

**FEDERAZIONE CENTRI PER LA DIAGNOSI DELLA TROMBOSI E LA
SORVEGLIANZA DELLE TERAPIE ANTITROMBOTICHE
FCSA**

**ANTICOAGULAZIONE NELLA SINDROME DA ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI
RACCOMANDAZIONI DELLA FCSA (Febbraio 2006)**

G.Finazzi per la Task Force della FCSA sulla Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi (A. Biasiolo, M.Galli, V. Pengo e A. Tripodi)

1. Scopo del lavoro e note metodologiche
2. Definizione della Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi
3. Indicazioni alla ricerca della Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi
4. Raccomandazioni per la diagnostica dell'anticoagulante tipo-lupus
5. Raccomandazioni per la diagnostica degli anticorpi in fase solida
6. Raccomandazioni per la profilassi e la terapia delle trombosi e delle complicanze della gravidanza
7. Bibliografia

1. Scopo del lavoro e note metodologiche

Lo scopo di questo lavoro è proporre ai Soci della FCSA (e a tutti coloro che sono interessati all'argomento) un set di raccomandazioni sulla diagnostica e il trattamento della Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi (APA) basato sul "parere di esperti" che è stato presentato e sottoposto a discussione in un apposito Workshop (Milano, 30 gennaio 2004) al quale hanno partecipato circa 60 Centri FCSA.

Le raccomandazioni proposte in questo lavoro non si basano su un processo sistematico di revisione della letteratura e di valutazione esplicita dell'evidenza da parte di una giuria, criteri comunemente accettati per la produzione di linee-guida basate sull'evidenza. Questo è principalmente dovuto al fatto che le evidenze prodotte per la diagnosi ed il trattamento della Sindrome da APA non raggiungono quasi mai i livelli più elevati di forza metodologica (per es. i trials clinici randomizzati pubblicati in questa patologia sono pochissimi) e pertanto un processo sistematico di revisione come quello sopra citato poteva essere considerato ridondante. A riprova di ciò, nessuna delle cosiddette "linee-guida" sinora pubblicate su questa sindrome (1, 2) è stata prodotta secondo i criteri sopra citati.

Le opinioni di esperti rappresentano però un grado relativamente basso di forza delle raccomandazioni e pertanto le indicazioni diagnostiche e terapeutiche qui riportate devono essere sempre valutate criticamente ed applicate tenendo conto del singolo caso clinico. Per estendere la rappresentatività e in qualche modo anche la forza di queste raccomandazioni, la FCSA le considera una sorta di “work in progress”, pubblicato sul sito, e aperto alla verifica e al contributo di tutti i Centri. Commenti e proposte di modifica e/o integrazione sono non solo benvenuti ma sollecitati. La Task Force della FCSA si impegna ad una rivalutazione periodica delle raccomandazioni sulla base dei commenti dei Centri e delle nuove informazioni derivanti dalla letteratura internazionale. L'attuale aggiornamento è stato eseguito nel febbraio 2006.

2. Definizione della Sindrome da APA

Gli anticorpi antifosfolipidi sono una eterogenea famiglia di immunoglobuline dirette contro varie combinazioni di fosfolipidi, proteine ad alta affinità per i fosfolipidi o complessi fosfolipidi-proteine. Una approfondita analisi della fisiopatologia di questi anticorpi va oltre gli scopi di questo lavoro e pertanto si rimanda a recenti revisioni dell'argomento (3, 4). Il termine “Sindrome da APA” definisce la condizione clinica caratterizzata dall'associazione degli anticorpi con patologie tromboemboliche e/o complicanze della gravidanza. I criteri diagnostici attualmente accettati per la definizione di Sindrome da APA sono stati stabiliti da un gruppo internazionale di esperti nel 2006 (5) (Tab. 1). Una precisa definizione della Sindrome è di importanza essenziale perché molti pazienti seguiti nei Centri di Anticoagulazione per una cosiddetta Sindrome da APA in realtà non presentano i criteri diagnostici raccomandati (6).

