

## Il laboratorio nella terapia anticoagulante orale\*

Alberto Tosetto<sup>1</sup>, Sophie Testa<sup>2</sup>, Walter Ageno<sup>3</sup>, Cristina Legnani<sup>4</sup>, Oriana Paoletti<sup>2</sup>, Mario Plebani<sup>5</sup>, Daniela Poli<sup>6</sup>, Davide Giavarina<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Centro Malattie Emorragiche e Trombotiche, Divisione di Ematologia, Ospedale San Bortolo, ULSS 6 Vicenza

<sup>2</sup>Centro Emostasi e Trombosi Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche, Azienda Ospedaliera Istituti Ospitalieri, Cremona

<sup>3</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università dell'Insubria, Varese

<sup>4</sup>Laboratorio Specialistico di Coagulazione, U.O. Angiologia e Malattie della Coagulazione, Azienda Ospedaliera di Bologna, Policlinico S. Orsola - Malpighi, Bologna

<sup>5</sup>Cattedra di Biochimica Clinica e Dipartimento Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova

<sup>6</sup>Struttura Organizzativa Dipartimentale Malattie Aterotrombotiche, Azienda Ospedaliera Careggi, Firenze

<sup>7</sup>Laboratorio Analisi Cliniche, Ospedale San Bortolo, ULSS 6 Vicenza

### ABSTRACT

**The role of laboratory medicine in monitoring oral anticoagulant therapy.** The oral anticoagulant therapy is used in the prevention and treatment of venous and arterial thromboembolism in many different clinical settings. For this purpose, vitamin K antagonists (VKA), which indirectly reduce the activity of factors II, VII, IX and X preventing the vitamin K-mediated carboxylation of specific glutamic acid residues, and direct oral anticoagulants (DOAC), providing direct inhibition of thrombin (factor IIa) or factor Xa, are available. The VKA monitoring represents a daily challenge for clinical laboratories, due to the increasing number of patients, frequency of needed controls and the management complexity. Several solutions have been proposed to improve the management of patients treated by VKA, such as surveillance in dedicated clinics and use of portable monitors to allow patient self-testing and self-management. Although DOAC have been declared not requiring a standard laboratory monitoring, laboratory testing for measuring drug anticoagulant activity is however needed in many situations, such as in case of bleeding or thromboembolic complications, surgery or invasive procedures, suspected overdose and drug interactions, noncompliance or presence of renal or liver disease.

### INTRODUZIONE

La terapia anticoagulante è indicata per la prevenzione e la terapia del tromboembolismo arterioso e venoso. Nell'ambito arterioso, l'indicazione principale riguarda la prevenzione primaria e secondaria dell'ictus ischemico e delle embolie sistemiche nei pazienti affetti da fibrillazione atriale e nei pazienti portatori di protesi valvolari cardiache. Sono oggi disponibili a questo scopo farmaci anticoagulanti orali antagonisti della vitamina K (AVK) e farmaci anticoagulanti orali ad azione diretta o nuovi anticoagulanti orali (DOAC). I primi hanno indicazione di utilizzo sia nei pazienti con fibrillazione atriale che nei pazienti con patologia valvolare, mentre i secondi solo nei pazienti con fibrillazione atriale non valvolare. Per la maggior parte dei pazienti affetti da

fibrillazione atriale è indicata la terapia anticoagulante orale (TAO), che viene oggi prescritta sulla base della valutazione individuale del rischio tromboembolico mediante "score" clinici validati. La scelta tra farmaci anticoagulanti orali di vecchia o nuova generazione è condizionata dalle comorbidità dei pazienti (ad es., dalla presenza di insufficienza renale), da aspetti pratici e dalle limitazioni imposte dai piani terapeutici. Purtroppo molti di questi pazienti, soprattutto i più anziani, sono ancora trattati con antiaggreganti piastrinici o non ricevono alcuna profilassi antitrombotica.

Nell'ambito venoso, le principali indicazioni alla terapia anticoagulante riguardano la prevenzione primaria del tromboembolismo venoso nei pazienti ricoverati in ospedale sia in ambito chirurgico che internistico e la terapia acuta e a lungo termine del

\*Questa rassegna rappresenta un compendio delle relazioni presentate al Convegno "Il Laboratorio nella terapia anticoagulante", Vicenza, 28 maggio 2015.

tromboembolismo venoso. Nel primo caso prevale l'impiego delle eparine a basso PM, anche se l'uso dei DOAC è approvato in ambito di chirurgia protesica di anca e ginocchio. Nel secondo caso, la scelta è tra la terapia parenterale iniziale con eparina (frazionata o non frazionata) (Fondaparinux) seguita da AVK o da DOAC, questi ultimi sino dall'inizio del trattamento. Queste diverse opzioni possono dipendere dal tipo di patologia alla presentazione [trombosi venosa profonda (TVP) o embolia polmonare (EP)], dall'indicazione o meno al ricovero ospedaliero e dalle comorbidità. L'impiego di rivaroxaban come primo DOAC approvato per la terapia della TVP e successivamente dell'EP ha sicuramente favorito la gestione domiciliare di pazienti meno critici e i primi dati osservazionali suggeriscono la tendenza dei clinici a scegliere questa terapia in pazienti più giovani e meno complessi (1).

