic and therapeutic approaches require close collaboration among all specialists (laboratory physicians, clinicians, surgeons) involved in the care of these occasionally critical patients, requiring inevitably a multidisciplinary approach. The aim of this review is to analyze briefly the major hereditary bleeding disorders (hemophilia A, B, C and von Willebrand disease), providing a systematic approach to the bleeding patient. Finally, we focus on some important preanalytical factors (age, sex, hormonal status, blood type, phlogistic reactions), influencing the coagulation system.

RIASSUNTO

Le malattie emorragiche congenite sono patologie complesse, la cui diagnosi e la cui terapia richiedono stretta collaborazione tra i vari specialisti (medici laboratoristi, clinici, chirurghi) impegnati nella cura quotidiana di questi pazienti. In questa breve rassegna sono analizzati i principali disordini ereditari ad impronta emorragica (emofilia A, B, C, malattia di von Willebrand) e l'approccio diagnostico al paziente con sospetta coagulopatia ereditaria. Infine, sono valutati alcuni fattori preanalitici (età, sesso, condizioni ormonali, gruppo sanguigno, flogosi) in grado di modificare la funzionalità del sistema emostatico e quindi rendere più complessa la diagnosi.

INTRODUZIONE

I disturbi congeniti dell'emostasi ad impronta emorragica sono patologie complesse che richiedono un approccio multidisciplinare, sia dal punto di vista diagnostico, sia terapeutico. Nell'iniziale fase diagnostica, è necessaria una stretta collaborazione tra il medico ematologo-trasfusionista ed il collega laboratorista che si occupa di coagulazione, sia per l'interpretazione del risultato degli esami di screening coagulativi, sia per la successiva scelta degli esami d'approfondimento (1-5). Stretta collaborazione deve essere mantenuta anche durante la fase terapeutica, poiché dal corretto monitoraggio dell'eventuale fattore carente infuso dipende l'esito di procedure invasive o la guarigione d'episodi emorragici. La gestione del paziente con coagulopatie congenite deve inoltre coinvolgere altri specialisti, soprattutto pediatri, medici di famiglia, chirurghi ed internisti, che possono incontrare il paziente in fase diagnostica o terapeutica. Conseguentemente, il paziente con coagulopatia congenita ad impronta emorragica si trova spesso ad essere il perno di una ruota complessa, i cui perni sono idealmente rappresentati da tutte le specialità mediche alle quali può potenzialmente afferire, ed i cui raggi rappresentano collegamenti interdisciplinari necessari per la gestione ottimale di questo tipo di patologie (Figura 1).

In questa breve rassegna sarà affrontata, in ottica multidisciplinare, la diagnosi delle malattie emorragiche congenite, analizzando e soppesando gli interventi delle

discipline mediche chiamate in causa nel complesso iter diagnostico. Saranno descritte brevemente le principali malattie emorragiche congenite ed i relativi esami di screening, focalizzando l'attenzione su metodiche emergenti, quali le prove di funzionalità emostatica piastrinica. Saranno poi analizzate eterogeneità e complessità dell'approccio a queste patologie, considerando l'impatto d'alcune importanti variabili preanalitiche (sesso, età, ormoni, gruppo sanguigno, stati infiammatori, patologie varie) sulla concentrazione plasmatica di dei fattori della coagulazione. Infine, sarà ribadito come decisioni diagnostiche e terapeutiche debbano essere prese solo dopo un'attenta valutazione ed integrazione dei dati provenienti dall'anamnesi (emorragica familiare e personale), dagli esami di laboratorio e dall'esame clinico.

LE MALATTIE EMORRAGICHE CONGENITE

In successione sono analizzate sinteticamente le più frequenti coagulopatie congenite, in particolare l'emofilia A, l'emofilia B, l'emofilia C e la malattia di von Willebrand, causate rispettivamente dalla carenza dei fattori VIII, IX, XI e di von Willebrand.

Emofilia A

L'emofilia A è una classica malattia ereditaria a trasmissione diagenica, con incidenza stimata di 1 caso ogni 5000 neonati maschi e causata dal deficit di fattore VIII

