

## Valutazione dell'emostasi nel cavallo

Dott.ssa Susanna Mereghetti

L'emostasi è il risultato di un delicato equilibrio tra fattori della coagulazione, fattori anticoagulanti e fibrinolitici: infatti possiamo distinguere un'emostasi **primaria** che coinvolge le piastrine, un'emostasi **secondaria** che coinvolge la formazione del coagulo di fibrina e la **fibrinolisi** che lo modula.

### Errori preanalitici

Per la valutazione della coagulazione è particolarmente importante utilizzare provette con **sodio citrato** (tappo celeste) e rispettare strettamente le proporzioni tra l'anticoagulante ed il campione (tutte le provette hanno un trattino che indica quale sia il volume di sangue da prelevare perché i test risultino attendibili), in modo da evitare la formazione di coaguli o, viceversa, l'eccessiva diluizione del sangue (un minor riempimento determina un prolungamento dei tempi di coagulazione, mentre un maggior riempimento espone alla formazione di coaguli che consumano i fattori che dobbiamo andare a misurare). E' anche molto importante effettuare un prelievo correttamente e gestire il campione in modo idoneo: in particolare prelievi con flusso non regolare, da piccoli vasi, con punto di prelievo non pulito o dopo ripetuti tentativi di accesso possono innescare la formazione di microcoaguli che alterano la misurazione dei parametri di nostro interesse. Anche **mescolare delicatamente** il campione appena prelevato per favorire una distribuzione omogenea dell'anticoagulante migliora l'attendibilità dei test. Bisogna invece evitare di prelevare sangue direttamente da un catetere venoso utilizzato per altre terapie ed il campione deve essere eliminato in tutti i casi in cui si riscontra visivamente la presenza di coaguli. Per i test che richiedono l'invio di

**plasma** (sempre da sodio citrato) bisogna prestare attenzione che non sia emolitico e che non vi siano globuli rossi presenti. È inoltre possibile congelare questo materiale.

Ematocrito: in animali molto disidratati potrebbe verificarsi un alterato rapporto tra il sodio citrato rispetto al plasma effettivamente presente, fatto che porta ad un aumento dei tempi di coagulazione. L'opposto si verifica nel caso di soggetti anemici, dove si ha una scarsa quantità di anticoagulante in rapporto al plasma (che è aumentato in proporzione) presente nel campione di sangue prelevato.

Refrigerazione: quasi tutti i parametri vengono misurati su plasma o sangue intero refrigerati (è sempre specificato sul modulo) e non vengono lavorati se arrivano a temperatura non idonea. Per la misurazione delle piastrine - per cui è invece richiesto sangue in edta - bisogna prestare attenzione alle temperature troppo basse che potrebbero favorire l'aggregazione piastrinica: quindi meglio mantenere le provette distanziate dal ghiaccio se questo viene utilizzato per l'invio di campioni a temperatura controllata.

### Il processo coagulativo

Esistono due vie principali della coagulazione:

- l'emostasi primaria, che coinvolge le piastrine ed alcuni fattori di attivazione delle stesse, il fibrinogeno, il fattore V, ADP, ATP, la serotonina, l'istamina, gli ioni calcio e magnesio. Tutti questi fattori agiscono di concerto per attivare - in caso di piccole lesioni dell'endotelio vasale - le piastrine, che formano velocemente uno strato di riparazione del vaso colpito, arrestando la perdita di sangue.

In caso di emorragie estese invece l'azione delle sole piastrine non è generalmente sufficiente ed entra in campo una seconda via:

- l'emostasi secondaria, che in pratica coinvolge, oltre alle piastrine, una serie di enzimi che attivano una "cascata" di fattori e cofattori che hanno come ultimo effetto la formazione di fibrina dal fibrinogeno circolante, processo indispensabile per lo sviluppo del coagulo.

Queste vie non sono separate ma interconnesse da una cosiddetta *via comune*, che in presenza di piastrine attivate ed altri cofattori innesca la conversione della protrombina in trombina, che modula la formazione del coagulo facendo sì che si sviluppi dove serve e non in tutto il circolo.

È importante sottolineare che si parla di "cascata" coagulativa perché, una volta innescata, non si interrompe e può solamente essere modulata. Se si perde il controllo di questo processo, abbiamo invece uno stato di **ipercoagulabilità** che potrebbe sfociare nella cosiddetta CID o coagulazione intravasale disseminata, patologia grave e mortale.

