

# La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio - Italian Journal of Laboratory Medicine

## Linee Guida SIPMeL per la ricerca dei Polimorfismi nella Diagnostica di Screening della Trombofilia. --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	RIME-D-17-00001R1
<b>Full Title:</b>	Linee Guida SIPMeL per la ricerca dei Polimorfismi nella Diagnostica di Screening della Trombofilia.
<b>Short Title:</b>	SIPMeL Guidelines for laboratory screening DNA testing for thrombophilia
<b>Article Type:</b>	Recommendations and Guidelines (Raccomandazioni e Linee Guida)
<b>Keywords:</b>	Keywords: Thrombophilia; Genetic thrombophilia markers; Polymorphisms; Laboratory investigation; Guidelines.
<b>Corresponding Author:</b>	MICHELE BERTINI, M.D. Azienda Sanitaria Locale Roma1 - Ospedale San Filippo Neri - UO Patologia Clinica ROMA, ITALY
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Azienda Sanitaria Locale Roma1 - Ospedale San Filippo Neri - UO Patologia Clinica
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	MICHELE BERTINI, M.D.
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	MICHELE BERTINI, M.D. Pierfrancesco Agostini Francesco Bondanini Maria Matilde Ciriello Maria Rita Cozzi Marta Sofia Angela Demicheli Cristina Legnani Giuliana Martini Cristina Novembrino Oriana Paoletti Simona Pedrini Lucia Ruocco Agostino Steffan Lucia Terzuoli Sophie Testa Giovina Di Felice
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	Summary The term Thrombophilia refers to an abnormality of blood coagulation leading to an increased risk of venous thromboembolism and obstetric complications. It may be

associated with inherited or acquired risk factors that can be measured in plasma or DNA testing. The utility of laboratory investigation for inherited thrombophilia has been largely debated. Several Guidelines from Scientific Societies and Working Groups are produced in which only deficiencies of Antithrombin, Protein C, Protein S and mutations of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A are established as validated biomarkers at the first-level laboratory screening test for inherited thrombophilia. Nevertheless many others polymorphisms are often proposed as markers to be investigated in a screening set with doubtful clinical benefits, increase of related costs and production of anxiety and fear in the examined people.

The Study Group on Coagulation of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine (SIPMeL) reviewed the medical literature to update the previous edition of SIMEL (Italian Society of Laboratory Medicine) Guidelines for the screening of thrombophilia (2004) and to expand the recommendations about the investigation of the related polymorphisms.

#### Riassunto

Con il termine Trombofilia si identifica una condizione clinica che determina un aumento del rischio di malattia tromboembolica venosa e di alcune patologie della gravidanza. Questa condizione può essere associata ad alterazioni ematologiche, sia congenite che acquisite, che possono essere studiate con dosaggi quantitativi o con tecniche genetiche di biologia molecolare. L'utilità di eseguire indagini di laboratorio per identificare una condizione ereditaria di trombofilia è a tutt'oggi argomento di discussione. Da parte di diverse Società Scientifiche e Gruppi di Lavoro sono state prodotte Linee Guida nelle quali si sostiene che gli unici esami validati per uno studio di screening di primo livello per la trombofilia ereditaria sono: il dosaggio di Antitrombina, Proteina C e Proteina S e la ricerca delle mutazioni per Fattore V Leiden e Protrombina G20210A. Ciò nonostante, a livello di indagini di screening, viene spesso richiesto o proposto lo studio di molti altri polimorfismi con incerta utilità clinica, notevole aumento dei costi e produzione di ansie e timori ingiustificati nella popolazione esaminata.

Il Gruppo di Studio di Coagulazione della SIPMeL ha voluto eseguire una ricognizione della letteratura medica per aggiornare la precedente edizione di Linee Guida SIMEL sullo screening della trombofilia (2004) e in particolare per ampliare le raccomandazioni in merito alla ricerca dei polimorfismi nello studio della diagnostica della trombofilia ereditaria.

**Opposed Reviewers:**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

# Linee Guida SIPMeL per la ricerca dei Polimorfismi nella Diagnostica di Screening della Trombofilia

*Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine (SIPMeL)  
Guidelines for laboratory screening DNA testing for thrombophilia*

Michele Bertini<sup>1</sup>, Pierfrancesco Agostini<sup>2</sup>, Francesco Bondanini<sup>3</sup>,  
Maria Matilde Ciriello<sup>4</sup>, Maria Rita Cozzi<sup>5</sup>, Marta Sofia Angela Demicheli<sup>4</sup>,  
Giovina Di Felice<sup>6</sup>, Cristina Legnani<sup>7</sup>, Giuliana Martini<sup>8</sup>,  
Cristina Novembrino<sup>9</sup>, Oriana Paoletti<sup>10</sup>, Simona Cedrini<sup>11</sup>,  
Lucia Ruocco<sup>12</sup>, Agostino Steffan<sup>5</sup>, Lucia Terzuoli<sup>13</sup>, Sophie Testa<sup>10</sup>.

Gruppo di Studio di Coagulazione SIPMeL

Corrispondenza: Michele Bertini - michele.bertini@aslroma1.it

- 1
  - 2
  - 3
  - 4
  - 5
  - 6
  - 7
  - 8
  - 9
  - 10
  - 11
  - 12
  - 13
  - 14
  - 15
  - 16
  - 17
  - 18
  - 19
  - 20
  - 21
  - 22
  - 23
  - 24
  - 25
  - 26
  - 27
  - 28
  - 29
  - 30
  - 31
  - 32
  - 33
  - 34
  - 35
  - 36
  - 37
  - 38
  - 39
  - 40
  - 41
  - 42
  - 43
  - 44
  - 45
  - 46
  - 47
  - 48
  - 49
  - 50
  - 51
  - 52
  - 53
  - 54
  - 55
  - 56
  - 57
  - 58
  - 59
  - 60
  - 61
  - 62
  - 63
  - 64
  - 65
1. UOC di Patologia Clinica e Ambulatorio per lo studio della Trombofilia, Presidio Ospedaliero S.Filippo Neri, ASL Roma1, Roma, Italia
  2. UO Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero San Paolo, Asl Bari, Bari, Italia
  3. UOC Biochimica Clinica, Ospedale Sandro Pertini, ASL Roma2, Roma, Italia
  4. Laboratorio Malattie Emorragiche e Trombotiche, Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliera SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria, Italia
  5. Patologia Clinica Oncologica, IRCCS Centro di Riferimento Oncologico, Aviano (PN), Italia
  6. UOC Laboratorio Analisi, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia
  7. UO Angiologia e Malattie della Coagulazione, Azienda Ospedaliera di Bologna, Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna, Italia
  8. Centro Emostasi, Laboratorio, Spedali Civili, Brescia, Italia
  9. Centro Emofilia e Trombosi Angelo Bianchi Bonomi, e Laboratorio Centrale Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, Fondazione IRCCS Ca Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italia
  10. Centro Emostasi e Trombosi, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, ASST Cremona, Cremona, Italia
  11. Servizio di Medicina di Laboratorio, Istituto Ospedaliero, Fondazione Poliambulanza, Brescia, Italia
  12. UO Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Ambulatorio Antitrombosi, Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana, Pisa, Italia
  13. Dipartimento Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Siena; Laboratorio Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena, Italia

## Riassunto

Con il termine Trombofilia si identifica una condizione clinica che determina un aumento del rischio di malattia tromboembolica venosa e di alcune patologie della gravidanza. Questa condizione può essere associata ad alterazioni ematologiche, sia congenite che acquisite, che possono essere studiate con dosaggi quantitativi o con tecniche genetiche di biologia molecolare. L'utilità di eseguire indagini di laboratorio per identificare una condizione ereditaria di trombofilia è a tutt'oggi argomento di discussione. Da parte di diverse Società Scientifiche e Gruppi di Lavoro sono state prodotte Linee Guida nelle quali si sostiene che gli unici esami validati per uno studio di screening di primo livello per la trombofilia ereditaria sono: il dosaggio di Antitrombina, Proteina C e Proteina S e la ricerca delle mutazioni per Fattore V Leiden e Protrombina G20210A. Ciò nonostante, a livello di indagini di screening, viene spesso richiesto o proposto lo studio di molti altri polimorfismi con incerta utilità clinica, notevole aumento dei costi e produzione di ansie e timori ingiustificati nella popolazione esaminata.

Il Gruppo di Studio di Coagulazione della SIPMeL ha voluto eseguire una ricognizione della letteratura medica per aggiornare la precedente edizione di Linee Guida SIMEL sullo screening della trombofilia (2004) e in particolare per ampliare le raccomandazioni in merito alla ricerca dei polimorfismi nello studio della diagnostica della trombofilia ereditaria.

**Parole chiave:** Trombofilia, Marcatori genetici di Trombofilia, Polimorfismi, Indagini di laboratorio, Linee Guida.

## Summary

The term Thrombophilia refers to an abnormality of blood coagulation leading to an increased risk of venous thromboembolism and obstetric complications. It may be associated with inherited or acquired risk factors that can be measured in plasma or DNA testing. The utility of laboratory investigation for inherited thrombophilia has been largely debated. Several Guidelines from Scientific Societies and Working Groups are produced in which only deficiencies of Antithrombin, Protein C, Protein S and mutations of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A are established as validated biomarkers at the first-level laboratory screening test for inherited thrombophilia. Nevertheless many others polymorphisms are often proposed as markers to be investigated in a screening set with doubtful clinical benefits, increase of related costs and production of anxiety and fear in the examined people.

The Study Group on Coagulation of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine (SIPMeL) reviewed the medical literature to update the previous edition of SIMEL (Italian Society of Laboratory Medicine) Guidelines for the screening of thrombophilia (2004) and to expand the recommendations about the investigation of the related polymorphisms.

**Keywords:** Thrombophilia, Genetic thrombophilia markers, Polymorphisms, Laboratory investigation, Guidelines.

## Premessa

Verso la fine del 2015 si sono verificati in alcuni ospedali italiani, anche di elevata qualità assistenziale, cinque episodi di mortalità materno-fetale che hanno suscitato allarmata attenzione nell'opinione pubblica e vasta eco nei mass-media, producendo però a volte informazioni e considerazioni infondate.