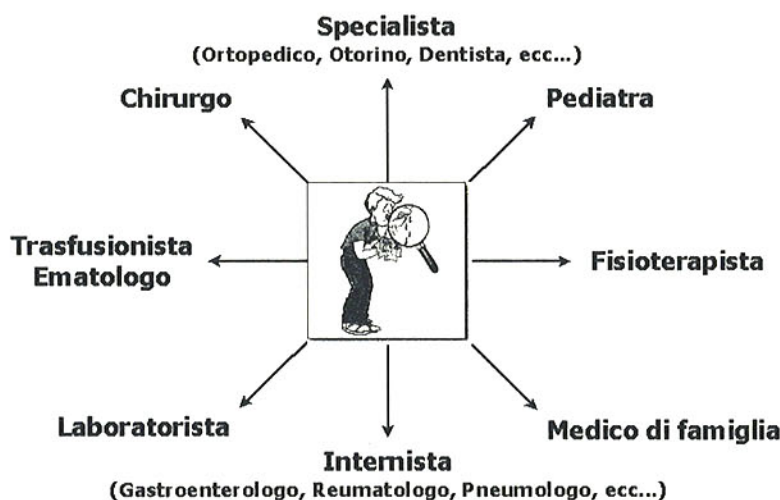


Figura 1

Approccio multidisciplinare alla diagnosi ed alla terapia del paziente con coagulopatie congenite ad impronta emorragica

della coagulazione (6). Il fattore VIII, o fattore antiemofilico, è una proteina ad alto peso molecolare che regola l'attivazione del fattore X nella via intrinseca della coagulazione. La proteina ha un "core" globulare con struttura bicatenaria, connessa mediante sottile filamento ad una struttura periferica satellite, denominata *B domain*. La funzione di quest'ultima non è nota, ma non appare essenziale per l'attività procoagulante della proteina. Il fattore antiemofilico è sintetizzato dalle cellule del parenchima epatico e circola formando complessi con il fattore di von Willebrand, che ne funge da carrier, proteggendolo da rapida degradazione enzimatica. L'emofilia A è trasmessa come carattere recessivo legato al cromosoma X, come già osservato da John Conrad Otto nel 1803, descrivendo una famiglia del New Hampshire: "i maschi sono i soli affetti da questa grave patologia e le femmine, sebbene non siano colpite dalla malattia, sono in grado di trasmetterla ai figli maschi". Dal punto di vista laboratoristico, l'emofilia A è caratterizzata da un eterogeneo allungamento del tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT), variabile in rapporto alla severità della malattia, e da una ridotta attività coagulante del fattore VIII (FVIII:C). Tempo di protrombina (PT), tempo d'emorragia e conta piastrinica appaiono solitamente nella norma. Sulla base dell'attività residua di fattore VIII, la patologia è suddivisa in forma grave (fattore VIII < 1%), moderata (fattore VIII compreso tra 1 e 5%) e lieve (fattore VIII compreso tra 5 e 30%). Le principali caratteristiche cliniche dell'emofilia A sono rappresentate dalla facilità alla formazione d'ecchimosi/ematomi, emorragie intra-articolari (emartri) e muscolari che comportano, con il tempo, la comparsa di gravi sequele invalidanti. La causa di morte più frequente è tuttora l'emorragia del sistema nervoso centrale. Le manifestazioni emorragiche sono legate alla severità della patologia e quindi all'entità del deficit. Nelle forme lievi/moderate gli episodi di sanguinamento occorrono dopo traumi importanti o interventi chirurgici; nelle forme più severe, episodi emorragici a livello muscolare e/o intra-articolare (ematomi ed emartri) possono insorge-

re spontaneamente e/o a seguito di traumi lievi.

Emofilia B

Analogamente all'emofilia A, rispetto alla quale però è più rara (incidenza di 1 caso ogni 30000 neonati maschi), l'emofilia B è una malattia ereditaria trasmessa come carattere recessivo legato al cromosoma X, che riconosce quale causa il deficit del fattore IX della coagulazione (1-3). Il fattore IX è un proenzima a singola catena, trasformato in forma attiva (IXa) dal fattore XIa. Successivamente, il fattore IXa, in sinergia al fattore VIIIa, agisce sul fattore X, attivandolo. Il fattore IX fa parte di un gruppo di proteine, sintetizzate dal fegato, la cui produzione in forma funzionale richiede la presenza di vitamina K. La classificazione e la clinica dell'emofilia B appaiono sovrapponibili a quelle dell'emofilia A. La diagnosi di laboratorio è posta sulla base di allungamenti variabili dell'APTT, in contemporanea presenza di ridotta attività coagulante del fattore IX (F IX:C). A causa dell'ereditarietà recessiva legata al cromosoma X, le donne possono essere eccezionalmente colpite da queste due malattie. Più comune è la condizione di portatrice, associata ad attività coagulante lievemente ridotta di fattore VIII o IX (fenomeno della lionizzazione) e quadro clinico paragonabile a quello di un'emofilia lieve. La menorragia rappresenta il più frequente, e spesso unico, sintomo nelle donne portatrici d'emofilia A o B.