3. Indicazioni alla ricerca della Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi

La FCSA raccomanda una attenta valutazione clinica dei pazienti prima di avviare una ricerca della Sindrome da APA e scoraggia dall'eseguire uno screening generalizzato di pazienti con bassa probabilità di essere positivi. La ragione principale è che i test diagnostici della Sindrome non hanno una sensibilità e specificità ottimale e la loro applicazione indiscriminata in gruppi di pazienti a bassa incidenza della Sindrome e al di fuori di uno studio clinico “ad hoc” espone ad un alto rischio di “false” positività, o di “basse” positività non clinicamente rilevanti (es. bassi titoli isolati di anticorpi anticardiolipina), con indesiderabili conseguenze laboratoristiche (ripetizione del test, difficoltà di interpretazione) e cliniche (inappropriata classificazione clinica, rischio di sovratrattamento).

I pazienti che devono essere primariamente valutati per una possibile “Sindrome da APA” includono:

- a) Pazienti con allungamento dell'APTT casualmente riscontrato (es. in uno screening pre-operatorio) senza causa nota;
- b) Pazienti con trombosi (vedi definizione in tab. 1) insorta a meno di 50 anni di età (l'età mediana dei pazienti con la Sindrome è circa 40 anni);
- c) Pazienti con trombosi insorta in sedi atipiche (es. circolo cerebrale o splancnico) o associata a patologie autoimmuni (es. LES, artrite reumatoide, piastrinopenia o anemia emolitica autoimmuni) (la probabilità di trovare pazienti con la Sindrome è più elevata in queste categorie)
- d) Donne con patologie della gravidanza, come definite in tab. 1.

4. Diagnostica dell'anticoagulante lupico (LA)

La diagnosi del LA deve essere eseguita in accordo ai criteri dello Scientific and Standardization Committee (SSC) della International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) (7) (Tab. 2), secondo le seguenti fasi:

4a. Preparazione del plasma e tests di screening (Fig. 1). Come per gli altri tests dell'emostasi, i campioni di sangue devono essere prelevati con minima stasi venosa. Il plasma deve essere preparato se possibile entro 1 ora dal prelievo mediante centrifugazione standard del sangue (3.500 rpm, per 15', temp. amb.) e successiva filtrazione del plasma (filtri da 0.22 µm), o ricentrifugazione del plasma ad alta velocità (12.000 rpm, per 5', tem. amb.). Queste procedure sono necessarie per minimizzare la contaminazione con piastrine o altre membrane cellulari, poiché queste sorgenti di fosfolipidi riducono la sensibilità dei test (1, 8), soprattutto dopo congelamento-scongelo del plasma. Sarebbe preferibile eseguire i test su plasma fresco. Tuttavia, può essere usato anche plasma appropriatamente congelato, ricordando però che congelamento e scongelamento devono essere eseguiti rapidamente, rispettivamente con azoto liquido e incubazione a 37° per 2-3 minuti.

I criteri SSC-ISTH non specificano quali tests di coagulazione fosfolipide-dipendenti devono essere utilizzati per la diagnostica del LA. Però, è noto che nessun test di screening è al 100% sensibile e specifico, a causa della natura eterogenea degli anticorpi antifosfolipidi. In genere, gli anticorpi anti-β2-glicoproteina I (β2-GPI)-dipendenti sono più sensibili al dilute Russell viper venom test (dRVVT) mentre gli anticorpi protrombina-dipendenti sono più sensibili al kaolin clotting time (KCT) (8, 9, 10). Recentemente, sono stati descritti due metodi di laboratorio per distinguere i LA β2-GPI-dipendenti da quelli protrombina-dipendenti (11-12). Peraltro, il loro utilizzo nella pratica clinica corrente rimane da stabilirsi (13). In accordo ai criteri sopra citati (7), la FCSA raccomanda di utilizzare almeno due tests di screening, e cioè: il dRVVT e almeno uno a scelta fra KCT, silica

clotting time (SCT) o tempo di tromboplastina parziale attivato (APTT), quest'ultimo scelto fra quelli più sensibili al LA.

4b. Dimostrazione della presenza di un inibitore (Fig.2). La presenza nel plasma di un inibitore della coagulazione viene dimostrata dalla persistenza dell'allungamento del tempo di coagulazione in una miscela di plasma del paziente con plasma normale. Sebbene il principio sia semplice, l'applicazione pratica è più complessa poiché mancano criteri sicuri di riferimento su cosa si debba intendere per "persistenza dell'allungamento" (o per converso "correzione") del test. Poiché tale criterio rimane non chiaramente definito e in parte dipendente dalle condizioni locali di esecuzione del test, la FCSA raccomanda di:

1. Usare per la miscela, pool di plasmi normali privi di piastrine, preparati in casa e congelati opportunamente, piuttosto che plasmi commerciali non specificatamente preparati per lo scopo.
2. Stabilire 'a priori' criteri "locali" univoci per l'interpretazione del test (non utilizzare criteri stabiliti altrove anche per metodi apparentemente uguali).
3. Utilizzare plasmi sicuramente positivi, o negativi, per validare i criteri stabiliti.