In questo scenario complesso e di rapido mutamento risulta utile una revisione dei punti certi e degli argomenti ancora aperti in questo importante settore della diagnostica di laboratorio.

## LA TERAPIA ANTICOAGULANTE CON AVK

Gli AVK (dicumarolici) sono anticoagulanti orali indiretti, che esplicano la loro azione inibendo il metabolismo ossido-riduttivo della vitamina K necessaria alla carbossilazione dell'estremità N-terminale dei fattori II, VII, IX e X. Tale carbossilazione rende la molecola in grado di reagire con il calcio e le superfici fosfolipidiche per un'adeguata attività coagulante. I fattori di coagulazione vitamina K-dipendenti prodotti dopo l'esposizione ai dicumarolici hanno mediamente un'attività coagulativa ridotta dal 20% al 40%, ma possono raggiungere percentuali inferiori, in relazione al grado di anticoagulazione. In Italia sono disponibili il warfarin (emivita 36-42 ore) e l'acenocumarolo (emivita 9 ore). Si tratta di farmaci facilmente assorbibili fin dai primi tratti dell'intestino e con elevata biodisponibilità. Il metabolismo è epatico, attraverso il sistema dei citocromi e l'ampia variabilità inter- e intraindividuale è dovuta in gran parte a varianti genetiche dei numerosi enzimi che entrano nella catena metabolica. Tra queste sono note la variante 2C9 del citocromo P450 e dell'enzima vitamina K epossidoreduttasi. Queste tuttavia spiegano solo il 30-50% della variabilità e sistemi di previsione della dose necessaria all'effetto anticoagulante basati sull'identificazione di tali polimorfismi si sono rivelati non utili nella pratica clinica e sono oggi sconsigliati (2, 3).

Il fabbisogno medio di AVK è più basso nei pazienti più anziani e nelle donne; tuttavia, non c'è correlazione tra dose media necessaria e qualità della terapia anticoagulante. Questa deve essere valutata attraverso la stima del tempo trascorso in intervallo terapeutico (TTR) e la rilevazione delle complicanze trombotiche ed emorragiche. Numerosi studi dimostrano che la qualità della terapia espressa come TTR correla positivamente con la qualità clinica espressa come tasso di complicanze. I livelli di TTR più elevati si ottengono quando i pazienti sono seguiti da centri specialistici. I

fattori correlati con una migliore qualità clinica sono l'età >70 anni, la presenza di fibrillazione atriale, un intervallo INR ("International Normalized Ratio") tra 2,0 e 3,0.

La gestione del paziente in trattamento con farmaci AVK richiede un sistema coordinato che coinvolga il laboratorio per un'adeguata misurazione dell'INR, la tracciabilità dei valori di INR e delle dosi assunte, un'adeguata educazione del paziente e la trasmissione scritta al paziente del programma di terapia. La programmazione della dose dovrebbe avvalersi di programmi informatizzati e sono disponibili algoritmi per la programmazione della dose che hanno una rilevante utilità clinica. L'uso di apparecchi portatili consente al paziente l'automisurazione dell'INR rendendolo autonomo dal laboratorio; tali metodiche si sono dimostrate ugualmente efficaci e sicure rispetto all'esame del sangue tradizionale nell'uso clinico e dovrebbero essere favorite (4).

## Il laboratorio nella gestione della terapia anticoagulante con AVK

Il controllo di laboratorio della terapia con farmaci AVK si esegue utilizzando il tempo di protrombina (PT). Poiché il PT è sensibile al livello dei fattori II, VII e X, il completamento della cui sintesi dipende dalla vitamina K, questo è l'esame ideale per valutare il difetto indotto dagli AVK.

Numerose sono le variabili preanalitiche e analitiche che influenzano il PT e che rendono problematica la comparabilità dei risultati ottenuti in laboratori diversi. La variabile più importante è certamente la diversa sensibilità dei reagenti commerciali (tromboplastine) al difetto indotto dagli AVK. Tromboplastine diverse possono infatti dare tempi di coagulazione estremamente diversi sullo stesso campione di plasma. La necessità di migliorare la comparabilità dei risultati del PT, al fine del monitoraggio della terapia con AVK, ha portato nel corso degli anni a varie proposte di standardizzazione. All'inizio degli anni '80 fu elaborato un sistema di calibrazione, detto sistema INR. Questo sistema è stato accettato dall'OMS e nel 1983 è stato istituito il primo standard tromboplastinico internazionale (5). Il sistema INR prevede, attraverso procedure codificate, la calibrazione delle tromboplastine commerciali contro un standard internazionale e il calcolo di un indice di sensibilità detto ISI ("International Sensitivity Index"). L'ISI rappresenta il legame esistente tra la tromboplastina da calibrare e lo standard internazionale; valori di ISI uguali a 1 denotano un'uguale sensibilità del reagente commerciale rispetto allo standard internazionale, mentre valori di ISI >1 dimostrano una minore sensibilità e viceversa. Noto l'ISI, è possibile trasformare il valore del PT nella scala INR. Il valore di INR si ottiene dividendo il tempo di coagulazione del plasma in esame per quello ottenuto in un plasma normale ed elevando il rapporto ("ratio") a una potenza pari al valore dell'ISI del reagente usato. L'INR rappresenta il valore del PT che si sarebbe ottenuto se fosse stato usato lo standard internazionale. Poiché l'ISI