Si veda per esempio l'intervista in merito, riportata da "Repubblica" il 3/1/16, dove una docente universitaria sosteneva che quelle morti potevano essere evitate con l'esecuzione di un esame di "Screening sulla Trombofilia" esteso a ben 15 mutazioni genetiche, peraltro non specificate. Nell'intervista i 15 test venivano definiti come "salvavita" se eseguiti alle donne in gravidanza ed il Ministero della Sanità veniva definito inadempiente perché non dispone il rimborso di tali test in attività di routine.

L'episodio è sintomatico del grado di cultura sulla metodologia scientifica nel nostro paese, e non solo a livello di informazione di massa. Preoccupa perché a sostenere quelle tesi è una docente universitaria. Ma delude maggiormente perché l'organo di stampa non ha pubblicato in seguito le lettere di critica che la Società Italiana per lo Studio dell'Emostasi e della Trombosi (SISET) ha inviato al Ministro della Salute e al giornale.

Ciascuno di quei drammatici episodi di mortalità materno-fetale dovrà essere valutato individualmente e solo al termine delle indagini si potrà sapere se una eventuale condizione di trombofilia sarà da considerarsi concausa dell'evento.

La trombofilia, che nelle sue diverse forme cliniche può esprimersi con peso prognostico fortemente variabile, può incidere sull'andamento della gravidanza, con conseguenze di intensità variabile sulla madre e sul feto. Ma, come sostenuto da numerose linee guida di società scientifiche e istituzioni sanitarie nazionali e internazionali, non è dimostrato che l'esecuzione dei test di screening sulla popolazione generale possa prevenire sistematicamente tali complicanze [1-11].

Ma l'altro argomento di grosso sconcerto contenuto nella citata intervista, e che è stato ulteriore stimolo per la redazione del presente articolo, è il riferimento alla necessità dello studio di ben 15 polimorfismi nella diagnostica di screening per la trombofilia. La tesi rappresenta un atteggiamento di frequente riscontro nella pratica quotidiana della medicina di laboratorio, dove si sperimentano spesso sia richieste in tal senso da parte dei clinici, sia offerte di simili "pacchetti diagnostici" da parte di alcuni laboratori di analisi.

1 Il Gruppo di Studio di Coagulazione della SIPMeL ha pertanto voluto eseguire  
2 una revisione della letteratura scientifica nel particolare ambito dello studio dei  
3 polimorfismi nella diagnostica di screening della trombofilia, per evidenziare se ci sia  
4 la necessità di aggiornare quanto sostenuto nelle diverse linee guida attualmente  
5 disponibili, o se invece vada intrapresa una più incisiva attività di contrasto a questo  
6 inappropriato costume prescrittivo attraverso iniziative informative e formative.  
7  
8  
9

## 10 11 12 13 14 15 **Introduzione** 16

17  
18 Le ultime linee guida della SIMeL sulle procedure da seguire per lo screening  
19 della trombofilia sono state pubblicate nella “Rivista di Medicina di Laboratorio” nel  
20 2004 [7] a cura del Gruppo di Studio per la Coagulazione.  
21  
22

23 In esse veniva ricordata la definizione di trombofilia, intesa come la tendenza  
24 al tromboembolismo venoso e/o arterioso, determinata da cause congenite e/o  
25 acquisite, caratterizzata dalla comparsa di manifestazioni cliniche entro la sesta  
26 decade di vita, non riconducibili a cause apparenti e con la tendenza a recidivare.  
27 Venivano indicate le tipologie dei pazienti su cui è indicato eseguire lo studio di  
28 screening. Venivano elencati gli esami consigliati per lo stesso. Venivano specificate  
29 le condizioni cliniche in cui è opportuno eseguire lo screening. Infine veniva  
30 sottolineata l’opportunità di una valutazione dei risultati da parte di personale  
31 medico esperto nell’inquadramento diagnostico e terapeutico.  
32  
33  
34  
35  
36  
37

38  
39 A distanza di 12 anni risulta ancora del tutto condivisibile quanto sostenuto  
40 nelle linee guida di quella edizione.  
41  
42

43 Le alterazioni trombofiliche attualmente diagnosticabili hanno una diversa  
44 prevalenza nella popolazione generale. Alcune sono molto rare, come il deficit grave  
45 di antitrombina stimato intorno al 0,02%. Altre sono più frequenti, come la  
46 mutazione del fattore V di Leiden, stimata, allo stato eterozigote, intorno al 5% della  
47 popolazione caucasica; o la mutazione G20210A del fattore II che, allo stato  
48 eterozigote, risulta presente tra il 2% e il 5% della stessa popolazione. Il loro peso  
49 clinico, come condizioni predisponenti alla malattia tromboembolica, è molto  
50 variabile (indice di rischio relativo): le condizioni più rare risultano più gravi mentre  
51 accade il contrario per quelle di riscontro più frequente.  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

### ***Soggetti per i quali è indicato eseguire lo screening per la trombofilia.***

La relativa diffusione di condizioni congenite di trombofilia con minor peso clinico-prognostico, oltre a considerazioni di economia sanitaria in ambito di prevenzione, consigliano di non eseguire lo studio di screening sulla popolazione generale ma di orientarlo sui soggetti che presentano queste condizioni:

- età di comparsa dell'evento trombotico entro la sesta decade
- tromboembolismo venoso idiopatico
- tromboembolismo venoso ricorrente
- trombosi venose superficiali recidivanti
- soggetti asintomatici con familiarità positiva per eventi tromboembolici ricorrenti
- familiari di primo grado di soggetti portatori di trombofilia eredo-familiare
- associazione trombosi/perdita fetale
- necrosi cutanea indotta da anticoagulanti orali
- porpora fulminante neonatale

### ***Test consigliati per lo screening della trombofilia***

Per uno screening della condizione di trombofilia, da eseguire sui soggetti sopra identificati, risultano validati da studi epidemiologici, e per tanto sono consigliati, i seguenti test clinici:

- Test clinici funzionali (o fenotipici) intesi a identificare condizioni congenite:

- antitrombina
- proteina C
- proteina S
- resistenza alla proteina C attivata
- omocisteina (vedi di seguito nel testo)

1  
2 - Test clinici funzionali intesi a identificare condizioni acquisite, da eseguire pertanto  
3 solo in soggetti che abbiano evidenziato episodi di malattia tromboembolica o  
4 patologia ostetrica ad essa riconducibile (sindrome da anticorpi antifosfolipidi):  
5  
6

- 7 • lupus anticoagulant
- 8 • anticorpi anti-cardiolipina
- 9 • anticorpi anti-beta2-glicoproteina1

10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17 - Test genetici:

- 18 • ricerca della mutazione G20210A del gene della protrombina
- 19 • ricerca della mutazione G1691A del gene del fattore V (cosiddetto di Leiden)

20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27 La interpretazione dei risultati di tutti questi esami richiede particolare  
28 competenza.  
29

30  
31 La ricerca dei polimorfismi della protrombina e del fattore V può esitare in  
32 condizioni di eterozigosi, omozigosi o combinazioni delle stesse. Il dosaggio dei test  
33 funzionali di antitrombina, proteina C e proteina S può evidenziare un continuum  
34 nelle variazioni dei livelli di concentrazione. Tutte queste condizioni hanno un peso  
35 clinico e prognostico diverso (trombofilia maggiore o minore)[11].  
36  
37

38  
39 Per quanto riguarda l'omocisteina, i cui livelli sono influenzati sia da condizioni  
40 genetiche che acquisite (apporto nutrizionale di folati, B6 e B12, funzionalità renale  
41 o tiroidea), non c'è accordo su come valutare clinicamente gli incrementi definiti  
42 "lievi" o "intermedi" [12].  
43  
44

45  
46  
47 Nell'elenco dei test clinici funzionali (fenotipici) non è riportato il dosaggio del  
48 fattore VIII poiché non c'è accordo unanime sul suo impiego come test di screening  
49 a causa della variabilità fisiologica delle sue concentrazioni ematiche. La  
50 maggioranza delle linee guida infatti non lo riportano tra gli esami citati per lo studio  
51 di screening.  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

### ***Condizioni cliniche opportune per l'esecuzione dei test.***

Alcune condizioni cliniche possono interferire con la corretta determinazione dei test funzionali (non di quelli genetici), per cui si raccomanda di NON eseguire lo studio delle indagini fenotipiche (in particolare quelle coagulative) in queste condizioni:

- durante la fase acuta di un evento trombotico, venoso o arterioso
- durante la terapia anticoagulante
- durante malattie intercorrenti acute
- durante la terapia estroprogestinica
- durante la gravidanza
- in presenza di epatopatie

### ***Condizioni cliniche favorenti l'insorgenza di malattia tromboembolica.***

Nella citata edizione delle linee guida SIMeL si ricordava anche che gli episodi di malattia tromboembolica possono manifestarsi senza causa apparente (idiopatici) o in relazione a condizioni favorenti. I primi suggeriscono una maggiore "costituzione trombofilica" nel paziente, con una prognosi più delicata, e richiedono un atteggiamento più prudente nei confronti della durata ottimale di una terapia anticoagulante. Per escludere una condizione idiopatica, nella valutazione clinica di ogni episodio di tromboembolismo, vanno pertanto ricercati accuratamente i fattori di rischio persistenti o transitori che possono aver concomitato e contribuito alla sua comparsa. Tra queste condizioni di rischio vanno ricordati in particolare:

- immobilizzazione persistente
- patologia neoplastica
- traumatismo
- interventi chirurgici
- gravidanza e puerperio
- terapia estroprogestinica
- tabagismo
- obesità

## **Valutazione clinica dei risultati**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

La selezione dei pazienti da studiare, la scelta del momento in cui eseguire i test di screening, il peso prognostico di ciascuno dei test e le loro eventuali combinazioni, la anamnesi personale e familiare del paziente, la possibile presenza di condizioni di rischio transitorie: la considerazione di tutti questi aspetti rende complessa la valutazione clinica dei risultati di uno screening per la trombofilia con le conseguenti implicazioni diagnostiche, prognostiche e terapeutiche. Nella citata edizione delle linee guida SIMeL si sottolineava già la necessità di demandare a personale medico esperto e competente in questo ambito la corretta valutazione dei risultati, con la raccomandazione di avvalersi per questa di “Centri specialistici” (*counselling*).

Nonostante la chiarezza e la articolazione delle raccomandazioni contenute in quella edizione di linee guida, a distanza di 12 anni c'è da constatare che la scarsa conoscenza di questo argomento da parte di molti clinici genera ancora oggi una grande mole di prescrizioni inappropriate. L'inappropriatezza delle richieste riguarda tutti gli ambiti definiti dalle citate linee guida: i pazienti da studiare, il periodo in cui eseguire lo studio, gli esami da richiedere.

