

# AT III - ruolo e significato in nefrologia e nell'unità di terapia intensiva

R. Menta, L. Mottola, E. Invernizzi

*Istituto Behring S.p.A. - Milano*

**L'**antitrombina III (AT III) è una proteina plasmatica che svolge un ruolo primario nell'inibizione delle serinproteasi attivate coinvolte nei processi coagulativi (Tab. I). Già nel 1890 Schmidt descrisse una "citoglobina" in grado di prevenire la coagulazione nel plasma del cavallo e responsabile del mantenimento dello stato fluido del sangue (1). Le ipotesi formulate negli anni 40 e 50 circa l'azione della proteina ed il suo rapporto con l'eparina (2, 3) vennero dimostrate definitivamente nel 1967 da Heinburger e nel 1968 da Abildgaard.

## **L'antitrombina III Biochimica e fisiologia**

L'AT III è un'alfa-2-globulina a catena singola con peso molecolare

di 67.000 dalton. Risulta formata da 424 aminoacidi, la cui sequenza è completamente nota: la molecola possiede 3 ponti disolfuro e 4 catene laterali di carboidrati. L'attività della molecola è legata alla presenza della coppia aminoacidica Arg-384/Serina-385 (4). Un altro sito fondamentale è quello lisinico, attraverso il quale l'AT III si combina con l'eparina in rapporto equimolare 1:1 (5).

La sintesi dell'AT III è epatica.

L'azione AT III - trombina avviene attraverso un'esterificazione.

Il sito attivo della trombina possiede una serina: tra esso ed il gruppo carbossilico libero dell'AT III si forma un legame che causa l'inattivazione della serinproteasi: il legame enzima-inibitore è irreversibile ed i complessi formati sono eliminati *in toto* dal sistema reticolo-endoteliale.

Il legame eparina - AT III, nel sito lisinico di interazione, è invece una reazione reversibile: tuttavia la modificazione sterica dell'AT III causata dall'eparina ne accelera l'azione, senza influire sulla forza di inibizione. Dopo la formazione del complesso eparina-inibitore-enzima, l'eparina viene rilasciata e può attivare altre molecole di AT III.

L'emivita dell'AT III in circolazione è di circa 2.5 giorni nel soggetto normale come in quello con carenza congenita: nei soggetti con sepsi, shock o DIC l'emivita può diminuire fino a valori inferiori a 1.2 h (6).

La sua concentrazione plasmatica assoluta è di 14-20 mg/dL o di 22-39 mg/dL (in dipendenza dei metodi) e la sua attività è espressa nel normale da un range compreso tra 80-120%. La concentrazione può essere indicata anche in Unità Internazionali (UI): il 100% di attivi-

**TAB. I - PRINCIPALI AZIONI DI ALCUNE FRA LE PIÙ IMPORTANTI PLASMAPROTEINE A FUNZIONE INIBITORIA**

Inibitori	Coagulazione	Infiammazione	Risposta immunitaria
$\alpha_1$ -Antitripsina	Inibitore progressivo della plasmina	Inibitore delle elastasi, collagenasi, chimotripsina	
$\alpha_1$ -Antichimotripsina	Inibitore delle proteasi	Secreta soprattutto dai leucociti e dal pancreas. Prevenzione dei processi autodigestivi	
Inter- $\alpha_1$ -tripsina inibitore	Inibitore della plasmina	Inibitore delle proteinasi secretorie controllo dell'infezione e della infiammazione: prevenzione dei processi autodigestivi	
Antitrombina III	Inibisce il FXII, FXI, FIX, FX, Trombina, FVII, Plasmina. Importante nella limitazione locale della coagulazione	Inibitore della callicreina e della tripsina	
C1-Inactivator	Controllo dell'attivazione della coagulazione e della fibrinolisi. Inattiva il FXIa, FXIIa, Plasmina	Inattiva la callicreina plasmatica	Controllo dell'attivazione del complemento. Inattiva C1r-C1s
$\alpha_2$ -Macroglobulina	Inattiva la trombina, la plasmina, la callicreina. Controllo e limitazione della fibrinolisi da parte di substrati patologici	Controllo dell'infezione e della infiammazione: limitazione dei processi autodigestivi. Inibisce la callicreina, la tripsina, la chimotripsina, l'elastasi, la collagenasi, la papaina	Svolge il ruolo di recettore sulla superficie dei linfociti
$\alpha_2$ -Antiplasmina	Maggiore inibitore della plasmina, inibisce anche il FXIIa, FXIa, trombina e callicreina	Inibitore della callicreina plasmatica e della tripsina	
Inibitore dell'attivazione del plasminogeno	Inibisce la fibrinolisi agendo sugli attivatori del plasminogeno		
Inibitore della collagenasi		Inibisce le collagenasi	

tà di un plasma di riferimento corrisponde a 1 UI/mL e l'1% di attività a 0.01 UI/mL. L'azione dell'AT III è una necessità fisiologica di vitale importanza. Qualsiasi soluzione di continuo del sistema vascolare, quindi qualsiasi fenomeno emorragico, induce un'attivazione degli enzimi della coagulazione che, in condizioni normali, realizza l'emostasi. Le serinproteasi attivate in mancanza di fattori di bilanciamento (quali l'AT III) potrebbero indurre un'estensione del feno-

meno trombotico oltre la necessità fisiologica di riparazione della lesione di continuo del vaso.

La limitazione locale del processo si ottiene solo grazie all'azione del sistema di inibitori plasmatici al quale l'AT III appartiene (7). In condizioni fisiologiche, l'equilibrio emostatico è quindi mantenuto dalla corretta attività funzionale delle proteine plasmatiche coinvolte e dalla loro relativa concentrazione (8).

La trombina stacca il fibrinogeno

dai fibrinopeptidi A e B e forma dei monomeri di fibrina che successivamente polimerizzano ed inoltre rappresenta il catalizzatore di tutto il processo coagulativo attuando il fattore VIII, il fattore V e il fattore XIII; inoltre, attraverso l'aggregazione piastrinica, aumenta la disponibilità di PF3. Si può quindi parlare di ruolo centrale della trombina nel processo coagulativo.

All'interno del sistema degli inibitori, l'AT III è l'inibitore principale

della trombina, come si può dimostrare aggiungendo trombina al plasma: l'82.5% di tutta la trombina inattivata è legata all'AT III, mentre l'8% si lega all'alfa-2-macroglobulina ed il 9.5% è adsorbito dal coagulo di fibrina (9). Aggiungendo eparina che, come detto, è un potente acceleratore dell'AT III, la velocità di inattivazione dell'enzima della coagulazione aumenta grandemente. È stato dimostrato che l'emivita della trombina in presenza di alte concentrazioni di eparina è ridotta a 20 msec, che è una velocità di reazione 2.000 volte superiore a quanto avviene in assenza di eparina (Fig. 1) (10). La velocità di inattivazione del fattore IX è invece aumentata solo di circa 10 volte (11).

### Antitrombina III Determinazioni di laboratorio

La carenza di AT III non può essere dimostrata dai comuni esami di laboratorio che esplorano la funzione coagulativa nella sua globalità.