incide in modo esponenziale sul risultato dell'INR, amplificando anche piccole differenze, è raccomandato l'utilizzo di reagenti con valori di ISI più possibile vicini a 1.

Un altro punto critico è rappresentato dalla scelta del valore normale da mettere a denominatore per il calcolo del rapporto. Il sistema ottimale è quello di utilizzare la media geometrica del PT di 20 (o più) soggetti apparentemente sani, ottenuti nelle stesse condizioni sperimentali di quelle in cui si eseguono gli esami sui pazienti. Tale valore, indicato come "mean normal prothrombin time" (MNPT), dovrà essere ovviamente ricalcolato in caso intervengano modifiche del sistema reagente/strumento (cambio di lotto del reagente, manutenzione rilevante o sostituzione dello strumento, ecc.).

Il sistema INR consente di minimizzare le differenze tra sistemi e di comparare con buona approssimazione i risultati del PT ottenuti in laboratori diversi, anche se piccole differenze possono verificarsi, soprattutto nell'ambito dell'anticoagulazione, al di fuori dell'intervallo 1,5-4,5 di INR e nella fase non stabile della terapia con AVK (6).

Infine, va ricordato che i risultati del PT vanno espressi come INR solo per i pazienti trattati con AVK; in tutti gli altri casi è raccomandato l'uso della "ratio".

### **Il monitoraggio "point-of-care" della terapia anticoagulante con AVK**

L'avanzamento tecnologico applicato alla misurazione del PT ha determinato lo sviluppo di coagulometri portatili, strumenti che consentono l'esecuzione del PT-INR su una goccia di sangue capillare, spostando la fase analitica dal laboratorio al paziente stesso ["point of care testing" (POCT)], con notevoli vantaggi in termini di praticità e comodità per l'utente (7).

I sistemi disponibili in commercio sono di due tipi. Il primo, a uso professionale, comprende sistemi complessi che eseguono numerosi esami oltre al PT-INR e che sono esclusivamente utilizzati in ambito ospedaliero. Il secondo tipo, invece, è rappresentato da piccoli strumenti, maneggevoli e facilmente utilizzabili anche dai pazienti. Relativamente a questi ultimi, tre strumenti hanno ottenuto un'ampia validazione analitica, mostrando risultati qualitativamente soddisfacenti rispetto ai criteri di precisione, accuratezza e validazione per l'uso da parte del singolo paziente (4).

Come più sopra riportato, nella pratica clinica la misura del PT-INR è indispensabile per il controllo della TAO condotta con AVK. Il diffondersi dei sistemi portatili ha permesso lo sviluppo di nuovi modelli gestionali per l'automonitoraggio della terapia, come il "patient self-testing" (PST) e il "patient self-management" (PSM) (8). Il PST comporta l'autodeterminazione del PT INR da parte del paziente, ma la prescrizione del trattamento anticoagulante viene comunque gestita dal medico specialista. Nel caso del PSM, invece, il paziente non solo si autocontrolla il livello di anticoagulazione, ma autogestisce anche il trattamento. In entrambi i casi sono

indispensabili corsi di formazione strutturati. Vari studi hanno evidenziato un vantaggio del PST e del PSM rispetto a una gestione non specialistica, vantaggio misurato in termini di comodità, qualità terapeutica e clinica (9, 10). Dagli stessi studi è emerso, però, che tali sistemi risultano idonei solo in pazienti accuratamente selezionati e sottoposti a specifico addestramento.

Grazie all'utilizzo dei sistemi POCT, negli ultimi anni i Centri Emostasi e Trombosi per far fronte al costante incremento dei pazienti in terapia con AVK hanno sviluppato sistemi di gestione innovativi attraverso il collegamento informatico bidirezionale tra il centro e le strutture territoriali. Per garantire nel tempo uno standard qualitativo elevato dei sistemi POCT è indispensabile verificare in modo continuativo l'affidabilità della misura attraverso un programma di controllo di qualità analitica (11).

Al contrario di altri Paesi europei, in Italia non esiste una regolamentazione all'uso dei coagulometri portatili, che preveda, oltre alla rimborsabilità dei sistemi, la prescrizione medica del POCT e la formazione attraverso corsi strutturati per i pazienti.