A volte, non raramente, a questo conseguono prescrizioni di terapie anticoagulanti e/o antiaggreganti inutili (e rischiose) o “proscrizioni” di trattamenti utili (contraccezione ormonale), oppure ancora errate informazioni allarmanti fornite ai pazienti in merito alla loro discendenza.

A complicare questo quadro si aggiunge, come abbiamo visto nella premessa, la prescrizione di esami, spesso molto costosi come la ricerca dei polimorfismi, che hanno solo una plausibilità teorica dal punto di vista fisiopatologico.

Ma l'introduzione di esami diagnostici nella pratica clinica richiede che alla plausibilità fisiopatologica si aggiunga la dimostrazione della loro forza predittiva in ambito diagnostico e prognostico derivante da studi epidemiologici.

## **Lo Stato dell'Arte sullo studio dei polimorfismi.**

La revisione della letteratura scientifica, riferita allo studio della genetica della trombofilia, conferma che gli unici due polimorfismi di cui è noto l'indice di rischio relativo validato da studi epidemiologici significativi, e quindi impiegabili nella pratica clinica, sono:

- la mutazione del fattore V G1691A (cosiddetta di Leiden)
- la mutazione del fattore II G20210A.

Viene confermata l'inutilità della ricerca dei polimorfismi del gene MTHFR, dovuta alla loro grande diffusione nella popolazione e al fatto che non risultano essere correlati in maniera significativa ad un aumento della omocisteinemia né tanto meno alla insorgenza della malattia tromboembolica venosa [12-13].

La stessa considerazione vale per lo studio di polimorfismi riguardanti altri enzimi del ciclo metabolico della omocisteina (CBS, metionina sintasi) poichè, in uno studio di screening, è sufficiente individuare la sola espressione fenotipica dei livelli di omocisteina ematica.

Vi sono altri polimorfismi, da anni oggetto di studi, che riguardano:

- il cofattore eparinico II, glicoproteina ad azione inibitrice della trombina mediata dalla antitrombina, del quale, oltre alle concentrazioni ematiche, sono stati analizzati gli effetti di alcuni polimorfismi [14-16].
- il plasminogeno, che è stato studiato sia nei difetti quantitativi di I tipo (ipoplasminogenemia) che qualitativi di II tipo (displasminogenemia) [17-18].
- l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1), di cui sono stati studiati gli effetti degli aumentati livelli circolanti dovuti al polimorfismo 4G/5G [19].
- il fibrinogeno, del quale sono note circa 300 varianti qualitative strutturali (disfibrinogenemie) [20].
- il TAFI (inibitore della fibrinolisi attivato dalla trombina) di cui sono stati studiati gli effetti degli aumentati livelli circolanti indotti da polimorfismi nella regione "promoter" del gene [21].
- il fattore XIII di cui sono stati studiati gli effetti degli aumentati livelli circolanti indotti dal polimorfismo Val34Leu della subunità catalitica A [22].
- la lipoproteina(a) che ha una struttura conformazionale analoga al plasminogeno, per cui compete con esso nel legame con la fibrina inibendo la fibrinolisi, della quale sono stati studiati due polimorfismi del gene strutturale (rs10455872 e rs3798220) [23].

- 1 • il TFPI (inibitore della "via" del fattore tissutale) cui sono stati studiati gli effetti  
2 dei ridotti livelli circolanti correlati al polimorfismo C536T [24].  
3
- 4 • la trombomodulina (proteina di superficie delle cellule endoteliali con azione di  
5 attivazione della proteina C mediata dalla trombina) della cui espressione  
6 fenotipica sono stati studiati gli effetti di svariati polimorfismi (1418 C/T,  
7 1748G/C, -133C/A, -33G/A 3545 G/A) [25-26].  
8
- 9 • il recettore endoteliale della proteina C (EPCR) di cui in particolare sono stati  
10 studiati gli aplotipi H1 (4678G/C, rs9574) e H3 (4600A/G, rs867186) [27-28].  
11
- 12 • l'enzima di conversione della angiotensina (ACE) che, oltre alla importante  
13 attività regolatrice sul tono pressorio, eserciterebbe una inibizione sulla fibrinolisi  
14 e del quale è stato studiato il polimorfismo D/D [29].  
15
- 16 • la proteina Z, cofattore della proteasi inibitrice del fattore X attivato (ZPI), di cui  
17 sono stati studiati polimorfismi che ne inducono bassi livelli plasmatici [30].  
18
- 19 • la proteasi inibitrice del fattore X attivato proteina Z dipendente (ZPI), della quale  
20 sono stati studiati polimorfismi con lo stesso significato [31].  
21
- 22 • la ADAMTS13 (*A-Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin-1-like*  
23 *domains*), la metalloproteina responsabile della depolimerizzazione dei multimeri  
24 "ultralarge" del fattore di von Willebrand. Sono stati identificati 12 polimorfismi  
25 nella eziopatogenesi delle rare forme di porpora trombotica trombocitopenica  
26 congenita, ma non ci sono ancora evidenze conclusive del suo ruolo nella  
27 malattia tromboembolica venosa [32-33].  
28
- 29 • l'antigene piastrinico umano 1 (HPA-1), che fa parte della glicoproteina IIb/IIIa  
30 della membrana piastrinica con funzione di adesione e aggregazione, del quale è  
31 stato studiato il polimorfismo L33P [34-35].  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44

45 Di tutti questi polimorfismi in letteratura non vi sono ancora conferme  
46 epidemiologiche significative e conclusive che consentano di trasferire la loro ricerca  
47 nella pratica clinica [36].  
48  
49

50 In particolare non viene confermata la utilità della ricerca del polimorfismo noto  
51 come fattore V aplotipo HR2. Questo polimorfismo, se presente in concomitanza  
52 con la mutazione fattore V Leiden, risulta a volte associato a valori più bassi di APCR,  
53 suggestivi di una aumentata espressione fenotipica di rischio. In assenza della  
54 associazione con la mutazione fattore V Leiden invece non sembra predire un  
55 incremento del rischio tromboembolico [37-47].  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Alcuni studi, infine, propongono di valutare la combinazione dei diversi polimorfismi, che da soli non hanno mostrato ancora un potere predittivo significativo, nel tentativo di individuare dei possibili “cluster” con più alto indice prognostico [48], avvalendosi per questo di complessi sistemi di elaborazione dei dati. Si tratta di un interessante argomento di ricerca, in vista anche dei percorsi e delle tecnologie immaginate per il futuro della cosiddetta medicina personalizzata. Mancano però ancora, anche in questo caso, i riscontri epidemiologici sufficienti a trasferire già da adesso la ricerca di queste combinazioni di Polimorfismi nella attività di diagnostica quotidiana.

## Conclusioni

Nonostante la interessante quantità di nuovi studi, non sono ancora emersi in letteratura dati conclusivi tali da giustificare, nella diagnostica di screening della pratica clinica quotidiana, la introduzione della ricerca di nuovi polimorfismi per la valutazione genetica del rischio trombofilico.

La condivisione di questo messaggio da parte del mondo della medicina di laboratorio, e della industria dei diagnostici, non sembra sufficientemente diffusa. Molti laboratori infatti risultano attrezzati per fornire esami di genetica per la ricerca di quei polimorfismi che non hanno una ricaduta clinica validata dalla letteratura scientifica. Questo atteggiamento, unito spesso alla inadeguata informazione da parte dei clinici non specialisti nell’ambito della diagnostica della trombofilia, contribuisce a generare la produzione di richieste inappropriate e la esecuzione di esami inutili di cui siamo testimoni quotidianamente.

La SIPMeL, con le altre società scientifiche, sia cliniche che di laboratorio, può e deve quindi ancora insistere nella attività educativa e formativa in questo complesso e delicato campo della diagnostica.

**Conflitti di interesse** Nessuno.

**Studi condotti su esseri umani o animali** L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.

**Consenso informato** Non applicabile.

## BIBLIOGRAFIA

- 1  
2  
3  
4  
5  
6 1. European Genetics Foundation; Cardiovascular Disease Educational and Research Trust;  
7 International Union of Angiology; Mediterranean League on Thromboembolism, Nicolaides  
8 AN, Breddin HK, Carpenter P et al (2005) Thrombophilia and venous thromboembolism.  
9 International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence. *Int Angiol*  
10 24:1-26  
11
- 12  
13 2. Pernod G, Biron-Andreani C, Morange PE et al (2009) French group on Haemostasis and  
14 Thrombosis; French Society of vascular medicine. Recommendations on testing for  
15 thrombophilia in venous thromboembolic disease: a French consensus guideline. *J Mal*  
16 *Vasc* 34:156-203  
17
- 18  
19 3. Baglin T, Gray E, Greaves M et al (2010) British Committee for Standards in Haematology.  
20 Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol* 149:209-220  
21
- 22  
23 4. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group  
24 (2011) Recommendations from the EGAPP Working Group: routine testing for Factor  
25 Leiden (R506Q) and Prothrombin (G20210A) mutations in adults with a history of idiopathic  
26 venous thromboembolism and their adults family members. *Genet Med* 13:67-76  
27
- 28  
29 5. Kearon C, Kahn SR, Agnelli G et al (2008) American College of Chest Physicians.  
30 Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest  
31 Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 133 (6 Suppl):  
32 454S-545S  
33
- 34  
35 6. NICE (2015) Venous thromboembolic disease: the management of venous thromboembolic  
36 disease and the role of thrombophilia testing. Clinical guideline 144, London: National  
37 Institute for Health and Clinical Excellence, published June 2012, updated November 2015  
38
- 39  
40 7. Testa S, Antonucci G, Intra E et al (2004) per il Gruppo di Studio Coagulazione SIMEL: Gli  
41 screening per Trombofilia. *Riv Med Lab - JLM* 5:118-120  
42
- 43  
44 8. Lussana F, Dentali F, Abbate R et al (2009) Italian Society for Haemostasis and  
45 Thrombosis. Screening for thrombophilia and antithrombotic prophylaxis in pregnancy:  
46 Guidelines of the Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISSET). *Thromb Res*  
47 124:e19-25  
48
- 49  
50 9. Istituto Superiore di Sanità. Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione  
51 della salute (2008) Consensus Conference, Roma 18-19 Settembre 2008: Prevenzione  
52 delle complicanze trombotiche associate all'uso di estroprogestinici in età riproduttiva.  
53 Sistema Nazionale per le Linee guida (SNLG) Luglio 2009  
54
- 55  
56 10. De Stefano, Rossi E (2013) Testing for inherited thrombophilia and consequences for  
57 antithrombotic prophylaxis in patients with venous thromboembolism and their relatives. A  
58 review of the Guidelines from Scientific Societies and Working Groups. *Thromb Haemost*  
59 110:697-705  
60

