

SOMMARIO

-Introduzione.....	pag.2
-Il Fenomeno della Coagulazione.....	pag.5
-Mutazione del Gene della Protrombina.....	pag.13
-Mutazione del Fattore V (Leiden).....	pag.14
-Cap.I:Trombofilia Congenita e Gravidanza.....	pag.20
-Cap.II:Trombofilia Acquisita e Gravidanza.....	pag.25
-Pazienti e Metodi.....	pag.30
-Risultati.....	pag.33
-Discussione e Prospettive.....	pag.36
-Tabelle.....	pag.47
-Allegati.....	pag.51
-Bibliografia.....	pag.67

INTRODUZIONE

La gravidanza fisiologica è associata a grandi cambiamenti in tutti gli aspetti dell'emostasi: aumento delle concentrazioni di molti fattori della coagulazione e diminuzione di alcuni anti-coagulanti naturali (Proteina C, Proteina S, Antitrombina).

Ciò comporta l'insorgenza di uno stato transitorio di ipercoagulabilità che si protrae durante il puerperio e che sembra essere un fattore importante nella patogenesi di molte complicanze della gravidanza, quali: Tromboembolismo, Pre-eclampsia, IUGR, Morte Fetale.

Nel 1990, "The British Committee for Standards in Haematology",

suggerì che il termine “Trombofilia” dovesse essere usato per descrivere i disordini familiari o acquisiti del meccanismo della emostasi che probabilmente predispongono al tromboembolismo.

3

Tale definizione, basata su principi laboratoristici, presenta degli svantaggi. Intanto, molti individui che sono portatori di uno o più difetti trombofilici restano asintomatici per tutta la vita; inoltre, sebbene dal 1990 il numero di difetti trombofilici noti sia aumentato, la ricerca medica di laboratorio non riesce, tuttora, a rilevare alcuna anomalia nel siero di meno della metà di pazienti affetti da tromboembolismo.

I Difetti Trombofilici sono alterazioni del sistema emocoagulativo che possono essere sia ereditarie che acquisite.

Tra i più importanti s'annoverano:

- 1) Deficit di Antitrombina (AT) che è uno dei più potenti inibitori fisiologici della coagulazione*
- 2) Deficit di Proteina C che è stimato in circa 1/1500 sani*
- 3) Mutazione Leiden del Fattore V che aumenta il rischio di trombosi di 5-10 volte negli eterozigoti, di 80 volte negli omozigoti*

- 4) Mutazione della Protrombina *che determina aumento della malattia tromboembolica con meccanismo ancora non noto*
- 5) Iperomocisteinemia *il cui aumento nel sangue è correlato ad aumento di trombosi venose e/o arteriose.*

4

Tra le Discoagulopatie Acquisite o slatentizzate dalla gravidanza

ricordiamo:

- 1) Resistenza alla Proteina C attivata, *acquisita in gravidanza. Compare in pazienti con attività lupica anticoagulante o in pazienti con pregressa terapia contraccettiva*
- 2) Lupus Eritematoso Sistemico
- 3) Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi
- 4) Pre-Eclampsia
- 5) CID

La morte endouterina fetale (IUFD-MEF) è una devastante inspettata complicanza di una gravidanza in apparenza normale e resta un problema irrisolto dell'ostetricia. La MEF nel III trimestre non è comune negli stati sviluppati, con un'incidenza tra 0.5 e 0.2%. Tra le varie cause le più note sono: l'ipertensione in gravidanza, il diabete mellito, le infezioni intrauterine. Tuttavia, escluse le cause note, la causa principale di MEF tardiva molto spesso resta inspiegata. Alterazioni placentari legate all'ipercoagulabilità

vengono diagnosticate in molti casi di MEF: infarti, trombosi, occlusioni del letto vascolare.

5

IL FENOMENO DELLA COAGULAZIONE

- a) Il sangue, messo in una provetta di vetro a 37°C, coagula in pochi minuti;*
- b) se la provetta di vetro viene siliconata, o sostituita da una provetta di plastica, il sangue coagula molto più lentamente;*
- c) se il sangue viene messo in provetta insieme ad un estratto tissutale esso coagula in meno di un minuto, indipendentemente dal materiale da cui è costituita la provetta;*
- d) il sangue non coagula se al momento della raccolta gli ioni calcio, in esso contenuti, vengono bloccati da alcune sostanze come il Citrato od Ossalato di Na, l'EDTA ed altre, mentre l'aggiunta di Ca^{++} in eccesso provoca la coagulazione;*
- e) il sangue privo di piastrine coagula molto lentamente; l'aggiunta di piastrine accelera il processo.*

Tali osservazioni hanno permesso di definire due possibili sistemi di coagulazione "in vitro":

Sistema Intrinseco *attivato dal contatto del sangue con una superficie non endotelizzata*

Sistema Estrinseco attivato da una sostanza presente negli estratti tessutali.

Esse hanno permesso di individuare il ruolo del Ca^{++} e delle piastrine nel processo della coagulazione e l'esistenza di vari fattori responsabili del fenomeno.

6

L'identificazione di ciascun fattore avviene saggiando la sua attività biologica che, pertanto, costituisce un marcatore della molecola stessa. Tuttavia non sempre l'assenza di attività biologica indica assenza del fattore, potendo questo perdere la propria funzione pur essendo presente la sua struttura proteica. Insomma, in tali casi, si tratta di una molecola inattiva identificabile solo immunologicamente mediante anticorpi specifici.

Ne deriva che, sotto l'aspetto dell'attività biologica, i Fattori Plasmatici della Coagulazione possono essere individuati in 2 gruppi:

a) Fattori che agiscono con un Meccanismo Enzimatico:

-Fattori K dipendenti e cioè II-VII-IX-X

-Fattori XI-XII

b) Fattori che agiscono come Cofattori di Reazioni:

-Fattori I-V-VIII-XIII.

Ciò premesso, l'intero Processo Emocoagulativo può, schematicamente, suddividersi in 3 fasi:

a) Fase di Formazione della Tromboplastina

b) Fase di Formazione della Trombina

c) Fase di Formazione della Fibrina

ovvero:

*in un **Primo Tempo**, come risposta a rottura di un vaso o ad alterazione del sangue stesso, si ha la formazione di un Fattore denominato **Attivatore della Protrombina***

*in un **Secondo Tempo**, l'Attivatore della Protrombina catalizza la conversione della Protrombina in **Trombina***

7

*in un **Terzo Tempo**, la Trombina agisce con meccanismo enzimatico sul Fibrinogeno trasformandolo in Filamenti di **Fibrina** i quali a loro volta costituiscono il coagulo nel cui reticolo restano intrappolati gli eritrociti ed il plasma.*

Meccanismo Estrinseco della Coagulazione

Tale meccanismo, che mette in atto la formazione di Attivatore Protrombinico, comincia quando il sangue viene a contatto con tessuti traumatizzati e si svolge attraverso le fasi seguenti:

1) Liberazione del Fattore Tessutale e dei Fosfolipidi Tessutali.

I tessuti traumatizzati liberano due fattori che mettono in moto il processo della coagulazione. Si tratta di un Fattore Tessutale che è un enzima proteolitico e di Fosfolipidi Tessutali soprattutto appartenenti a membrane cellulari.

2) Attivazione del Fattore X a Fattore X Attivato-Ruolo del Fattore VII e del Fattore Tessutale.

Il Fattore Tessutale, che è un enzima proteolitico, fa complesso col Fattore VII. Tale complesso, in presenza di Fosfolipidi Tessutali, agisce sul Fattore X formando il Fattore X Attivato.

3) Azione del Fattore X Attivato per la formazione di Attivatore

Protrombinico-Ruolo del Fattore V. *Il Fattore X Attivato si unisce*

*immediatamente ai fosfolipidi liberati dal tessuto traumatizzato ed al Fattore V formando il complesso denominato **Attivatore Protrombinico** il quale, nel giro di 10-15 secondi, scinde la Protrombina in Trombina.*

Meccanismo Intrinseco della Coagulazione

Ha inizio con un trauma sul sangue stesso e procede con una serie di reazioni “a cascata”:

- 1) Attivazione del Fattore XII e liberazione di Fosfolipidi Piastrinici ad opera del trauma sul sangue.***Un trauma sul sangue modifica due importanti Fattori: il Fattore XII e le Piastrine. Quando il Fattore XII è disturbato, come per contatto con il Collagene o con una superficie bagnabile come il vetro, esso assume una nuova configurazione che lo converte in un enzima proteolitico detto **Fattore XII Attivato**. Simultaneamente il trauma sul sangue altera anche le piastrine e queste, di conseguenza, liberano Fosfolipidi denominati anche **Fattore Piastrinico III**.*
- 2) Attivazione del Fattore XI.***Il Fattore XII Attivato opera sul Fattore XI attivandolo. E' la seconda tappa della Via Intrinseca.*
- 3) Attivazione del Fattore IX ad opera del Fattore XI Attivato.***Il Fattore XI Attivato opera sul Fattore IX che viene, così, attivato.*
- 4) Attivazione del Fattore X-Ruolo del Fattore VIII.***Il Fattore IX*

Attivato, agendo di concerto col Fattore VIII ed i Fosfolipidi Piastrinici, liberati dalle piastrine traumatizzate, attiva il Fattore X. Tale stadio viene a mancare negli emofilici per l'assenza del Fattore VIII negli individui affetti.

5) Azione del Fattore X Attivato nella Formazione di Attivatore Protrombinico-Ruolo del Fattore V. *Tale stadio, nel meccanismo intrinseco, corrisponde quasi esattamente all'ultimo stadio del*

9

*meccanismo estrinseco. Cioè il Fattore X Attivato si unisce al Fattore V ed ai Fosfolipidi Piastrinici, formando il complesso noto come **Attivatore Protrombinico**. L'unica differenza è che, in questo caso, i Fosfolipidi provengono dalle piastrine e non dai tessuti lesi. Alla fine, comunque, l'Attivatore Protrombinico, in pochi secondi, determina la scissione della Trombina dalla Protrombina ed avvia il processo della coagulazione.*

Nel corso della gravidanza sia il sistema emostatico che quello fibrinolitico subiscono importanti modificazioni che, se fisiologiche, mantengono in equilibrio i due sistemi. Qualunque alterazione di questo equilibrio porterà ad uno scompensamento in senso emorragico o in senso trombotico.

La gravida presenta, dunque, una tendenza alla

Ipercoagulabilità con il procedere della gravidanza.

Questo fatto , unito alla contrazione del miometrio dopo il secondamento, ha lo scopo evidente di proteggere la gravida da eventi emorragici durante e dopo il parto.

10

Il D-Dimero , marcatore specifico di fibrinolisi, aumenta fisiologicamente in gravidanza a riprova della fibrinolisi che si attua ad opera dell'attività coagulativa.

La Trombofilia Materna è stata identificata come una delle maggiori cause di Tromboembolismo , Trombosi Placentare e Complicanze della Gravidanza (Pre-Eclampsia ,Abruptio Placentae , Ritardo di Crescita Fetale (IUGR) , Aborto , Morte Fetale)

Sulla scorta di tali considerazioni, nasce questo studio che si propone di valutare, in donne con patologia ostetrica , la

presenza di associazione tra mutazioni trombofiliche ed alcune patologie ostetriche.