### **DOAC: PRINCIPI FARMACOLOGICI, MECCANISMI D'AZIONE E INDICAZIONI CLINICHE**

I DOAC sono un gruppo di farmaci che agiscono come inibitori di un singolo fattore, la trombina (fattore II) o il fattore X. Le principali caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche dei primi tre farmaci a inibizione diretta disponibili in Italia sono riassunte nella Tabella 1 (12, 13).

Il dabigatran (Pradaxa) è un inibitore diretto della trombina, assunto sotto forma di profarmaco inattivo, il dabigatran etexilato. Si tratta di un potente inibitore competitivo, diretto e reversibile, della trombina, che quindi agisce impedendo la conversione di fibrinogeno in fibrina e, conseguentemente, la formazione del trombo. Il dabigatran, che inibisce sia la trombina libera sia quella legata alla fibrina, ha poche interazioni farmacologiche con altri farmaci (principalmente gli inibitori della glicoproteina P, compreso il verapamil e gli antifungini azolici) e non interagisce con gli alimenti. La via principale di eliminazione è il rene, che elimina ~80% del farmaco, mentre la parte rimanente è metabolizzata nel fegato.

Il rivaroxaban (Xarelto) e l'apixaban (Eliquis) sono inibitori diretti del fattore X attivato, di tipo selettivo e competitivo. Legandosi al fattore Xa inibiscono la formazione di trombina bloccando l'interazione del suddetto con il suo substrato, la protrombina. La loro biodisponibilità è elevata e aumenta con il cibo per il rivaroxaban. ~30% di entrambi i farmaci è escreto immutato attraverso l'emuntorio renale, mentre la parte rimanente viene inattivata a livello epatico.

I DOAC sono indicati per la prevenzione dell'ictus nella fibrillazione atriale, nella profilassi del tromboembolismo venoso (TEV) dopo interventi di protesi di anca o al ginocchio e nel trattamento di TVP ed EP. Il rivaroxaban è stato anche approvato in Europa per

**Tabella 1***Farmacocinetica e farmacodinamica dei nuovi anticoagulanti orali*

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
Nome commerciale	Pradaxa®	Xarelto®	Eliquis®
Meccanismo d'azione	Inibitore della trombina	Inibitore del fattore Xa	Inibitore del fattore Xa
Biodisponibilità (%)	3-7	80-100	60-70
T ½ (ore)	12-17	5-13	8-15
Tempo alla C <sub>max</sub> (ore)	2	2-4	1-3
Parte legata a plasma proteine	35%	95%	87%
Posologia:			
Fibrillazione atriale	150 mg bid 110 mg bid obbligatorio in età ≥80 anni o in corso di assunzione di verapamil; consigliato in età 75-80 anni + RE alto e RTE basso, assunzione antiaggreganti, CICr 30-50 mL/min + RE alto o gastrite/ esofagite da reflusso	20 mg/die 15 mg/die se CICr 15-50 mL/min	5 mg bid oppure 2,5 mg bid, se creatininemia ≥1,5 mg/dL + età ≥80 anni o peso ≤60 kg
Cardioversione	150 mg bid oppure 110 mg bid, se CICr 30-50 mL/min	15 o 20 mg/die (almeno 4 ore prima)	5 mg bid
TVP/EP (terapia e prevenzione recidive)	Successivamente al trattamento con un anticoagulante parenterale somministrato per almeno 5 giorni: 150 mg bid 110 mg bid, se età >75 anni o GFR 30-50 mL/min/1,73 m <sup>2</sup> o terapia con amiodarone o verapamil	15 mg bid per 3 settimane, poi 20 mg/die	10 mg bid per 7 giorni, poi 5 mg bid per 3-6 mesi
TVP/EP (profilassi in chirurgia ortopedica)	150 mg/die 110 mg bid se età >75 anni o GFR 30-50 mL/min/1,73 m <sup>2</sup> o terapia con amiodarone o verapamil Durata: chirurgia ginocchio, 6-10 giorni; anca, 28-35 giorni	10 mg/die Durata: chirurgia ginocchio, 14 giorni; anca, 35 giorni	2,5 mg bid Durata: chirurgia ginocchio, 14 giorni; anca, 32-38 giorni
Profilassi secondaria dopo sindrome coronarica acuta	Non approvato	2,5 mg bid in associazione con acido acetilsalicilico <sup>a</sup>	Non approvato
Eliminazione:			
Eliminazione renale (%)	80	33 33 (metaboliti)	27
Degradazione a livello epatico (%)	20	67 <sup>b</sup>	73

C<sub>max</sub>, concentrazione massima; RE, rischio emorragico; RTE, rischio tromboembolico; CICr, "clearance" creatinina; TVP, trombosi venosa profonda; EP, embolia polmonare; GFR, velocità di filtrazione glomerulare.

<sup>a</sup> Questa indicazione è approvata dall'"European Medicines Agency" (EMA), ma non dalla "Food and Drug Administration" (FDA) americana.

<sup>b</sup> ~2/3 del rivaroxaban sono metabolizzati nel fegato ed escreti con urine e feci (50/50).

la profilassi secondaria dopo sindrome coronarica acuta, ma il suo uso clinico in questo contesto è ancora limitato.

