

Il laboratorio nella valutazione del rischio trombotico. Fatti e fantasie

P.M. Mannucci, A. Tripodi

*Centro Emofilia e Trombosi Angelo Bianchi Bonomi, Dipartimento di Medicina Interna,
Università e IRCCS, Ospedale Maggiore, Milano*

Introduzione

Lo screening di laboratorio per la trombofilia sta assumendo aspetti rilevanti, sia per l'importanza sia per l'impegno che questo comporta per il laboratorio. Il numero dei test possibili e conseguentemente il costo dello screening è cresciuto negli ultimi anni in misura tale da suggerire una seria riflessione su ciò che è utile eseguire. Le condizioni ragionevolmente associate a trombofilia sono le carenze congenite di antitrombina, proteina C e proteina S, la resistenza alla proteina C attivata (dovuta in massima parte alla mutazione del fattore V Leiden), gli aumentati livelli di fattore VIII, la iperprotrombinemia dovuta alla mutazione della protrombina, e assai meno frequentemente la disfibrinogenemia. L'iperomocisteinemia genetica è un fenomeno molto raro, anche perchè la mutazione più frequente, a carico di uno dei componenti della via metabolica dell'omocisteina (la presenza della forma termolabile della MTHFR), non sempre si accompagna ad aumentati livelli di omocisteina plasmatica e non è con certezza associata ad un aumentato rischio trombotico.

In linea generale i test per le indagini di laboratorio dovrebbero essere funzionali alla misura dell'attività. Le misure antigeniche dovrebbero essere usate solo per caratterizzare ulteriormente il difetto funzionale. L'analisi del DNA per l'identificazione delle mutazioni non è sempre strettamente indispensabile. In questa breve rassegna suggeriremo i test più idonei sulla base dell'esperienza personale e dei dati della letteratura.

Antitrombina

Si consiglia il metodo funzionale cromogenico in presenza di eparina. Tale metodo (cofattore eparinico) è semplice ed è capace di depistare tutte le carenze congenite di interesse clinico. L'utilizzo del fattore Xa (invece della trombina) come enzima target, consente una più agevole discriminazione fra i portatori e i non-portatori del difetto.

Proteina C

Si consiglia il metodo funzionale con attivazione della proteina C mediante veleno di rettile (Protac) e rilevazione della proteina C attivata con substrato cromogenico. Il metodo anticoagulante, che in teoria sarebbe più idoneo a depistare tutti i difetti di interesse clinico, è soggetto a molti artefatti e l'interpretazione dei risultati non è sempre agevole.

Proteina S

Si consiglia la misura dell'antigene della proteina S libera. E' questa una eccezione alla regola generale, condizionata dal fatto che i metodi funzionali attualmente proposti sono scarsamente specifici e soggetti a molti artefatti.

Resistenza alla proteina C attivata

Si consiglia il metodo APTT-derivato proposto originariamente da Dahlback, con e senza prediluizione del plasma test in plasma carente di fattore V. L'uso combinato dei due test consente di depistare le resistenze acquisite (metodo senza prediluizione) e le resistenze dovute alla mutazione Leiden, per la quale il metodo con prediluizione è specifico al 100%. I casi positivi e quelli dubbi dovranno poi essere sottoposti alla analisi del DNA per la ricerca della mutazione.

Iperprotrombinemia

La misura della protrombina nel plasma non è da sola capace di identificare tutti i soggetti portatori della mutazione nel gene della protrombina. Pertanto, in questo caso l'analisi del DNA sembra essere la più appropriata.

Livelli alti di fattore VIII

Livelli elevati di fattore VIII (>150%) sono considerati un fattore di rischio per trombosi venosa (primo episodio e recidiva). I livelli elevati riscontrati negli studi clinici erano indipendenti da altri parametri della fase acuta. Esistono tre misure possibili per il fat-

tore VIII: l'attività anticoagulante, l'attività cromo- genica e l'antigene. Tutte sono state usate negli studi clinici ed i loro risultati sembrano essere equivalenti.

Disfibrinogenemia

Anche se l'esecuzione del tempo di trombina (unitamente al tempo di reptilase) consente di depistare quasi tutti i casi, si consiglia di cercare la disfibrinogenemia misurando direttamente il fibrinogeno con metodo funzionale (secondo Clauss) e di completare l'indagine nei casi positivi (ridotti livelli di fibrinogeno) con la determinazione del fibrinogeno antigenico. Le disfibrinogenemie sono caratterizzate da una discrepanza fra i livelli funzionali (ridotti) e i livelli antigenici (normali, o aumentati).

Iperomocisteinemia

La ricerca delle mutazioni non sembra essere indispensabile, visto che l'espressione fenotipica (l'iperomocisteinemia) è di per se associata ad un aumentato rischio trombotico. In particolare, la ricerca della mutazione MTHFR è inutile e dannosa. Inutile, perchè la sua frequenza nella popolazione generale è molto elevata e non è stata associata con certezza ad un aumentato rischio trombotico. Dannosa, perchè l'identificazione dei (molti) soggetti portatori non si traduce in alcun beneficio per il singolo paziente, anzi lo espone ad una situazione ansiogena senza un giustificato motivo. Per lo screening si consiglia quindi la misura dell'omocisteina plasmatica ed eventualmente della misura dei folati. Per la misura dell'omocisteina, il metodo HPLC, finora scelta obbligatoria per la mancanza di altri metodi, può essere sostituito vantaggiosamente con nuovi metodi immunochimici (fluorescence polarization immunoassay, FPIA). Il test dopo carico con metionina, anche

se da taluni non è considerato utile, consente di aumentare la resa diagnostica.

Test globali

Una possibilità, finora solo parzialmente esplorata, potrebbe essere l'esecuzione dello screening con uno o più test globali, capaci di identificare i soggetti portatori di ipercoagulabilità generica e identificare poi gli eventuali difetti specifici mediante test più mirati. Questo modo di procedere consentirebbe un risparmio di mezzi e risorse economiche. Fra i test globali finora proposti, due meritano di essere menzionati. Il test globale per il sistema proteina C ed il test per la misura del potenziale di trombina. Il primo prevede l'attivazione della proteina C endogena mediante veleno di rettile (Protac) e la determinazione della "resistenza" con metodo APTT-derivato. In teoria questo metodo dovrebbe identificare le carenze isolate di proteina C ed S e la resistenza alla proteina C attivata dovuta (e non) al fattore V Leiden. Numerosi studi della letteratura documentano una scarsa resa diagnostica del test, in quanto esso non riesce ad identificare una buona metà dei carenti di proteina S. Il secondo sarebbe in teoria un test ancora più "globale" del precedente, perchè prevede l'attivazione della coagulazione in vitro mediante un agente scatenante (trigger) quale il fattore tissutale e il monitoraggio della trombina generata. Questo test è ancora in fase di sviluppo e non esistono ancora prove certe a favore o a sfavore del suo utilizzo nello studio della trombofilia.

Bibliografia consigliata

- Tripodi A, Mannucci PM. Laboratory investigation of thrombophilia. Clin Chem 2001;47:1597-606.