11

Frequenza(%) della trombofilia ereditaria nella popolazione	
Trombofilia	Frequenza nella popolazione
Fattore V Leiden	5
Protrombina 20210A	2
Deficit di A III	0.2
Deficit Proteina C	0.2-0.4
Deficit Proteina S	?
Iperomocisteinemia	5

Da Mousa et al. 2001

Trombofilia	Aborto	Morte fetale	Preeclampsia	HEELP	Abruptio placentae
Deficit di AIII	++	++	+		
Deficit Proteina C	+	++	+		
Deficit Proteina S	+	++	+	+	
Resistenza all'APC	++	++	++	+	++
Fattore V Leiden	++	++	++	+	+
Protrombina G20210A	+	+	+		

Legenda: + possibile, ++ definitiva, non segnato nessuna, associazione provata

Complicanze in Gravidanza Associata a Disordini Trombofilici

Mutazione del Gene della Protrombina (Factor II G20210A Mutation)

Numerosi studi hanno riportato che una mutazione che amplifica la funzione nel gene della Protrombina, (G20210A), presente nel 2-3% della popolazione generale, è associata ad un incremento di 3 volte del rischio di tromboembolismo. Tale mutazione è considerata il secondo più comune rischio di trombosi venosa in quanto provoca un aumento dei livelli plasmatici di Protrombina.

14

Mutazione del Fattore V (Leiden)

Nel 1993 lo svedese Dahlback osservò che il Tempo di Tromboplastina Parziale Attivato (aPTT) eseguito sul plasma di alcuni soggetti con Trombosi Venosa appartenenti ad una stessa famiglia, non veniva prolungato dall'aggiunta di Proteina C attivata.

Di norma l'aggiunta di Proteina C Attivata causa un prolungamento dell'aPTT, dovuto alla inibizione dei Fattori V ed VIII Attivati i quali

sono , appunto , i substrati su cui la Proteina C Attivata svolge la propria azione inibitoria.

*L'anomalia osservata è stata dunque denominata “**Resistenza alla Proteina C Attivata**” al fine d’indicare il comportamento del Test Funzionale.*

*La causa di tale resistenza è stata in seguito identificata in una singola Mutazione nel nucleotide **1691** del gene codificante il Fattore V:
Adenina al posto di Guanina.*

15

*Il Fattore V Mutato ha una sostituzione aminoacidica in posizione **506** ,
cioè proprio in uno dei siti di legame con la Proteina C Attivata:*

Glutamina al posto di Arginina.

A tale forma mutata del Fattore V è stato dato il nome di

“Fattore V Leiden” dalla cittadina olandese Leiden in un cui laboratorio

questo difetto fu per la prima volta individuato.

*Il Fattore V Leiden si riscontra in forma eterozigote o omozigote in più del 90% dei casi di resistenza alla Proteina C Attivata. Altre mutazioni note come **Fattore V Cambridge** o l'aplotipo **HR2** del Fattore V sono responsabili dei rimanenti casi di resistenza alla Proteina C Attivata in assenza del Fattore V Leiden. Altre situazioni transitorie di resistenza sono la **gravidanza** e l'uso di **contraccettivi orali**.*

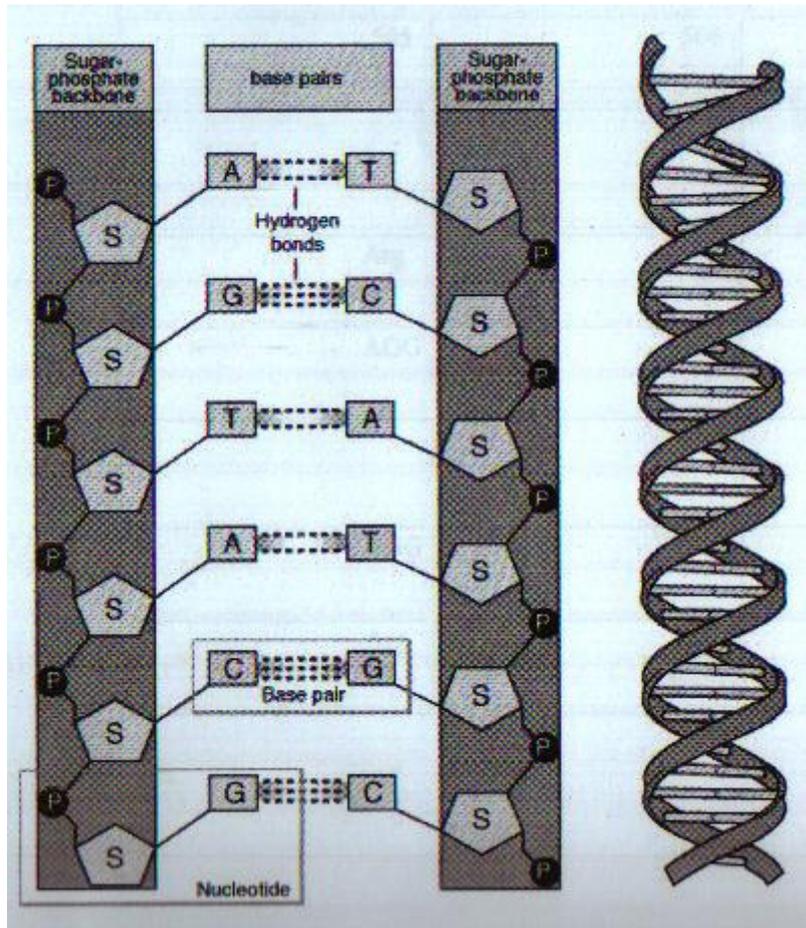
La coagulazione del sangue è controllata dalle proteine anticoagulanti presenti nel plasma o sulla superficie delle cellule endoteliali. La Proteina C , plasmatica e Vitamina K dipendente , gioca un ruolo chiave nella naturale inibizione della coagulazione. Una volta attivata sulle

cellule endoteliali dal complesso Trombina-Trombomodulina, essa esercita una selettiva e proteolitica degradazione del Fattore Va e

VIIIa. La Proteina S, anch'essa Vit.K dipendente, agisce come cofattore dell'APC. Tale proteina è presente nel plasma sia in forma libera attiva sia legata alla Proteina C4b.

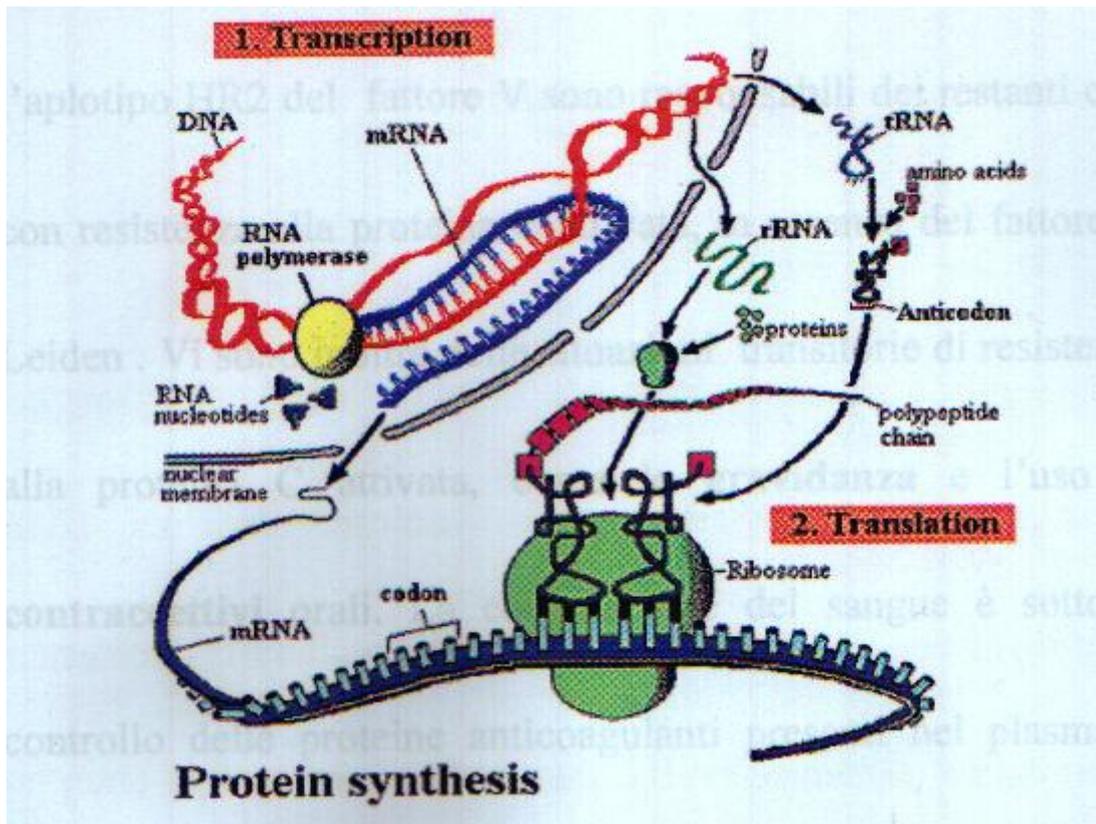
La sostituzione dell'Arginina con la Glutamina in posizione 506 nella molecola proteica del Fattore V, codificata come Mutazione di Leiden, altera il sito di clivaggio di tale proteina da parte della Proteina C Attivata.

In conseguenza di ciò il Fattore Va, pur mantenendo la propria attività pro-coagulativa, diviene di fatto resistente all'inattivazione proteolitica operata dall'APC. Tali cambiamenti sono la causa di una stabilizzazione del Complesso Protrombinasi e dell'aumento della produzione di Trombina. A tal punto l'Attivazione secondo feedback dei Fattori V e VIII predispone al Tromboembolismo.



Factor V Leiden (R506Q)		
505	506	507
Arg	Arg	Gly
AGG	CGA	GGA
AGG	CAA	GGA
Arg	Gln	Gly

Mutazione Leiden del Fattore V



20

Capitolo I

TROMBOFILIA CONGENITA E GRAVIDANZA

BACKGROUND

La Trombofilia è una condizione che aumenta il rischio di eventi tromboembolici. Tale condizione può essere "congenita o acquisita"

Molte pazienti con tale condizione sono asintomatiche fino a quando non sopraggiunge una situazione secondaria definita “ad alto rischio”.

Le principali condizioni trombofiliche congenite sono il Fattore V Leiden (Resistenza alla Proteina C Attivata) , la Mutazione G20210A della Protrombina , il Deficit di Antitrombina III e la Iperomocisteinemia (Mutazione C677T della MTHFR) , il Deficit della Proteina S e il Deficit della Proteina C . La resistenza alla Proteina C Attivata ,Fattore V Leiden , è la più comune ed

21

importante causa di trombofilia congenita avente un effetto trombogenico ; si riscontra nel 5% della popolazione di razza bianca (eterozigoti) e nel 20-60% dei pazienti con trombosi venosa profonda

MATERIALI

Presso l’Ambulatorio di Gravidanze a rischio dell’Area Funzionale di Emergenze Ostetriche e Ginecologiche del

Dipartimento Clinico di Ginecologia , Ostetricia e Fisiopatologia della Riproduzione Umana sono state arruolate 141 pazienti gravide e non , con diagnosi di poliabortività , pregresse morti fetali endouterine , pregressi distacchi intempestivi di placenta e IUGR , morte fetale endouterina , pregressa pre-eclampsia . Tutte le pazienti hanno effettuato prelievi ematici per il dosaggio del Fattore V Leiden , Protrombina , MTHFR ,

22

Antitrombina III , Proteina C , Proteina S.