## DOAC E IL MONITORAGGIO TERAPEUTICO DEL FARMACO

Il paziente in TAO con i DOAC pone delle particolari

sfide cliniche. Da un lato, le buone caratteristiche farmacocinetiche di questi farmaci, unitamente alle minori interazioni farmacologiche, consentono l'assunzione di questa classe di farmaci a un dosaggio sostanzialmente fisso e senza necessità di un periodico monitoraggio di laboratorio. Dall'altro, è chiaro come questi pazienti risultino essere pienamente scoagulati e

pertanto siano a tutti gli effetti dei "coagulopatici". Come tali, essi possono andare incontro a problemi di tipo emorragico, che devono essere adeguatamente gestiti, ma anche di tipo trombotico, essendo questi dei pazienti in cui è presente di base una patologia trombotica (ad es., fibrillazione atriale o TEV). Occorre però operare con un atteggiamento diverso rispetto al paziente in terapia con warfarinici. Mentre con questi siamo abituati a monitorare principalmente l'effetto farmacologico della terapia (attraverso la stima dell'INR), nei pazienti in terapia con DOAC la priorità è la sorveglianza clinica, mentre la misura dei livelli ematici del farmaco assume un ruolo secondario.

### Quando monitorare i pazienti in terapia con DOAC

Dobbiamo ricordare che la variabilità inter-individuale dei livelli ematici dei DOAC non è trascurabile e che livelli di farmaco eccessivamente elevati o ridotti potrebbero determinare un aumento del rischio di eventi tromboembolici ed emorragici, esattamente come si osserva nel caso del warfarin (14, 15). Va però ribadito che i DOAC hanno dimostrato un ottimo profilo di efficacia e sicurezza a dosaggi fissi o con minimi aggiustamenti sulla base dei livelli di funzione renale o di altre caratteristiche del paziente (16). Pertanto, fino a quando non saranno disponibili dati da studi clinici opportunamente condotti, va scoraggiato l'uso clinico del dosaggio di laboratorio per regolare la posologia dei DOAC. Il dosaggio di laboratorio dei livelli ematici di DOAC andrebbe invece riservato ad alcune situazioni specifiche riportate nella Tabella 2 (17).

L'escrezione renale è importante soprattutto per il dabigatran (80%), mentre è meno importante per rivaroxaban e apixaban (Tabella 1). I pazienti con funzione renale ridotta [velocità di filtrazione renale stimata (eGFR) <25-30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>] erano esclusi dagli studi registrativi di rivaroxaban e dabigatran e una concentrazione di creatinina sierica >1,5 mg/dL era un criterio per somministrare dosi ridotte di apixaban (2,5 mg bid anziché 5,0 mg bid). Una dose ridotta di rivaroxaban (15 mg/die) è consigliata nei pazienti con una eGFR compresa tra 15 e 50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, e una dose inferiore di dabigatran (75 mg bid) è consigliata dalla "Food and Drug Administration" (FDA), ma non dalla "European Medicines Agency" (EMA), per i pazienti con eGFR tra i 15-30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. La dose di 110 mg bid dovrebbe comunque essere preferita nei pazienti con eGFR tra 30-50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (18). Pertanto, è consigliabile monitorare la funzione renale nei pazienti che assumono DOAC, indicativamente ogni 6 mesi, considerando di passare a un dosaggio inferiore in caso di peggioramento della funzione renale al di sotto dei 50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> e a sospendere il farmaco se la funzione scendesse sotto i 15 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (30 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> per dabigatran) (17). In questi soggetti è utile la misurazione della concentrazione del DOAC a valle, in quanto espressione del potenziale accumulo e

correlata alle complicanze (15), specialmente se il paziente sta anche assumendo dei farmaci potenzialmente interferenti (vedi sotto). Inoltre, i pazienti con concentrazioni ematiche di transaminasi superiori a due volte il limite superiore di riferimento o con epatopatia associata ad aumento del PT andrebbero esclusi dall'uso dei DOAC (18). Potrebbe essere utile misurare i livelli di picco del farmaco nei casi di dubbia assimilazione.

I DOAC vengono escreti attraverso la via della "permeability glycoprotein" (P-gp) e quelli ad azione anti-fattore Xa vengono metabolizzati dai citocromi CYP2C9 e CYP3A. Questi enzimi vengono attivati, ad esempio, da rifampicina e carbamazepina, con una conseguente riduzione della concentrazione di DOAC disponibile, e inattivati da amiodarone, antimicotici azolici, chinidina, verapamil e ritonavir. Questi ultimi farmaci possono fare aumentare la concentrazione plasmatica dei DOAC. Qualora si rendesse necessaria una terapia prolungata con tali farmaci potrebbe essere utile il dosaggio specifico del farmaco.