Formatosi il coagulo, si devono di concerto attivare i vari processi di fibrinolisi che permettono di ripristinare il flusso sanguigno una volta riparato il danno. La fibrinolisi viene innescata dal plasminogeno che, una volta attivato in plasmina, si lega alla fibrina degradandola di nuovo in fibrinogeno circolante. La trombina è un cofattore che collabora nella modulazione della cascata oltre che partecipare alla fibrinolisi.

La degradazione della fibrina produce i D-dimeri, quindi un loro rialzo indica una situazione di forte infiammazione con uno stato di ipercoagulabilità del sangue.

Ma quando testare e cosa richiedere per una corretta valutazione della coagulazione nel cavallo?

La maggior parte delle problematiche coagulative riguarda un eccesso di sanguinamento (clinicamente visibile con la formazione di petecchie, ecchimosi, melena, ematomi, epistassi, ematuria, etc.) che però potrebbe essere dovuta non solo ad uno stato ipocoagulativo da carenza di fattori, ma anche ad un'ipercoagulabilità che ne determina l'eccessivo consumo. Questa pericolosa situazione è associata a grave infiammazione cronica, chirurgie importanti, intossicazione, setticemie, etc.

Vediamo come il laboratorio ci aiuta a distinguere queste situazioni.

## Trombocitopenia

La carenza di piastrine costituisce una delle cause più comuni di disordini coagulativi ed è facilmente verificabile con un normale esame emocromocitometrico.

Anche un'emorragia grave o cronica potrebbe portare ad un abbassamento del numero di piastrine dovuto a consumo eccessivo, come pure uno stato di ipercoagulabilità. Nel cavallo le piastrine sono molto delicate e tendono ad aggregarsi anche nei campioni con anticoagulante ed una carenza alla lettura delle macchine deve essere confermata da uno striscio effettuato subito dopo il prelievo. Le cause di trombocitopenia vera comprendono infezioni croniche, vasculiti, parassiti ematici, neoplasie, anemie immunomediata, reazioni a farmaci; nel puledro potrebbe essere dovuta ad isoeritrolisi neonatale, setticemia od anche grave infiammazione. Per la conta cellulare e lo striscio ematico è necessario un campione di sangue in edta.

Un livello di piastrine < di 50 G/litro potrebbe determinare problemi di eccessivo sanguinamento. Un livello di piastrine < di 20 G/litro si considera a rischio per la sopravvivenza del paziente.

La presenza di emorragie croniche con un livello di piastrine nella norma potrebbe essere dovuto ad un loro difetto funzionale.

### **Test funzionale: Tromboelastografia**

Questo test permette di valutare sia l'efficienza dell'aggregazione piastrinica - che dipende dalla presenza di alcuni fattori tra i quali la corretta funzionalità della membrana - che l'efficienza della fibrinolisi, misurati in base alla velocità di formazione del coagulo ed dalla sua elasticità.

Questo test si effettua su sangue intero in sodio citrato, prelevato da meno di 48 ore.

### **Fibrinogeno**

Questo parametro è stato a lungo utilizzato come marker infiammatorio in quando aumenta decisamente in caso di infiammazione od infezione. In presenza di problemi di coagulazione si riscontra generalmente un valore molto basso sia per eccessivo consumo dovuto alla formazione di molti coaguli che per carente produzione (es. gravi patologie epatiche o malassorbimento).

Questo parametro si misura su plasma da sodio citrato refrigerato.

### **Tempo di protrombina (PT) o Tempo di Quick**

Questo valore viene misurato aggiungendo alcuni enzimi tissutali e ioni al campione da esaminare, valutando successivamente la tempistica di formazione del coagulo e la sua efficienza. Questo lasso di tempo indica la velocità di formazione della fibrina a partire dal fibrinogeno circolante: un aumento di questo valore pertanto indica un ritardo nella formazione del coagulo. Viene utilizzato soprattutto nella clinica dei piccoli animali per confermare un eventuale avvelenamento da dicumarinici che è descritto nel cavallo, anche se poco frequente.

Per la misurazione di questo parametro serve plasma da sodio citrato, separato delicatamente e refrigerato.