L'AT III può essere determinata con metodo amidolitico, coagulativo o immunologico. Per le analisi

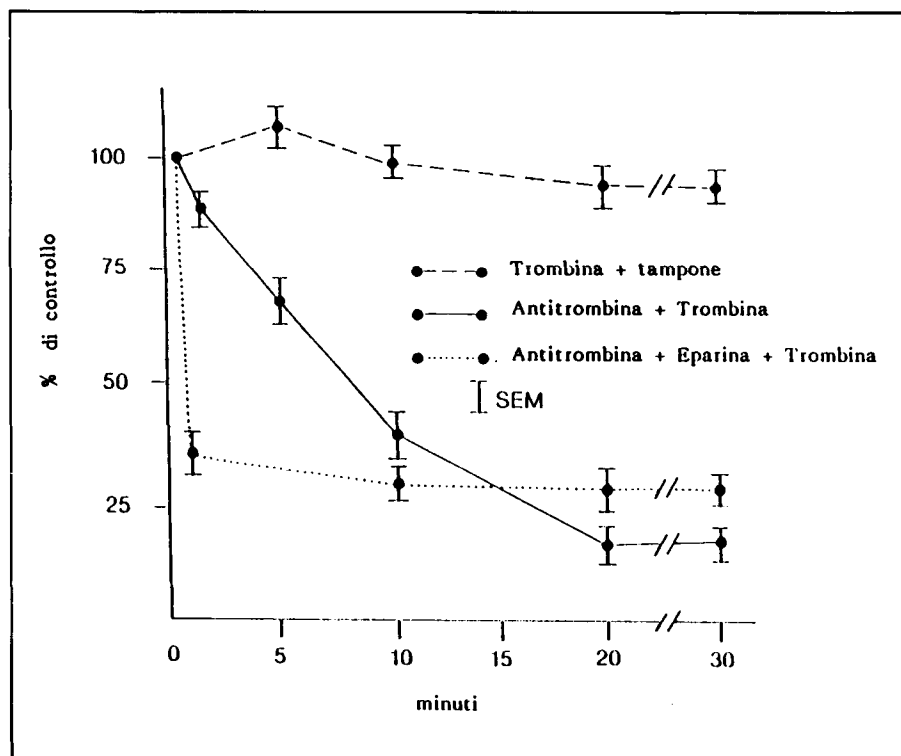


Fig. 1 - Velocità di inibizione in vitro della trombina da parte della AT III in presenza e in assenza di eparina.

di routine è opportuno avvalersi di metodi di determinazione funzionale dell'AT (Berichrom AT III o kit rapido AT III, Istituto Behring). Tali metodiche valutano esclusivamente l'AT III funzionante ed attiva, mentre i metodi immunologici, indispensabili per altri tipi di

analisi, forniscono indicazioni quantitative, ma sono soggetti al possibile rischio di una certa quota di reattività crociata con frammenti di AT III o con forme di AT III inattiva.

Il metodo amidolitico utilizza substrati cromogeni incubati con un

#### TAB. II - MODALITÀ DI PRELIEVO PER VALUTARE LA FUNZIONE COAGULATIVA

- Lasciare il laccio venoso in sede per non più di 1 minuto
- Angolatura dell'ago maggiore possibile
- Lunghezza ago 5 cm
- Diametro interno dell'ago non inferiore a 1-2 mm
- Aspirazione del sangue non troppo rapida
- Eseguito il prelievo, scartare il primo cc di sangue (massima probabilità di presenza di bolle d'aria)
- L'anticoagulante deve essere sostituito da soluzione tamponata citrata (0,1 mol/L - pH 4,5)
- La miscelazione del sangue con il citrato deve essere accurata e rapida
- Tra esecuzione del prelievo e valutazione di laboratorio deve intercorrere un breve lasso di tempo
- Il prelievo non deve essere conservato a temperature elevate
- La centrifugazione va effettuata in provetta pulita, asciutta, di materiale plastico, a 1.500 g/min
- I campioni di sangue emolettati od iperlipemici non sono idonei per la valutazione
- I campioni possono essere conservati a -20°C in provette di plastica per 1 mese

eccesso di eparina e concentrazioni definite di trombina in plasma diluito. La formazione del complesso AT III (dal plasma) e dell'eparina inattiva una determinata quantità di trombina. La trombina residua agisce sul cromogeno liberandolo dal complesso peptidico. L'intensità della reazione viene valutata allo spettrofotometro: quanto più intensa è la colorazione, tanto più bassa è l'attività dell'AT III nel plasma (Berichrom AT III, Istituto Behring).

Il metodo analitico o coagulativo utilizza una reazione condotta in eccesso di trombina: esso si combina con l'AT III del plasma. La trombina residua non inibita agisce sul fibrinogeno, aggiunto in una seconda fase della determinazione, inducendo la formazione di un coagulo. Il tempo di coagulazione valuta indirettamente la concentrazione di AT III: più breve è il tempo necessario per la formazione del coagulo, più bassa è la concentrazione di AT III presente nel plasma. Il risultato è espresso come percentuale della norma (valori di riferimento 80-120%) (kit rapido AT III, Istituto Behring). I metodi immunologici sono in grado di dosare quantitativamente l'AT III: immunodiffusione radiale, elettroimmunodiffusione, lasernefelmometria sono le metodiche più utilizzate.

I primi due metodi descritti sono in grado di fornire risposte rapide e valutare la capacità funzionale inibitoria del plasma, mentre i metodi immunologici forniscono valutazioni quantitative precise, ma non utilizzabili in situazioni di emergenza clinica.

Come per tutte le valutazioni di laboratorio relative a fenomeni coagulativi, va sottolineata la particolare accuratezza e le semplicità,

**TAB. III - CONDIZIONI DI CARENZA DI ANTITROMBINA III**

Carenza congenita di antitrombina III

*complicanze tromboemboliche*

gravidanza  
interventi chirurgici

Carenza acquisita di antitrombina III

*sintesi ridotta*

insufficienza epatica acuta (ridotta sintesi ed aumentato consumo)  
cirrosi epatica con emorragia gastrointestinale  
epatite cronica persistente  
perfusione con fegato di babbuino (coma epatico).  
malattia di Wilson in fase acuta  
terapia con L-asparaginasi  
alimentazione parenterale  
intolleranza al glucosio

*aumentata perdita*

sindrome nefrotica  
emofiltrazione  
plasmaferesi terapeutica  
fistola linfatica postoperatoria

*aumentato consumo*

infezioni acute  
trapianto di fegato  
malaria  
trauma grave  
sindrome emolitico-uremica (SEU), post-partum e nei bambini  
pre-eclampsia con tossiemia  
tossiemia da gravidanza con insufficienza funzionale di vari organi  
shock di vario tipo (inclusi quelli da sepsi, traumi e tossiemia)  
fratture del collo del femore  
trombosi recenti estese con "resistenza all'eparina"  
shunt peritoneale (LeVeen)  
circolazione extracorporea  
sostituzione totale con protesi d'anca  
sindrome di Waterhouse-Friederichsen  
sepsi neonatale  
epatite fulminante  
neoplasie maligne  
leucemie acute (ALL, AML)  
chirurgia microvascolare  
insufficienza renale acuta trattata con emodialisi

ma fondamentali, regole da adottare al momento del prelievo: esse possono essere sintetizzate, come mostrato in Tabella II.

Le principali condizioni nelle quali è importante valutare l'AT III sono elencate nella Tabella III.