4c. Conferma della fosfolipide-dipendenza dell'inibitore ed esclusione di altre coagulopatie (Fig.3). Una volta stabilita la presenza di un inibitore della coagulazione nel plasma del paziente, la terza fase diagnostica è rappresentata dalla dimostrazione che tale inibitore è diretto contro i fosfolipidi (e non contro i fattori) della cascata coagulatoria. Diversi tests, anche commercialmente disponibili, si basano sul rationale che l'aggiunta di un eccesso di fosfolipidi neutralizza l'effetto dell'anticoagulante lupico (e quindi normalizza il test). Anche in questo caso, l'entità della correzione non è definita dalle raccomandazioni internazionali e viene stabilita in base allo specifico test di conferma in uso. La FCSA raccomanda di:

1. Validare, nelle proprie condizioni d'uso, i cut-off diagnostici proposti dalle Ditte.
2. In caso di test prolungato, eseguire sempre un tempo di trombina per escludere contaminazioni da eparina.
3. Valutare attentamente la storia clinica perché può essere indicativa del tipo di inibitore presente (Tab. 3).
4. Nei casi dubbi, dosare i fattori della coagulazione, tenendo conto che, di regola, un inibitore specifico induce una consistente riduzione di un singolo fattore, mentre l'anticoagulante lupico può provocare un'apparente moderata riduzione di più fattori, che si normalizza con la diluizione del campione.

5. Secondo alcuni dati della letteratura i tests diagnostici basati sulla diluizione dei fosfolipidi sono meno efficaci nel distinguere il LA dagli inibitori specifici dei fattori della coagulazione (8).

4d. Refertazione. FCSA propone le seguenti raccomandazioni per la refertazione del test (Fig. 4):

1. Riportare in dettaglio i risultati analitici dei singoli tests eseguiti.
2. Dare un'interpretazione conclusiva sulla presenza o meno dell'anticoagulante lupico (o se i tests hanno dato risultati dubbi che richiedono ulteriori accertamenti).
3. Per positività riscontrate per la prima volta, chiedere la ripetizione dell'analisi a distanza di 12 settimane (vedi Tab. 1).
4. Segnalare la possibile interferenza sui tests di terapie anticoagulanti in corso (eparina, anticoagulanti orali).

4e. Diagnosi in corso di terapie. A causa della possibile interferenza sui tests, è preferibile non eseguire la diagnosi di LA in corso di terapia anticoagulante orale e/o eparinica. Tuttavia, se fosse necessario è bene osservare le seguenti raccomandazioni:

1. Se il paziente è in terapia anticoagulante orale è possibile eseguire la normale diagnostica (screening e conferma) su plasma paziente addizionato in parti uguali con un pool di plasma normale privo di piastrine residue (14).
2. Alcuni test commerciali contengono nelle loro formulazione degli inibitori specifici dell'eparina. In tali casi è possibile eseguire la normale diagnostica anche in corso di terapia eparinica. I risultati devono però essere interpretati con cautela.

5. Diagnostica degli anticorpi in fase solida (Fig. 5, 6)

Le recenti acquisizioni sui nuovi target antigenici degli anticorpi antifosfolipidi (β_2 -GPI, protrombina, annexina V, proteina C, proteina S etc.) (3, 4) e la corretta applicazione dei criteri di laboratorio proposti a livello internazionale per porre la diagnosi di Sindrome da APA (5), sottolineano l'importanza diagnostica degli anticorpi antifosfolipidi in fase solida.

Accanto ai test ELISA classici nei quali l'antigene è rappresentato da fosfolipidi anionici come la cardiolipina (CL) e la fosfatidilserina, sono entrati nella routine di laboratorio test più specifici per l'identificazione di anticorpi diretti contro proteine plasmatiche, quali la β_2 -GPI e la protrombina aventi un'elevata affinità per i fosfolipidi a carica netta negativa. Il laboratorio specialistico e non, si è trovato quindi di fronte a scelte difficili che riguardano principalmente l'antigene (CL o β_2 -GPI) da usare, l'isotipo da identificare (IgG, IgM, IgA) e il metodo da adottare (home-method o kit commerciale).