- 1  
2 11. De Stefano, Rossi E (2016) Thrombophilia and risk of recurrent venous thromboembolism.  
3 XXIV National Congress of the Italian Society for Thrombosis and Hemostasis (SISSET).  
4 Blood Trasfus 14 Suppl 5:663-667.  
5
- 6  
7 12. Eldibany MM, Caprini JA (2007) Hyperhomocysteinemia and thrombosis: An overview. Arch  
8 Pathol Lab Med 131:872–884  
9
- 10 13. Bezemer ID, Doggen CJ, Vos HL et al (2007) No association between the common MTHFR  
11 677C->T polymorphism and venous thrombosis: Results from the MEGA study. Arch Intern  
12 Med 167:497–501  
13
- 14 14. Bernardi F, Legnani C, Micheletti F et al (1996) A heparin cofactor II mutation (HCII Rimini)  
15 combined with factor V Leiden or type I protein C deficiency in two unrelated thrombophilic  
16 subjects. Thromb Haemost 76:505-509  
17
- 18 15. Rau JC, Mitchell JW, Fortenberry YM et al (2011) Heparin cofactor II: discovery, properties,  
19 and role in controlling vascular homeostasis. Semin Thromb Hemost 37:339-348  
20
- 21 16. Boyle AJ, Roddick LA, Bhakta V et al (2013) The complete N-terminal extension of heparin  
22 cofactor II is required for maximal effectiveness as a thrombin exosite 1 ligand. BMC  
23 Biochem 14:6  
24
- 25 17. Schuster V, Hügler B, Tefs K (2007) Plasminogen deficiency. J Thromb Haemost 5:2315-  
26 2322  
27
- 28 18. Mehta R, Shapiro AD (2008) Plasminogen deficiency. Haemophilia 14:1261-1268  
29
- 30 19. Seguí R, Estellés A, Mira Y et al (2000) PAI-1 promoter 4G/5G genotype as an additional  
31 risk factor for venous thrombosis in subjects with genetic thrombophilic defects. Br J  
32 Haematol 111:122-128  
33
- 34 20. Martinez J (1997) Congenital dysfibrinogenemia. Curr Opin Hematol 4:357-365  
35
- 36 21. van Tilburg NH, Rosendaal FR, Bertina RM (2000) Thrombin activable fibrinolysis inhibitor  
37 and the risk for deep vein thrombosis. Blood 95:2855-2859  
38
- 39 22. Bagoly Z, Koncz Z, Hársfalvi J et al (2012) Factor XIII, clot structure, thrombosis. Thromb  
40 Res 129:382-387  
41
- 42 23. Danik JS, Buring JE, Chasman DI et al (2013) Lipoprotein(a), polymorphisms in the LPA  
43 gene, and incident venous thromboembolism among 21483 women. J Thromb Haemost  
44 11:205-208  
45
- 46 24. González-Conejero R, Lozano ML, Corral J et al (2000) The TFPI C536T mutation is not  
47 associated with increased risk for venous or arterial thrombosis. Thromb Haemost 83: 787-  
48 788  
49
- 50 25. Ohlin AK, Norlund L, Marland RA (1997) Thrombomodulin gene variations and  
51 thromboembolic disease. Thromb Haemost 78:396-400  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 1 26. Navarro S, Medina P, Bonet E et al (2013) Association of thrombomodulin gene c.1418C>T  
2 polymorphism with thrombomodulin levels and with venous thrombosis risk. *Arterioscler*  
3 *Thromb Vasc Biol* 33:1435-1440
- 4 27. Medina P, Navarro S, Estellés A et al (2007) Polymorphisms in the endothelial protein C  
5 receptor gene and thrombophilia. *Thromb Haemost* 98:564-569
- 6 28. Medina P, Navarro S, Bonet E et al (2014) Functional analysis of two haplotypes of the  
7 human endothelial protein C receptor gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34:684-690
- 8 29. Hsiao FC, Hsu LA (2011) Meta-analysis of association between insertion/deletion  
9 polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and venous thromboembolism.  
10 *Clin Appl Thromb Hemost* 17:51-57
- 11 30. Bafunno V, Santacroce R, Margaglione M (2011) The risk of occurrence of venous  
12 thrombosis: focus on protein Z. *Thromb Res* 128:508-511
- 13 31. Razzari C, Martinelli I, Bucciarelli P et al (2006) Polymorphisms of the protein Z-dependent  
14 protease inhibitor (ZPI) gene and the risk of venous thromboembolism. *Thromb Haemost*  
15 95:909-910
- 16 32. Bittar LF, de Paula EV, Mello TB et al (2011) Polymorphisms and mutation in vVW and  
17 ADAMTS13 genes and their correlation with plasma levels of FVIII and vVW in patients with  
18 deep venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 17:514-518
- 19 33. Lotta LA, Tuan G, Yu J et al (2013) Next-generation sequencing study finds an excess of  
20 rare, coding single-nucleotide variants of ADAMTS13 in patients with deep vein thrombosis. *J*  
21 *Thromb Haemost* 11:1228-1239
- 22 34. Bray PF (2000) Platelet glycoprotein polymorphisms as risk factor for thrombosis. *Curr Opin*  
23 *Hematol* 7:284-289
- 24 35. Saidi S, Mahjoub T, Slamia LB et al (2008) Polymorphisms of the human platelet  
25 alloantigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-4 in ischemic stroke. *Am J Hematol* 83:570-  
26 573
- 27 36. Franchini M, Martinelli I, Mannucci PM (2016) Uncertain thrombophilia markers. *Thromb*  
28 *Haemost* 115:25-30
- 29 37. Bernardi F, Faioni EM, Castoldi E et al (1997) A factor V genetic component differing from  
30 factor V R506Q contributes to the activated protein C resistance phenotype. *Blood* 90:1552-  
31 1557
- 32 38. Segers O, Simioni P, Tormene D et al (2012) Genetic modulation of the FV(Leiden)/normal  
33 FV ratio and risk of venous thrombosis in factor V Leiden heterozygotes. *J Thromb Haemost*  
34 10:73-80.
- 35 39. Castoldi E, Brugge GM, Nicoolaes GA et al (2004) Impaired APC cofactor activity of factor V  
36 plays a major role in the APC resistance associated with the factor V Leiden (R506Q) and  
37 R2 (H1299R) mutations. *Blood* 103:4173-4179

- 1  
2 40. Alhenc-Gelas M, Nicaud V, Gandrille S et al (1999) The factor V gene A4070G mutation and  
3 the risk of venous thrombosis. *Thromb Haemost* 81:193-197  
4
- 5 41. Margaglione M, Bossone A, Coalizzo D et al (2002) FV HR2 haplotype as additional  
6 inherited risk factor for deep vein thrombosis in individuals with a high-risk profile. *Thromb*  
7 *Haemost* 87:32-36  
8
- 9  
10 42. Luddington R, Jackson A, Pannerselvam S et al (2000) The factor V R2 allele: risk of  
11 venous thromboembolism, factor V levels and resistance to activated protein C. *Thromb*  
12 *Haemost* 83:204-208  
13
- 14 43. Benson JM, Ellingsen D, El-Jamil M et al (2001) Factor V Leiden and factor V R2 allele:  
15 high-throughput analysis and association with venous thromboembolism. *Thromb Haemost*  
16 86:1188-1192  
17
- 18  
19 44. Faioni EM, Franchi F, Bucciarelli P et al (1999) Coinheritance of the HR2 haplotype in the  
20 factor V gene confers an increased risk of venous thromboembolism to carriers of factor V  
21 R506Q (factor V Leiden). *Blood* 94:3062-3066  
22
- 23 45. Folsom AR, Cushman M, Tsai MY et al (2002) A prospective study of venous  
24 thromboembolism in relation to factor V Leiden and related factors. *Blood* 99:2720-2725  
25
- 26  
27 46. Tormene D, Fortuna S, Tognin G et al (2005) The incidence of venous thromboembolism in  
28 carriers of antithrombin, protein C or protein S deficiency associated with the HR2 haplotype  
29 of factor V: a family cohort study. *J Thromb Haemost* 3:1414-1420  
30
- 31 47. Aleksova A, Di Nucci M, Gobbo M et al (2015) Factor-V HR2 haplotype and thromboembolic  
32 disease. *Acta Cardiol* 70:707-711  
33
- 34  
35 48. Simsek E, Yesilyurt A, Pinarli F et al (2014) Combined genetic mutations have remarkable  
36 effect on deep venous thrombosis and/or pulmonary embolism occurrence. *Gene* 536:171-  
37 176  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

[Click here to view linked References](#)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Elenco delle correzioni apportate al manoscritto  
"Linee Guida SIPMeL per la ricerca dei Polimorfismi  
nella Diagnostica di Screening della Trombofilia"

- 1) Nel titolo in inglese riportato in Editorial Manager, short title, è stata corretta la parola: screening. Inoltre il titolo in inglese è stato aggiunto al manoscritto.
- 2) A pag.1 La frase "Gruppo di Studio di Coagulazione... è stata corretta e posta dopo le affiliazioni degli autori (la correzione richiesta al punto 2 della revisione editoriale è evidenziata con sottolineatura).
- 3) Nella corrispondenza sono stati inseriti i dati richiesti per gli autori.
- 4) Nel Summary (pag.3) è stato specificato per esteso, e in inglese, il significato di SIPMeL e SIMeL (la sigla GdS è stata tolta dal testo e riferita per esteso).
- 5) In tutto il testo, come richiesto, le maiuscole sono state sostituite con le minuscole (ogni correzione è stata evidenziata con la sottolineatura).
- 6) E' stato accolto anche il punto 6 delle richieste di revisione editoriale, sia a pag.9 (rigo 10), ma anche a pag.5 (rigo 9-10), togliendo in entrambi "età giovanile" (anche queste correzioni sono evidenziate con la sottolineatura).
- 7) Per quanto riguarda il punto 7 delle richieste di revisione editoriale il verbo compare dopo i due punti di interpunzione: "...*condizioni di rischio transitorie: la considerazioni di tutti questi aspetti rende...*". Sono disponibile a sostituire ":" con una "," ma francamente non mi sembra necessario.