Emofilia C

Il deficit del fattore XI della coagulazione, chiamato anche emofilia C, è un raro disordine ereditario dell'emostasi, trasmesso come carattere autosomico recessivo e prevalenza nella popolazione generale in forma omozigote di 1:100000 (7,8). Un'importante caratteristica di questa patologia è la rarità di sanguinamento spontaneo, pur in presenza di rischio di gravi complicanze emorragiche post-chirurgiche e post-traumatiche. Spesso non vi è correlazione tra entità del difetto e severità clinica: pazienti con un difetto eterozigote (attività del fattore compresa tra

20 e 60%) possono avere un quadro emorragico (menorragia, sanguinamento massivo post-chirurgico o post-traumatico) simile a pazienti con deficit omozigote (con attività inferiori al 20%). Pertanto, la valutazione a priori del rischio di complicanze emorragiche (ad esempio emorragie post-chirurgiche) appare molto complessa nei pazienti con deficit lieve. A questo fine appare essenziale l'anamnesi familiare: pazienti con anamnesi positiva per sanguinamento hanno maggior probabilità di incorrere in episodi emorragici rispetto a pazienti con anamnesi emorragica negativa. Per questo motivo, l'anamnesi familiare può apparire più rilevante dell'attività del fattore nella valutazione del rischio emorragico. Il deficit di fattore XI rappresenta il secondo disturbo ereditario della coagulazione per frequenza riscontrato in donne con menorragia come segno clinico prevalente: uno studio recente, condotto su 150 donne, ha documentato una prevalenza complessiva di patologie ereditarie della coagulazione del 17%, con prevalenza di malattia di von Willebrand del 13% e di deficit di fattore XI del 4% (9). Al contrario, la menorragia appare il sintomo più frequente nelle donne in età fertile con emofilia C, poiché presente in circa il 40%.

Malattia di von Willebrand

La malattia di von Willebrand (VWD) è la più comune tra le malattie emorragiche ereditarie, con trasmissione autosomica dominante ed incidenza fino a 5-10 casi per 1000 abitanti, considerando anche le forme più lievi (10). La malattia fu originariamente descritta da Erick von Willebrand nel 1926, osservando una bambina proveniente dalle Isole Åland, affetta da una coagulopatia le cui caratteristiche cliniche differivano dalle forme classiche d'emofilia note fino a quel tempo, per la presenza di sindrome emorragica muco-cutanea, di trasmissione di tipo autosomica dominante e per il riscontro di un tempo di sanguinamento insolitamente allungato. La VWD è sostenuta ad un difetto quantitativo (tipo 1 e 3) o qualitativo (tipo 2) del fattore di von Willebrand (VWF), glicoproteina sintetizzata dai megacariociti e dalle cellule endoteliali, che circola nel plasma come famiglia di multimeri. Il VWF è essenziale per una normale emostasi primaria: esso è una proteina adesiva ed ha un ruolo essenziale nei processi di adesione piastrinica alle superfici subendoteliali e nelle interazioni tra le singole piastrine, attraverso il legame alla glicoproteina Ib, in corrispondenza delle sedi di danno vascolare. Il VWF svolge anche un'importante funzione stabilizzatrice del fattore VIII, proteggendolo dalla degradazione. Per questo motivo, in corso di VWD, l'attività del fattore VIII può apparire anche sostanzialmente ridotta, non a causa di minor sintesi, ma per aumentata degradazione enzimatica. La VWD si manifesta clinicamente come sindrome emorragica muco-cutanea, caratterizzata da ecchimosi, epistassi, menometrorragie, sanguinamento prolungato dopo lesioni superficiali, o sanguinamento successivo a traumi o in occasione d'interventi chirurgici. Data la frequenza di questa diatesi emorragica, essa deve essere sempre sospettata in individui con manifestazioni emorragiche esagerate rispetto al trauma. L'approccio di laboratorio deve prevedere l'esecuzione delle consuete prove di

funzionalità piastrinica, APTT, determinazione del F VIII:C, determinazione antigenica (VWF:Ag) e funzionale (cofattore ristocetinico o VWF:RCo) del VWF.

I tre principali tipi di VWD sono tutti caratterizzati da allungamento variabile del tempo d'emorragia. Il tipo I, a trasmissione autosomica dominante, rappresenta circa l'80% dei casi ed è caratterizzato da deficit quantitativo del fattore. Esso è riconoscibile per consensuale riduzione del F VIII:C e del VWF, sia antigenico che funzionale. Il tipo II (trasmissione autosomica dominante), di cui esistono numerosi sottotipi (2A, 2B, 2M, 2N), rappresenta circa il 10-15% dei casi ed è caratterizzato da deficit qualitativo del fattore. Esso è solitamente caratterizzato da ridotta attività di cofattore ristocetinico, mentre VWF:Ag e il F VIII:C appaiono nella norma o solo lievemente ridotti. Infine, il tipo III (ereditarietà autosomica recessiva), forma più rara e severa, è riconoscibile per livelli marcatamente ridotti o indosabili di VWF (sia antigene che cofattore ristocetinico) e per conseguente riduzione del F VIII:C. La tabella 1 riporta le principali caratteristiche delle più importanti coagulopatie congenite. VWD rappresenta il disordine emorragico riscontrato più frequentemente in donne con menorragia, con prevalenza variabile dal 7% al 20% (11-13).