La scarsa numerosità di studi prospettici e controllati che stabiliscano definitivamente la reale importanza clinica di questi nuovi anticorpi nella Sindrome da APA e l'insufficiente standardizzazione dei metodi ELISA necessaria per esprimere ed interpretare in modo uniforme i risultati, sono i principali responsabili della incertezza diagnostica tuttora presente in questo settore. L'analisi della letteratura evidenzia pareri contrastanti sull'associazione di tali anticorpi e le manifestazioni cliniche della Sindrome: dalle esperienze del gruppo di Padova (15) e di altri ricercatori (16, 17) è risultato che gli anticorpi anti- β_2 -GPI ($a\beta_2$ GPI) hanno un valore predittivo per le trombosi maggiore, rispetto agli anticorpi anti-CL (aCL). Secondo altri dati, invece, la maggiore associazione con gli eventi trombotici è stata osservata con gli aCL ad alto titolo (> 40 U GPL) (18). Dati recenti sembrano concordare sull'osservazione che il maggior rischio trombotico si associ alla presenza di LA dipendente dagli anticorpi anti- β_2 GPI (19-21) (Fig. 8).

Una possibile spiegazione di queste discrepanze potrebbe risiedere nel fatto che gli aCL ad alto titolo sono generalmente l'espressione della presenza di anticorpi $a\beta_2$ GPI. Inoltre, l'ELISA aCL, pur essendo un buon test per identificare gli anticorpi aCL- β_2 GPI-dipendenti, risulta spesso positivo in presenza di anticorpi aCL- β_2 GPI-indipendenti (22). Quindi l'utilizzo del solo test per aCL nella diagnosi dei pazienti con sindrome da APA potrebbe portare ad una sovrastima di tali pazienti.

Nel tentativo quindi di rispondere alla domanda sulla scelta dell'antigene da considerare, il suggerimento proposto dalla FCSA consiste nell'affiancare al test ELISA per anticorpi aCL anche un test specifico per anticorpi $a\beta_2$ GPI, tenendo conto che tale test è oggi incluso nei criteri diagnostici della Sindrome da APA (5,23).

Per quanto riguarda l'isotipo da identificare, sembra univoca la tendenza di rivolgere l'attenzione prevalentemente all'isotipo IgG ed IgM, tralasciando la determinazione dell'isotipo IgA.

Sicuramente più delicata risulta la possibilità di fornire delle raccomandazioni sulla scelta del metodo. Attualmente sono in commercio numerosi kit sia per la determinazione degli aCL che degli $a\beta_2$ GPI che differiscono per il tipo di piastra utilizzato, per le caratteristiche dell'antigene, per il tipo di tampone bloccante, di calibratore, di controllo positivo ed anche per le modalità di espressione dei risultati. Tutte queste variabili rendono impossibile il confronto dei risultati ottenuti con i diversi sistemi e considerando anche quanto emerso dai tentativi di standardizzazione internazionali condotti in questi ultimi anni, risulta particolarmente difficile poter selezionare un kit come gold-standard. A livello nazionale l'FCSA ha pensato di dare il proprio contributo sull'argomento riportando alcune semplici raccomandazioni alle quali i laboratori che misurano gli anticorpi antifosfolipidi in fase solida dovrebbero attenersi in un primo tentativo di standardizzazione:

1. Utilizzare CL bovina e β_2 GPI umana pura come antigeni rispettivamente in ELISA aCL e a β_2 GPI.
2. Analizzare i campioni in doppio
3. Inserire in ogni seduta 3-5 plasmi di soggetti sani e 1 pool di plasmi normali oltre al controllo normale eventualmente fornito dal kit.
4. Inserire in ogni seduta un controllo positivo interno oltre a quello eventualmente fornito dal kit.
5. Utilizzare un calibratore per costruire una curva di 5-6 punti
6. Calcolare un proprio cut-off su almeno 20 soggetti sani distribuiti per età e sesso, utilizzando il 95° percentile (data la distribuzione non parametrica dei valori e l'elevata sensibilità del test ELISA).

In futuro FCSA valuterà la possibilità di individuare e proporre un suo standard di riferimento oltre alla realizzazione di corsi pratici di standardizzazione delle metodiche ELISA.