Ringraziando per l'attenzione e l'attività di revisione, invio un cordiale saluto.

Roma, 27/01/2017

*Michele Bertini*

*Conflict of Interest Disclosure Form*

È politica *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio-Italian Journal of Laboratory Medicine* garantire l'equilibrio, l'indipendenza, l'obiettività e il rigore scientifico dei suoi contenuti. Tutti gli autori sono tenuti a esplicitare ai lettori un conflitto reale o apparente di interessi che possono avere un rapporto diretto con il loro articolo.

Questo riguarda i rapporti con le aziende farmaceutiche, i produttori di dispositivi biomedicali o altre società i cui prodotti o servizi possono essere correlati all'argomento dell'articolo o alla sponsorizzazione dello studio descritto.

Non si vuole assolutamente contrastare la pubblicazione di articoli da parte di autori con un potenziale conflitto di interessi. L'esplicitazione di quest'ultimo infatti è necessario esclusivamente ai lettori, che avranno così gli strumenti per potersi formare un proprio giudizio e stabilire se il conflitto di interessi abbia o meno portato a una possibile distorsione sia nell'esposizione sia nelle conclusioni presentate.

Si prega il *corresponding author* di compilare e inviare il modulo per l'*Editor-in-Chief* per conto di tutti gli autori elencati di seguito.

It is the policy of *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio-Italian Journal of Laboratory Medicine* to ensure balance, independence, objectivity, and scientific rigor in the Journal. All authors are expected to disclose to the readers any real or apparent conflict(s) of interest that may have a direct bearing on the subject matter of the article. This pertains to relationships with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers or other corporation whose products or services may be related to the subject matter of the article or who have sponsored the study. The intent of the policy is not to prevent authors with a potential conflict of interest from publication. It is merely intended that any potential conflict should be identified openly so that the readers may form their own judgements about the article with the full disclosure of the facts. It is for the readers to determine whether the authors' outside interest may reflect a possible bias in either the exposition of the conclusions presented.

The corresponding author will complete and submit this form to the Editor-in-Chief on behalf of all authors listed below.

*Rivista/Journal* **La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio**

.....  
*Titolo dell'Articolo/Article Title*

**Linee Guida SIPMeL per la ricerca dei Polimorfismi  
nella Diagnostica di Screening della Trombofilia.**

*Autori/Authors*

**Michele Bertini, Pierfrancesco Agostini, Francesco Bondanini, Maria Matilde Ciriello, Maria Rita Cozzi, Marta Sofia Angela Demicheli, Cristina Legnani, Giuliana Martini, Cristina Novembrino, Oriana Paoletti, Simona Pedrini, Lucia Rocco, Agostino Steffan, Lucia Terzuoli, Sophie Testa.**

Per cortesia tenga presente che il conflitto di interessi verrà pubblicato su ogni articolo.

Please note that a conflict of interest statement is published with each paper.

Per cortesia dichiarare qui di seguito l'eventuale conflitto di interesse

If any conflict exists, please define hereafter:

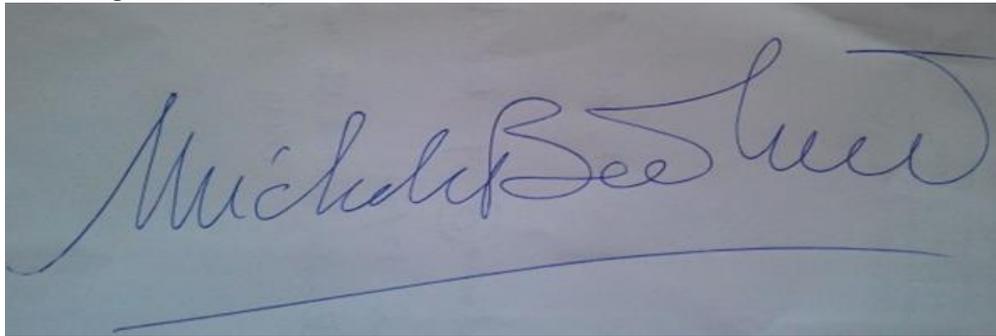
*(Se non è presente alcun conflitto scriva "Nessuno", altrimenti descriva gli accordi/interessi finanziari con una o più organizzazioni che potrebbero essere percepiti come reali o apparenti conflitti di interesse in relazione ai contenuti del suo articolo.)*

*(If none, "None" or describe financial interest/arrangement with one or more organizations that could be perceived as a real or apparent conflict of interest in the context of the subject of this article):*

## **NESSUN CONFLITTO DI INTERESSI**

Nome/Name **Michele Bertini**

.....  
Firma/Signature .



Data/Date: **06 / 01 / 2017**

Per cortesia compili questo documento e lo carichi in Editorial Manager insieme al suo articolo.

Please fill in this document and upload it in Editorial Manager while submitting your manuscript.



<http://www.springer.com/journal/13631>

La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio – Italian  
Journal of Laboratory Medicine

Direttore Scientifico: Dorizzi, R.M.; Bizzaro, N.

ISSN: 1825-859X (print version)

ISSN: 2039-6821 (electronic version)

Journal no. 13631

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44

# Linee guida SIPMeL per la ricerca dei polimorfismi nella diagnostica di screening della trombofilia

*Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine (SIPMeL)  
Guidelines for laboratory screening DNA testing for thrombophilia*

45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Michele Bertini<sup>1</sup>, Pierfrancesco Agostini<sup>2</sup>, Francesco Bondanini<sup>3</sup>,  
Maria Matilde Ciriello<sup>4</sup>, Maria Rita Cozzi<sup>5</sup>, Marta Sofia Angela Demicheli<sup>4</sup>,  
Giovina Di Felice<sup>6</sup>, Cristina Legnani<sup>7</sup>, Giuliana Martini<sup>8</sup>,  
Cristina Novembrino<sup>9</sup>, Oriana Paoletti<sup>10</sup>, Simona Cedrini<sup>11</sup>,  
Lucia Ruocco<sup>12</sup>, Agostino Steffan<sup>5</sup>, Lucia Terzuoli<sup>13</sup>, Sophie Testa<sup>10</sup>

Gruppo di Studio di Coagulazione SIPMeL

M. Bertini

michele.bertini@aslroma1.it

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5 <sup>1</sup> UOC di Patologia Clinica e Ambulatorio per lo studio della Trombofilia, Presidio
- 6 Ospedaliero S. Filippo Neri, ASL Roma 1, Roma, Italia
- 7
- 8 <sup>2</sup> UO Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero San Paolo, Asl Bari, Bari, Italia
- 9
- 10 <sup>3</sup> UOC Biochimica Clinica, Ospedale Sandro Pertini, ASL Roma2, Roma, Italia
- 11
- 12 <sup>4</sup> Laboratorio Malattie Emorragiche e Trombotiche, Laboratorio Analisi, Azienda
- 13 Ospedaliera SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria, Italia
- 14
- 15 <sup>5</sup> Patologia Clinica Oncologica, IRCCS Centro di Riferimento Oncologico, Aviano (PN),
- 16 Italia
- 17
- 18 <sup>6</sup> UOC Laboratorio Analisi, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia
- 19
- 20 <sup>7</sup> UO Angiologia e Malattie della Coagulazione, Azienda Ospedaliera di Bologna,
- 21 Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna, Italia
- 22
- 23 <sup>8</sup> Centro Emostasi, Laboratorio, Spedali Civili, Brescia, Italia
- 24
- 25 <sup>9</sup> Centro Emofilia e Trombosi Angelo Bianchi Bonomi, e Laboratorio Centrale Analisi
- 26 Chimico Cliniche e Microbiologia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore
- 27 Policlinico, Milano, Italia
- 28
- 29 <sup>10</sup> Centro Emostasi e Trombosi, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, ASST
- 30 Cremona, Cremona, Italia
- 31
- 32 <sup>11</sup> Servizio di Medicina di Laboratorio, Istituto Ospedaliero, Fondazione
- 33 Poliambulanza, Brescia, Italia
- 34
- 35 <sup>12</sup> UO Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Ambulatorio Antitrombosi, Azienda
- 36 Ospedaliera Universitaria Pisana, Pisa, Italia
- 37
- 38 <sup>13</sup> Dipartimento Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Siena; Laboratorio
- 39 Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena, Italia
- 40
- 41
- 42
- 43
- 44
- 45
- 46
- 47
- 48
- 49
- 50
- 51
- 52
- 53
- 54
- 55
- 56
- 57
- 58
- 59
- 60
- 61
- 62
- 63
- 64
- 65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**Riassunto** Con il termine trombofilia si identifica una condizione clinica che determina un aumento del rischio di malattia tromboembolica venosa e di alcune patologie della gravidanza. Questa condizione può essere associata ad alterazioni ematologiche, sia congenite sia acquisite, che possono essere studiate con dosaggi quantitativi o con tecniche genetiche di biologia molecolare. L'utilità di eseguire indagini di laboratorio per identificare una condizione ereditaria di trombofilia è a tutt'oggi argomento di discussione. Da parte di diverse Società scientifiche e Gruppi di Lavoro sono state prodotte linee guida nelle quali si sostiene che gli unici esami validati per uno studio di screening di primo livello per la trombofilia ereditaria sono: il dosaggio di antitrombina, proteina C e proteina S e la ricerca delle mutazioni per fattore V di Leiden e protrombina G20210A. Ciò nonostante, a livello di indagini di screening, viene spesso richiesto o proposto lo studio di molti altri polimorfismi con incerta utilità clinica, notevole aumento dei costi e produzione di ansie e timori ingiustificati nella popolazione esaminata. Il Gruppo di Studio di Coagulazione della SIPMeL ha voluto eseguire una ricognizione della letteratura medica per aggiornare la precedente edizione di Linee guida SIMEL sullo screening della trombofilia (2004) e in particolare per ampliare le raccomandazioni in merito alla ricerca dei polimorfismi nello studio della diagnostica della trombofilia ereditaria.