RISULTATI

Tutte le pazienti sono state attentamente monitorate , alcune sono state sottoposte a terapia eparinica con stretto controllo dei parametri emocoagulativi . Per alcune è stato necessario un ricovero precoce per monitorare il benessere materno e

e fetale. Per alcune pazienti si è ritenuto necessario un taglio cesareo pre-termine . In particolare si sono avuti i seguenti risultati: su 141 pazienti 5 (3.5%) presentavano una eterozigosità per il Fattore V Leiden , 5 (3.5%) una eterozigosità per PTR , 1 (0.7%) alterazione della Proteina C , 70 (49.6%) eterozigosità per MTHFR , 30 (21.2%) un'omozigosità per MTHFR .

Tra le 5 pazienti (3.5%) con eterizigosità del Fattore V Leiden 3 (60%) avevano avuto più di tre aborti , 1 (20%) aveva avuto una trombosi venosa profonda ed 1 (20%) è stata sottoposta a taglio cesareo a 30 settimane per alterazioni dei parametri flussimetrici (il neonato pesava 970 gr.).

Tra le 5 (3.5%) pazienti con eterozigosità per PTR , 3 (60%) avevano avuto più di tre aborti , 2 (40%) hanno avuto un taglio cesareo alla 38° settimana. Queste ultime sono state

trattate con fraxieparina durante la gravidanza ed in puerperio.

La paziente con alterazione della Proteina C è stata attentamente seguita e trattata con Clexane , praticandole un taglio cesareo a 37 settimane con peso alla nascita di 2770 gr.

Tra le 70 (49.6%) pazienti eterozigoti per MTHFR , 60 (85.7%) hanno avuto gravidanza in regolare evoluzione , 10 (14.2%) sono state sottoposte a taglio cesareo , 3 per MEF rispettivamente a 28 , 32 e 36 settimane , 7 per IUGR ed alterazioni della flussimetria

24

in epoca precoce di gravidanza (32 settimane)

Tra le 30 (21.2%) pazienti omozigoti per MTHFR solo 4 (13.3%) sono state sottoposte a taglio cesareo pre-termine per gestosi o IUGR.

Capitolo II

TROMBOFILIA ACQUISITA E GRAVIDANZA

BACKGROUND

La Trombofilia è un disordine multigenetico caratterizzato da

alterazioni congenite e acquisite che predispongono ad uno stato di Trombosi . La causa più comune di Trombofilia Acquisita è la Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi (APS Antiphospholipid Sindrome) , una complessa sindrome multisistemica associata a diverse complicanze mediche ed ostetriche.

26

MATERIALI

Sono state seguite 4 pazienti affette da Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi.

La diagnosi è stata formulata sulla base di dati anamnestici e laboratoristici , in accordo con quanto stabilito dall'International Consensus di Sapporo del 1999.

CRITERI CLINICI

Trombosi Arteriose , Venose o Microvascolari , confermate all'esame doppler o istologicamente; Complicanze Ostetriche come: 1 o più aborti dopo la 10° w di gestazione (in assenza di anomalie confermate dall'esame autoptico);3 o più aborti spontanei , prima della 10° w di gestazione (in assenza di alterazioni ormonali , cromosomiche o anatomiche); 1 o più parti prima della 34° w di gestazione (in presenza di pre-eclampsia,eclampsia,insufficienza placentare severa).

27

CRITERI LABORATORISTICI

Presenza di Anticorpi Anticardiolipina IgG o IgM con titolo alto-medio confermati dopo 6w dal primo test; presenza di Anticorpi Lupus Anticoagulans nel plasma. Da un punto di vista ostetrico , l'anamnesi delle 4 pazienti era positiva per abortività ricorrente e/o pregressa mortalità intrauterina (MEF) , in assenza di alterazioni ormonali , cromosomiche o anatomiche. In 3 di tali pazienti erano presenti nel plasma Ab Lupus Anticoagulans; in 1 c'era

*positività ad Ab Anticardiolipina , presenti con titolo medio;
inoltre , quest'ultima riferiva un episodio di pregressa
Trombosi Venosa Profonda agli arti inferiori.*

28

RISULTATI

*Le 4 pazienti sono state monitorate laboratoristicamente
per valutare il quadro emocoagulativo (conta piastrinica,
tests emocoagulativi) , ed ecograficamente per evidenziare
eventuali alterazioni circolatorie fetoplacentari. In accordo
con i dati esistenti in letteratura e con i colleghi immunologi
ed ematologi , durante la gravidanza le pazienti sono state*

trattate con eparina a basso peso molecolare s.c. , tipo enoxeparina e con basse dosi di aspirina (75 mg.) , nonché con cortisonici . Il trattamento è continuato durante il puerpèrio , essendo questo, ancora un periodo critico per la comparsa di Trombosi Venosa Profonda.

29

In una delle pazienti , con 2 pregresse MEF , vista la progressiva riduzione della conta piastrinica si è provveduto all'espletamento del parto con taglio cesareo al termine della 34° w di gestazione con peso alla nascita di ca. 2500 gr. (biometria > 2 settimane) con buon Apgar. Anche le altre gravidanze sono terminate con successo , prima rispetto alla data presunta del parto , con pesi alla nascita compresi tra 2800 e 3000 gr. ed un buon indice di Apgar

PAZIENTI E METODI

In un gruppo di 141 pazienti abbiamo raccolto dati relativi a:

- 1) Stato socio-economico**
- 2) Anamnesi ostetrica e riproduttiva accurate**
- 3) Anamnesi neonatale tendente al rilievo di complicanze metaboliche,emorragie e/o trombosi neonatali**

Il gruppo è stato studiato in maniera prospettica.

Sono state scelte pazienti con diagnosi di Poliabortività,Pregresse

Morti Fetali Endouterine , Pregressi Distacchi Intempestivi di

Placenta e Ritardo di Crescita Endouterino (IUGR) , Morte Fetale

Endouterina (MEF) , Pregressa Pre-Eclampsia.Tutte le pazienti

hanno effettuato prelievi ematici per il dosaggio del Fattore V Leiden , Protrombina , Antitrombina III , MTHFR , Proteina C , Proteina S.

31

La MEF è stata definita come perdita del feto a 20 o più settimane di gestazione. La diagnosi di MEF è stata posta dopo avere escluso nella madre altre malattie quali Diabete Mellito , Malattie Sistemiche , Infezioni da Toxoplasma , Herpes , Cytomegalovirus , Clamydia Thracomatis , Lysteria Monocytogenes etc. Malformazioni Uterine ,Alterazioni Genetiche del feto o di entrambi i genitori.

Come controllo si sono selezionate donne in buona salute con gravidanza in normale evoluzione e di epoca gestazionale sovrapponibile.

*I campioni di sangue sono stati raccolti in **Trisodio Citrato** al 3% sono stati centrifugati per **15 minuti a 2000 giri** onde ottenere un*

plasma povero di piastrine. Subito dopo sono stati congelati e riposti in piccole provette a – 70°C prima di essere testati.

Sono stati , quindi , determinati:

32

- 1) Antitrombina**
- 2) Proteina C**
- 3) Proteina S**
- 4) MTHFR**
- 5) Fattore V Leiden**

*I coaguli sono stati analizzati con Coagulometro **KC4 Amelung** (Germania).*

L'identificazione delle Mutazioni Geniche Trombofiliche è avvenuta con l'utilizzo di metodiche di biologia molecolare.

Il DNA è stato ottenuto, secondo le tecniche standard, dai leucociti.

Un frammento del DNA del gene del Fattore V , contenente 220 coppie di basi , che include il nucleotide 1691 è stato amplificato con la PCR . Per identificare la Mutazione G20210A del gene

della Protrombina , un frammento di 345 basi (pb) è stato digerito usando l'endonucleasi HIND III.

33

RISULTATI

Tutte le pazienti sono state attentamente monitorate , alcune sono state sottoposte a terapia eparinica con stretto controllo dei parametri emocoagulativi. Per alcune è stato necessario un ricovero precoce al fine di monitorare il benessere materno e quello fetale. Per talune si è ritenuto indicato un Taglio Cesareo pre-termine.

In particolare si sono ottenuti i risultati seguenti: su 141 pazienti 5 presentavano una eterozigosità per il Fattore V Leiden (3.5%)

5 presentavano una eterozigosità per PTR (3.5%)

1 presentava alterazione della Proteina C (0.7%)

70 presentavano eterozigotità per MTHFR (49.6%)

30 presentavano omozigotità per MTHFR (21.2%).

34

Tra le 5 pazienti con eterozigotità per il Fattore V Leiden ,

3 avevano avuto più di tre aborti (60%)

1 aveva avuto una Trombosi Venosa Profonda (20%)

1 è stata sottoposta a Taglio Cesareo a 30 settimane per alterazione dei parametri flussimetrici(neonato 970 gr.) (20%)

Tra le 5 pazienti con eterozigotità per PTR ,

3 avevano avuto più di tre aborti (60%)

2 sono state sottoposte a Taglio Cesareo in 38° settimana (40%) (trattate con Fraxieparina durante gravidanza e puerperio)

La paziente con alterazione della Proteina C è stata attentamente seguita e trattata con Clexane per poi essere sottoposta a Taglio

Cesareo in 37° settimana con peso alla nascita del feto di 2770 gr.

35

Tra le 70 pazienti eterozigoti per MTHFR , 60 hanno avuto gravidanza in regolare evoluzione (85.7%)

*10 sono state sottoposte a Taglio Cesareo (14.2%)
3 per MEF rispettivamente in 28°-32°-36° settimana
7 per IUGR ed alterazione dei profili flussimetrici in epoca gestazionale precoce (32 settimane).*

Tra le 30 pazienti omozigoti per MTHFR solo 4 sono state sottoposte a Taglio Cesareo pre-termine per gestosi o IUGR (21.2%).

DISCUSSIONE E PROSPETTIVE

Durante la gravidanza si verificano modifiche del delicato equilibrio dell'emostasi tra i fattori coagulanti e quelli anticoagulanti.

Tali modifiche sono in grado di determinare uno stato di ipercoagulabilità ad esito trombotico anche durante il puerperio.

Nelle donne portatrici di fattori trombofilici congeniti il rischio di eventi trombotici è maggiore. Tale aumentata tendenza in dette donne può determinare lesioni trombotiche intraplacentari e conseguente compromissione della circolazione utero-placentare.

La Trombosi Placentare può, dunque, essere responsabile di alcune complicanze ostetriche, dal momento che è noto che il

successo di una gravidanza dipende dallo sviluppo e dal mantenimento di un'adeguata circolazione placentare.

Le complicanze ostetriche più frequenti risultano essere:

37

l'Aborto (nel I e/o II trimestre) , la Pre-eclampsia , il Ritardo di Crescita Intrauterino (IUGR) , la Morte Fetale in Utero (MEF), il Distacco di Placenta.