6. Profilassi e terapia della trombosi e delle complicanze della gravidanza

Poiché la grande maggioranza delle evidenze prodotte in letteratura sul trattamento della sindrome da APA si basa su studi osservazionali, la forza delle raccomandazioni è, di regola, di **grado C**. Nei rari casi in cui trial clinici randomizzati (in aperto, con numeri relativamente ridotti di pazienti) sono stati pubblicati la diversa forza della raccomandazione (**grado B**) è stata specificata.

6a Fattori di rischio trombotico. I principali predittori di eventi vascolari nella sindrome da APA, valutati in studi clinici prospettici ed una revisione sistematica della letteratura, sono:

1. Un precedente evento trombotico (24).
2. La presenza del LA (25), particolarmente se associato ad alti livelli di anti β_2 GPI (19-21).
3. La presenza di elevati livelli di aCL (24, 25).

Data la non ottimale standardizzazione del tests per la determinazione degli aCL, il cut-off per la definizione di “elevati” livelli è incerto, ma almeno due studi prospettici identificano tale cut-off in 40 U GPL di aCL (24, 26).

6b. Pazienti asintomatici. Nello studio prospettico del Registro Italiano (24) l'incidenza di trombosi nei soggetti con APA asintomatici è stata di 0.95% paz.-anno, mentre quella delle recidive trombotiche nei pazienti che avevano già presentato un evento vascolare è stata di 5.5% paz.-anno. Pertanto, la bassa incidenza di trombosi suggerisce di non trattare con farmaci antitrombotici i soggetti asintomatici (1).

6c. Trombosi venose (Fig. 7). Il trattamento della fase acuta non è diverso dalla terapia standard, in genere con eparina a basso peso molecolare a dosi terapeutiche (100 U/kg x 2/die) ed embriazione

immediata con anticoagulanti orali. Nonostante la letteratura non sia univoca, si ammette che la terapia anticoagulante orale (TAO) nei pazienti con LA possa essere di regola monitorata con il PT INR (27). Possibili eccezioni possono essere pazienti con PT basale già prolungato. In questo caso, si può considerare il monitoraggio con altri sistemi che usino plasma diluito (es. Thrombotest). Due studi clinici randomizzati (28, 29) hanno dimostrato che non ci sono vantaggi ad usare un target di anticoagulazione elevato e pertanto si raccomanda il target standard di 2.5 (range 2.0-3.0) (raccomandazione di grado B). Un target più elevato (INR 3.5, range 3.0-4.0) può essere considerato nei pazienti con recidiva trombotica a target standard (30).

La durata della TAO dopo il primo evento tromboembolico venoso in questi pazienti non è chiaramente stabilita perché non sono disponibili studi controllati al riguardo. In alcune casistiche di pazienti consecutivi (31,32), è stato osservato un elevato rischio di recidiva trombotica alla sospensione del trattamento. D'altra parte, deve essere considerato il rischio di emorragie maggiori intrinseco alla TAO e cumulativo nel tempo. Si raccomanda pertanto una decisione adattata al singolo paziente, privilegiando una TAO a tempo indeterminato nei casi di trombosi venosa idiopatica, o in sedi insolite o di particolare gravità clinica (es. seni venosi cerebrali, circolo splancnico, embolia polmonare massiva) particolarmente nei pazienti con LA ed elevati livelli di aCL e/o di a β_2 GPI (vedi fattori di rischio e Fig. 8), e orientandosi invece per un trattamento a tempo definito (3-6 mesi) nelle trombosi venose associate a fattori predisponenti (es. chirurgia, gravidanza e puerperio, immobilizzazioni, contraccettivi orali) o di minore rilevanza clinica. Una TAO a tempo indeterminato è raccomandata nei pazienti con trombosi ricorrenti.

6d. Trombosi arteriose (Fig. 7). Sebbene tradizionalmente la TAO venga preferita agli antiaggreganti piastrinici nella prevenzione secondaria anche delle trombosi arteriose nei pazienti con APA (1,30), un recente trial clinico randomizzato nei pazienti con APA e stroke non ha dimostrato differenze di efficacia tra aspirina 325 mg al giorno e la TAO con target medio PT INR 2.09 (33). Pertanto, un trattamento con ASA può essere considerato nei pazienti con APA e trombosi arteriosa non secondaria ad embolia cardiogena (es. TIA, stroke aterosclerotico, infarto miocardico non complicato, arteriopatia periferica). In altri termini, non vi sono sicure evidenze che la presenza degli anticorpi antifosfolipidi debba far modificare il tipo di terapia antitrombotica nei pazienti con trombosi arteriose che, di regola e sulla base di linee-guida già stabilite, dovrebbero venir trattati con antiaggreganti piastrinici.