**Condizioni cliniche di carenza di AT III**

Si possono distinguere due fondamentali gruppi di patologie nelle quali l'utilizzo dei concentrati di AT III è di assoluta utilità: le caren-

ze congenite e le carenze acquisite (Tab. III).

#### *Carenze congenite*

La prima descrizione di una carenza congenita di AT III è stata effettuata nel 1965: Egeberg descrisse una famiglia nella quale veniva registrata una tendenza alla trombosi venosa profonda (DVT) e all'embolia polmonare (PTE) associata alla carenza di AT III (12). Dopo questa prima descrizione, numerose altre sono state effettuate sino a stabilire che la carenza congenita si presenta 1:5.000 nati (13). Gli studi genetici suggeriscono che la modalità di trasmissione sia autosomica dominante. Gli studi laboratoristici dimostrano come il termine di "carenza congenita" si debba riferire ad un difetto di sintesi quantitativo o anche qualitativo (8) evidenziabile attraverso i test di attività, piuttosto che quelli immunologici che danno al contrario risultati normali. Non essendosi mai riscontrata un'attività nulla di AT III, si è desunto che la condizione ereditata come omozigote sia incompatibile con la vita intrauterina. Se la ricerca della carenza di AT III viene effettuata su una popolazione selezionata (soggetti con ricorrenti episodi di DVT), la frequenza del difetto rispetto alla popolazione generale è molto più alta, oscillando tra il 3 e 5% (14). Nel caso delle carenze congenite, è indicata la terapia sostitutiva quando la routinaria profilassi con anticoagulanti orali deve essere sospesa (ad esempio, per un intervento chirurgico). Una limitata, ma accertata, indicazione è per le gravidanze in soggetti affetti da carenza congenita. In tali situazioni i derivati cumarinici e indandionici non possono essere somministrati per la nota tossicità

fetale: la terapia con AT III associata ad eparina s.c. consentì un parto normale in 4 donne su 8, come segnalato da Hellagren et al. (15).

#### *Carenze acquisite*

Molto più frequente della carenza congenita è quella acquisita (Tab. III). La ridotta sintesi ha il suo prototipo nell'insufficienza epatica e particolarmente nella cirrosi a livello di AT III decresce percentualmente in parallelo con altri fattori della coagulazione (II, VII, IX, X) ed in modo correlato con l'evoluzione della patologia di base (16). È chiaro che la carenza di AT III in questa situazione clinica, associandosi ad un difetto di mancata sintesi anche dei fattori acceleranti e scatenanti la coagulazione, non produce in genere manifestazioni cliniche di tipo trombotico. La segnalata rara evenienza di coagulazione intravascolare disseminata (DIC) è non univocamente ascrivibile al difetto di AT III, ma con maggiore probabilità riconosce fattori scatenanti connessi con la cirrosi.

Definito sembra il ruolo della somministrazione di AT III nella insufficienza epatica acuta (17-19). Il complesso delle segnalazioni riportate in letteratura sembra indicare come valido l'intervento precoce effettuato quando l'attività di AT III del plasma scende sotto livelli dell'80%, quando l'insufficienza epatica è risolvibile in tempi brevi e soprattutto in casi di idiosincrasia ad anestetici o in casi di avvelenamento acuti. L'orientamento attuale è quello di far precedere la somministrazione di concentrati di AT III alla terapia sostitutiva con complesso protrombinico o fibrinogeno. Tale schema terapeutico

risulterebbe efficace nel prevenire manifestazioni di DIC.

Un capitolo in profonda e rapida evoluzione è quello relativo allo studio di interrelazioni tra uso di AT III e patologia renale.

### **Uremia e coagulazione**

La condizione uremica è caratterizzata da una patologia coagulativa nella quale sono state rilevate manifestazioni sia di carattere trombotico che di carattere emorragico. Queste ultime sono prevalenti.

Il difetto coagulativo più comunemente riscontrato in clinica è un prolungamento del tempo di sanguinamento. Fenomeni trombotici sono pure frequentemente segnalati con picco di incidenza particolarmente accentuato nei periodi immediatamente post-dialitici. Oggi si pensa che i fattori patogenetici responsabili delle anomalie coagulative in uremia siano fondamentalmente riconducibili ad una piastrinopatia. Effetto potenziante la piastrinopatia sarebbe quello causato dal basso ematocrito: la scarsa massa corpuscolata eritrocitaria ostacolerebbe il meccanismo della marginazione piastrinica, facilitando quindi la tendenza emorragica.

Ulteriori fattori coinvolti sono quelli relativi al sistema Fatt VIII/von Willebrand, di cui sembra dimostrato un deficit quantitativo, una diminuzione della risposta a stimoli aggreganti (adenosina-trombina) e quindi della fisiologica interazione piastrina-piastrina.

Meno importante rispetto al ruolo attribuitogli qualche anno fa, sembra essere il paratormone (PTH), almeno inteso come tossina uremica, mentre dibattuto è il ruolo dei metaboliti dell'acido arachidonico.

Sembra infatti escluso un ruolo per la prostaciclina, mentre rilevante sembra il ruolo del trombossano (Tx), la cui interferenza è legata ad una minore efficienza in corso di uremia della via metabolica delle ciclo-ossigenasi. Dibattuto risulta il ruolo della malondialdeide piastrinica (20).

### AT III e malattie renali

I livelli di AT III in corso di patologia renale sono stati studiati sia in corso di sindrome nefrosica che di uremia conclamata (21). In corso di sindrome nefrosica è descritta un'importante riduzione dei livelli circolanti di AT III tali da giustificare una terapia con anticoagulanti orali al fine di prevenire le complicanze tromboemboliche (22). La determinazione dei livelli di AT III

è comunque da ritenere routinaria nel follow-up clinico specialmente quando l'albuminemia è inferiore ai 2 g/dL. Analogamente in corso di dialisi peritoneale sono descritte perdite di AT III nel liquido di drenaggio paragonabili a quelle descritte in corso di sindrome nefrosica. In corso di uremia conclamata in trattamento emodialitico esistono invece opposte e conflittuali opinioni riguardo ai livelli di AT III. Da alcuni Autori (19, 23) è sostenuta una riduzione nei livelli pre-dialitici, che sarebbero ripristinati dopo la seduta dialitica. Mancano tuttavia studi esaustivi al riguardo e una notevole influenza potrebbe inoltre derivare dai diversi schemi di terapia dialitica somministrata: infatti se lo schema di eparinizzazione intermittente, quasi universalmente in uso, è quello che fissa come obiettivo un tempo di coagu-

lazione totale (TCT) oscillante tra i 20 e 30 min, e se con tale schema sembra esclusa una interferenza legata primariamente alla terapia dialitica, con schemi di eparinizzazione più decisi (TCT 80 min), legati a terapie dialitiche con durata superiore alle 15 ore alla settimana, è accertata una riduzione nei livelli pre-dialisi (24). È comunque quasi unanimemente riconosciuto il ritorno alla norma nel post-dialisi dei livelli di AT III anche se non è più accettata l'ipotesi che questo dato sia secondario a fenomeni di riduzione di consumo determinato dalla terapia dialitica. Alcuni Autori sostengono che il fenomeno sia spiegabile attraverso una riduzione di ipotetici inibitori e dal miglioramento della piastrinopatia secondaria alla terapia dialitica. Un certo ruolo degli inibitori è confermato dal fatto che anche dopo dialisi