La combinazione di Stati Trombofilici Congeniti e Acquisiti aumenta il rischio di trombosi e aborto .

La presenza del Fattore V Leiden con Iperomocisteinemia o Fattore V Leiden con Anticorpi Antifosfolipidi è associata ad aborto. Il rischio di aborto risulta maggiore nelle gestanti omozigoti rispetto alle eterozigoti per il Fattore V Leiden.

La Resistenza alla Proteina C Attivata è correlata all'aborto anche in assenza del Fattore V Leiden . Il Fattore V Leiden si è trovato associato all'aborto ricorrente precoce e tardivo

e all'aborto non ricorrente. La Resistenza alla Proteina C Attivata è stata associata all'aborto ricorrente precoce.

38

La Mutazione G20210A della Protrombina , il Deficit di di Proteina S, sono stati associati all'aborto ricorrente precoce ed all'aborto non ricorrente tardivo. Il Deficit di Proteina C , di AT III e la Mutazione MTHFR non sono associati all'aborto in maniera significativa . In tutti questi casi , infatti , si riscontrano piuttosto trombosi dei vasi placentari , infarto placentare ed insufficienza placentare secondaria.

Lo stato trombofilico fetale induce una trombosi dei vasi del versante fetale della placenta con elevato tasso di aborto nei feti "carriers" del Fattore V Leiden.

Numerosi studi associano la Trombofilia alla Pre-eclampsia.

Il Deficit di Proteina S , nella fattispecie , è stato più comunemente riscontrato nelle donne con severa pre-eclampsia .

Poiché nel corso della gravidanza i livelli di Proteina S sono eterogenei , nelle donne in cui si verifica una marcata riduzione di tali livelli , v'è un rischio aumentato di pre-eclampsia.

39

Controverso appare il ruolo dell' Iperomocisteinemia legata alla C677T della MTHFR . Kupferminc trova un incremento tre volte maggiore del tasso di omozigosità per C677T MTHFR in donne con severa pre-eclampsia .Le donne con pre-eclampsia / eclampsia paragonate ai controlli presentano con frequenza maggiore : Fattore V Leiden (eterozigosi), Protrombina G20210A (eterozigosi) , MTHFR C677T (omozigosi) , Deficit di Proteina C , Deficit di Proteina S , Resistenza alla Proteina C Attivata.

Il Deficit di Proteina S,il Deficit di Proteina C ed AntitrombinaIII si associano a Morte Fetale Endouterina (MEF) .

Le donne con MEF paragonate ai controlli presentano con maggiore frequenza: Fattore V Leiden (eterozigosi) , Deficit della Proteina S , Resistenza alla Proteina C Attivata.

Anche il Ritardo di Crescita Intrauterino (IUGR) <al 5°percentile può essere associato ad una prevalenza di trombofilia.

40

Fattore V Leiden , Mutazione G20210A della Protrombina , Deficit della Proteina S , sono significativamente associati all'IUGR . Protrombina G20210A (eterozigosi) è grandemente associata a IUGR in numerosi studi . Di recenti dimostrano elevata prevalenza di complicanze ostetriche tra cui Distacco di Placenta in donne portatrici di Fattori Trombofilici.

*Per quanto concerne poi la APS (Antiphospholipid Sindrome), c'è da dire che essa è definita dall'associazione di trombosi e/o morbilità gestazionale in presenza degli anticorpi anticardiolipina (**aPL**) e/o lupus anticoagulans (**LA**). Sebbene tale sindrome sia stata descritta per la prima volta in pazienti affetti da LES , è oggi noto che non rientra nei criteri di questa patologia , né di solito chi ne è affetto progredisce verso il Lupus. Lo spettro delle caratteristiche cliniche*

dell'APS è ampio e virtualmente ogni organo può essere colpito.

L'interesse per questa sindrome da parte dei ginecologi-ostetrici è andato sempre aumentando nella pratica clinica per la frequente

41

*associazione con l'Aborto Ricorrente , la Pre-Eclampsia ,la MEF ,
l'IUGR , la Trombosi.*

Gli Ab Antifosfolipidi sono una classe eterogenea di autoanticorpi che legano le cariche anioniche dei fosfolipidi di membrana , alterandone il legame con diverse proteine plasmatiche. I targets antigenici di questi Ab sono : la Beta2-Glicoproteina I , la Protrombina , le Proteine C ed S della coagulazione. La loro presenza altera il normale equilibrio tra il sistema procoagulante e quello anticoagulante a favore del primo.

In particolare , il meccanismo con il quale questi Ab causano complicanze ostetriche è dovuto a fenomeni microtrombotici ed infarti a carico della placenta che compromettono la circolazione feto-materna ; più

precocemente tali Ab interferiscono con la formazione della vascolarizzazione intervillosa con conseguente alterazione dell'impianto dell'embrione

Le più frequenti lesioni placentari descritte sono l'Infarto Placentare e la

Trombosi dei Vasi Fetali , con intensa deposizione di fibrina a livello perivilloso.I criteri che consentono di formulare diagnosi di APS sono clinici e laboratoristici:

42

1. Trombosi Venosa Profonda *con o senza* Embolia Polmonare
2. Trombosi Arteriosa (TIA,Ischemia Cerebrale,IMA)
3. Complicanze Ostetriche:Morte Endouterina Fetale-Aborto Ricorrente
4. Presenza di Ab Anticardiolipina o Lupus Anticoagulans (IgG oIgM) *con titolo medio/alto , confermato dopo 6 settimane dal primo test.*

La forza dell'associazione tra complicanze ostetriche e presenza di Ab Antifosfolipidi è stata dimostrata da diversi studi trasversali e caso controllo.La positività agli Ab Anti Lupus Anticoagulans determina un rischio di avere complicanze ostetriche di 3.0-4.8 volte maggiore rispetto ai controlli; per gli Ab Anticardiolipina , invece , il rischio è 0.86-20 volte maggiore rispetto ai controlli.

In particolare le donne con Ab Antifosfolipidi presentano un tasso alto di abortività nel periodo fetale (dopo le 10 w) ovvero nel II trimestre.Di converso ,nella popolazione non selezionata l'aborto si verifica in fase pre-embrionica (< 6w) o in fase embrionica (tra le 6 e le 9 w).

Anche IUGR e Pre-Eclampsia possono complicare la gravidanza di donne con Ab Antifosfolipidi. Il rischio di aborto è direttamente proporzionale al titolo anticorpale , in particolare agli Ab IgG aCL.

43

Le trombosi a livello placentare e il difettivo impianto dell'embrione rappresentano la base per l'utilizzo delle eparine a basso peso molecolare , delle eparine non frazionate e di basse dosi di Aspirina (75 mg.) come trattamento delle complicanze ostetriche in donne affette da APS. Il tasso di nati vivi in donne con APS è di circa il 10%; questo tasso , in seguito al trattamento , come dimostrato da studi clinici randomizzati , cresce dallo 0-40% al 70-80% di pari passo ad una severa riduzione delle complicanze trombotiche.

Le possibilità di un esito positivo della gestazione in seguito ad adeguato trattamento dipendono anche dal numero degli aborti o delle morti fetali verificatosi in passato. Le pazienti che nella gravidanza precedente hanno avuto un aborto hanno una possibilità di portare a termine una gravidanza senza trattamento del 20-25% , percentuale che sale al 75-80% con adeguato trattamento farmacologico pre e

post concepimento.

La Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi richiede , per la sua complessità , un approccio multidisciplinare coinvolgente
44

il Ginecologo , l'Ematologo , l'Immunologo .

Difatti un'appropriata diagnosi clinica e laboratoristica , un idoneo trattamento farmacologico , uno stretto monitoraggio clinico , migliorano l'outcome materno e fetale.

L'orientamento futuro è diretto ad un miglioramento delle conoscenze sulla patogenesi dell'aborto ricorrente in tali pazienti (Studio Istologico della Placenta) e a nuove prospettive terapeutiche , come l'utilizzo di Immunoglobuline.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la presenza di Fattori Trombofilici in donne con precedenti gravidanze complicate da Ipertensione Arteriosa Pre-eclampsia/Eclampsia , IUGR , MEF , Abortività Ripetuta , Distacco di Placenta .
Allo stato non è agevole fornire adeguate raccomandazioni

in merito ad uno “screening” per le donne con tali complicanze .
Uno screening della popolazione generale appare ingiustificato
e in quanto troppo oneroso , e in quanto la correlazione tra

45

genotipo e fenotipo può essere influenzata da altri fattori.

Donne che nel corso della gravidanza sviluppano una delle
complicanze precedentemente trattate dovrebbero effettuare
lo screening per la Trombofilia . Poiché durante la gravidanza
ed il puerpèrio si verificano variazioni fisiologiche della
coagulazione , è necessario effettuare i tests per la Trombofilia
3 mesi dopo il parto o la fine della gravidanza . Le pazienti con
aborto ricorrente portatrici di un fattore trombofilico dovrebbero
essere trattate con Eparina a Basso Peso Molecolare o partecipare
a trials clinici randomizzati in occasione di una successiva
gravidanza. Studi troppo piccoli hanno suggerito che l’eparina a
basso peso molecolare può essere efficace nella prevenzione dello

aborto ricorrente in pazienti con trombofilia , ma resta da valutare il ruolo di tale profilassi nei confronti delle altre complicanze ostetriche . Nel nostro studio abbiamo , comunque , effettuato un

46

trattamento profilattico prima , durante e dopo la gravidanza per diminuire il verificarsi di complicanze materne e fetali .

Abbiamo preferito l'utilizzo di Enoxiparina che pare possedere un maggiore effetto antitrombotico , una vita media più lunga , un rischio minore di trombocitopenia .