Nei casi in cui si decida per la TAO (es. stroke cardiogeno, embolia arteriosa periferica, infarto complicato, associazione di trombosi arteriose e venose, recidiva trombotica sotto ASA) si raccomanda, come nelle linee-guida inglesi (1), un trattamento a tempo indefinito con target INR 2.5 (range 2.0-3.0) aumentabile a 3.5 (range 3.0-4.0) in casi selezionati (es. recidiva di trombosi al

target più basso). Non vi sono dati consistenti sull'uso dell'associazione TAO+ASA nei pazienti con APA.

6e. Eventi avversi in gravidanza. Sulla base di almeno uno studio clinico randomizzato (34), il trattamento raccomandato per la prevenzione delle complicanze della gravidanza (ed in particolare dell'aborto ricorrente) nelle donne con sindrome da APA è costituito da eparina (o meglio eparina a basso peso molecolare) a dosi profilattiche + aspirina, 75-100 mg/die a partire dall'inizio della gravidanza (1, 31) (raccomandazione di grado B). Non vi è consenso sulle dosi di LMWH da impiegare anche se nella maggior parte dei casi è stata usata una dose di 4.000 U/die. Dosi più elevate (es. 4.000 U x 2/die) sono state consigliate nelle donne con pregressa storia di trombosi oltre che di poliabortività (35,36). L'uso di corticosteroidi è sconsigliato perché non efficace e associato ad un'alta incidenza di complicanze sia materne che fetali (1).

6f. APA in età pediatrica. Nei bambini è frequente osservare una transitoria positività del LA, spesso associata ad infezioni virali delle prime vie aeree. Questa forma transitoria è benigna, non si associa a complicanze e non rappresenta una controindicazione all'intervento di tonsillectomia e/o adenoidectomia, se indicato. Peraltro, sebbene più raramente che nell'adulto, sindromi da APA associate a complicanze trombotiche possono essere osservate anche in età pediatrica ed in genere vengono diagnosticate e trattate in modo simile a quelle dell'adulto (37).

6g. Sindrome catastrofica. La sindrome da APA "catastrofica" è una forma rara (< 1% di tutti i casi di sindrome), clinicamente molto grave, che provoca nell'arco di poche ore o giorni un quadro di insufficienza multiorgano. Criteri preliminari per il riconoscimento e la classificazione di questa variante, che ha molti punti di somiglianza con altre gravi microangiopatie trombotiche come la porpora trombotica trombocitopenica/sindrome emolitico uremica, sono stati recentemente pubblicati (38). Non ci sono univoche raccomandazioni per il trattamento, data la rarità e la eterogeneità di presentazione clinica della sindrome catastrofica. I presidi terapeutici più utilizzati sono stati il plasma exchange, l'eparina a pieno dosaggio anticoagulante, alte dosi di steroidi e farmaci immunosoppressori (es. ciclofosfamide) spesso in associazione o utilizzati in sequenza nello stesso paziente.

Tabella 1. Consenso internazionale sui criteri preliminari per la classificazione della sindrome da APA (5)*.

Criteri clinici

Trombosi vascolare

- Uno o più episodi di trombosi arteriosa, venosa o del microcircolo, in ogni tessuto od organo. La trombosi deve essere confermata dalla diagnostica per immagini, dal doppler o dall'istopatologia, con l'eccezione delle trombosi venose superficiali. Per la conferma istopatologica, la trombosi deve essere presente senza significativa evidenza di infiammazione della parete vascolare.

Complicanze della Gravidanza

- Una o più morti di feti morfologicamente normali da causa sconosciuta alla o oltre la 10^a settimana di gravidanza. La normale morfologia fetale deve essere documentata dall'ecografia o dall'esame diretto del feto, oppure
- Una o più nascite premature di neonati morfologicamente normali alla o prima della 34^a settimana di gravidanza, a causa di preeclampsia o eclampsia severa, o grave insufficienza placentare, oppure
- Tre o più aborti spontanei consecutivi da causa sconosciuta prima della 10^a settimana di gravidanza, con esclusione di anomalie anatomiche od ormonali materne o cause cromosomiche paterne o materne.

