

RACCOMANDAZIONI PER LA RICERCA DELLE ALTERAZIONI TROMBOFILICHE

INTRODUZIONE

Questo documento nasce dall'esigenza di dotare i Colleghi Medici Ospedalieri, e in una fase successiva anche quelli del Territorio, di uno strumento utile per migliorare l'appropriatezza dell'utilizzo delle indagini diagnostiche per la ricerca di una condizione di trombofilia congenita o acquisita. Si tratta di un ambito specialistico della Medicina che ha la peculiarità di essere trasversale a diverse specialità, e che proprio per questo necessita in modo maggiore di altri di una uniformità di approccio al problema e di un forte governo clinico basato sulla elevata competenza professionale.

Il Gruppo di Lavoro che ha prodotto questo documento è costituito da Specialisti di Medicina di Laboratorio e da Medici Clinici accomunati da questa specifica competenza nell'ambito della diagnostica e della terapia delle patologie della coagulazione.

I test di coagulazione di cui si occupa questo documento costituiscono un ambito della medicina altamente specialistico, nel quale, più che in altri, il dato analitico scollegato da una interpretazione clinica competente rimane vuoto di significato nella migliore delle ipotesi, e fuorviante nella peggiore. Da queste considerazioni deriva la necessità di vedere l'attività di diagnostica coagulativa come qualcosa strettamente integrato con la parte clinica, attraverso lo sviluppo di uno stretto rapporto di collaborazione e confronto fra clinico e laborista, volto a promuovere continuamente l'appropriatezza della richiesta degli esami e dell'utilizzo del dato analitico.

In quest'ottica gli estensori di questo documento sono accomunati dal fare parte di strutture in possesso di standard omogenei di competenza e di organizzazione sul tema specifico, definite "Centri per l'Assistenza della Patologia Trombotica", ove il termine Centro è da intendersi come l'associazione funzionale, al di là delle singole afferenze dipartimentali, di professionisti in possesso della competenza di laboratorio e clinica necessaria per l'assistenza di tali patologie.

Successivamente sarà compito di tali Centri di curare la formazione nell'ambito dell'Ospedale e del Territorio su tematiche riguardanti la patologia trombo embolica, quindi di strutturare una Rete Regionale sul modello "hub and spoke" identificando le principali necessità assistenziali e i percorsi più appropriati per rispondere alle esigenze della popolazione.

1. ALTERAZIONI TROMBOFILICHE DA RICERCARE

- difetto di antitrombina
- difetto di proteina C
- difetto di proteina S
- mutazione Fattore V Leiden
- mutazione G20210A della protrombina
- Lupus Anticoagulant (LAC) e anticorpi antifosfolipidi

2. ALTRE ALTERAZIONI TROMBOFILICHE/FATTORI DI RISCHIO PER EVENTUALI APPROFONDIMENTI SU INDICAZIONE DA PARTE DEI CENTRI SPECIALISTICI

- Iperomocisteinemia
- Aumento Fattore VIII
- Disfibrinogenemia

3. QUALI METODI UTILIZZARE

- Antitrombina: metodi funzionali che misurano l'attività inibitoria esercitata nei riguardi della trombina o del Fattore Xa in presenza di eparina
- Proteina C: metodi funzionali cromogenici. In caso di esito normale, ma in soggetti con importante storia personale e/o familiare di tromboembolia venosa si consiglia di eseguire anche il dosaggio funzionale utilizzando un metodo coagulativo
- Proteina S: si possono utilizzare o metodi funzionali coagulativi o metodi immunologici per la misurazione della frazione libera. Nel caso vengano impiegati test coagulativi è consigliabile ricontrollare un valore alterato con un test immunologico per la frazione libera.

In caso di identificazione di ridotto livello di antitrombina, proteina C o proteina S il test deve essere ripetuto a distanza (1-2 mesi) per conferma e al secondo controllo è indispensabile eseguire anche un dosaggio immunologico per quanto riguarda l'antitrombina e la proteina C e il dosaggio immunologico della proteina S totale.

Per fare diagnosi di presenza di uno di questi difetti è anche indispensabile escludere che le alterazioni osservate siano associate a situazioni nelle quali i livelli degli inibitori fisiologici possono risultare ridotti (es. epatopatia, terapia con anticoagulanti orali o eparina, assunzione di estroprogestinici, gravidanza). Per questa ragione è consigliabile eseguire anche il tempo di protrombina (PT) e il tempo di tromboplastina parziale attivato (aPTT), come indicatori di eventuale alterazione funzionale epatica, carenza di fattori vitamina K dipendenti, ecc.

Per fare diagnosi di ereditarietà del difetto dimostrato nel probando è indispensabile identificare lo stesso difetto in almeno un altro consanguineo.

- Mutazione Fattore V Leiden: si può eseguire l'analisi genetica direttamente nella fase di screening o utilizzare come test preliminare il test di resistenza alla proteina C attivata; in quest'ultimo caso l'identificazione di un soggetto resistente deve essere seguita dal test genetico per conferma.
- Mutazione G20210A della protrombina: l'analisi genetica si esegue direttamente nella fase di screening.