TABELLE

Difetti trombofilici congeniti: outcome fetale e materno

	N Pz.	RPL	IUGR	MEF	GH&L	TVP
FV L	5 (3.5%)	3 (2,1%)	1 (0,7%)			1(0,7%)
PC	1 (0,7%)				1(0,7%)	
PTR	5 (3.5%)	3 (2,1%)			2 (1,4%)	
MTHFR Et	70 (49,6%)		7(4,9%)	3 (2.1%)	60 (42%)	
MTHFR Om	30 (21,2%)					
No Dif. Tromb.	30 (21,2%)		4 (2,8%)			
Tot 141						

Tab I. Prevalenza dei disordini trombofilici congeniti e acquisiti (1)				
<i>Disordine</i>	<i>Difetto</i>	<i>% Popolazione Generale</i>	<i>% Pazienti 1° TVP</i>	<i>Rischio TVP (OR)</i>
Congeniti				
AT III	Ridotta inattivazione di trombina e altri enzimi	0,07	1	10-20
- Deficit proteina C	Ridotta in attivazione FVa e FVIIIa	0,3	3	6-8
- Deficit proteina S	Ridotta in attivazione FVa e FVIIIa	0,2	3	2-6
- Fattore V Leiden (Etero)	Ridotta in attivazione FVa da Proteina C attiv	5-8	20	4-8
- Fattore V Leiden (Omo)	Ridotta in attivazione FVa da Proteina C attiv	0,06	1,5	80
- Mutazione gene protrombina	Livelli aumentati di protrombina e trombina	3	6	2-4
- Iperomocisteinemia	Danno endoteliale e effetti procoagulanti	5	10	2-3
- Omozigosi MTHFR C677T	Ridotta remetilazione dell'omocisteina	10-20	11-12	0,7-2
Acquisiti				
Anticorpi antifosfolipidi	Alterato pathway Proteina C, perdita di Annessina V, effetti procoagulanti endoteliali	2	10-15	9
- Resistenza alla Proteina C attivata acquisita (senza FV Leiden)	Ridotta attività anticoagulante	8-11	24	2-4

Tab. II Valutazione di laboratorio per i fattori di rischio di trombosi (3)
<p>Test I livello Valutazione funzionale della resistenza alla proteina C attivata o analisi del DNA per il Fattore V Analisi del DNA per la mutazione genica della protrombina Livelli di omocisteina Lupus anticoagulant Anticorpi anticardiolina Emocromo completo</p> <p>Test II Livello Valutazione funzionale della AT III Valutazione funzionale della proteina C Valutazione funzionale o immunologica della proteina S</p> <p>Test di III livello Livello di fibrinogeno Livello di Fattore VIII Tempo di trombina Reptilase time</p> <p>Test di IV livello Analisi del DNA per la mutazione C677T del MTHFR Livelli dei fattori V, VII, IX, X, XI Analisi del polimorfismo del PAI Livelli di plasminogeno Livelli di trombomodulina Livelli dell'attivatore tissutale del plasminogeno Livelli di eparina cofattore II</p> <p><i>La maggior parte dei pazienti sarà identificata con l'esecuzione dei test di I e II livello; i test di III livello saranno eseguiti solo quando c'è una forte indicazione di storia familiare di trombosi e gli altri test non hanno permesso la diagnosi. I test di IV livello sono utili in campo di ricerca.</i></p>

Complicanze vascolari associate alla trombofilia Tab. III (12)				
	Aborto	MEF	Preclampsia	Distacco di placenta
Deficit Antitrombina III	++	++	+	
Deficit Proteina C	++	++	+	+
Deficit Proteina S	++	++	+	+
Disfibrinogenemia	++	+		
Resistenza alla proteina C	++	++	++	+
Fattore V Leiden	++	++	++	++
MTHFR677TT	+	+	+	+
Iperomocisteinemia	+	+	++	++
Fattore II G20210A	+	+	+	++
Sindrome antifosfolipidi	++	++	++	++

Difetti combinati	++	++	++	++
+ = Possibile associazione ++ = Associazione stabilita				

Fattori di rischio del tromboembolismo in gravidanza ed in puerperio (Tab. IV) RCOG 2004 (30)

Preesistenti	Nuovi o transitori
Precedente episodio di tromboembolismo	Procedure chirurgiche in gravidanza o puerperio
Trombofilia	Parto operativo
- congenita: Deficit AT III, Deficit Proteina C/Proteina S,	Immobilità > 4 giorni
Fattore V Leiden, variante protrombina	Disidratazione
- acquisita: sindrome anticorpi antifosfolipidi, lupus anticoagulant,	Eccessiva emorragia
Ab anti cardiolipina	Iperemesi
Età > 35 anni	Sindrome dell'iperstimolazione ovarica
Obesità (BMI > 30 Kg/ m2)	Pre-eclampsia
Parità > 4	Travaglio prolungato
Grosse varici	
Paraplegia	
Anemia a cellule falciformi	
Infiammazioni/infezioni	
Alcune patologie come la sindrome nefrosica	
Disordini mieloproliferativi (trombocitemia essenziale)	

Studi osservazionali per la prevenzione di esiti infausti della gravidanza in donne con difetti trombofilici (Tab. V) (13-14, 27)

	N° donne	Difetto	Storia pregressa	Terapia	Nati vivi
- Brenner 2000	50	Congenito o acquisito	RPL	Enoxaparina /ASA	46/61
- Grandone 2002	25	FV o FII	RPL; IUGR; PE	UFH/LMWH/ASA	29/31
- Kupferminc 2001	33	Non specificato	Complicanze ostetriche	Enoxaparina 40mg + ASA	30/33
- Riyazi 1998	26 vs 19	Congenito o acquisito	Complicanze ostetriche	Enoxaparina 40 mg + ASA	Peso >
- Younis 2000	7	Fattore V Leiden	RPL ricorrente	Enoxaparina 40 mg + ASA	5/7
- Carp, 2003	37 vs 48	Congeniti	RPL	Enoxaparina 40 mg	70% vs 40%

Tab. VI Linee Guida prevenzione tromboembolismo e uso eparina in gravidanza (7, 8, 30)

SISSET (2002)	ACCP (2004)	RCOG (2004)
a) Rischio basso moderato: controllo clinico/strumentale, elastocompressione, mobilità precoce	a) TVP + rischio transitorio: sorveglianza e profilassi (LMWH) postpartum	a) Pregressa TVP no trombofilia LMWH solo post partum. Antepartum se TVP ricorrenti, fattori di rischio non transitori, familiarità per TVP
b) Rischio alto no trombofilia: LMWH 2000-5000 UI/die sc ultime settimane e postpartum + a)	b) TVP + trombofilia o familiarità: profilassi antepartum e postpartum (LMWH)	b) Pregressa TVP + trombofilia LMWH antepartum e post-partum
c) Rischio alto + trombofilia: LMWH 2000-5000 UI/die sc durante gravidanza a seconda del peso + a) + b)	c) Numerose TVP profilassi antepartum + maggior durata postpartum (LMWH)	c) trombofilia senza TVP profilassi antepartum e/o postpartum in base ai fattori di rischio
	d) Anticorpi antifosfolipidi LMWH + ASA	d) donne con 4 o più fattori di rischio eventuale antepartum e 3-5 giorni postpartum LMWH

Tab. VII Profilassi prenatale e dosi terapeutiche di LMWH. RCOG 2004 (30)

Profilassi	Enoxaparina (100U/mg)	Dalteparina	Tinzaparina
Normale peso (50-90Kg)	40 mg/die	5000 U/die	4500 U/die
Peso < 50 Kg	20 mg/die	2500 U/die	3500 U/die
Peso > 90 KG	40mg/12h	5000 U/12h	4500 U/12h
Più alta dose profilattica	40mg/12h	5000 U/12h	4500 U/12h
Dose terapeutica	1mg/kg 12h	90 U/Kg 12h	90U/kg 12h

ALLEGATI

TROMBOFILIA CONGENITA E GRAVIDANZA

Ciro Vitiello, Giuseppe Maria Maruotti, Annalisa Agangi, Laura Letizia Mazzarelli, Laura Kessler, Marinella Pecoraro, Filomena Quaglia, Carmela Votino, Tanja Bruno, Matilde Sansone & Pasquale Martinelli.

*DIPARTIMENTO CLINICO DI GINECOLOGIA, OSTETRICIA E FISIOPATOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE
UMANA AREA FUNZIONALE DI EMERGENZE OSTETRICHE E GINECOLOGICHE
UNIVERSITA' FEDERICO II NAPOLI*

Background

La trombofilia è una condizione che aumenta il rischio di eventi tromboembolici. Tale condizione può essere “congenita” o “acquisita”. Molte pazienti con tale condizione sono asintomatiche fino a quando non sopraggiunge una situazione secondaria definita ad “alto rischio”.

Le principali condizioni *trombofiliche congenite* sono il Fattore V Leiden (resistenza alla proteina C attivata), la mutazione G20210A della Protrombina, il deficit di Antitrombina III e l'iperomocisteinemia (Mutazione C677T della MTHFR), il deficit della proteina S e il deficit della proteina C. La resistenza alla proteina C attivata- Fattore V Leiden è la più comune e importante causa di trombofilia congenita avendo un effetto trombogenico. Si manifesta nel 5% della popolazione di razza bianca (eterozigoti) e nel 20-60% dei pazienti con trombosi venosa profonda. Durante la gravidanza si verificano delle modifiche dell'emostasi tra i fattori coagulanti e i fattori anticoagulanti. Tali modifiche possono determinare uno stato di ipercoagulazione e conseguenze trombotiche anche durante il puerperio. Nelle donne portatrici di fattori trombofilici congeniti il rischio di conseguenze trombotiche è maggiore. La tendenza trombotica può determinare lesioni trombotiche intraplacentari con compromissione della circolazione utero-placentare. La trombosi placentare può determinare compromissione della circolazione utero placentare ed essere responsabile di alcune complicanze ostetriche. Il successo della gravidanza dipende dallo sviluppo e dal mantenimento di un'adeguata circolazione placentare. Le complicanze ostetriche frequenti sono: l'aborto (1° e/o 2° trimestre), la preeclampsia, il ritardo di crescita intrauterino (IUGR), la morte fetale in utero (MEF), il distacco di placenta.

La combinazione di stati trombofilici congeniti e acquisiti aumenta il rischio di trombosi e di aborto. La presenza di un fattore V Leiden con iperomocisteinemia o Fattore V Leiden con presenza di anticorpi antifosfolipidi sono responsabili di aborto. Il rischio di aborto è maggiore nelle gestanti omozigoti rispetto alle eterozigoti per il Fattore V. La resistenza alla proteina C attivata è legata all'aborto anche in assenza del Fattore V Leiden. Il fattore V Leiden è stato associato con l'aborto ricorrente precoce e tardivo, e con l'aborto non ricorrente. La resistenza alla proteina C attivata è stata associata all'aborto ricorrente precoce. La mutazione G20210A della protrombina, il deficit di proteina S, sono stati associati con l'aborto ricorrente precoce e con l'aborto non ricorrente tardivo. Il deficit di Proteina C, di AT III e la mutazione MTHFR non sono significativamente associate all'aborto. In tutti questi casi si ha un'eccessiva trombosi dei vasi placentari, infarto placentare ed insufficienza placentare secondaria.

Lo stato trombofilico fetale induce una trombosi dei vasi del versante fetale della placenta con elevato tasso di aborto nei feti carrier del fattore V Leiden. Numerosi studi associano la trombofilia alla preeclampsia. Il deficit della proteina S è stato riscontrato più comunemente nelle donne con preeclampsia severa. Poiché durante la gravidanza i livelli di proteina S sono eterogenei, nelle donne in cui si verifica una riduzione marcata vi è un maggior rischio di sviluppare la preeclampsia. Controverso il ruolo dell'iper-omocisteinemia legata alla C677T del MTHFR. Kupferminc ha trovato un incremento 3 volte maggiore del tasso di omozigosità per C677T MTHFR nelle donne con severa preeclampsia. Le donne con preeclampsia/eclampsia paragonate ai controlli posseggono con maggior frequenza: Fattore V Leiden (eterozigosi), Protrombina G20210A (eterozigosi), MTHFR C677T (omozigosi), deficit della proteina C, deficit della proteina S, resistenza alla proteina C attivata.