TAB. IV - PATOLOGIE CHE PIÙ FREQUENTEMENTE SI ASSOCIANO A DIC

<p><b>Patologie ostetriche</b>            Aborto (+ o - associato a sepsi)            Abruption placenta            Embolia da liquido amniotico            Ritenzione di feto morto            Eclampsia            Mola idariforme            Pre-eclampsia</p> <p><b>Infezioni</b>            Sepsi di gram negativi con endotossinemia,            Ipotensione o shock            Sepsi grave da gram positivi (meningococco,            pneumococco, stafilococco, streptococco)            Infezioni virali (influenza, infezioni da virus herpetici)            Infezioni fungine (aspergillosi)            Malaria</p> <p><b>Ematologia</b>            Malattia emolitica grave del neonato            Leucemie acute            Malattie linfoproliferative            Reazioni emolitiche da trasfusione            di sangue incompatibile            Sindrome emolitico-uremica            Porpora trombotica trombocitopenica</p> <p><b>Oncologia</b>            Tumori disseminati (prostata, pancreas,            polmone, stomaco, colon, mammella)            Neuroblastoma</p>	<p><b>Patologie epatiche</b>            Cirrosi            Insufficienza epatica acuta            Interventi in circolazione extracorporea</p> <p><b>Danni tessutali</b>            Distruzione di tessuto cerebrale            Colpo di calore            Traumi massivi            Ustioni estese            interventi chirurgici traumatizzanti</p> <p><b>Condizioni non specifiche</b>            Amiloidosi            Lupus eritematoso sistemico            Trapianto renale            Embolia gassosa            Emangioma gigante (sindrome di Kasabach-Merritt)            Aneurismi            Vasculiti            Morsi di serpenti            Coma iperglicemico            Ipotermia            Iperensione maligna            Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)            Insufficienza respiratoria del neonato</p>
--	--

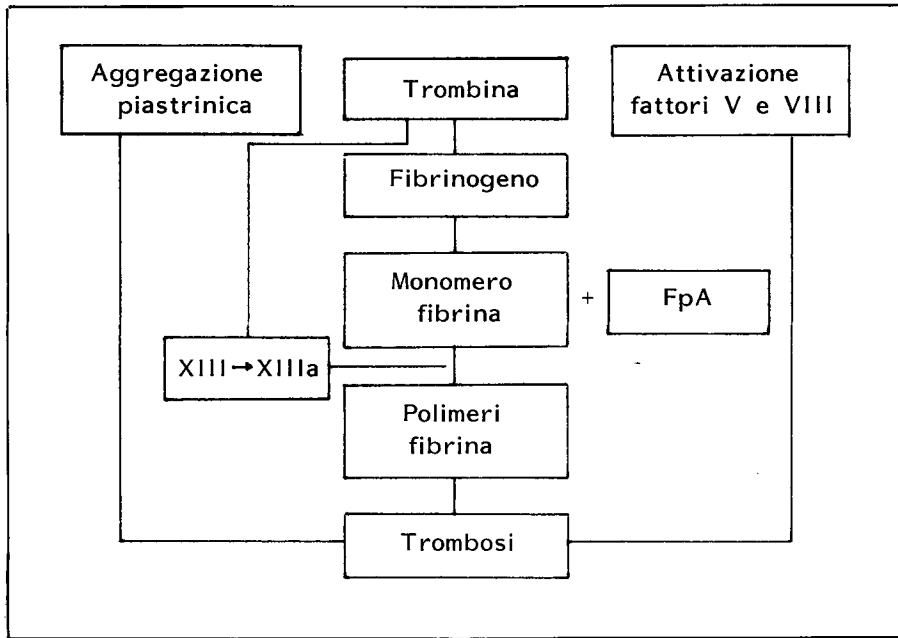
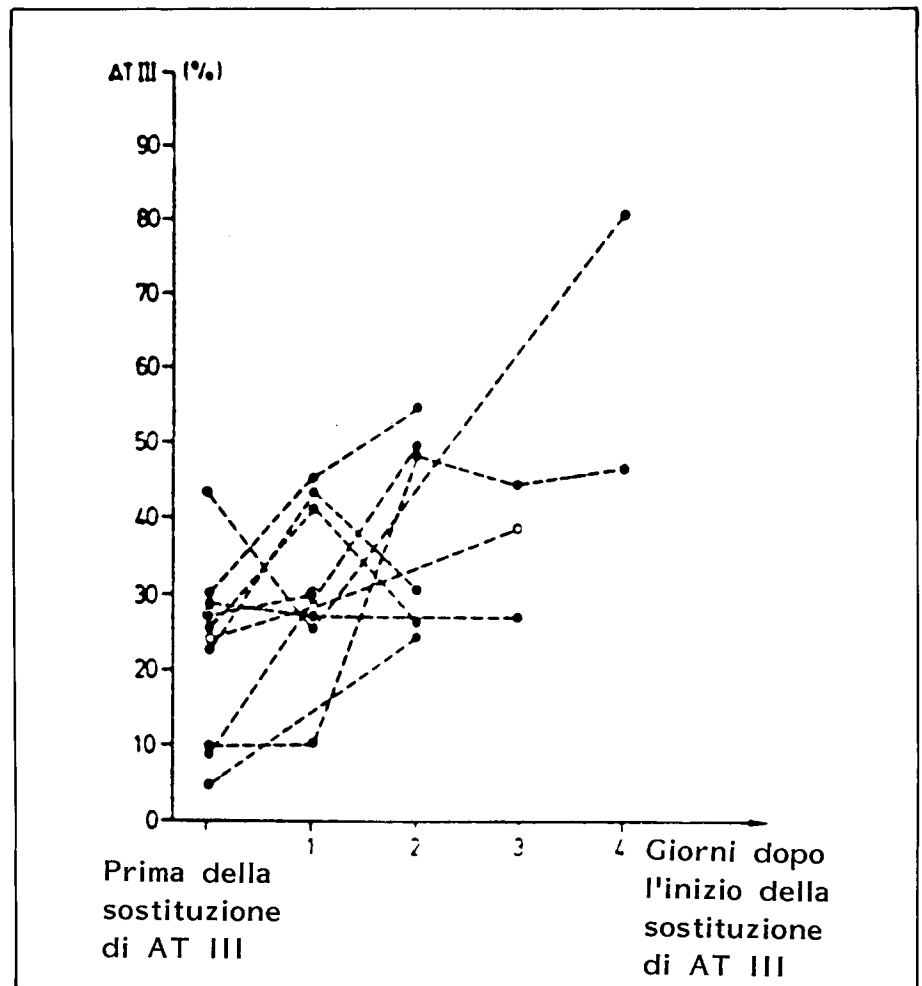


Fig. 2 - Ruolo della trombina in corso di DIC

Fig. 3 - Andamento dell'attività dell'AT III durante la sostituzione di concentrato di AT III attivato da eparina. ● 40 U/kg/die di concentrato di AT III attivato con 200 U/kg/die di eparina; ○ 20 U/kg/die di concentrato di AT III attivato con 500 U/kg/die di eparina; ⊙ 50 U/kg/die di concentrato di AT III attivato con 200 U/kg/die di eparina + bolo iniziale di AT III (20 U/kg attivato con 50 U/kg di eparina).

peritoneale intermittente si registra un incremento dei livelli di AT III e quindi viene rafforzata l'ipotesi che la dialisi (sia emodialisi che DP) rimuova un ipotetico fattore inibente, forse inducendo un generale miglioramento del metabolismo intermedio e quindi anche delle sintesi proteiche epatiche. Altri Autori hanno invece identificato il rebound post-dialitico dei livelli di AT III come secondario alla emocoagulazione, negando per di più il significato della valutazione dell'AT III come indice di biocompatibilità della membrana (25). In realtà la coagulazione in uremia terminale è un processo fisiologico che può essere influenzato in molti modi dalla sindrome uremica in primo luogo, e dalla terapia emodialitica in secondo; mancano studi stratificati e metodologicamente corretti che consentano una valutazione definitiva della situazione di base. Solo tali studi potranno in un futuro consentire la valutazione più approfondita dei fenomeni intradialitici e quindi fornire validi



elementi per la definizione di un eventuale ruolo dell'AT III nell'emodialisi.