Criteri di Laboratorio

- Positività per LA diagnosticata in accordo ai criteri SSC-ISTH (Tab. 2), riscontrabile in due o più occasioni a distanza di almeno 12 settimane.
- Positività (titolo alto o moderato, i.e. >40 GPL o MPL, o >99° percentile) per anticorpi anticardiolipina IgG o IgM riscontrabile in due o più occasioni a distanza di almeno 12 settimane, misurata con un test ELISA standardizzato per anticorpi anticardiolipina β 2-glicoproteina I-dipendenti (39).
- Positività per anticorpi anti- β 2-GPI di isotipo IgG e/o IgM (a titolo >99° percentile) riscontrabile in due o più occasioni a distanza di almeno 12 settimane, misurata con un test ELISA standardizzato secondo le procedure raccomandate (40)

*La diagnosi di Sindrome da APA richiede la presenza di almeno un criterio clinico ed uno di laboratorio, indipendentemente dall'intervallo di tempo esistente fra l'evento clinico ed il dato di laboratorio.

Tabella 2. Criteri aggiornati SSC-ISTH per la diagnosi di LA (7)

- Prolungamento di almeno un test della coagulazione fosfolipide-dipendente (test di screening)
- Evidenza di un'attività inibitoria dimostrata dall'effetto del plasma paziente su un pool di plasmi normali (test della miscela).
- Evidenza che l'attività inibitoria sia dipendente dai fosfolipidi (test di conferma). Tale evidenza può essere ottenuta mediante supplementazione o modifica dei fosfolipidi (fosfolipidi in fase esagonali, fosfolipidi sintetici, frammenti piastrinici).
- Il LA deve essere attentamente distinto da altre condizioni che possono dare quadri di laboratorio ad esso sovrapponibili, o che possono essere contemporaneamente presenti. I dosaggi di specifici fattori della coagulazione e la storia clinica (Tab. 3) possono essere utili nel differenziare il LA da altre condizioni.

Tabella 3. Diagnosi differenziale degli inibitori della coagulazione

1. Inibitori associati a sintomi emorragici
 - Anti-fattore VIII, II, IX, X, XI
 - Anti-fibrinogeno/fibrina
 - Anticoagulanti eparino-simili

2. Inibitori con o senza emorragie
 - Anti-fattore V

3. Inibitori di solito non associati ad emorragia
 - LA (con la possibile eccezione di una concomitante ipoprotrombinemia)
 - Anti-fattore XII

7. Bibliografia

1. Greaves M, Cohen H, Machin SJ et al. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 2000; 109: 704-15
2. Meroni PL, Moia M, Derksen RHWM et al. Venous thromboembolism in the antiphospholipid syndrome: management guidelines for secondary prophylaxis. *Lupus* 2003; 12: 504-7.
3. Arnout J and Vermynen J. Current status and implications of autoimmune antiphospholipid antibodies in relation to thrombotic disease. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 931-42
4. De Groot PG, Derksen RHWM. Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1854-60
5. Miyakis S, Loskshin MD, Atsumi T et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
6. Dunn AS, Kaboli P, Halfdanarson T et al. Do patients followed in anticoagulation clinics for antiphospholipid syndrome meet criteria for the disorder ? *Thromb Haemost* 2005; 94: 548-54.
7. Brandt JT, Triplett DA, Alving B et al. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulant: an update. *Thromb Haemost* 1995; 1185-90.
8. Arnout J. Antiphospholipid syndrome: diagnostic aspects of lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 2001; 86: 83-91.
9. Galli M, Finazzi G, Bevers EM et al. Kaolin clotting time and dilute Russell's viper venom time distinguish between prothrombin-dependent and beta-2-glycoprotein I - dependent antiphospholipid antibodies. *Blood* 1995; 86: 617-23.
10. Pengo V, Biasiolo A, Rampazzo P, Brocco T. dRVVT is more sensitive than KCT or TTI for detecting Lupus Anticoagulant activity of anti- β_2 Glycoprotein I autoantibodies. *Thromb Haemost* 1999;81:256-8.
11. Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C et al. A two-step coagulation test to identify anti β_2 -glycoprotein I lupus anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 702-7.
12. Simmelink MJA, Derksen RHWM, Arnout J et al. A simple method to discriminate between β_2 glycoprotein I- and prothrombin-dependent lupus anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 740-7
13. Arnout J. Risk for thrombosis linked to the target antigen of a lupus anticoagulant ? *J Thromb Haemost* 2004; 2: 697-7.