Il deficit di proteina S, deficit di proteina C ed antitrombina III si associano a morte fetale endouterina (MEF). Le donne con MEF paragonate ai controlli posseggono con maggior frequenza: Fattore V Leiden (eterozigosi), deficit della proteina S, resistenza alla proteina C attivata. Anche il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) < 5° percentile può essere associato con una prevalenza di trombofilia. Fattore V Leiden, Mutazione G20210A della Protrombina e deficit della proteina S sono significativamente associati all'IUGR. Protrombina G20210A (eterozigosi) è fortemente associata all'IUGR in diversi studi. Stretta associazione tra Fattore V Leiden, Protrombina G20210A ed C677T MTHFR e IUGR e feti di basso peso alla nascita. Recenti studi dimostrano

un'elevata prevalenza di complicanze ostetriche tra cui il distacco di placenta nelle donne portatrici di fattori trombofilici

Materiali

141 pazienti gravide e non ,seguite presso il nostro ambulatorio di gravidanza a rischio con diagnosi di poliabortività, pregresse morti fetali endouterine, pregressi distacchi intempestivi di placenta e IUGR, morte fetale endouterina, pregressa pre-eclampsia. Tutte le pazienti hanno effettuato prelievi ematici per il dosaggio del fattore V Leiden, protrombina, antitrombina III, MTHFR , proteina C, proteina S.

Risultati

tutte le pazienti sono state attentamente monitorizzate, alcune hanno effettuato terapia eparinica con stretto controllo dei parametri emocoagulativi. Per alcune è stato necessario un ricovero precoce per monitoraggio del benessere materno e fetale. Per alcune pazienti si è ritenuto opportuno un taglio cesareo pre-termine. In particolare abbiamo avuto i seguenti risultati: Delle 141 pazienti 5 (3.5%) presentavano una eterozigotità per il fattore V leiden, 5 (3,5%) una eterozigotità per PTR, 1 (0.7%) alterazione della proteina C, 70 (49.6%) eterozigotità per MTHFR, 30 (21.2%) un'omozigotità per MTHFR. Tra le 5 (3.5%) pazienti con eterozigotità del fattore V leiden, 3 (60%) avevano avuto più di tre aborti, 1(20%) aveva avuto una trombosi venosa profonda ed 1(20%) ha avuto un taglio cesareo a 30 settimane presso la nostra struttura per alterazione dei parametri flussimetrico con peso di 970g . Tra le 5 (3.5%) pazienti con eterozigotità per PTR, 3 (60%) avevano avuto più di tre aborti, 2 (40%) hanno avuto un taglio cesareo alla 38 settimana . Quest'ultime hanno effettuato terapia con fraxieparina durante la gravidanza e dopo. La paziente con alterazione della proteina C è stata attentamente seguita e trattata con Clexane praticandole un taglio cesareo alla 37 settimana con peso neonatale di 2770g.Tra le 70 (49.6%) pazienti eterozigote per MTHFR, 60 (85.7%) hanno avuto una gravidanza con regolare evoluzione, 10 (14.2%) hanno avuto invece un taglio cesareo, 3 per Mef rispettivamente alla 28°,32°e 36° settimana, 7 per IUGR ed alterazione dei profili flussimetrici ad epoca precoce di gravidanza (32 settimane). Tra le 30 (21.2%) pazienti omozigote per MTHFR solo 4 (13.3%) hanno avuto un taglio cesareo pretermine per gestosi o IUGR.

Conclusioni

Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare la presenza di fattori trombofilici in donne con precedenti gravidanze complicate da ipertensione preeclampsia-eclampsia, IUGR, MEF, abortività ripetuta, distacco di placenta . Al presente è difficile fornire adeguate raccomandazioni riguardanti lo screening per le donne con complicanze ostetriche. Uno screening della popolazione generale è ingiustificato perché troppo oneroso e poiché la correlazione tra genotipo e fenotipo può essere influenzata da altri fattori. Donne che nel corso della gravidanza sviluppano una delle complicanze precedentemente trattate dovrebbero effettuare lo screening per la trombofilia. Poiché durante la gravidanza ed il puerperio si verificano variazioni fisiologiche della coagulazione è necessario effettuare i test per la trombofilia 3 mesi dopo il parto o 3 mesi dopo la fine della gravidanza Le pazienti con aborto ricorrente o IUFD portatrici di un fattore trombofilico dovrebbero essere trattate con eparina a basso peso molecolare o partecipare a trials clinici randomizzati in occasione di una successiva gravidanza. Studi troppo piccoli hanno suggerito che l'eparina a basso peso molecolare può essere efficace nel prevenire l'aborto ricorrente nelle pazienti con trombofilia, ma rimane da vedere il ruolo di tale profilassi nei confronti delle altre complicanze ostetriche. Nel nostro studio abbiamo effettuato comunque un trattamento profilattico pre,durante e post gravidanza per diminuire il verificarsi di complicanze materne e fetali. Abbiamo preferito l'utilizzo di enoxaparina

per un più alto effetto antitrombotico, per una vita media più lunga ed un minor rischio di trombocitopenia.

BIBLIOGRAFIA

- Facchinetti F, Marozio L, Grandone E, Pizzi C, Volpe A, Benedetto C*
Thrombophilic mutations are a main risk factor for placental abruption.
Haematologica. 2003 Jul;88(7):785-8.
- Grandone E, Margaglione M. Thrombophilia polymorphisms and intrauterine growth restriction.* N Engl J Med. 2002 Nov 7;347(19):1530-1; author reply 1530-1.
- Grandone E, Brancaccio V, Colaizzo D, Sciannone N, Pavone G, Di Minno G, Margaglione M*
Preventing adverse obstetric outcomes in women with genetic thrombophilia. Fertil Steril. 2002 Aug;78(2):371-5.
- Martinelli I, Legnani C, Bucciarelli P, Grandone E, De Stefano V, Mannucci PM.*
Risk of pregnancy-related venous thrombosis in carriers of severe inherited thrombophilia. Thromb Haemost. 2001 Sep;86(3):800-3.
- Brenner B. Clinical Management of Thrombophilia Related Placental Vascular Complications.* Blood. 2004 Feb 12
- Krabbendam I, Dekker GA* *Pregnancy Outcome in Patients with a History of Recurrent Spontaneous Miscarriages and Documented Thrombophilias.* Gynecol Obstet Invest. 2004;57(3):127-131. Epub 2003 Dec 23
- Preston F.E., Rosendaal F.R., Walzer I.D., Briet E., Berntorp E., Canard J. et al.*
Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. Lancet 1996;348:913-6

TROMBOFILIA ACQUISITA E GRAVIDANZA: LA NOSTRA ESPERIENZA

Laura Letizia Mazzarelli, Annalisa Agangi, Marinella Pecoraro, Giuseppe Maria Maruotti, Laura Kessler, Raffaele Napolitano, Angelo Votino, Ciro Vitiello, Tanja Bruno, Matilde Sansone & Pasquale Martinelli.

DIPARTIMENTO CLINICO DI GINECOLOGIA, OSTETRICIA E FISIOPATOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE
UMANA AREA FUNZIONALE DI EMERGENZE OSTETRICHE E GINECOLOGICHE
UNIVERSITA' FEDERICO II NAPOLI

Background

La trombofilia è un disordine multigenetico caratterizzato da alterazioni congenite e acquisite che predispongono ad uno stato di trombosi. La più comune causa di trombofilia acquisita è data dalla sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS, antiphospholipid syndrome) una complessa sindrome multisistemica associata a diverse complicanze mediche ed ostetriche. Descriviamo la nostra esperienza presso l'Ambulatorio di Gravidanze a rischio dell'Area Funzionale di Emergenze Ostetriche e Ginecologiche

MATERIALI

Nell'anno 2003, presso il nostro ambulatorio di gravidanza a rischio sono state seguite 4 pazienti, affette da sindrome da anticorpi antifosfolipidi. La diagnosi è stata loro formulata, sulla base di dati anamnestici e laboratoristici, in accordo con quanto stabilito dall'International Consensus di Sapporo del 1999.

Criteri Clinici: Trombosi arteriose, venose o microvascolari, confermate all' esame Doppler o istologicamente; Complicanze ostetriche : ≥ 1 aborto dopo la 10 w di gestazione (in assenza di anomalie confermate o dall'esame autoptico); ≥ 3 aborti spontanei, prima della della 10 w di gestazione (in assenza di alterazioni ormonali, cromosomiche o anatomiche); ≥ 1 parto prematuro prima dell 34^a w di gestazione (in relazione alla presenza di preeclampsia, eclampsia, insufficienza placentare severa);

Criteri Laboratoristici: Presenza di Anticorpi anticardiolipina IgG o IgM con titolo medio/alto; (confermati dopo 6 w dal primo test); Presenza di Anticorpi Lupus Anticoagulans nel plasma.

Da un punto di vista ostetrico, l'anamnesi delle nostre 4 pazienti era positiva per abortività ricorrente e/o pregressa mortalità intrauterina (MEF), in assenza di alterazioni ormonali, cromosomiche o anatomiche. In 3 di queste pazienti erano presenti nel plasma anticorpi Lupus Anticoagulanti; in 1 c'era positività agli anticorpi anticardiolipina, presenti a titolo medio; inoltre, questa ultima riferiva un episodio di pregressa trombosi venosa profonda degli arti inferiori.

RISULTATI

Le 4 pazienti sono state monitorate laboratoristicamente per valutare il quadro emocoagulativo (conta piastrinica, tests emocoagulativi), ed ecograficamente per evidenziare eventuali alterazioni circolatorie fetoplacentari. In accordo con i dati esistenti in letteratura e con i colleghi immunologi ed ematologi, durante la gravidanza le pazienti sono state trattate con eparina a basso peso molecolare s.c., tipo enoxaparina, e con basse dosi di aspirina (75 mg), nonché con cortisonici. Il trattamento farmacologico è continuato anche durante il puerperio, essendo questo ancora un periodo critico per la comparsa di trombosi venosa profonda.

In una delle pazienti, con 2 pregresse MEF, visto la riduzione progressiva della conta piastrinica si è provveduto all'espletamento del parto con taglio cesareo al termine della 34^a settimana di gestazione; è nato un feto di peso intorno ai 2500 gr. (biometria > 2 settimane) con buon indice di Apgar. Anche le altre gravidanze sono terminate con successo , prima rispetto alla data presunta del parto, con la nascita di feti, di peso intorno ai 2800-3000 gr. e buon indice di Apgar alla nascita.

CONCLUSIONI

La sindrome anticorpi antifosfolipidi (APS, antiphospholipid syndrome) è una complessa sindrome multisistemica associata a diverse complicanze mediche ed ostetriche.

E' definita dall'associazione di trombosi e/o morbilità gestazionale in presenza degli anticorpi anticardiolipina (aPL) e/o lupus anticoagulant (LA). Sebbene tale sindrome sia stata descritta per la prima volta in pazienti con il LES, è oggi noto che non rientra nei criteri di questa patologia, né usualmente chi ne è affetto progredisce verso il Lupus. Lo spettro delle caratteristiche cliniche dell'APS è ampio e virtualmente ogni organo può essere colpito.

L'interesse, nei confronti di questa sindrome, da parte dei ginecologi-ostetrici è andato sempre più aumentando nella pratica clinica per la frequente associazione con l'aborto ricorrente, la preeclampsia, la morte fetale endouterina, il ritardo di crescita e la trombosi.