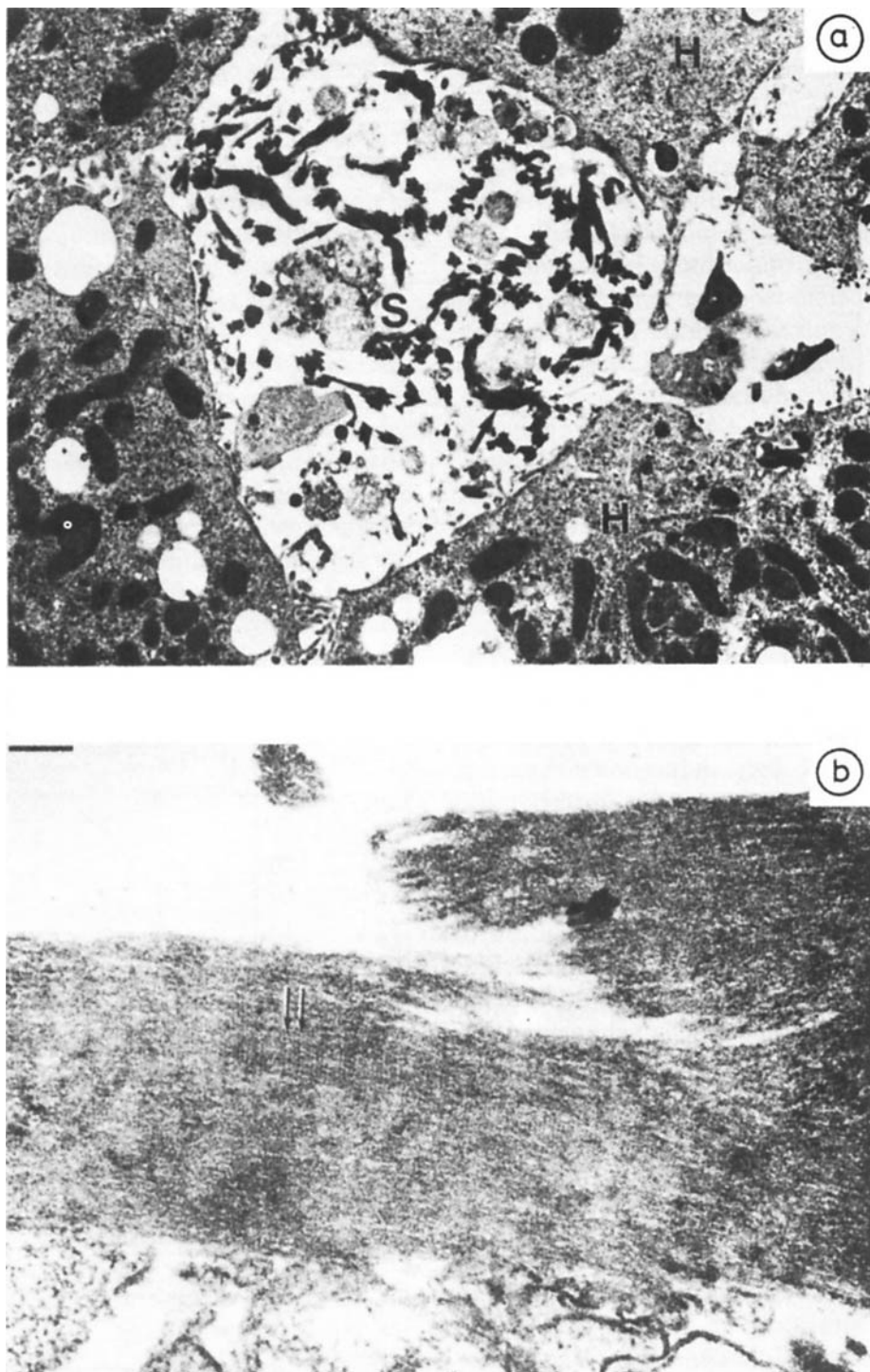
## AT III e DIC

La DIC è una sindrome che si accompagna a varie patologie scatenanti ed in genere è la complicanza ultima di differenti quadri patogenetici tra i quali lo shock e la sepsi risultano essere le cause più frequenti (Tab. IV). Il momento patogenetico fondamentale della sindrome è legato al rilascio di tromboplastina sufficientemente intenso e prolungato da determinare una attivazione dei sistemi coagulativi in misura tale da sfuggire al controllo delle plasmaproteine tampone, inducendo in tal modo una generalizzata coagulazione nel circolo (Fig. 2). La fibrinolisi secondaria è quindi da interpretare come un fenomeno protettivo e la amplificazione a cascata del fenomeno induce una situazione finale di deplezione dei fattori coagulativi. I tessuti più gravemente coinvolti risultano alla fine essere fegato, rene, cuore e cervello. Tale patologia nei suoi quadri più terminali è di comune riscontro nelle unità di terapia intensiva ed anche nelle nefrologie (vista la frequenza di insufficienza renale acuta).

L'approccio terapeutico più tradizionale è quello che fa ricorso a trasfusioni ripetute di plasma fresco congelato, associate a trasfusioni di globuli rossi. L'uso di crioprecipitati e di concentrati piastrinici si è diffuso nei casi refrattari al trattamento sopra descritto sino a divenire in qualche caso routinario.