### **Tempo di attivazione parziale di trombo-plastina (PTT)**

La tromboplastina è una lipoproteina tissutale che, aggiunta nel campione di plasma da misurare, determina la formazione del coagulo catalizzando la trasformazione della protrombina in trombina.

Un aumento del tempo di attivazione parziale di tromboplastina si verifica in caso di carenza di alcuni fattori della coagulazione oltre che dal fibrinogeno. Questo valore viene utilizzato di frequente per monitorare la terapia con eparina.

Per la misurazione di questo parametro serve plasma da sodio citrato, separato delicatamente e refrigerato.

### **Tempo di Trombina (TT)**

Il tempo di Trombina misura il processo attraverso cui il fibrinogeno viene convertito in fibrina in presenza di un eccesso di trombina, e dipende principalmente dalla quantità e funzionalità del fibrinogeno stesso.

Questo parametro viene utilizzato in medicina umana per la valutazione del livello terapeutico degli anticoagulanti nei pazienti a rischio di trombosi o cardiopatici. La loro importanza nella medicina del cavallo appare limitata.

Per la misurazione di questo parametro serve plasma da sodio citrato, separato delicatamente e refrigerato.

### **D-Dimeri**

Si tratta del prodotto di degradazione della fibrina: se presente in elevata quantità, non in corrispondenza di un evento emorragico importante, ci indica che l'organismo si trova in una situazione di ipercoagulabilità, condizione

potenzialmente fatale se non compensata adeguatamente.

Costituisce un ottimo indice prognostico in corso di terapia post operatoria specialmente dopo coliche, chirurgie importanti, setticemie, fratture che espongono il paziente a rischio trombotico.

Per la misurazione di questo parametro serve plasma da sodio citrato, separato delicatamente e refrigerato.

### **Carenza di fattori della coagulazione**

Sebbene poco frequenti nel cavallo, sono descritti:

- emofilia A: colpisce i maschi e si presenta dalla nascita con emartro, epistassi, emorragie ombelicali o da piccole ferite (in questi casi di solito aumenta il solo PTT)

- Von Willebrand Disease: si verifica una carenza di alcuni fattori e deficit funzionali delle piastrine associati

- eccesso di farmaci antitrombotici (eparina): descritto in corso di terapia post chirurgica, la patologia è caratterizzata da un deciso aumento di TT e diminuzione delle piastrine

- avvelenamento da dicumarinici / deficienza di vit K: le piastrine possono essere nella norma e PT / PTT sono invece decisamente alterati.

### **Valutazione di uno stato ipercoagulativo**

Questa condizione è testimoniata da una grave alterazione di tutti i parametri coagulativi:

- piastrine: sono di solito molto basse per eccessivo consumo

- tempo di Quick (PT) / PTT / TT: sono tutti molto aumentati

- fibrinogeno: anch'esso molto basso per via del notevole utilizzo per la formazione di coaguli

- D-Dimeri: un livello elevato di questi prodotti della degradazione della fibrina permette di diagnosticare con sicurezza uno stato di ipercoagulabilità ed offre un ottimo indice prognostico nei pazienti a rischio CID.

### **Algoritmo diagnostico**

In presenza di un sospetto clinico di coagulopatia, si consiglia un esame emocromocitometrico con striscio al fine di valutare globuli rossi, ematocrito e piastrine per inquadrare correttamente la situazione generale e fare le prime ipotesi riguardanti l'eziologia del problema.

Successivamente possiamo prendere in esame il fibrinogeno e PT / PTT: questi due ultimi parametri sono attendibili solo con un livello di fibrinogeno non troppo basso.

Un livello di fibrinogeno carente indica sia una mancata produzione che un eccessivo consumo: quest'ultimo caso si verifica sia per perdita emorragica che per ipercoagulabilità ed è importante differenziare le situazioni attraverso la misurazione dei D-dimeri che aumentano decisamente solo nel secondo caso.

La terapia varia notevolmente a seconda che il problema sia uno stato ipo / ipercoagulativo del paziente ed una diagnosi precisa e tempestiva è fondamentale per la sopravvivenza del paziente stesso.

Una volta giunti ad una diagnosi, un controllo seriale dei fattori coagulativi è utilissimo per il monitoraggio della terapia.