Gli anticorpi antifosfolipidi sono una classe eterogenea di autoanticorpi che legano le cariche anioniche dei fosfolipidi di membrana, alterandone il legame con diverse proteine plasmatiche. I target antigenici di questi anticorpi sono: la β 2-glicoproteina I, la protrombina, le proteine C ed S della coagulazione. La loro presenza altera il normale equilibrio tra il sistema procoagulante e quello anticoagulante a favore del primo. In particolare, il meccanismo con il quale tali anticorpi causano complicanze ostetriche è dovuto a fenomeni microtrombotici ed infarti a carico della placenta che compromettono la circolazione feto-materna; più precocemente tali anticorpi interferiscono con la formazione della vascolarizzazione intervillosa con conseguente alterazioni dell'impianto dell'embrione. Le più frequenti lesioni placentari descritte sono l'infarto placentare e la trombosi dei vasi fetali, con un'intensa deposizione di fibrina a livello perivilloso.

I criteri che permettono di fare diagnosi di APS sono clinici e laboratoristici:

1. Trombosi venosa profonda con o senza embolia polmonare;
2. Trombosi arteriosa (TIA, ischemia cerebrale, IMA);
3. Complicanze ostetriche: morte endouterina fetale e aborto ricorrente.
4. Presenza di anticorpi anticardiolipina o lupus anticoagulans (IgG o IgM) con titolo medio/alto, confermato dopo 6 settimane al primo test.

La forza dell'associazione tra complicanze ostetriche e presenza di anticorpi antifosfolipidi è stata dimostrata da diversi studi trasversali e caso controllo. La positività agli anticorpi anti Lupus anticoagulant determina un rischio di avere complicanze ostetriche di 3.0 - 4,8 volte maggiore rispetto ai controlli; mentre per gli Anticorpi anticardiolipina, il rischio è 0,86-20 volte maggiore rispetto ai controlli. In particolare le donne con anticorpi antifosfolipidi hanno un alto tasso di aborto nel periodo fetale (dopo le 10w) ovvero nel 2° trimestre. Al contrario nella popolazione non selezionata l'aborto si verifica in fase preembrionica (<6w) o in fase embrionica (tra 6 e 9W).

Anche IUGR e preeclampsia possono complicare la gravidanza in donne con anticorpi antifosfolipidi. Il rischio di aborto è direttamente proporzionale al titolo anticorpale, in particolare agli anticorpi IgG aCL.

Le trombosi a livello placentare e il difettivo impianto dell'embrione rappresentano la base per l'utilizzo delle eparine a basso peso molecolare, delle eparine non frazionate e di bassi dosi di aspirina (75 mg) come trattamento delle complicanze ostetriche nelle donne affette da APS. Il tasso di nati vivi nelle donne con sindrome da antifosfolipidi è di circa il 10%; tale tasso in seguito al trattamento, come dimostrato da studi clinici randomizzati, cresce dallo 0-40% al 70-80% di pari passo con una severa riduzione delle complicanze trombotiche.

Le possibilità di un esito positivo della gravidanza in seguito ad un adeguato trattamento, dipendono anche dal numero degli aborti o delle morti fetali verificatesi in passato. Le pazienti, che nella precedente gravidanza, hanno avuto un aborto, hanno una possibilità di portare a termine la gravidanza senza trattamento del 20-25%, percentuale che sale al 75-80% con il adeguato trattamento farmacologico pre e post concepimento.

La sindrome da anticorpi antifosfolipidi richiede, per la sua complessità, un approccio multidisciplinare che coinvolga il ginecologo, l'ematologo, l'immunologo. Infatti un'appropriata diagnosi clinica e laboratoristica, un idoneo trattamento farmacologico, uno stretto monitoraggio clinico, migliorano l'outcome materno e fetale.

L'orientamento futuro è diretto ad un miglioramento delle conoscenze sulla patogenesi dell'aborto ricorrente in tali pazienti (studio istologico della placenta) e a nuove prospettive terapeutiche, come l'utilizzo di immunoglobuline.

BIBLIOGRAFIA

1. Tanner D., Levine R e Kittner SJ. Epidemiology of antiphospholipid antibodies and vascular disease. In Levine SR e Brey RL (eds) Clinical Approach to Antiphospholipid Antibodies. Boston: Butterworth Heinemann, 2000, pp 18.
2. Dizon-Townson D e Branch DW. Obstetric vascular disease in antiphospholipid syndrome. In Levine SR e Brey RL (eds) Clinical Approach to Antiphospholipid Antibodies. Boston: Butterworth Heinemann, 2000, pp 81-94.
3. Khare M, Nelson-Piercy C. Acquired Thrombophilias and pregnancy. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, Vol 17, N° 3, pp 491-507, 2003.
4. De Wolf F, Carreras LO, Moerman P et al. Decidual vasculopathy and extensive placental infarction in a patient with repeated thromboembolic accidents, recurrent fetal loss, and a lupus anticoagulant. American Journal of Obstetrics and Gynecology 1982; 142:829-834.
5. Dizon-Towson D, Branch W. Anticoagulant treatment during pregnancy: un update. Semin. Thromb Hemost 1998; 24(suppl.): 55-62.

6. Out Hj, Kooijman CD, Bruinse HW, and Derksen Rh. Histopathology findings in placentae from patients with intrauterine fetal death and antiphospholipid antibodies. *European J of Obstetrics and Gynecology and reproductive Biology* 1991; 41: 179-186.
7. Pattison NS, Birdsall M, Chanley LW and Lubbe WF. Recurrent fetal loss and the antiphospholipid syndrome. *Recent Advances in Obstetrics and Gynaecology* 1994; 18: 23-50.
8. Linch A, Marlar R, Murphy J et al.. Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome. A prospective study. *Annals of Internal Medicine* 1994; 120: 470-495
9. Lookwood CJ, Romero R, Feinberg RF et al. The prevalence and biological significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *American Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1989; 161: 369-373.
10. Levine Js, Branch DW and Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *New England Journal of Medicine* 2002; 346: 752-763.
11. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with Heparine and Low dose aspirin is superior to low dose aspirin alone. *American Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1996; 174: 1584-1589.
12. Roubey RA. Treatment of the antiphospholipid syndrome. *Current Opinion in Rheumatology* 2002; 14: 238-442.

Management della trombofilia in gravidanza

Giuseppe Maria Maruotti^o, Ciro Vitiello^o, Elvira Grandone* & Pasquale Martinelli^o.

^o DIPARTIMENTO CLINICO DI GINECOLOGIA, OSTETRICIA E FISIOPATOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE UMANA AREA FUNZIONALE DI EMERGENZE OSTETRICHE E GINECOLOGICHE UNIVERSITA' FEDERICO II NAPOLI

*IRCCS CASA SOLLIEVO DELLA SOFFERENZA, OSTETRICIA E GINECOLOGIA, GENETICA MEDICA, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FOGGIA, ITALY.

La gravidanza è uno stato di ipercoagulabilità in cui si assiste ad un aumento del rischio trombotico. Nelle donne con trombofilia (tendenza alla trombosi) il rischio trombotico aumenta ed aumenta il rischio di complicanze vascolari della gestazione (perdita fetale, ritardo di crescita intrauterino IUGR, preclampsia PE, distacco di placenta). Poiché evidenze sempre più numerose dimostrano una associazione tra la trombofilia e le principali complicanze vascolari ostetriche, il management delle pazienti con storia di trombofilia congenita ed acquisita deve essere particolarmente accurato; le complicanze ostetriche legate alla trombosi rappresentano la principale causa di morbilità materno/fetale e possiedono un impatto sociale ed economico rilevante. Da qui l'importanza del counseling preconcezionale, di un'anamnesi accurata e della terapia farmacologica sia durante la gestazione che nel post-partum. E' necessario valutare attraverso uno screening accurato l'eventuale presenza di altri disordini trombofilici e stabilire con la paziente la condotta terapeutica migliore tenendo conto anche degli effetti collaterali dei farmaci utilizzati. Sebbene non vi siano studi prospettici longitudinali che quantifichino il rischio di complicanze ostetriche nelle donne con alterazioni trombofiliche, dati preliminari suggeriscono che l'utilizzo profilattico degli anticoagulanti possa migliorare l'outcome delle donne con disordini trombofilici. Un approccio multidisciplinare è un altro fattore fondamentale del management. Si analizzano gli aspetti salienti del problema in base alle evidenze della moderna letteratura.

Discussione

I disordini trombofilici sono un fattore di rischio abbastanza comune che può essere ritrovato nel 15-25% della popolazione bianca; possono essere congeniti o acquisiti, continui o transitori e possono contribuire fortemente allo sviluppo della trombosi. (Tab. I) Tali disordini aumentano ancor di più il rischio di trombosi venosa durante la gravidanza e possono predisporre alle

complicanze vascolari. Il rischio di trombosi venosa è 5-6 volte maggiore durante la gravidanza, con una frequenza simile nei tre trimestri e di circa 3-10 volte maggiore nel post-partum. I disordini trombofilici sono identificati in oltre il 50% delle donne con trombosi venosa correlata alla gravidanza. Talvolta la scoperta di uno stato trombofilico viene eseguita proprio dopo una complicanza ostetrica. La caratteristica istopatologica a livello placentare di zone infartuate suggerisce che le maggiori complicanze ostetriche possono essere il risultato di un'insufficienza placentare e di trombosi. Complicanze ostetriche maggiori quali la perdita fetale ricorrente, IUGR, la preclampsia, il distacco di placenta si verificano nel 1-5% di donne e possono dipendere da un'alterata perfusione placentare. (1-2)

L'emostasi è regolata da un delicato equilibrio tra fattori procoagulanti e fattori anticoagulanti. Alterazioni di ogni tipo possono alterare questo equilibrio e predisporre alla trombosi. Anche a livello placentare esiste un precario equilibrio tra questi fattori; la bassa velocità del flusso esistente a livello della placenta e l'ipercoagulabilità dello stato gravidico possono quindi predisporre alla trombosi e alle complicanze ostetriche. Anche se le conoscenze sul trattamento ottimale durante la gravidanza sono limitate, i dati esistenti in letteratura suggeriscono che alcuni gruppi (donne in gravidanza con anamnesi personale o familiare di tromboembolismo) dovrebbero essere screenati per la trombofilia. I test (Tab. II) dovrebbero essere effettuati anche sulle donne con storia di aborto ricorrente del I trimestre, MEF (morte embrio fetale), severa preclampsia, IUGR, distacco di placenta viste le evidenze sempre più numerose che ne dimostrano l'associazione con i fattori trombofilici. (Tab. III)

Tab I. Prevalenza dei disordini trombofilici congeniti e acquisiti (1)				
<i>Disordine</i>	<i>Difetto</i>	<i>% Popolazione Generale</i>	<i>% Pazienti 1° TVP</i>	<i>Rischio TVP (OR)</i>
Congeniti				
AT III	Ridotta inattivazione di trombina e altri enzimi	0,07	1	10-20
- Deficit proteina C	Ridotta in attivazione FVa e FVIIIa	0,3	3	6-8
- Deficit proteina S	Ridotta in attivazione FVa e FVIIIa	0,2	3	2-6
- Fattore V Leiden (Etero)	Ridotta in attivazione FVa da Proteina C attiv	5-8	20	4-8
- Fattore V Leiden (Omo)	Ridotta in attivazione FVa da Proteina C attiv	0,06	1,5	80
- Mutazione gene protrombina	Livelli aumentati di protrombina e trombina	3	6	2-4
- Iperomocisteinemia	Danno endoteliale e effetti procoagulanti	5	10	2-3
- Omozigosi MTHFR C677T	Ridotta remetilazione dell'omocisteina	10-20	11-12	0,7-2
Acquisiti				
Anticorpi antifosfolipidi	Alterato pathway Proteina C, perdita di Annessina V, effetti procoagulanti endoteliali	2	10-15	9
- Resistenza alla Proteina C attivata acquisita (senza FV Leiden)	Ridotta attività anticoagulante	8-11	24	2-4

Tab. II Valutazione di laboratorio per i fattori di rischio di trombosi (3)**Test I livello**

Valutazione funzionale della resistenza alla proteina C attivata o analisi del DNA per il Fattore V

Analisi del DNA per la mutazione genica della protrombina

Livelli di omocisteina

Lupus anticoagulant

Anticorpi anticardiolina

Emocromo completo

Test II Livello

Valutazione funzionale della AT III

Valutazione funzionale della proteina C

Valutazione funzionale o immunologica della proteina S

Test di III livello

Livello di fibrinogeno

Livello di Fattore VIII

Tempo di trombina

Reptilase time

Test di IV livello

Analisi del DNA per la mutazione C677T del MTHFR

Livelli dei fattori V, VII, IX, X, XI

Analisi del polimorfismo del PAI

Livelli di plasminogeno

Livelli di trombomodulina

Livelli dell'attivatore tissutale del plasminogeno

Livelli di eparina cofattore II

La maggior parte dei pazienti sarà identificata con l'esecuzione dei test di I e II livello; i test di III livello saranno eseguiti solo quando c'è una forte indicazione di storia familiare di trombosi e gli altri test non hanno permesso la diagnosi. I test di IV livello sono utili in campo di ricerca.