La terapia con eparina è stata varie volte proposta e, mentre qualche

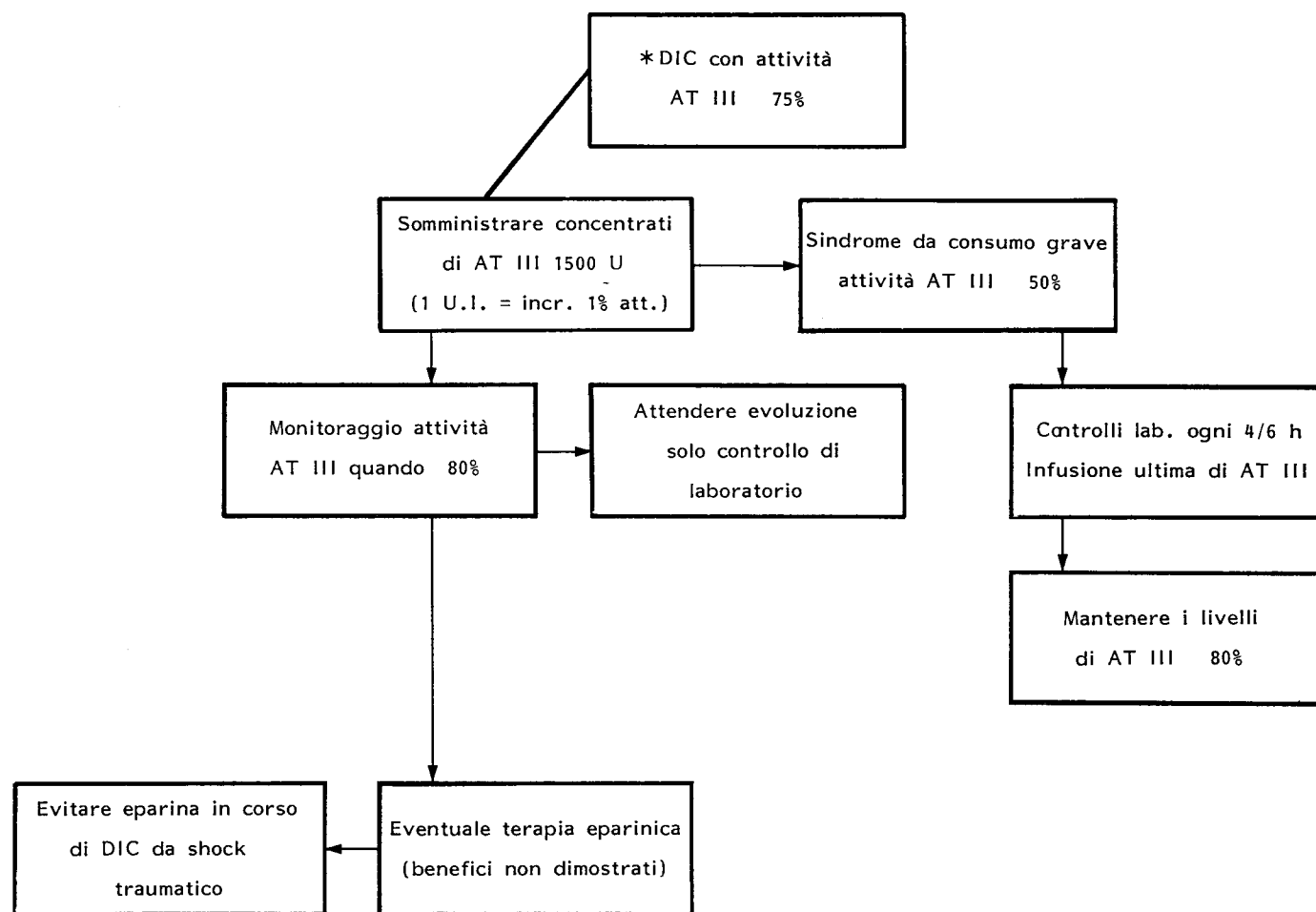
## Coagulazione intravascolare in insufficienza epatica acuta in ratti e suo trattamento con antitrombina III



**Fig. 4-** Micrografie elettroniche di fegato di ratto 12 h dopo una dose di 50 mg/kg/p.c. di dimetilnitrosamina. (a) Coaguli di fibrina sono evidenziati nei sinusoidi dove le cellule endoteliali scompaiono. Frecc: fibrille H: epatocita; S: sinusoidi. (b) Le fibrille mostrano filamenti con una periodicità longitudinale di 23 nm (frecc). La barra corrisponde a 100 nm.



**TAB. V - TABELLA RIASSUNTIVA DELLO SCHEMA DIAGNOSTICO E TERAPEUTICO IN CORSO DI DIC**



\* Non viene mostrata la terapia antishock che va applicata di base

anno fa era quasi unanimamente accettata e praticata, attualmente risulta più dibattuto il suo ruolo (Fig. 3).

D'altra parte è noto come, in assenza di AT III, l'eparina, per lo meno *in vivo*, possiede solo scarsa capacità anticoagulante a dosi terapeutiche. Poiché in corso di DIC si assiste sempre ad una riduzione dei livelli di AT III (proposta come criterio diagnostico), talvolta molto marcati, è stato ipotizzato che una terapia sostitutiva con AT III possa risultare benefica. Tale ipotesi è stata dapprima testata in modelli di DIC sperimentale seconda-

ria a danno epatico acuto indotto con dimetilnitrosamina (DMN) o tetra-cloruro di carbonio (CCl<sub>4</sub>) (26). In questo modello sperimentale l'infusione di AT III è risultata in grado di influenzare l'andamento clinico della sindrome e gli aspetti istologici osservabili nel corso della sindrome sperimentalmente indotta nel ratto (Fig. 4).

Il trasferimento dei risultati sperimentali nella clinica umana è stato tentato nella DIC del neonato secondaria a sepsi con associata sindrome da distress respiratorio (RDS).

La prima applicazione di concen-

trati di AT III in corso di DIC è del 1974 ed è costituita da una raccolta di casistica clinica nella quale è stata valutata l'efficacia dell'infusione di AT III sui livelli plasmatici (27): l'infusione di 10 U/kg produsse un incremento di attività valutabile attorno all'1,6%. L'emivita dei concentrati infusi oscillò tra i 2,3 - 2,6 giorni. In successivi studi pilota, in un limitato numero di pazienti vennero somministrati concentrati di AT III in modo da mantenere i livelli plasmatici di attività dell'antitrombina attorno al 100%. Nonostante il miglioramento di alcuni parametri laboratoristici di DIC

(fibrinogeno e conta piastrinica) e di alcuni dati clinici (grado di risposta all'eparina), la sopravvivenza in questo gruppo fu di 4 pazienti su 9 (28). Ulteriori studi adottarono uno schema terapeutico più standardizzato (1.000 U di AT III il primo giorno + 500 U i due giorni successivi). In corso di DIC traumatica o secondaria a shock settico: in questo secondo studio la sopravvivenza fu di 14 su 15. Sulla base di questi studi pilota (29) venne effettuato, sempre dal gruppo di Linz, uno studio randomizzato che coinvolse 51 pazienti ricoverati in stato di shock, con uno screening laboratoristico tipico di DIC (30). I soggetti in esame vennero divisi in 3 gruppi: gruppo A = schema terapeutico 300 U/h di eparina; gruppo B = infusione di AT III in modo da ottenere un'attività pari in media al 100%; gruppo C = AT III secondo lo stesso schema + eparina 100 UI/h.

Non vennero riscontrate differenze di sopravvivenza tra i 3 gruppi, ma i decessi riportati (12 su 51) vennero tutti attribuiti a specifiche lesioni d'organo e non a DIC. La durata della sindrome DIC nei 3 gruppi risultò inoltre piuttosto differente, essendo più che doppia nei soggetti trattati con solo eparina rispetto a quelli trattati con AT III (110 h vs 42 h). Ulteriori studi evidenziano invece una ridotta mortalità nei soggetti trattati con AT III.

In corso di deficit acquisito di AT III quindi, si può razionalmente concludere che le indicazioni all'uso di concentrati di AT III sono le seguenti:

— quando, stabilita la diagnosi di DIC, gli esami di laboratorio indichino un'attività dell'AT III endogena  $\leq 75\%$ .