**Parole chiave** Trombofilia • Marcatori genetici di trombofilia • Polimorfismi • Indagini di laboratorio • Linee guida

**Summary** The term thrombophilia refers to an abnormality of blood coagulation leading to an increased risk of venous thromboembolism and obstetric complications. It may be associated with inherited or acquired risk factors that can be measured in plasma or DNA testing. The utility of laboratory investigation for inherited thrombophilia has been largely debated. Several Guidelines from Scientific Societies and Working Groups are produced in which only deficiencies of antithrombin, protein C, protein S and mutations of Factor V Leiden and prothrombin G20210A are established as validated biomarkers at the first-level laboratory screening test for inherited thrombophilia. Nevertheless many others polymorphisms are often proposed as markers to be investigated in a screening set with doubtful clinical benefits, increase of related costs and production of anxiety and fear in the examined people. The Study Group on Coagulation of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine (SIPMeL) reviewed the medical literature to update the previous edition of SIMEL (Italian Society of Laboratory Medicine) Guidelines for the screening of thrombophilia (2004) and to expand the recommendations about the investigation of the related polymorphisms.

**Keywords** Thrombophilia • Genetic thrombophilia markers • Polymorphisms • Laboratory investigation • Guidelines

## Premessa

Verso la fine del 2015 si sono verificati in alcuni ospedali italiani, anche di elevata qualità assistenziale, cinque episodi di mortalità materno-fetale che hanno suscitato allarmata attenzione nell'opinione pubblica e vasta eco nei mass-media, producendo però a volte informazioni e considerazioni infondate.

Si veda per esempio l'intervista in merito, riportata da "Repubblica" il 3 gennaio 2016, dove una docente universitaria sosteneva che quelle morti potevano essere evitate con l'esecuzione di un esame di "Screening sulla trombofilia" esteso a ben 15 mutazioni genetiche, peraltro non specificate. Nell'intervista i 15 test venivano definiti come "salvavita" se eseguiti alle donne in gravidanza e il Ministero della salute veniva definito inadempiente perché non dispone il rimborso di tali test in attività di routine.

L'episodio è sintomatico del grado di cultura sulla metodologia scientifica nel nostro Paese, e non solo a livello di informazione di massa. Preoccupa perché a sostenere quelle tesi è una docente universitaria. Ma delude maggiormente perché l'organo di stampa non ha pubblicato in seguito le lettere di critica che la Società Italiana per lo Studio dell'Emostasi e della Trombosi (SISET) ha inviato al Ministro della salute e al giornale.

Ciascuno di quei drammatici episodi di mortalità materno-fetale dovrà essere valutato individualmente e solo al termine delle indagini si potrà sapere se un'eventuale condizione di trombofilia sarà da considerarsi concausa dell'evento.

La trombofilia, che nelle sue diverse forme cliniche può esprimersi con peso prognostico fortemente variabile, può incidere sull'andamento della gravidanza, con conseguenze di intensità variabile sulla madre e sul feto. Ma, come sostenuto da numerose linee guida di Società scientifiche e istituzioni sanitarie nazionali e internazionali, non è dimostrato che l'esecuzione dei test di screening sulla popolazione generale possa prevenire sistematicamente tali complicanze [1-11].

Ma l'altro argomento di grosso sconcerto contenuto nella citata intervista, e che è stato ulteriore stimolo per la redazione del presente articolo, è il riferimento alla necessità dello studio di ben 15 polimorfismi nella diagnostica di screening per la trombofilia. La tesi rappresenta un atteggiamento di frequente riscontro nella pratica quotidiana della Medicina di Laboratorio, dove si sperimentano spesso sia richieste in tal senso da parte dei clinici, sia offerte di simili "pacchetti diagnostici" da parte di alcuni Laboratori di analisi.

1 Il Gruppo di Studio di Coagulazione della SIPMeL ha pertanto voluto eseguire  
2 una revisione della letteratura scientifica nel particolare ambito dello studio dei  
3 polimorfismi nella diagnostica di screening della trombofilia, per evidenziare se ci sia  
4 la necessità di aggiornare quanto sostenuto nelle diverse linee guida attualmente  
5 disponibili, o se invece vada intrapresa una più incisiva attività di contrasto a questo  
6 inappropriato costume prescrittivo attraverso iniziative informative e formative.  
7  
8  
9

## 10 11 12 13 14 15 **Introduzione** 16

17  
18 Le ultime linee guida della SIMeL sulle procedure da seguire per lo screening  
19 della trombofilia sono state pubblicate nella “Rivista di Medicina di Laboratorio” nel  
20 2004 [7] a cura del Gruppo di Studio per la Coagulazione.  
21  
22

23 In esse veniva ricordata la definizione di trombofilia, intesa come la tendenza  
24 al tromboembolismo venoso e/o arterioso, determinata da cause congenite e/o  
25 acquisite, caratterizzata dalla comparsa di manifestazioni cliniche entro la sesta  
26 decade di vita, non riconducibili a cause apparenti e con la tendenza a recidivare.  
27 Venivano indicate le tipologie dei pazienti su cui è indicato eseguire lo studio di  
28 screening. Venivano elencati gli esami consigliati per lo stesso. Venivano specificate  
29 le condizioni cliniche in cui è opportuno eseguire lo screening. Infine veniva  
30 sottolineata l’opportunità di una valutazione dei risultati da parte di personale  
31 medico esperto nell’inquadramento diagnostico e terapeutico.  
32  
33  
34  
35  
36  
37

38  
39 A distanza di 12 anni risulta ancora del tutto condivisibile quanto sostenuto  
40 nelle linee guida di quella edizione.  
41  
42

43 Le alterazioni trombofiliche attualmente diagnosticabili hanno una diversa  
44 prevalenza nella popolazione generale. Alcune sono molto rare, come il deficit grave  
45 di antitrombina stimato intorno allo 0,02%. Altre sono più frequenti, come la  
46 mutazione del fattore V di Leiden, stimata, allo stato eterozigote, intorno al 5% della  
47 popolazione caucasica; o la mutazione G20210A del fattore II che, allo stato  
48 eterozigote, risulta presente nel 2-5% della stessa popolazione. Il loro peso clinico,  
49 come condizioni predisponenti alla malattia tromboembolica, è molto variabile  
50 (indice di rischio relativo): le condizioni più rare risultano più gravi, mentre accade il  
51 contrario per quelle di riscontro più frequente.  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59

### ***Soggetti per i quali è indicato eseguire lo screening per la trombofilia***

La relativa diffusione di condizioni congenite di trombofilia con minor peso clinico-prognostico, oltre a considerazioni di economia sanitaria in ambito di prevenzione, consiglia di non eseguire lo studio di screening sulla popolazione generale ma di orientarlo sui soggetti che presentano queste condizioni:

- età di comparsa dell'evento trombotico entro la sesta decade;
- tromboembolismo venoso idiopatico;
- tromboembolismo venoso ricorrente;
- trombosi venose superficiali recidivanti;
- soggetti asintomatici con familiarità positiva per eventi tromboembolici ricorrenti;
- familiari di primo grado di soggetti portatori di trombofilia eredo-familiare;
- associazione trombosi/perdita fetale;
- necrosi cutanea indotta da anticoagulanti orali;
- porpora fulminante neonatale.

### ***Test consigliati per lo screening della trombofilia***

Per uno screening della condizione di trombofilia, da eseguire sui soggetti sopra identificati, risultano validati da studi epidemiologici, e pertanto sono consigliati, i seguenti test clinici:

- Test clinici funzionali (o fenotipici) intesi a identificare condizioni congenite:

- antitrombina;
- proteina C;
- proteina S;
- resistenza alla proteina C attivata;
- omocisteina (vedi di seguito nel testo).

1  
2 - Test clinici funzionali intesi a identificare condizioni acquisite, da eseguire pertanto  
3 solo in soggetti che abbiano evidenziato episodi di malattia tromboembolica o  
4 patologia ostetrica a essa riconducibile (sindrome da anticorpi antifosfolipidi):  
5

- 6 • lupus anticoagulant;
- 7
- 8 • anticorpi anti-cardiolipina;
- 9
- 10 • anticorpi anti-beta2-glicoproteina1.
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16

17 - Test genetici:

- 18 • ricerca della mutazione G20210A del gene della protrombina;
- 19
- 20 • ricerca della mutazione G1691A del gene del fattore V (cosiddetto di Leiden).
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26

27 L'interpretazione dei risultati di tutti questi esami richiede particolare  
28 competenza.  
29

30 La ricerca dei polimorfismi della protrombina e del fattore V può esitare in  
31 condizioni di eterozigosi, omozigosi o combinazioni delle stesse. Il dosaggio dei test  
32 funzionali di antitrombina, proteina C e proteina S può evidenziare un *continuum*  
33 nelle variazioni dei livelli di concentrazione. Tutte queste condizioni hanno un peso  
34 clinico e prognostico diverso (trombofilia maggiore o minore) [11].  
35

36 Per quanto riguarda l'omocisteina, i cui livelli sono influenzati da condizioni sia  
37 genetiche sia acquisite (apporto nutrizionale di folati, B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>, funzionalità renale o  
38 tiroidea), non c'è accordo su come valutare clinicamente gli incrementi definiti  
39 "lievi" o "intermedi" [12].  
40

41 Nell'elenco dei test clinici funzionali (fenotipici) non è riportato il dosaggio del  
42 fattore VIII poiché non c'è accordo unanime sul suo impiego come test di screening  
43 a causa della variabilità fisiologica delle sue concentrazioni ematiche. La  
44 maggioranza delle linee guida infatti non lo riporta tra gli esami citati per lo studio di  
45 screening.  
46

### ***Condizioni cliniche opportune per l'esecuzione dei test***

Alcune condizioni cliniche possono interferire con la corretta determinazione dei test funzionali (non di quelli genetici), per cui si raccomanda di NON eseguire lo studio delle indagini fenotipiche (in particolare quelle coagulative) in queste condizioni:

- durante la fase acuta di un evento trombotico, venoso o arterioso;
- durante la terapia anticoagulante;
- durante malattie intercorrenti acute;
- durante la terapia estroprogestinica;
- durante la gravidanza;
- in presenza di epatopatie.