APPROCCIO SISTEMATICO AL PAZIENTE EMORRAGICO

Gli esami di laboratorio per la valutazione delle anomalie dell'emostasi hanno il compito di indirizzare primariamente verso la fase responsabile del difetto (1-3). Chiaramente, non è necessario estendere lo screening a tutti, ma solamente a pazienti con anamnesi emorragica suggestiva e familiari di pazienti con deficit ereditari ad imminente emorragia. Gli esami di screening sono anche utili al fine di predire il rischio emorragico di soggetti asintomatici, sottoposti a procedimenti invasivi poiché, come detto, la diatesi emorragica di pazienti con forme lievi può esordire solo in seguito a traumi o interventi chirurgici. E' necessario poi riaffermare con forza che l'approccio diagnostico più accurato prevede sempre la raccolta di un'approfondita anamnesi emorragica personale e familiare. Infatti, età e caratteristiche d'insorgenza della sintomatologia, ereditarietà, tipo e durata dell'emorragia, concomitanza all'assunzione di farmaci, possono orientare verso disordini emorragici ereditari o acquisiti. Inoltre, la combinazione dei vari fattori può essere d'orientamento verso una specifica patologia. Poste queste premesse, l'approccio diagnostico prevede una distinzione tra esami di screening ed analisi definite di secondo livello, destinate a pazienti con diatesi emorragica sospetta, anamnesi familiare suggestiva e risultato degli esami di screening nella norma (vedi Tabella 2).

Esami di screening

Gli esami di screening si suddividono tra quelli che esplorano la cosiddetta fase vasopiastrinica, e quelli più espressamente rivolti ad indagare la fase coagulativa. Gli

Tabella 1

Principali caratteristiche delle più frequenti coagulopatie congenite

Patologia	Fattore carente	Classificazione	Ereditarietà	Diagnosi
M. von Willebrand	VWF	Tipo I	Autosomica dominante	TE ↑; APTT ↑; F VIII:C ↓; VWF:Ag ↓; VWF:RCo ↓
		Tipo II	Autosomica dominante	TE ↑; APTT N/ ↑; F VIII:C N/ ↓; VWF:Ag N/ ↓; VWF:RCo ↓
		Tipo III	Autosomica recessiva	TE ↑↑; APTT ↑↑; F VIII:C ↓↓; VWF:Ag ↓↓; VWF:RCo ↓↓
Emofilia A	F VIII	Grave (F VIII <1%)	Recessiva legata all'X	APTT ↑; F VIII:C ↓
		Moderata (F VIII 2-5%)		
		Lieve (F VIII 6-30%)		
Emofilia B	F IX	Grave (F VIII <1%)	Recessiva legata all'X	APTT ↑; F IX:C ↓
		Moderata (F VIII 2-5%)		
		Lieve (F VIII 6-30%)		
Emofilia C	F XI	Omozigote (F XI <20%) Eterozigote (F XI 20-60%)	Autosomica recessiva	APTT ↑; F XI:C ↓

Legenda: VWF = fattore di von Willebrand; FVIII = fattore VIII; F IX = fattore IX; F XI = fattore XI; VWF:Ag = fattore di von Willebrand - antigene; VWF:RCo = fattore di von Willebrand - cofattore ristocetico; FVIII:C = fattore VIII coagulante; FIX:C = fattore IX coagulante; FXI:C = fattore XI coagulante; N = normale; ↑ = aumentato; ↑↑ = marcatamente aumentato; ↓ = ridotto; ↓↓ = marcatamente ridotto; Intervallo di riferimento: VWF:Ag 60-150%; VWF:RCo 50-145%; F VIII:C 50-150%; F IX:C 50-150%; F XI:C 60-140%.