È quindi ben documentato come la terapia con AT III in corso di DIC

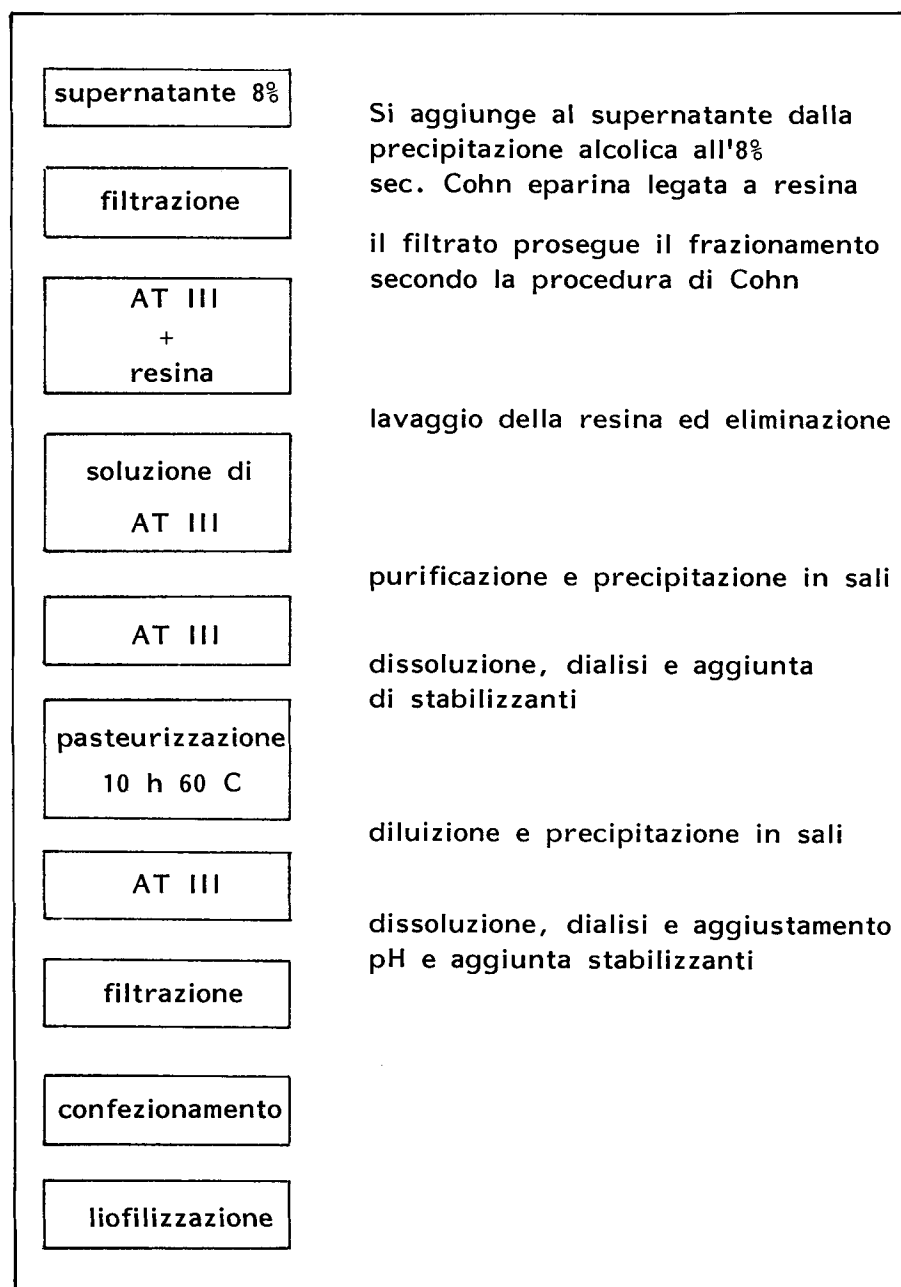


Fig. 5 - Metodo di preparazione di un concentrato altamente purificato di antitrombina III (Kybernin P). Mod. da Capdevila Torremorell Biol Clin Hematol 1987.

richieda un'attenta valutazione laboratoristica preliminare (31): risulta infatti discriminante la riduzione di AT III che viene osservata in corso di DIC e, mentre non sembra indispensabile correggere la carenza di AT III quando il livello plasmatico è  $\geq 80\%$ , al di sotto di

tale limite sembrerebbe non sostenibile una rinuncia a tale presidio terapeutico.

### Concentrati di AT III

In teoria sarebbe possibile trattare

carenze congenite e acquisite di AT III somministrando sangue, plasma fresco o plasma fresco congelato. Tale trattamento risulta tuttavia limitato dall'elevato volume assoluto da trasfondere. Dall'infusione di plasma fresco congelato si ottiene spesso un lieve ed insoddisfacente aumento dell'attività di AT III.

L'AT III è stata isolata e purificata dal plasma grazie al metodo messo a punto da Heimburger nel 1968 che sfrutta l'affinità di tale proteina per l'eparina insolubile adsorbita. Il concentrato di AT III si è reso disponibile per l'uso terapeutico sin dal 1974 quando, su un paziente affetto da carenza congenita, fu applicato per la prima volta (32).

Il concentrato altamente purificato ha il vantaggio di aumentare l'attività plasmatica dell'AT III senza dare carico al volume totale circolatorio né aumentarne il contenuto proteico. Un ulteriore vantaggio è dato dalla immediata disponibilità del prodotto. Inoltre il controllo sulle donazioni unito al particolare processo di produzione, all'elevato grado di purezza del prodotto e all'efficace metodo di inattivazione virale durante la produzione (trattamento al calore in soluzione acquosa a 60°C per 10 h) consentono la preparazione di un concentrato di AT III esente dal rischio di trasmissione di agenti infettivi sinora conosciuti (32-34).

Alcuni concentrati sono in possesso di dati di safety originati da studi clinici prospettici condotti su volontari sani (Kybernin P - Istituto Behring) (Fig. 5).

## Conclusioni

Non sono stati descritti effetti collaterali particolari. L'infusione di

concentrati di AT III non causa effetti collaterali di rilievo ed il rischio teorico di trasmissione di infezioni virali (HB, HIV), visti i metodi produttivi sicuri, è assente.

Anche in condizioni di emergenza nelle quali l'infusione è stata condotta senza monitoraggio laboratoristico e a posteriori è stato verificato che l'attività di AT III indotta dalla terapia era superiore a livelli del 125%, non si sono riscontrati sintomi riferibili a sovradosaggio (35, 36). L'AT III ha un effetto amplificante sulla terapia eparinica, la cui dose deve essere ridotta quanto la somministrazione è contemporanea (37, 38).