In generale, è raccomandabile che i pazienti in terapia con DOAC siano seguiti ogni 3-6 mesi con un controllo clinico, l'esecuzione di un esame emocromocitometrico ed esami per la valutazione della funzione renale e, in casi particolari, venga considerata la possibilità di eseguire il loro dosaggio specifico. In tale occasione dovrà essere valutata la "compliance" del paziente alla terapia e la comparsa di eventuali manifestazioni di tipo emorragico. Il paziente dovrà essere adeguatamente informato circa le possibili complicanze tromboemboliche ed emorragiche, per le quali dovrebbe essere garantito un riferimento sanitario. E' inoltre necessario che i centri o i medici prescrittori mettano in atto la valutazione periodica degli eventi tromboembolici ed emorragici nell'ambito della popolazione di pazienti seguita, al fine di ottimizzarne la gestione.

### Come monitorare i pazienti in terapia con DOAC

Nonostante in generale si ritenga che i DOAC non necessitano del monitoraggio di laboratorio, è sempre più

#### Tabella 2

*Situazioni cliniche in cui è consigliabile il dosaggio dei livelli ematici dei farmaci anticoagulanti orali ad azione diretta*

- Pazienti che si presentino in urgenza per eventi avversi emorragici o trombotici
- Pazienti che necessitino di un "reversal" della terapia anticoagulante (ad es., preoperatorio)
- Pazienti con funzione renale o epatica ridotta
- Pazienti in cui si sospetti un'interazione importante con altri farmaci
- Sospetto di sovradosaggio o avvelenamento
- Pazienti con peso corporeo estremo

riconosciuta l'esigenza di determinare la concentrazione e/o l'attività di questi farmaci in numerose situazioni cliniche, che spaziano da pazienti con eventi avversi di tipo trombotico o emorragico allo screening prima di interventi chirurgici e procedure invasive. Il problema, quindi, non è più "se sia necessaria la determinazione dei livelli dei DOAC", quanto piuttosto "come questa debba essere eseguita" (19).

I metodi di determinazione dei DOAC possono essere distinti in due categorie: metodi quantitativi, che valutano la concentrazione ematica dei DOAC (con metodi in HPLC o spettrometria di massa) e metodi funzionali, che valutano l'attività dei DOAC. I metodi quantitativi, soprattutto quelli in cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS/MS), largamente utilizzati nel campo del monitoraggio terapeutico dei farmaci, hanno il vantaggio di una superiore specificità rispetto ai test coagulativi, in quanto non risentono di possibili interferenze dovute alla presenza di altri coagulanti endogeni o esogeni e di problematiche preanalitiche (20). Inoltre, se non si è a conoscenza del farmaco somministrato al paziente, permettono di determinare nella stessa seduta tutti i differenti DOAC. Tuttavia, questo approccio presenta due svantaggi: il primo è rappresentato dalla difficoltà in molti laboratori clinici a utilizzare queste tecniche nell'arco dell'intera giornata, per problemi di disponibilità strumentale e di competenze professionali. Il secondo problema è che, specialmente nel caso del dabigatran, questi metodi non determinano alcuni metaboliti farmacologicamente attivi, come il dabigatran acilglucoronide, e mostrano discrepanze con i risultati dei test coagulativi.

Anche per i metodi funzionali è necessario fare una distinzione fra metodi aspecifici e specifici. La prima categoria comprende l'utilizzo degli esami più comunemente impiegati nella diagnostica della coagulazione, in particolare il PT, il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) e il tempo di trombina (TT). Sfortunatamente questi esami non presentano una sensibilità adeguata né un rapporto dose-risposta lineare, per cui non sono utilizzabili per un'accurata quantificazione dei DOAC. Tuttavia, sono stati proposti in alcune linee-guida come esami di primo livello, sostanzialmente per mettere in luce sovradosaggi del farmaco (21, 22). Nel caso del dabigatran, l'esame iniziale più sensibile è l'aPTT, mentre per rivaroxaban e apixaban funziona meglio il PT. I metodi funzionali specifici, che consentono miglior accuratezza diagnostica, sono il tempo di trombina diluito (dTT) e il test all'ecarina ("ecarin clotting time" e "ecarin chromogenic assay") per il dabigatran, mentre nel caso degli inibitori del fattore Xa vengono raccomandati i metodi di determinazione cromogenica dell'attività anti-Xa (23, 24).

## LA GESTIONE DELLE EMERGENZE

Nel paziente in terapia anticoagulante possono verificarsi alcune situazioni che rendono necessaria una valutazione clinico-laboratoristica urgente. In queste

situazioni diventa indispensabile che il paziente sia gestito da un team di specialisti che comprenda, oltre allo specialista d'organo quale il cardiologo, il neurologo o il chirurgo, anche un esperto nel campo dell'emostasi, che possa effettuare una valutazione corretta degli esami di laboratorio e fornire un consiglio circa la terapia più opportuna per correggere il difetto emostatico causato dai DOAC o dai dicumarolici.