Tabella 2

Esami per la valutazione dell'emostasi

Esami di screening	Esami di secondo livello
a) Valutazione della fase vasopiastrinica (emostasi primaria) - Valutazione della funzione emostatica primaria (PFA-100) - Tempo di emorragia - Conta piastrinica	a) Aggregazione piastrinica b) Determinazione dei nucleotidi piastrinici c) Determinazione del Fattore piastrinico 3 d) Determinazione del VWF (antigene e cofattore ristocetico)
b) Valutazione della cascata coagulativa (emostasi secondaria) - Tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT) - Tempo di protrombina (PT) - Determinazione del fibrinogeno (metodica funzionale)	a) Determinazione del fattore XIII della coagulazione b) Determinazione dell'antiplasmina c) Determinazione dell'attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA) d) Determinazione dell'inibitore del t-PA e) Determinazione del VWF (antigene e cofattore ristocetico) f) Tempo di trombina e tempo di reptilase g) Determinazione de I fibrinogeno (metodica immunologica)

esami che esplorano la fase vasopiastrinica comprendono conta piastrinica, valutazione della funzionalità emostatica piastrinica *in vitro* e tempo d'emorragia (secondo Ivy). I valori riscontrati con questi ultimi due esami possono essere allungati sia in presenza d'alterazioni piastriniche quantitative (piastrinopenie), sia qualitative (piastrinopatie). Dall'associazione del risultato di conta piastrinica e prove di funzionalità è possibile solitamente differenziare le alterazioni qualitative da quelle quantitative. Ulteriori esami specifici (aggregazione piastrinica, misura delle glicoproteine di membrana o dei nucleotidi intraplastrinici) consentono d'identificare il tipo d'alterazione qualitativa. Gli esami di screening per l'esplorazione diretta della cascata coagulativa sono APTT, PT e determinazione del fibrinogeno con metodica funzionale. Malgrado recenti

scoperte abbiano oggi sancito l'abbandono del classico modello d'attivazione *in vivo* della cascata coagulativa, basato sulle tre storiche vie (estrinseca, intrinseca e comune), esso mantiene inalterata validità nell'interpretazione degli esami diagnostici *in vitro* (Fig. 2). Stabilito che l'importanza della via intrinseca nel corso dei fisiologici processi d'attivazione della cascata coagulativa *in vivo* è modesta, se non nulla (pazienti omozigoti per deficit di fattore XII non manifestano alcuna diatesi emorragica), eventuali anomalie quantitative o qualitative dei fattori che la compongono sono tuttora validamente riflesse dall'APTT, tecnica che prevede l'attivazione *in vitro*, ad opera di vari substrati (acido ellagico, caolino, silice), del fattore XII ed, in successione a cascata, dei fattori XI e IX, in presenza di fattore VIII. Allungamenti contestuali di PT ed

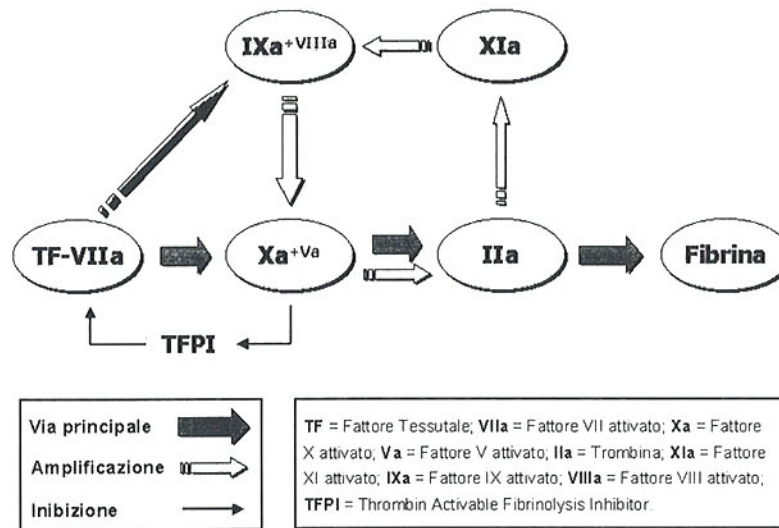


Figura 2
 Modello recente d'attivazione della cascata coagulativa in vivo (27)

APTT riflettono solitamente alterazioni che coinvolgono fattori appartenenti alla via comune, secondo il classico modello della cascata coagulativa, mentre alterazioni isolate sono abitualmente imputabili ad alterazioni di fattori specifici appartenenti alla via intrinseca (APTT) o estrinseca (PT). La determinazione contemporanea di PT ed APTT consente quindi, non solo di confermare od escludere alterazioni della coagulazione, ma anche d'orientare maggiormente la diagnosi. E' peraltro evidente che il risultato di PT ed APTT risente di molteplici variabili, non ultime quelle analitiche, essenzialmente riconducibili a tipo di strumentazione e reattivi utilizzati. Tra i reattivi in commercio, la sensibilità ai deficit dei vari fattori della coagulazione è molto eterogenea; in alcuni casi è possibile notare allungamenti a seguito di modeste carenze fattoriali isolate, in altri casi l'allungamento richiede deficit più marcati. A titolo esplicativo, le tabelle 3 e 4 riportano un'analisi delle possibili anomalie dell'emostasi in base ai risultati degli esami di screening e la sensibilità di alcuni reattivi commerciali a deficit fattoriali isolati.