Si raccomanda di riconfermare la positività per la presenza delle mutazioni suddette su un secondo campione (non necessariamente ottenuto attraverso un nuovo prelievo) per tutti i soggetti etero o omozigoti. Nel caso in cui il test di resistenza alla Proteina C attivata e il risultato della mutazione Fattore V Leiden siano concordanti o la mutazione riscontrata sia concordante con quella già dimostrata nella famiglia non è necessario ricontrollare il test genetico.

- Lupus Anticoagulant (LAC): a causa della impossibilità di identificare con un singolo test le diverse classi di LAC, i Sottocomitati della ISTH per Standardizzazione dei Metodi hanno stabilito che occorre eseguire due test basati su principi differenti (in particolare sono raccomandati un PTT che impieghi silice come attivatore e il DRVVT). I Sottocomitati hanno inoltre indicato per questa diagnostica l'uso di una strategia basata su tre criteri principali. Il primo criterio impone che uno (o più) dei test fosfolipidi-dipendenti sia prolungato oltre i limiti della norma (test di screening). Il secondo step consiste nell'esecuzione di test (test di miscela) che consentono di dimostrare che il prolungamento è dovuto alla presenza di un anticoagulante

circolante. Il terzo criterio impone di dimostrare che l'inibitore sia diretto contro i fosfolipidi (test di conferma). Questa strategia diagnostica deve risultare positiva per almeno uno dei due tipi di test inizialmente impiegati.

- Anticorpi antifosfolipidi: La misurazione dei livelli degli anticorpi antifosfolipidi si deve limitare al dosaggio degli anticorpi anticardiolipina e anti β 2 Glicoproteina I (IgG ed IgM), mediante l'impiego di metodi immunologici.

In caso di positività del LAC e/o di aumento del livello degli anticorpi anticardiolipina e/o anti β 2 Glicoproteina I i test devono essere ripetuti a distanza di almeno 12 settimane per confermare la diagnosi.

- Iperomocisteinemia: la diagnosi è basata sulla misura della concentrazione plasmatica totale del metabolita mediante cromatografia ad alta pressione o con l'impiego di test immunologici. Forme di iperomocisteinemia possono essere riscontrati in soggetti portatori di varianti genetiche da un difetto congenito della metilen-tetra-idro-folato-reduttasi (MTHFR). La presenza di queste varianti non è però necessariamente associata alla presenza di iperomocisteinemia in quanto il livello dell'omocisteina in soggetti portatori in forma omozigote dipende da altri fattori. L'identificazione di queste varianti non è quindi consigliata né come test di primo livello e neppure in soggetti con aumento dei livelli dell'omocisteina. Alla luce delle attuali evidenze la presenza di queste varianti non costituisce un fattore di rischio per la patologia trombotica o della gravidanza.
- Aumento Fattore VIII: possono essere impiegati sia metodi coagulativi che cromogenici, opportunamente adattati per la misurazione di livelli normali/elevati. Poiché il Fattore VIII è una proteina della fase acuta, nel caso di valori elevati è necessario ricontrollare per conferma il risultato a distanza di almeno 12 settimane.
- Disfibrinogenemia: eseguire il dosaggio del fibrinogeno utilizzando il metodo Clauss, nel caso di valori ridotti eseguire il dosaggio immunologico.

Il Centro di Bologna si rende disponibile per l'esecuzione di test eventualmente richiesti dagli altri Centri.

4. QUANDO ESEGUIRE I TEST

I test NON vanno di norma eseguiti:

- Durante la fase acuta di un evento trombotico, sia venoso che arterioso
- Durante le terapie anticoagulanti
- In presenza di malattie intercorrenti acute e croniche che possono influenzare i risultati
- Durante il trattamento estroprogestinico (il trattamento deve essere sospeso per almeno un mese prima di eseguire i test)
- In corso di gravidanza (i test vanno eseguiti dopo almeno 2 mesi dal parto)

I test vanno di norma eseguiti:

- A distanza di almeno 3 mesi dall'evento trombotico acuto (venoso o arterioso)
- Dopo definitiva o temporanea sospensione di trattamenti anticoagulanti (da almeno 30 giorni per l'anticoagulazione orale e da almeno 48 ore per il trattamento con eparina/derivati); l'indagine può invece essere eseguita in corso di terapia antiaggregante

I test genetici possono tecnicamente essere eseguiti in ogni circostanza. Tuttavia si sconsiglia di eseguire screening parziali.