### ***Condizioni cliniche favorevoli all'insorgenza di malattia tromboembolica***

Nella citata edizione delle linee guida SIMeL si ricordava anche che gli episodi di malattia tromboembolica possono manifestarsi senza causa apparente (idiopatici) o in relazione a condizioni favorevoli. I primi suggeriscono una maggiore "costituzione trombofilica" nel paziente, con una prognosi più delicata, e richiedono un atteggiamento più prudente nei confronti della durata ottimale di una terapia anticoagulante. Per escludere una condizione idiopatica, nella valutazione clinica di ogni episodio di tromboembolismo, vanno pertanto ricercati accuratamente i fattori di rischio persistenti o transitori che possono aver concomitato e contribuito alla sua comparsa. Tra queste condizioni di rischio vanno ricordati in particolare:

- immobilizzazione persistente;
- patologia neoplastica;
- traumatismo;
- interventi chirurgici;
- gravidanza e puerperio;
- terapia estroprogestinica;
- tabagismo;
- obesità.

## **Valutazione clinica dei risultati**

La selezione dei pazienti da studiare, la scelta del momento in cui eseguire i test di screening, il peso prognostico di ciascuno dei test e le loro eventuali combinazioni, l'anamnesi personale e familiare del paziente, la possibile presenza di condizioni di rischio transitorie: la considerazione di tutti questi aspetti rende complessa la valutazione clinica dei risultati di uno screening per la trombofilia con le conseguenti implicazioni diagnostiche, prognostiche e terapeutiche. Nella citata edizione delle linee guida SIMeL si sottolineava già la necessità di demandare a personale medico esperto e competente in questo ambito la corretta valutazione dei risultati, con la raccomandazione di avvalersi per questa di "Centri specialistici" (*counseling*).

Nonostante la chiarezza e l'articolazione delle raccomandazioni contenute in quella edizione di linee guida, a distanza di 12 anni c'è da constatare che la scarsa conoscenza di questo argomento da parte di molti clinici genera ancora oggi una grande mole di prescrizioni inappropriate. L'inappropriatezza delle richieste riguarda tutti gli ambiti definiti dalle citate linee guida: i pazienti da studiare, il periodo in cui eseguire lo studio, gli esami da richiedere.

A volte, non raramente, a questo conseguono prescrizioni di terapie anticoagulanti e/o antiaggreganti inutili (e rischiose) o "proscrizioni" di trattamenti utili (contraccezione ormonale), oppure ancora errate informazioni allarmanti fornite ai pazienti in merito alla loro discendenza.

A complicare questo quadro si aggiunge, come abbiamo visto nella premessa, la prescrizione di esami, spesso molto costosi come la ricerca dei polimorfismi, che hanno solo una plausibilità teorica dal punto di vista fisiopatologico.

Ma l'introduzione di esami diagnostici nella pratica clinica richiede che alla plausibilità fisiopatologica si aggiunga la dimostrazione della loro forza predittiva in ambito diagnostico e prognostico derivante da studi epidemiologici.

## **Lo stato dell'arte sullo studio dei polimorfismi**

La revisione della letteratura scientifica, riferita allo studio della genetica della trombofilia, conferma che gli unici due polimorfismi di cui è noto l'indice di rischio relativo validato da studi epidemiologici significativi, e quindi impiegabili nella pratica clinica, sono:

- la mutazione del fattore V G1691A (cosiddetta di Leiden);
- la mutazione del fattore II G20210A.

Viene confermata l'inutilità della ricerca dei polimorfismi del gene MTHFR, dovuta alla loro grande diffusione nella popolazione e al fatto che non risultano essere correlati in maniera significativa a un aumento dell'omocisteinemia né tanto meno all'insorgenza della malattia tromboembolica venosa [12, 13].

La stessa considerazione vale per lo studio di polimorfismi riguardanti altri enzimi del ciclo metabolico dell'omocisteina (CBS, metionina sintasi) poiché, in uno studio di screening, è sufficiente individuare la sola espressione fenotipica dei livelli di omocisteina ematica.

Vi sono altri polimorfismi, da anni oggetto di studi, che riguardano:

- il cofattore eparinico II, glicoproteina ad azione inibitrice della trombina mediata dall'antitrombina, del quale, oltre alle concentrazioni ematiche, sono stati analizzati gli effetti di alcuni polimorfismi [14-16];
- il plasminogeno, che è stato studiato nei difetti sia quantitativi di I tipo (ipoplasminogenemia) sia qualitativi di II tipo (displasminogenemia) [17, 18];
- l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1), di cui sono stati studiati gli effetti degli aumentati livelli circolanti dovuti al polimorfismo 4G/5G [19];
- il fibrinogeno, del quale sono note circa 300 varianti qualitative strutturali (disfibrinogenemie) [20];
- il TAFI (inibitore della fibrinolisi attivato dalla trombina) di cui sono stati studiati gli effetti degli aumentati livelli circolanti indotti da polimorfismi nella regione "promoter" del gene [21];
- il fattore XIII di cui sono stati studiati gli effetti degli aumentati livelli circolanti indotti dal polimorfismo Val34Leu della subunità catalitica A [22];
- la lipoproteina(a) che ha una struttura conformazionale analoga al plasminogeno, per cui compete con esso nel legame con la fibrina inibendo la fibrinolisi, della quale sono stati studiati due polimorfismi del gene strutturale (rs10455872 e rs3798220) [23];

- 1 • il TFPI (inibitore della “via” del fattore tissutale) cui sono stati studiati gli effetti  
2 dei ridotti livelli circolanti correlati al polimorfismo C536T [24];  
3
- 4 • la trombomodulina (proteina di superficie delle cellule endoteliali con azione di  
5 attivazione della proteina C mediata dalla trombina) della cui espressione  
6 fenotipica sono stati studiati gli effetti di svariati polimorfismi (1418 C/T,  
7 1748G/C, -133C/A, -33G/A 3545 G/A) [25, 26];  
8
- 9 • il recettore endoteliale della proteina C (EPCR) di cui in particolare sono stati  
10 studiati gli aplotipi H1 (4678G/C, rs9574) e H3 (4600A/G, rs867186) [27, 28];  
11
- 12 • l’enzima di conversione dell’angiotensina (ACE) che, oltre all’importante attività  
13 regolatrice sul tono pressorio, eserciterebbe un’inibizione sulla fibrinolisi e del  
14 quale è stato studiato il polimorfismo D/D [29];  
15
- 16 • la proteina Z, cofattore della proteasi inibitrice del fattore X attivato (ZPI), di cui  
17 sono stati studiati polimorfismi che ne inducono bassi livelli plasmatici [30];  
18
- 19 • la proteasi inibitrice del fattore X attivato proteina Z dipendente (ZPI), della quale  
20 sono stati studiati polimorfismi con lo stesso significato [31];  
21
- 22 • la ADAMTS13 (*A-Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin-1-like*  
23 *domains*), la metalloproteina responsabile della depolimerizzazione dei multimeri  
24 “ultralarge” del fattore di von Willebrand. Sono stati identificati 12 polimorfismi  
25 nell’eziopatogenesi delle rare forme di porpora trombotica trombocitopenica  
26 congenita, ma non ci sono ancora evidenze conclusive del suo ruolo nella  
27 malattia tromboembolica venosa [32, 33];  
28
- 29 • l’antigene piastrinico umano 1 (HPA-1), che fa parte della glicoproteina IIb/IIIa  
30 della membrana piastrinica con funzione di adesione e aggregazione, del quale è  
31 stato studiato il polimorfismo L33P [34, 35].  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44

45 Di tutti questi polimorfismi in letteratura non vi sono ancora conferme  
46 epidemiologiche significative e conclusive che consentano di trasferire la loro ricerca  
47 nella pratica clinica [36].  
48  
49

50 In particolare non viene confermata l’utilità della ricerca del polimorfismo noto  
51 come fattore V aplotipo HR2. Questo polimorfismo, se presente in concomitanza  
52 con la mutazione fattore V di Leiden, risulta a volte associato a valori più bassi di  
53 APCR, suggestivi di un’aumentata espressione fenotipica di rischio. In assenza  
54 dell’associazione con la mutazione fattore V di Leiden invece non sembra predire un  
55 incremento del rischio tromboembolico [37-47].  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Alcuni studi, infine, propongono di valutare la combinazione dei diversi polimorfismi, che da soli non hanno mostrato ancora un potere predittivo significativo, nel tentativo di individuare dei possibili “cluster” con più alto indice prognostico [48], avvalendosi per questo di complessi sistemi di elaborazione dei dati. Si tratta di un interessante argomento di ricerca, in vista anche dei percorsi e delle tecnologie immaginate per il futuro della cosiddetta medicina personalizzata. Mancano però ancora, anche in questo caso, i riscontri epidemiologici sufficienti a trasferire già da adesso la ricerca di queste combinazioni di polimorfismi nell’attività di diagnostica quotidiana.

## Conclusioni

Nonostante l’interessante quantità di nuovi studi, non sono ancora emersi in letteratura dati conclusivi tali da giustificare, nella diagnostica di screening della pratica clinica quotidiana, l’introduzione della ricerca di nuovi polimorfismi per la valutazione genetica del rischio trombofilico.

La condivisione di questo messaggio da parte del mondo della Medicina di Laboratorio, e della industria dei diagnostici, non sembra sufficientemente diffusa. Molti Laboratori, infatti, risultano attrezzati per fornire esami di genetica per la ricerca di quei polimorfismi che non hanno una ricaduta clinica validata dalla letteratura scientifica. Questo atteggiamento, unito spesso all’inadeguata informazione da parte dei clinici non specialisti nell’ambito della diagnostica della trombofilia, contribuisce a generare la produzione di richieste inappropriate e l’esecuzione di esami inutili di cui siamo testimoni quotidianamente.

La SIPMeL, con le altre Società scientifiche, sia cliniche sia di laboratorio, può e deve quindi ancora insistere nella attività educativa e formativa in questo complesso e delicato campo della diagnostica.