## Le complicanze trombotiche

I livelli ematici di DOAC devono essere determinati per chiarire se l'evento trombotico deve essere ascritto a un fallimento terapeutico o a una complicazione insorta a seguito di mancata assunzione del farmaco. E' inoltre opportuno determinare i livelli di DOAC, perché' in caso di valori indicativamente  $>30-50 \mu\text{g/L}$  non sarà possibile eseguire procedure di trombolisi sistemica e l'accesso vascolare arterioso potrebbe determinare un sanguinamento eccessivo.

## Le complicanze emorragiche

Le complicanze emorragiche in corso di terapia con DOAC vanno attentamente monitorate in quanto la mancanza di un antidoto specifico può comportare in questi pazienti un'emorragia non facilmente controllabile. Occorre subito valutare se l'emorragia sia minore (ad es., una lieve epistassi), e pertanto facilmente controllabile con la semplice sospensione del farmaco per una dose, o se l'emorragia sia maggiore (ad es., intracerebrale) e/o richieda un supporto trasfusionale e di circolo. In quest'ultimo caso, il riscontro di livelli terapeutici o sovraterapeutici di farmaco richiede di supportare le capacità emostatiche del paziente con l'uso di emocoagulanti (ad es., concentrati del complesso protrombinico a 3 o 4 fattori o l'uso di complesso protrombinico attivato qualora il paziente abbia utilizzato dabigatran). Qualora invece il paziente presenti livelli non terapeutici di DOAC (indicativamente  $<30-50 \mu\text{g/L}$ ), la situazione non richiede un trattamento con emoderivati, che anzi potrebbero porre il paziente a rischio di complicanze trombotiche. Ci troviamo pertanto di fronte a uno scenario in cui il risultato di laboratorio può essere di reale utilità per il clinico nel guidare la decisione terapeutica ottimale. La disponibilità del dosaggio del farmaco in queste situazioni sarà ancora più cogente nel prossimo futuro, quando potranno essere disponibili antidoti specifici che dovranno essere ragionevolmente somministrati in relazione alla quantità di anticoagulante da neutralizzare.

## Il paziente che necessita di chirurgia urgente

Il paziente che assume farmaci anticoagulanti può avere necessità di una chirurgia in emergenza o non dilazionabile: si tratta infatti di una popolazione in età avanzata, che può frequentemente presentare tali problematiche. In questi casi, l'atteggiamento è simile a quello sopra esposto per il paziente con emorragia maggiore e ancora una volta la misura della quantità di

DOAC residua circolante ha grande importanza per l'atteggiamento da seguire. Non infrequentemente il paziente arriva alla valutazione del chirurgo dopo aver saltato l'assunzione di qualche dose di farmaco: si pensi, per esempio, al paziente con occlusione intestinale che presenti disturbi dell'alimentazione da qualche giorno. In questi casi, si potranno riscontrare dei livelli non terapeutici di DOAC (indicativamente <30-50 µg/L), che non solo non richiederanno l'adozione di particolari misure di correzione con emoderivati, ma che anzi richiederanno per il paziente la somministrazione di dosi idonee di eparina a scopo antitrombotico nel periodo post-chirurgico.

Qualora invece il paziente presentasse livelli ematici apprezzabili di farmaco, dovrà essere valutata la somministrazione di emoderivati per scongiurare il rischio di un'emorragia intraoperatoria o immediatamente dopo la chirurgia stessa. Le dosi di emoderivati dovranno essere decise da un medico esperto nell'uso di tali presidi, considerando anche il rischio emorragico proprio della chirurgia e il profilo di rischio tromboembolico del paziente. In generale, si dovrà comunque esercitare cautela, considerando che l'uso dei concentrati di fattore potrebbe aumentare il rischio di eventi tromboembolici.

## CONCLUSIONI

La gestione del paziente in terapia anticoagulante è notevolmente semplificata dall'uso dei DOAC, in particolare per quanto riguarda la non necessità del monitoraggio di routine di questa terapia. Ciò nonostante, il paziente che assume tali farmaci è a tutti gli effetti un coagulopatico, che richiede una gestione adeguata. I medici e i centri che prescrivono tali farmaci devono garantire ai pazienti l'idoneo trattamento e un corretto "follow-up", incluso il supporto di un laboratorio che possa fornire il dosaggio quantitativo di tali farmaci in tempo reale e con copertura temporale continuativa, anche in urgenza. Il laboratorio mantiene infatti un ruolo determinante per la gestione di questi pazienti, particolarmente nel trattamento delle complicanze e delle situazioni di emergenza/urgenza.

Se è vero che i test specifici sono più complessi e richiedono una maggior competenza nella loro esecuzione, sembra che, almeno in alcuni casi specifici, accontentarsi di una stima grossolana dei livelli di anticoagulazione basata sugli stessi esami utilizzati nel monitoraggio degli AVK possa rivelarsi inadeguato. Rimangono ancora aperti numerosi problemi nella determinazione dei DOAC. Tra questi, di primaria importanza sono la standardizzazione metodologica, la modalità di refertazione e l'identificazione degli intervalli terapeutici, nonché l'organizzazione di adeguati programmi di controllo di qualità.