14. Tripodi A, Chantarangkul V, Clerici M, Mannucci PM. Laboratory diagnosis of lupus anticoagulants for patients on oral anticoagulant treatment. Performance of dilute Russell viper venom test and silica clotting time in comparison with Staclot-LA®. *Thromb Haemost* 2002; 88; 583-6.
15. Pengo V. Communication. 48th Annual SSC meeting, Boston, MA, USA July 18 2002. See annual SSC reports at the ISTH website: <http://www.med.unc.edu/isth>
16. Cabiedes J, Cabral AR, Alarcon-Segovia D. Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus associate more strongly with anti β_2 -glycoprotein I than with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1995; 22: 1899-906.
17. Balestrieri G, Tincani A, Spatola L et al. Anti- β_2 -glycoprotein I antibodies: a marker of antiphospholipid syndrome ? *Lupus* 1995; 4: 122-30.
18. Galli M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis: do test patterns identify the patient's risk? Proceedings of the XI International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Sidney, Australia, November 14-18, 2004.
19. Zoghiami-Rintelen C, Vormittag R, Sailer T et al. The presence of IgG antibodies against β_2 -glycoprotein I predicts the risk of thrombosis in patients with the lupus anticoagulant. *J Thromb Haemostas* 2005; 3: 1160-5
20. Pengo V. Anti- β_2 -glycoprotein I antibody testing in the laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemostas* 2005; 3: 1158-9
21. Bas de Laat H, Derksen RHW, Urbanus RT et al. β_2 -glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant highly correlates with thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2004; 104: 3598-3602.
22. Pengo V, Biasiolo A. The risk of overdiagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 2001;86:933.
23. Galli M, Luciani D, Bertolini G et al. Anti-beta-2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies and risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2003; 102: 2717-23.
24. Finazzi G, Brancaccio V, Moia M et al. Natural history and risk factor for thrombosis in 360 patients with antiphospholipid antibodies: a four-year prospective study from the Italian Registry. *Am J Med* 1996; 100: 530-6.
25. Galli M, Luciani D, Bertolini G et al. Lupus anticoagulants are stronger risk factor for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* 2003; 101: 1827-32.

26. Ginsburg KS, Liang MH, Newcomer L et al. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992; 117: 997-1002.
27. Tripodi A, Chantarangkul V, Clerici M et al. Laboratory control of oral anticoagulant treatment by the INR system in patients with the antiphospholipid syndrome and lupus anticoagulants. Results of a collaborative study involving nine commercial thromboplastins. *Br J Haematol* 2001, 115: 672-8.
28. Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J et al. A comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2003; 349: 1133-8
29. Finazzi G, Marchioli R, Brancaccio V et al. A randomized clinical trial of high-intensity warfarin vs. conventional antithrombotic therapy for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 848-53.
30. Ortel TL. Thrombosis and the antiphospholipid syndrome. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2005; 462-8.
31. Prandoni P, Simioni P, Girolami A. Antiphospholipid antibodies, recurrent thromboembolism, and intensity of warfarin anticoagulation. *Thromb Haemost* 1996; 75: 859.
32. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. Duration of Anticoagulation Study Group. *Am J Med* 1998; 104: 332-8.
33. The APASS Investigators. Antiphospholipid antibodies and subsequent thrombo-occlusive events in patients with ischemic stroke. *JAMA* 2004; 291: 576-84.
34. Rai RS, Cohen H, Dave M et al. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies. *Br Med J* 1997; 314: 253-7.
35. Tincani A, Branch W, Levy RA et al. Treatment of pregnant patients with antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2003; 12: 524-9.
36. Stone S, Hunt BJ, Khamashta MA et al. Primary antiphospholipid syndrome in pregnancy: an analysis of outcome in a cohort of 33 women treated with a rigorous protocol. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 243-5
37. Briones M, Abshire T. Lupus anticoagulants in children. *Curr Opin Hematol* 2003; 10: 375-9.

38. Cervera R, Font J, Gomez-Puerta JA et al. Validation of the preliminary criteria for the classification of catastrophic antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1205-9.
39. Tincani A, Allegri F, Sanmarco M et al. Anticardiolipin antibody assay: a methodological analysis for a better consensus in routine determinations – a cooperative project of the European Antiphospholipid Forum. *Thromb Haemost* 2001; 86: 575-83
40. Reber G, Tincani A, Sanmarco M et al. Proposals for the measurement of anti-beta-2-glycoprotein I antibodies. Standardization group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1860-2