**Conflitti di interesse** Nessuno

**Studi condotti su esseri umani o animali** L’articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori

**Consenso informato** Non applicabile

1  
2 BIBLIOGRAFIA  
3  
4  
5

- 6 1. European Genetics Foundation; Cardiovascular Disease Educational and Research Trust;  
7 International Union of Angiology; Mediterranean League on Thromboembolism, Nicolaides  
8 AN, Breddin HK, Carpenter P et al (2005) Thrombophilia and venous thromboembolism.  
9 International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence. *Int Angiol*  
10 24:1-26  
11  
12  
13 2. Pernod G, Biron-Andreani C, Morange PE et al (2009) French group on Haemostasis and  
14 Thrombosis; French Society of vascular medicine. Recommendations on testing for  
15 thrombophilia in venous thromboembolic disease: a French consensus guideline. *J Mal*  
16 *Vasc* 34:156-203  
17  
18  
19 3. Baglin T, Gray E, Greaves M et al (2010) British Committee for Standards in Haematology.  
20 Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol* 149:209-220  
21  
22  
23 4. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group  
24 (2011) Recommendations from the EGAPP Working Group: routine testing for Factor  
25 Leiden (R506Q) and Prothrombin (G20210A) mutations in adults with a history of idiopathic  
26 venous thromboembolism and their adults family members. *Genet Med* 13:67-76  
27  
28  
29 5. Kearon C, Kahn SR, Agnelli G et al (2008) American College of Chest Physicians.  
30 Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest  
31 Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 133(6  
32 Suppl):454S-545S  
33  
34  
35 6. NICE (2015) Venous thromboembolic disease: the management of venous thromboembolic  
36 disease and the role of thrombophilia testing. Clinical guideline 144, London: National  
37 Institute for Health and Clinical Excellence, published June 2012, updated November 2015  
38  
39  
40 7. Testa S, Antonucci G, Intra E et al (2004) per il Gruppo di Studio Coagulazione SIMEL: Gli  
41 screening per Trombofilia. *Riv Med Lab - JLM* 5:118-120  
42  
43  
44 8. Lussana F, Dentali F, Abbate R et al (2009) Italian Society for Haemostasis and  
45 Thrombosis. Screening for thrombophilia and antithrombotic prophylaxis in pregnancy:  
46 Guidelines of the Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISET). *Thromb Res*  
47 124:e19-25  
48  
49  
50 9. Istituto Superiore di Sanità. Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione  
51 della salute (2008) Consensus Conference, Roma 18-19 Settembre 2008: Prevenzione  
52 delle complicanze trombotiche associate all'uso di estroprogestinici in età riproduttiva.  
53 Sistema Nazionale per le Linee guida (SNLG) Luglio 2009  
54  
55  
56 10. De Stefano, Rossi E (2013) Testing for inherited thrombophilia and consequences for  
57 antithrombotic prophylaxis in patients with venous thromboembolism and their relatives. A  
58 review of the Guidelines from Scientific Societies and Working Groups. *Thromb Haemost*  
59 110:697-705

11. De Stefano, Rossi E (2016) Thrombophilia and risk of recurrent venous thromboembolism. XXIV National Congress of the Italian Society for Thrombosis and Hemostasis (SISSET). Blood Trasfus 14 Suppl 5:663-667.
12. Eldibany MM, Caprini JA (2007) Hyperhomocysteinemia and thrombosis: An overview. Arch Pathol Lab Med 131:872-884
13. Bezemer ID, Doggen CJ, Vos HL et al (2007) No association between the common MTHFR 677C->T polymorphism and venous thrombosis: Results from the MEGA study. Arch Intern Med 167:497-501
14. Bernardi F, Legnani C, Micheletti F et al (1996) A heparin cofactor II mutation (HCII Rimini) combined with factor V Leiden or type I protein C deficiency in two unrelated thrombophilic subjects. Thromb Haemost 76:505-509
15. Rau JC, Mitchell JW, Fortenberry YM et al (2011) Heparin cofactor II: discovery, properties, and role in controlling vascular homeostasis. Semin Thromb Hemost 37:339-348
16. Boyle AJ, Roddick LA, Bhakta V et al (2013) The complete N-terminal extension of heparin cofactor II is required for maximal effectiveness as a thrombin exosite 1 ligand. BMC Biochem 14:6
17. Schuster V, Hügler B, Tefs K (2007) Plasminogen deficiency. J Thromb Haemost 5:2315-2322
18. Mehta R, Shapiro AD (2008) Plasminogen deficiency. Haemophilia 14:1261-1268
19. Seguí R, Estellés A, Mira Y et al (2000) PAI-1 promoter 4G/5G genotype as an additional risk factor for venous thrombosis in subjects with genetic thrombophilic defects. Br J Haematol 111:122-128
20. Martinez J (1997) Congenital dysfibrinogenemia. Curr Opin Hematol 4:357-365
21. van Tilburg NH, Rosendaal FR, Bertina RM (2000) Thrombin activable fibrinolysis inhibitor and the risk for deep vein thrombosis. Blood 95:2855-2859
22. Bagoly Z, Koncz Z, Hársfalvi J et al (2012) Factor XIII, clot structure, thrombosis. Thromb Res 129:382-387
23. Danik JS, Buring JE, Chasman DI et al (2013) Lipoprotein(a), polymorphisms in the LPA gene, and incident venous thromboembolism among 21483 women. J Thromb Haemost 11:205-208
24. González-Conejero R, Lozano ML, Corral J et al (2000) The TFPI C536T mutation is not associated with increased risk for venous or arterial thrombosis. Thromb Haemost 83:787-788
25. Ohlin AK, Norlund L, Marland RA (1997) Thrombomodulin gene variations and thromboembolic disease. Thromb Haemost 78:396-400

- 1 26. Navarro S, Medina P, Bonet E et al (2013) Association of thrombomodulin gene c.1418C>T  
2 polymorphism with thrombomodulin levels and with venous thrombosis risk. *Arterioscler*  
3 *Thromb Vasc Biol* 33:1435-1440
- 4 27. Medina P, Navarro S, Estellés A et al (2007) Polymorphisms in the endothelial protein C  
5 receptor gene and thrombophilia. *Thromb Haemost* 98:564-569
- 6 28. Medina P, Navarro S, Bonet E et al (2014) Functional analysis of two haplotypes of the  
7 human endothelial protein C receptor gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34:684-690
- 8 29. Hsiao FC, Hsu LA (2011) Meta-analysis of association between insertion/deletion  
9 polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and venous thromboembolism.  
10 *Clin Appl Thromb Hemost* 17:51-57
- 11 30. Bafunno V, Santacroce R, Margaglione M (2011) The risk of occurrence of venous  
12 thrombosis: focus on protein Z. *Thromb Res* 128:508-511
- 13 31. Razzari C, Martinelli I, Bucciarelli P et al (2006) Polymorphisms of the protein Z-dependent  
14 protease inhibitor (ZPI) gene and the risk of venous thromboembolism. *Thromb Haemost*  
15 95:909-910
- 16 32. Bittar LF, de Paula EV, Mello TB et al (2011) Polymorphisms and mutation in vWV and  
17 ADAMTS13 genes and their correlation with plasma levels of FVIII and vWV in patients with  
18 deep venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 17:514-518
- 19 33. Lotta LA, Tuan G, Yu J et al (2013) Next-generation sequencing study finds an excess of  
20 rare, coding single-nucleotide variants of ADAMTS13 in patients with deep vein thrombosis. *J*  
21 *Thromb Haemost* 11:1228-1239
- 22 34. Bray PF (2000) Platelet glycoprotein polymorphisms as risk factor for thrombosis. *Curr Opin*  
23 *Hematol* 7:284-289
- 24 35. Saidi S, Mahjoub T, Slamia LB et al (2008) Polymorphisms of the human platelet  
25 alloantigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-4 in ischemic stroke. *Am J Hematol* 83:570-  
26 573
- 27 36. Franchini M, Martinelli I, Mannucci PM (2016) Uncertain thrombophilia markers. *Thromb*  
28 *Haemost* 115:25-30
- 29 37. Bernardi F, Faioni EM, Castoldi E et al (1997) A factor V genetic component differing from  
30 factor V R506Q contributes to the activated protein C resistance phenotype. *Blood* 90:1552-  
31 1557
- 32 38. Segers O, Simioni P, Tormene D et al (2012) Genetic modulation of the FV(Leiden)/normal  
33 FV ratio and risk of venous thrombosis in factor V Leiden heterozygotes. *J Thromb Haemost*  
34 10:73-80
- 35 39. Castoldi E, Brugge GM, Nicoolaes GA et al (2004) Impaired APC cofactor activity of factor V  
36 plays a major role in the APC resistance associated with the factor V Leiden (R506Q) and  
37 R2 (H1299R) mutations. *Blood* 103:4173-4179

- 1  
2 40. Alhenc-Gelas M, Nicaud V, Gandrille S et al (1999) The factor V gene A4070G mutation and  
3 the risk of venous thrombosis. *Thromb Haemost* 81:193-197  
4
- 5 41. Margaglione M, Bossone A, Coalizzo D et al (2002) FV HR2 haplotype as additional  
6 inherited risk factor for deep vein thrombosis in individuals with a high-risk profile. *Thromb*  
7 *Haemost* 87:32-36  
8
- 9  
10 42. Luddington R, Jackson A, Pannerselvam S et al (2000) The factor V R2 allele: risk of  
11 venous thromboembolism, factor V levels and resistance to activated protein C. *Thromb*  
12 *Haemost* 83:204-208  
13
- 14 43. Benson JM, Ellingsen D, El-Jamil M et al (2001) Factor V Leiden and factor V R2 allele:  
15 high-throughput analysis and association with venous thromboembolism. *Thromb Haemost*  
16 *86:1188-1192*  
17  
18
- 19 44. Faioni EM, Franchi F, Bucciarelli P et al (1999) Coinheritance of the HR2 haplotype in the  
20 factor V gene confers an increased risk of venous thromboembolism to carriers of factor V  
21 R506Q (factor V Leiden). *Blood* 94:3062-3066  
22
- 23 45. Folsom AR, Cushman M, Tsai MY et al (2002) A prospective study of venous  
24 thromboembolism in relation to factor V Leiden and related factors. *Blood* 99:2720-2725  
25  
26
- 27 46. Tormene D, Fortuna S, Tognin G et al (2005) The incidence of venous thromboembolism in  
28 carriers of antithrombin, protein C or protein S deficiency associated with the HR2 haplotype  
29 of factor V: a family cohort study. *J Thromb Haemost* 3:1414-1420  
30
- 31 47. Aleksova A, Di Nucci M, Gobbo M et al (2015) Factor-V HR2 haplotype and thromboembolic  
32 disease. *Acta Cardiol* 70:707-711  
33  
34
- 35 48. Simsek E, Yesilyurt A, Pinarli F et al (2014) Combined genetic mutations have remarkable  
36 effect on deep venous thrombosis and/or pulmonary embolism occurrence. *Gene* 536:171-  
37 176  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57