Esami di secondo livello

L'esecuzione degli esami di screening consente d'identificare la maggioranza dei disordini emorragici congeniti. Esistono, tuttavia, patologie emorragiche più rare e complesse che possono sfuggire alle indagini preliminari. Pertanto, pazienti con anamnesi familiare e personale sospetta o suggestiva, in presenza di esami di screening normali, dovrebbero essere auspicabilmente sottoposti ad esami definiti di "secondo livello". Tali esami sono quindi rivolti alla ricerca di anomalie congenite che non necessariamente si riflettono in alterazioni degli esami di screening e comprendono: la determinazione del fattore XIII (carenze anche gravi sfuggono sia al PT, sia all'APTT); esami che valutano fibrino-formazione (tempo di trombina e tempo di reptilase) e fibrinolisi (determinazione dell'antiplasmina, dell'attivatore tessutale del plasminogeno, dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno o PAI); la determinazione del fattore piastrinico 3. Infine, all'elenco è abitualmente aggiunto la misurazione del VWF, antigenico e funzionale, poiché eventuali anomalie quantitative o qualitative dello stesso non sempre si riflettono in allungamento degli esami di screening.

Tabella 3
 Interpretazione del risultato degli esame di screening dell'emostasi nell'indagine delle malattie emorragiche congenite

PT	APTT	PLT	TE/PFA-100	Fase dell'emostasi alterata	Possibili fattori anormali
N	N	R	A	Primaria	Piastrinopenia
N	N	N	A	Primaria	Piastrinopatia
N	A	N	A	Primaria e Secondaria	Malattia di von Willebrand
N	A	N	N	Secondaria	Deficit fattori della via intrinseca
A	N	N	N	Secondaria	Deficit fattori della via intrinseca
A	A	N	N	Secondaria	Deficit fattori della via comune
A	A	N	A	Primaria e Secondaria	Deficit globali dell'emostasi

PT = tempo di protrombina; PLT = conta piastrinica; APTT = tempo di tromboplastina parziale attivato; TE = tempo di emorragia; N = normale; A = allungato; R = ridotto

Tabella 4

Sensibilità degli esami di screening della coagulazione a carenze fattoriali isolate. La sensibilità è espressa in termini d'attività residua del fattore in grado di determinare l'allungamento della prova coagulativo (28)

Fattore	Minimo per l'emostasi	PT	APTT
Fattore II	30-40%	35%	32%
Fattore V	10%	54%	50%
Fattore VII	10%	45%	26%
Fattore VIII	30%	-	64%
Fattore IX	30-50%	-	64%
Fattore X	10%	48%	22%
Fattore XI	20-30%	-	48%
Fattore XII	0%	-	60%

PROVE DI FUNZIONALITA' EMOSTATICA PIASTRINICA

Recentemente, è stato sviluppato un affidabile esame di laboratorio per la valutazione dell'emostasi primaria *in vitro*, che in molti laboratori ha in breve affiancato e successivamente sostituito il tempo d'emorragia (secondo Ivy) come esame di screening: la prova di funzionalità emostatica piastrinica su Platelet Function Analyzer 100 (PFA-100) (14-20). Malgrado esistano numerosi strumenti parzialmente o completamente automatizzati in grado di saggiare la funzionalità piastrinica *in vitro*, per caratteristiche tecniche ed analitiche il PFA-100 è il più diffuso. In sintesi, l'esame simula *in vitro* l'emostasi primaria, creando condizioni di flusso ematico simili a quelle presenti *in vivo*. L'analizzatore utilizza un piccolo volume di sangue intero anticoagulato (1 mL), aspirato e ricalcificato all'interno di cartucce monouso. Il sangue, attraversato il capillare d'aspirazione, raggiunge una microscopica apertura apicale, chiusa da una membrana porosa rivestita alternativamente da collagene e da due forti agonisti piastrinici: collagene-ADP (CADP) o collagene-epinefrina (CEPI). La presenza degli agonisti scatena l'attivazione piastrinica; la conseguente formazione di un coagulo alla superficie della membrana interrompe definitivamente il flusso di sangue all'interno del capillare. Il risultato dell'esame riflette quindi il tempo necessario a determinare la completa occlusione dell'apertura, ed è espresso in secondi, in termini di tempo di chiusura (CT). Il PFA-100 ha rivelato un'ottima efficienza analitica nello screening d'alcuni disordini emorragici congeniti ed acquisiti, tra i quali la VWD e difetti qualitativi e quantitativi delle piastrine. Inoltre, può essere utilizzato anche per il monitoraggio della terapia con desmopressina nei pazienti con VWD (20). Nella nostra realtà, in considerazione delle ottime prestazioni analitiche (in termini di precisione ed accuratezza), il PFA-100 è stato adottato quale prova di screening per i disturbi dell'emostasi primaria, sostituendo quasi completamente il tempo d'emorragia.