## CONFLITTO DI INTERESSI

Walter Ageno ha ricevuto supporto economico per progetti di ricerca da Bayer e rimborsi spese da Bayer,

Boehringer, Pfizer, Daiichi Sankyo e Stago. Nessun conflitto è denunciato dagli altri autori.

## BIBLIOGRAFIA

1. Palareti G, Ageno W, Ferrari A, et al. Clinical management of rivaroxaban-treated patients. *Expert Opin Pharmacother* 2013;14:655-67.
2. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, et al. Vitamin K antagonists: American College of Pharmacology and Management of the Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines, 8<sup>th</sup> ed. *Chest* 2008;133:160-98.
3. Militaru FC, Vesa SC, Pop TR, et al. Pharmacogenetics aspects of oral anticoagulants therapy. *J Med Life* 2015;8:171-5.
4. Christensen TD, Larsen TB. Precision and accuracy of point-of-care testing coagulometers used for self-testing and self-management of oral anticoagulation therapy. *J Thromb Haemost* 2012;10:251-60.
5. Kirkwood TB. Calibration of reference thromboplastins and standardisation of the prothrombin time ratio. *Thromb Haemost* 1983;49:238-44.
6. Poller L. International Normalized Ratios (INR): the first 20 years. *J Thromb Haemost* 2004;2:849-60.
7. NHS Purchasing and Supply Agency. Buyers' guide: point of care coagulometers for monitoring oral anticoagulation. CEP 07026. London: Centre for Evidence-based Purchasing, 2008.
8. Testa S, Alatri A, Paoletti O, et al. Reorganisation of an anticoagulation clinic using a telemedicine system: description of the model and preliminary results. *Intern Emerg Med* 2006;1:24-9.
9. Jennings I, Kitchen D, Keeling D, et al. Patient self-testing and self-management of oral anticoagulation in vitamin K antagonists: guidelines from the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol* 2014;167:600-7.
10. Garcia-Alamino JM, Ward AM, Alonso-Coello P, et al. Self-monitoring and self-management of oral anticoagulation. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010; 4, CD003839.
11. Testa S, Paoletti O, Bassi L, et al. A global quality control system to check PT-INR portable monitor for antivitamin K antagonists. *Int J Lab Hematol* 2015;37:71-8.
12. Tran H, Joseph J, Young L, et al. New oral anticoagulants: a practical guide on prescription, laboratory testing and peri-procedural/bleeding management. *Int Med J* 2014;44:525-36.
13. Fenger-Eriksen C, Münster AM, Grove EL. New oral anticoagulants: clinical indications, monitoring and treatment of acute bleeding complications. *Acta Anaesthesiol Scand* 2014;58:651-9.
14. Moore TJ, Cohen MR, Mattison DR. Dabigatran, bleeding, and the regulators. *Br Med J* 2014;349:g4517.
15. Reilly PA, Lehr T, Haertter S, et al. The effect of dabigatran plasma concentrations and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients: the RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy). *J Am Coll Cardiol* 2014;63:321-8.
16. Ruff CT, Giugliano RP, Braunwald E, et al. Comparison of the efficacy and safety of new oral anticoagulants with warfarin in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2014;383:955-62.
17. Pengo V, Crippa L, Falanga A, et al. Questions and answers on the use of dabigatran and perspectives on the use of other new oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. A consensus document of the Italian Federation

- of Thrombosis Centers (FCSA). *Thromb Haemost* 2011;106:868-76.
18. Savelieva I, Camm AJ. Practical considerations for using novel oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Clin Cardiol* 2014;37:32-47.
  19. Tripodi A. The laboratory and the direct oral anticoagulants. *Blood* 2013;121:4032-5.
  20. Schmitz EM, Boonen K, van den Heuvel DJ, et al. Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban by ultra-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) and coagulation assays for therapy monitoring of novel direct oral anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2014;12:1636-46.
  21. Lippi G, Di Iorio G, Testa S, et al. Documento di consenso di Federazione dei Centri per la Diagnosi della Trombosi e la Sorveglianza delle Terapie Antitrombotiche (FCSA), Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMeL), SIBioC e Comitato Italiano per la Standardizzazione dei Metodi Ematologici e di Laboratorio (CISMEL) sul monitoraggio di laboratorio dei pazienti in terapia con nuovi farmaci anticoagulanti orali. *Biochim Clin* 2013; 37:301-2.
  22. Lippi G, Favaloro EJ. Recent guidelines and recommendations for laboratory assessment of the direct oral anticoagulants (DOACs): is there consensus? *Clin Chem Lab Med* 2015;53:185-97.
  23. Baglin T, Hillarp A, Tripodi A, et al. Measuring oral direct inhibitors (ODIs) of thrombin and factor Xa: A recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2013 Jan 24. doi: 10.1111/jth.12149. [Epub ahead of print].
  24. Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory testing in the era of direct or non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: a practical guide to measuring their activity and avoiding diagnostic errors. *Semin Thromb Hemost* 2015;41:208-27.