## Bibliografia

1. Schmidt A. Ueber den flüssigen Zustand des Blutes im Organismus. *Zentralblatt für Physiologie* 1890; 9: 257-9.
2. Heimburger N. On the proteinase inhibitors of human plasma with especial reference to antithrombin. *First international Symposium of tissue factors in the haemostasis of the coagulation-fibrinolysis system.* Firenze 1967; 353-62.
3. Abildgaard U. Highly purified antithrombin III with Heparin cofactor activity prepared by disc electrophoresis. *Scand Clin Lab Invest* 1968; 21: 89-91.
4. Petersen TE, Dudek-Wojciechowska G, Sottrup-Jensen L, Magnusson S. Primary structure of antithrombin-III (heparin cofactor). Partial homology between alfa 1-antitrypsin and antithrombin-III. In: D. Collin, B. Wiman, M. Verstraete, eds. *The physiological inhibitors of coagulation and fibrinolysis.* Elsevier/North-Holland Biochemical Press 1979; 43-54.
5. Nordenman B, Bjoerk I. Binding of low-affinity and high-affinity heparin to antithrombin. *Ultraviolet difference spectroscopy and circular dichroism studies.* *Biochemistry* 1978; 17: 3339-44.
6. Collen D, Schetz J, de Cock F, Holmer E, Verstraete M. Metabolism of antithrombin III (heparin cofactor) in man: effects of venous thrombosis and of heparin administration. *Eur J Clin Invest* 1977; 7: 27-35.
7. Abildgaard U. Binding of thrombin to antithrombin III. *Scand J Clin Lab Invest* 1969; 24: 23-7.
8. Breddin HK, Kirchmaier CM, Witzke G. Antithrombin III Replacement - versione italiana: le antiproteasi nella coagulazione - antitrombina III. *I Quaderni de "Il Ponte"* 1989; 10.
9. Roka L, Bleyl H, Schmitz H. Contribution of antithrombin, alpha-2-macroglobulin and fibrin to the inactivation of thrombin. In: Wenzel et al, eds. *Antithrombin III: biochemistry, function, assay and clinical significance.* Ermer, Homburg/Saar 1983; 47-8.
10. Abildgaard U. A review of antithrombin III. In: Collen et al, eds. *The physiological inhibitors of coagulation and fibrinolysis.* Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam 1979; 19-9.
11. Vinazzer H, Woler M. A new low molecular weight heparin fragment (PK 10169): *in vitro* and *in vivo* studies. *Thromb Res* 1985; 40: 135-46.
12. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thrombos Diathes Haemorrh* 1965; 13: 516-30.
13. Odegard OR, Abildgard U. Antithrombin III: critical review of assay methods. Significance of variations in health and disease. *Haemostasis* 1978; 7: 127-34.
14. Scharrer I. Untersuchungsprogramm bei Verdacht auf Thrombophilie. *Ellipse* 1986; 9: 93-8.
15. Hellagren M, Javelin L, Haegne-

- vik K, Blombaeck M. Antithrombin III in late pregnancy. *Acta Obstet, Gynec Scand* 1982; 61: 187-9.
16. Thaler E. Pathogenese und klinische Bedeutung des erworbenen Antithrombin-III-Mangels in der inneren Medizin. *Wien, Klin Wschr* 1981; 93: 563-72.
  17. Vogel GE, Bottermann P, Clarmann MV, Komm CH, Oberndorfer A. Antithrombin III treatment in acute liver failure (Abstract). *Thromb Haemostas* 1981; 46: 373.
  18. Egbring R, Klingemann HG, Heimburger N, et al. Antithrombin III substitution in acute hepatic failure due to CCl<sub>4</sub> intoxication. *Thromb Haemostas* 1981; 46: 373.
  19. Brande S, Arias J, Hughes R, et al. Antithrombin III infusion during fulminant hepatic failure (Abstract). *Thrombos Haemostas* 1981; 46: 369.
  20. Castellani C, De Gasperi T. Terapia anticoagulante. In: *Trattato Italiano di Dialisi*. Ed. Wichtig Sez. 10, cap. 4.
  21. Thaler E, Balzer E, Kopsa H, Pinggera WF. Acquired antithrombin III deficiency in patients with glomerular proteinuria. *Haemostasis* 1978; 7: 257-72.
  22. Kauffmann RJ, Veltkamp JJ, Van Tilburg NH, Van Es LA. Acquired antithrombin III deficiency and thrombosis in the nephrotic syndrome. *Am J Med* 1978; 65: 607-13.
  23. Woo KT, Wei SS, Lee EJC, Lau YK, Lim CH. Effects of hemodialysis and peritoneal dialysis on antithrombin III and platelets. *Nephron* 1985; 40: 25.
  24. Mori R, Triolo L, De Stefano V, Giusti BP, De Sole P, Leone G. Plasma levels and loss of antithrombin III in chronic ambulatory peritoneal dialysis and nephrotic patients. *Nephron* 1988; 48: 213-6.
  25. Motta M, Rapisarda F, Fatuzzo P, et al. Comportamento dell'antitrombina III e del fibrinopeptide A in pazienti uremici in trattamento emodialitico. In: *Nefrologia, Dialisi, Trapianto* 1988. Ed. Wichtig 1989; 421.
  26. Fujiwara K, Ogata I, Ohta Y, et al. Intravascular coagulation in acute liver failure in rats and its treatment with antithrombin III. *Gut* 1988; 29: 1103-8.
  27. Bick RL, Dukes ML, Wilson WL, Fekete LF. Antithrombin III as a diagnostic aid in disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res* 1977; 10: 721-9.
  28. Thaler E. Disseminierte intravasculäre Gerinnung: Antithrombin III und Heparin. *Folia haemat, Lpz* 1977; 104: 740-50.
  29. Bergmann H, Blauhut B, Necek S, Kramar H, Vinazzer H. Heparinprophylaxe der Verbrauchskoagulopathie bei Shockpatienten: Abhängigkeit der Wirkung von der verfügbaren Antithrombin-III Aktivität. *Anaesthesist* 1980; 29: 623-6.
  30. Blauhut B, Necek S, Kramar H, Vinazzer H, Bergmann H. Activity of antithrombin III and effect of heparin on coagulation in shock. *Thromb Res* 1980; 19: 775-82.
  31. Jochum M, Fritz H, Duswald KH, Hiller E. Plasma levels of human granulocytic elastase-alpha-1-proteinase inhibitor complex (E-alpha-1-PI) in patients with septicemia and acute leukemia. In: Goldbger, Werner, eds. *Selected topics in clinical enzymology*. de Gruyter, Berlin 1983; 85-100.
  32. Vinazzer H. Clinical use of antithrombin III concentrates. *Vox Sang* 1987; 53: 193-8.
  33. Clemens R. Virus safety of a pasteurized antithrombin III concentrate. *Biol Clin Hematol* 1987; 9 (Suppl 1): 85-90.
  34. Clemens R, Weidmann E, Merkle W, Bock HL, Mauler R, Hilfenhaus J. Virus safety of a pasteurized antithrombin III concentrate. Preclinical and clinical data. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1987; 37 (II) 7: 759-62.
  35. Gray SP, Billings IA. The determination of antithrombin III and its clinical application. *JR Nav Med Serv* 1979; 65/3: 147-64.
  36. Kemkes-Matthes B, Oehler G, Matthes KJ. Veränderungen von protein C, Faktor X und Antithrombin III beim Menschen während der Therapieumstellung von Heparin auf Phenprocoum. *Med Welt* 1984; 35: 1479-81.
  37. Lammle B, Tran TH, Ritz R, Duckert F. Plasma prekallikrein, factor XII, antithrombin III, C1-Inhibitor and alfa-2-Macroglobulin in critically ill patients with suspected disseminated intravascular coagulation (DIC) - *Am J Clin Pathol* 1984; 82: 396-404.
  38. Mammen EF, Farag AA. The role of antithrombin III in DIC. *Biol Clin Hematol* 1987; 9 (Suppl 1): 69-73.