FATTORI CHE INFLUENZANO IL LIVELLO DEI FATTORI DELLA COAGULAZIONE

Numerose ricerche hanno documentato possibili variazioni dell'attività dei fattori della coagulazione nelle donne, soprattutto in relazione ad età, gruppo sanguigno, fase del ciclo mestruale, razza ed utilizzo di terapia estrogenica (21-26).

Da tempo è nota l'esistenza di una stretta relazione tra gruppo sanguigno ABO ed emostasi primaria, rapporto particolarmente evidente con il VWF. Infatti, gli antigeni di gruppo A, B e 0 sono legati con legame covalente ad N-glicani della proteina; la rimozione degli antigeni A e B ne comporta una riduzione d'attività. Per questa ragione, i livelli di VWF appaiono significativamente ridotti in individui con gruppo 0 rispetto a soggetti di gruppo differente (21-25). Il significato clinico di questa caratteristica condizione è poco noto. In alcuni casi è stato descritto un maggior rischio di complicanze emorragiche gastrointestinali in pazienti di gruppo 0 (22); al contrario, altri studi hanno documentato una maggiore incidenza di cardiopatia ischemica e trombosi in pazienti di gruppo non-0 (23). Alcune recenti indagini, volte ad analizzare la concentrazione plasmatica di VWF ed il tempo di emorragia in pazienti di diverso gruppo ematico (24,25), hanno osservato differenze significative, pur sempre nell'ambito della normalità, nei pazienti di gruppo 0 rispetto ai pazienti di gruppo non-0. In sintesi, non è possibile trarre conclusioni definitive sulla rilevanza biologica di queste presunte variabilità gruppo-specifiche nell'emostasi primaria ed il parametro migliore per stabilire la tendenza emorragica di un individuo di gruppo 0 e livelli di VWF *borderline* rimane tuttora l'anamnesi emorragica personale e familiare.

Il VWF tende ad aumentare con l'età; in individui con diagnosi di VWD tipo 1 la concentrazione plasmatica del fattore può aumentare nel tempo, tendendo a normalizzarsi e riducendo contestualmente il numero e la severità delle manifestazioni emorragiche. Infine, l'analisi del rapporto tra fattori della coagulazione e ciclo mestruale non ha documentato variazioni di APTT ed fattore XI. Al contrario, fibrinogeno, VWF:Ag e VWF:RCo mostrano significative fluttuazioni durante il ciclo, con picco massimo in concomitanza della fase luteinica. Quest'oscillazione appare meno evidente in donne che assumono contraccettivi orali, poiché essi producono un aumento dei livelli circolanti di VWF. Il fattore VIII, invece, mostra una cinetica opposta: infatti, mentre l'attività permane costante nelle donne che non usano contraccettivi orali, nelle donne che li utilizzano manifesta andamento ciclico analogo a quello del FVW. Infine, mentre gravidanza ed ipertiroidismo appaiono associate ad aumentata concentrazione plasmatica di VWF, l'ipotiroidismo si associa talora a ridotti valori di VWF.

Poiché la massima parte degli ormoni femminili si trova a livello basale all'inizio della fase follicolare (non oltre il settimo giorno del ciclo), è consigliabile misurare l'attività dei fattori della coagulazione proprio in questa fase. Inoltre, prima di eseguire gli esami coagulativi, è necessario sospendere tutti i farmaci (ad esempio gli estrogeni-

ci) che ne possono indurre fluttuazioni. In conclusione, quanto ora esposto prova come sia essenziale considerare accuratamente la possibile influenza ed interferenza di variabili preanalitiche nell'iter diagnostico dei difetti ereditari dei fattori della coagulazione. Inoltre, la conoscenza del ritmo circadiano dei vari fattori della coagulazione può essere importante per la programmazione di procedure invasive ed interventi chirurgici.

CONCLUSIONE

Quanto ora esposto rafforza ulteriormente il noto concetto che "la medicina è ben lungi dall'essere una scienza esatta". Il risultato di un esame emocoagulativo, pur prodotto in termini numerici e quantitativi, esprime ben poco come tale, ma rappresenta parte essenziale di un puzzle più ampio, nel quale la diagnosi corretta può essere raggiunta solamente a seguito dell'armonica integrazione a tutte le altre parti in gioco, rappresentate da quadro clinico ed obiettivo, nonché dall'anamnesi personale e familiare. Quest'obiettivo può essere conseguito unicamente attraverso lo sforzo congiunto degli specialisti di tutte le discipline mediche potenzialmente coinvolte nella gestione dei pazienti con queste patologie (Figura 2), in un approccio inevitabilmente multidisciplinare.