5. SOGGETTI NEI QUALI E' INDICATO ESEGUIRE I TEST

A) Soggetti sintomatici per pregressa patologia trombotica :

- Con uno o più precedenti episodi di tromboembolia venosa idiopatica
- Con uno o più precedenti episodi di tromboembolia venosa dopo stimoli di modesta entità
- Uno o più precedenti episodi di tromboembolia venosa e dimostrata familiarità per tromboembolia venosa
- Con più precedenti episodi di trombosi venose superficiali su vena sana
- Con trombosi venose in sedi non usuali (ad esclusione delle occlusioni venose retiniche); in questi casi si suggerisce anche di escludere le condizioni ematologiche congenite [es. Jak2 (V617F)] o acquisite che possono avere un ruolo causale/favorente
- Con necrosi cutanea indotta da anticoagulanti orali
- Con porpora fulminante neonatale
- In soggetti con patologia arteriosa a comparsa in età inferiore a 55 anni la ricerca delle alterazioni trombofiliche dovrebbe essere limitata a: ricerca del LAC, dosaggio degli anticorpi antifosfolipidi e dell'omocisteina, mentre può essere più esteso in singoli casi nei quali i risultati possono influenzare la scelta terapeutica
- In soggetti di età inferiore a 55 anni con pregresso ictus e TIA secondario alla presenza di forame ovale pervio

B) Donne con pregressa patologia della gravidanza

- Aborti ricorrenti
- Morte endouterina fetale (MEF)
- Pre-eclampsia
- HELLP Syndrome
- Abruptio placentae
- Ritardo di crescita fetale

C) Soggetti asintomatici

Nonostante alcuni dei difetti sopra menzionati siano di frequente riscontro anche nella popolazione generale, la ricerca delle alterazioni trombofiliche non viene di norma eseguita nel soggetto asintomatico, anche nei casi in cui egli sarà esposto a manovre o interventi potenzialmente a rischio trombotico. Pertanto, l'esecuzione tale ricerca va limitata ai seguenti soggetti prima dell'esposizione a situazioni a rischio trombotico particolare (es. terapia ormonale e gravidanza):

- Storia familiare chiaramente positiva per tromboembolia venosa
- Familiare di 1° grado di un soggetto portatore di alterazione trombofilica congenita accertata

Poiché il rischio nel singolo paziente dipende dal numero dei difetti sia genetici che acquisiti di cui egli è portatore, è importante che l'indagine di laboratorio comprenda tutti i

test indicati al punto 1. Non si raccomanda l'esecuzione di queste indagini prima della pubertà.

6. NECESSARIE CARATTERISTICHE DEI CENTRI

Dati gli importanti problemi di standardizzazione della fase preanalitica (raccolta, manipolazione e conservazione del prelievo), di scelta dei metodi (relativa scarsa riproducibilità e probabilità di elevati errori diagnostici), delle possibili rilevanti interferenze di parecchi fattori sui risultati dei test (patologie concomitanti, farmaci, ecc), e dell'importanza di un adeguato e completo rapporto professionale con i soggetti esaminati i centri che eseguono indagini per l'identificazione delle alterazioni trombofiliche devono garantire:

- La presenza di personale ben addestrato, formato e con esperienza specifica nel campo dell'emostasi
- La determinazione locale dei range di riferimento e calibrazione dei plasmi usati per le curve contro uno standard internazionale (se disponibile)
- L'esecuzione di un controllo di qualità interno per almeno due livelli (normale e patologico)
- La costante partecipazione a specifici programmi di valutazione esterna di qualità
- L'esecuzione dei test solo previa raccolta dall'anamnesi del paziente (farmaci, patologie associate, storia personale/familiare di trombosi)
- Il fornire nella fase di refertazione dei test, commenti orientati a garantire un'appropriata interpretazione clinica dei risultati di laboratorio. Inoltre, a termine dell'iter diagnostico fornire una relazione/commento con esplicita interpretazione dei risultati e/o eventuali approfondimenti da eseguire per raggiungere una diagnosi definitiva
- Il fornire un adeguato counselling per informare il paziente, i suoi familiari portatori del difetto (anche se asintomatici), il medico di medicina generale e/o lo specialista che ha indirizzato il soggetto all'indagine, circa i rischi che la loro condizione comporta ed invitarli a concordare con il medico del Centro le misure profilattiche adeguate a ridurre il rischio in occasione di esposizione ad eventi scatenanti (chirurgia, gravidanza, contraccettivi orali, immobilizzazioni, ecc.).

7. NOTA

Il gruppo di lavoro, al momento di licenziare il documento, prende atto della recente pubblicazione delle Linee Guida Inglesi a cura del British Committee for Standards in Haematology (cfr. Baglin T et al. pre-published on-line on British Journal of Haematology doi:10.1111/j.1365-2141.2009.08022).

Benchè fra le conclusioni dei due documenti sussistano alcune differenze, il loro obiettivo generale, consistente nell'evitare un ricorso indiscriminato all'esecuzione di test per la trombofilia ereditaria, è simile. Pertanto il Gruppo di lavoro ritiene di non dover modificare il proprio documento uniformandolo a quello inglese, in quanto lo ritiene maggiormente applicabile alla nostra realtà sanitaria.