BIBLIOGRAFIA

- Rodeghiero F, Ballerini G. Patologia della coagulazione. In: Castoldi G, Liso V, editors. *Malattie del sangue e degli organi emopoietici*. Milano: McGraw Hill 2002;503-59.
- Gamba G. Diatesi emorragica. In: Ascari E, editor. *Il laboratorio di Ematologia*. Roma: Il Pensiero Scientifico Editore 1993;125-37.
- Liu MC, Kessler CM. A systematic approach to the bleeding patient. In: Kitchens CS, Alving BM, Kessler CM, editors. *Consultative Hemostasis and Thrombosis*. Philadelphia: WB Saunders Company 2002;27-39.
- Tura S. *Lezioni di Ematologia*. Bologna: Società Editrice Esculapio 1997.
- Zatti M, Lechi C. *Medicina di Laboratorio*. Milano: Edizioni Sorbona 2000.
- Hoyer LW: Hemophilia A. *N Engl J Med* 1994;330: 38.
- Bolton-Maggs PHB. Factor XI deficiency. *Baillere's Clin Haematol* 1996;9:355-68.
- Bolton-Maggs PHB. Bleeding problems in factor XI deficient women. *Haemophilia* 1999;5: 155-9.
- Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Owens D, Lee CA. Frequency of inherited bleeding disorders in women with menorrhagia. *Lancet* 1998;351:485-9.
- Rodghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand disease. *Blood* 1987;69:454-9.
- Dilley A, Drews C, Miller CH, et al. von Willebrand disease and other inherited bleeding disorders in women with diagnosed menorrhagia. *Obstet Gynecol* 2001;97:630-6.
- Ragni MV, Bontempo FA, Cortese Hassett CA. von Willebrand disease and bleeding in women. *Haemophilia* 1999;5:313-7.
- Lee CA. Women and inherited bleeding disorders: menstrual issues. *Sem Hematol* 1999;36:21-7.
- Lippi G, Franchini M, Brocco F, Manzato F. Influence of the ABO blood type on the platelet function analyzer PFA-100. *Thromb Haemost* 2001;85:369-70.
- Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, et al. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. *Blood* 1998;91:1325-31.
- Veyradier A, Fressinaud E, Boyer-Neumann C, Trossaert M, Meyer D. von Willebrand factor ristocetin cofactor activity correlates with platelet function in a high shear stress system. *Thromb Haemost* 2000;84:727-8.
- Fressinaud E, Veyradier A, Sigaud M, Boyer-Neumann C, Le Boterff C, Meyer D. Therapeutic monitoring of von Willebrand disease: interest and limits of a platelet function analyser at high shear stress. *Br J Haematol* 1999;106:777-83.
- Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, et al. Evaluation of the PFA-100 System in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999; 82:35-9.
- Lippi G, Franchini M. Laboratory screening for abnormalities of primary hemostasis: what's next? *Clin Chem* 2004;47:2071.
- Franchini M, Gandini G, Manzato F, Lippi G. Evaluation of the PFA-100 system for monitoring desmopressin therapy in patients with type 1 von Willebrand's disease. *Haematologica* 2002; 87:681.
- Gill J, Endres-Brooks J, Bauer P, et al. The effect of the ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood* 1987;70:895-904.
- Horwich L, Evans D, McConnell R, Donohoe W. ABO blood groups in gastric bleeding. *Gut* 1966;7:680-5.
- Jansson JH, Nilsson TK, Johnson O. Von Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death. *Br Heart J* 1991;66:351-5.
- Gastineau DA, Moore SB. How important are ABO-related variations in coagulation factor levels? *Transfusion* 2001;41:4-5.
- Moeller A, Weippert-Kretschmer M, Prinz H, Kretschmer V. Influence of ABO blood groups on primary hemostasis. *Transfusion* 2001;41:56-60.
- Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Owens D, Lee CA. Variation in coagulation factor in women: effects of age, ethnicity, menstrual cycle and combined oral contraceptive. *Thromb Haemost* 1999;82:1456-61.
- Walsh PN. Roles of platelets and factor XI in the initiation of blood coagulation by thrombin. *Thromb Haemost* 2001; 86: 75-82.
- Lippi G, Mengoni A, Manzato F. Sensitivity of two commercial reagents for prothrombin time and activated partial thromboplastin time to isolate coagulation factor deficiencies. *Eur J Lab Med* 1999;7:61-5.