Complicanze vascolari associate alla trombofilia Tab. III (12)

	Aborto	MEF	Preclampsia	Distacco di placenta
Deficit Antitrombina III	++	++	+	
Deficit Proteina C	++	++	+	+
Deficit Proteina S	++	++	+	+
Disfibrinogenemia	++	+		
Resistenza alla proteina C	++	++	++	+
Fattore V Leiden	++	++	++	++
MTHFR677TT	+	+	+	+
Iperomocisteinemia	+	+	++	++
Fattore II G20210A	+	+	+	++
Sindrome antifosfolipidi	++	++	++	++
Difetti combinati	++	++	++	++

+ = Possibile associazione ++ = Associazione stabilita

Nella maggioranza delle donne con trombofilia ereditaria la gravidanza si conclude senza complicanze anche se aumenta il rischio di complicanze ostetriche; il perché ciò si verifichi solo in alcune donne non è ancora noto anche se si pensa che possano essere implicati altri fattori protrombotici sistemici o locali placentari. La presenza di più fattori trombofilici incrementa il rischio trombotico di 14 volte rispetto a quello di un singolo fattore di rischio che incrementa il rischio trombotico di sole 4 volte. (1) Attualmente il 30-50% delle patologie vascolari della gestazione non possono essere collegate alla trombofilia; rimane quindi da determinare se nuovi fattori trombofilici congeniti o acquisiti possano svolgere un ruolo (trombomodulina, gene del recettore endoteliale della proteina C, deficit del fattore XII, o della proteina Z, cofattore del X attivato, elevati livelli di microparticelle procoagulanti) (1). Da qui quindi la decisione di non estendere a tutte le donne lo screening per la trombofilia, ma effettuarlo solo nelle donne a rischio, poiché i benefici clinici ed economici non sarebbero supportati da tale politica (4) La presenza di trombofilia ereditaria non deve modificare il dosaggio della terapia anticoagulante dato che i deficit di AT, proteina C e proteina S, il fattore V Leiden e la mutazione della protrombina non sono resistenti alla terapia anticoagulante. La loro presenza può però modificare, incrementandola, la durata del trattamento, soprattutto dopo un primo evento tromboembolico. La durata ottimale della terapia dipende da un bilancio tra il rischio di trombosi senza terapia ed il rischio di emorragia

durante il trattamento e deve essere stabilita separatamente per ogni individuo. (5) Le donne con precedenti episodi trombotici generalmente sono in terapia con dicumarolici (inibitori della vitamina K) il cui ruolo teratogeno è ben noto; durante il counseling preconcezionale deve essere sottolineata l'importanza dell'esecuzione ripetuta di test di gravidanza per sospendere i dicumarolici ed iniziare la terapia con eparina a basso peso molecolare (LMWH) o frazionata ENF appena inizia la gestazione. Il Tromboembolismo venoso e l'embolia polmonare sono complicanze rare ma importanti durante la gestazione e rappresentano la principale causa di morbosità e mortalità materna sia in Europa che negli USA. Il numero di morti per milione di gravidanze non è cambiato negli ultimi 20 anni. Ad ogni modo l'incidenza di TVP è di circa 0,5-0,7 / 1000 parti mentre l'incidenza di embolia polmonare tra 1/2500- 1/10000 (in caso di TC il rischio è 3 volte maggiore) (6). Gli eventi sono equamente distribuiti in gravidanza/postpartum con distribuzione omogenea nei tre trimestri. La maggior incidenza degli eventi fatali si verifica nelle prime due settimane dal parto ed il 40% tra le 2 e le 6 settimane dopo il parto e dunque dopo la dimissione ospedaliera. I fattori di rischio per TEV sono numerosi e dovrebbero essere valutati in tutte le donne in gravidanza (Tab. IV).

Fattori di rischio del tromboembolismo in gravidanza ed in puerperio (Tab. IV) RCOG 2004 (30)	
Preesistenti	Nuovi o transitori
Precedente episodio di tromboembolismo	Procedure chirurgiche in gravidanza o puerperio
Trombofilia	Parto operativo
- congenita: Deficit AT III, Deficit Proteina C/Proteina S,	Immobilità > 4 giorni
Fattore V Leiden, variante protrombina	Disidratazione
- acquisita: sindrome anticorpi antifosfolipidi, lupus anticoagulant,	Eccessiva emorragia
Ab anti cardiolipina	Iperemesi
Età > 35 anni	Sindrome dell'iperstimolazione ovarica
Obesità (BMI > 30 Kg/ m2)	Pre-eclampsia
Parità > 4	Travaglio prolungato
Grosse varici	
Paraplegia	
Anemia a cellule falciformi	
Infiammazioni/infezioni	
Alcune patologie come la sindrome nefrosica	
Disordini mieloproliferativi (trombocitemia essenziale)	

Per quanto riguarda la trombofilia e la presenza di anticorpi antifosfolipidi esiste un gradiente di rischio a seconda del tipo di difetto; le anomalie associate ad un maggior rischio sono il deficit di AT III (30% in più), l'omozigosi per il Fattore V Leiden, la positività stabile ad alti titoli di anticorpi antifosfolipidi e la presenza di anticorpi combinati. L'anamnesi è fondamentale per la valutazione del rischio tromboembolico, la necessità di misure di prevenzione farmacologica e l'opportunità di un ulteriore approfondimento diagnostico. In presenza di anamnesi positiva per eventi tromboembolici (Familiare < 40 anni) prima del concepimento sarebbe necessario idealmente eseguire lo screening per la trombofilia congenita e acquisita, limitare i periodi di immobilizzazione ed evitare la disidratazione. In presenza dei segni clinici suggestivi di una sindrome da anticorpi antifosfolipidi (trombosi arteriose/venose, aborti ripetuti, piastrinopenia) vanno anche ricercati il Lupus anticoagulant e gli anticorpi anti cardiolipina. Le donne che sviluppano TVP erano trattate con ENF (50-100 u/kg in bolo seguite da 1250-1500U/h in infusione continua (aPTT ratio= 1,5-2) per 5-10 giorni seguite da ENF ogni 12 h s.c. a dosi aggiustate (aPTT ratio 1.5-2.5 a 6 h da ciascuna somministrazione) fino a termine e almeno per 6 settimane nel post-partum. Oggi valida alternativa è la somministrazione di Eparina LMWH 80-100 U/Kg ogni 12h in fase terapeutica e poi 50-80 U/kg ogni 12h successivamente. Per le ENF ridurre il dosaggio a 5000-7500 UI sc ogni 12h all'inizio del travaglio o prima di un TC. Per le eparine LMWH è consigliata la sospensione all'inizio del travaglio o 12 h prima di un TC. La terapia dovrebbe essere sospesa 24h ore prima dell'induzione del parto; è considerato sicuro lasciare la paziente senza protezione nell'immediato periodo pre e post-partum. La terapia può essere poi ripresa per via EV (2000UI in bolo seguite da 1200 UI/h in infusione continua) o per via s.c. e continuata fino a che non riprende la terapia orale con anticoagulante. Le donne con anamnesi positiva per eventi tromboembolici hanno un rischio di

recidiva tra il 4-15%; in queste donne bisognerebbe mantenere i livelli plasmatici di eparina tra 0,08 e 0,15 UI/ml (dosaggio medio 16400 UI/die) (7). I vantaggi potenziali dell'eparina LMWH sulla ENF sono maggior azione antitrombotica, minor sanguinamento, emivita più lunga (una sola iniezione/die), minore dose di farmaco iniettato, minor trombocitopenia, minor rischio di osteoporosi. (10) Uno studio collaborativo del 1998 ha dimostrato la sicurezza ed il successo ottenuto con l'utilizzo dell'eparina LMWH in circa 90% di donne con storia pregressa di aborto ricorrente e nel 100% di donne con preclampsia nella gravidanza. (11) La somministrazione di Enoxaparina 20mg/die ha mostrato un buon tasso di successo con percentuali fino all'80% di nascite a termine in pazienti con storia di aborto ricorrente. (12) La somministrazione di Enoxaparina 40mg/die ha mostrato un tasso di successo del 75% di nascite a termine in un gruppo di pazienti con storia di trombofilia rispetto al solo 20% di successo nelle gravidanze precedenti dello stesso gruppo di donne senza terapia antitrombotica. Tale successo è stato osservato anche in altri studi non randomizzati. (Tab. V) (13-14)

Studi osservazionali per la prevenzione di esiti infausti della gravidanza in donne con difetti trombofilici (Tab. V) (13-14, 27)

	N° donne	Difetto	Storia pregressa	Terapia	Nati vivi
- Brenner 2000	50	Congenito o acquisito	RPL	Enoxaparina /ASA	46/61
- Grandone 2002	25	FV o FII	RPL; IUGR; PE	UFH/LMWH/ASA	29/31
- Kupferminc 2001	33	Non specificato	Complicanze ostetriche	Enoxaparina 40mg + ASA	30/33
- Riyazi 1998	26 vs 19	Congenito o acquisito	Complicanze ostetriche	Enoxaparina 40 mg + ASA	Peso >
- Younis 2000	7	Fattore V Leiden	RPL ricorrente	Enoxaparina 40 mg + ASA	5/7
- Carp, 2003	37 vs 48	Congeniti	RPL	Enoxaparina 40 mg	70% vs 40%

ENF era il farmaco di scelta per la profilassi ed il trattamento del tromboembolismo venoso in gravidanza; tale farmaco non attraversa la barriera e quindi non ha potenzialità teratogena né emorragica nel feto. (15) Le complicanze materne più frequenti descritte in corso di trattamento (osteoporosi, trombocitopenia, allergia ed emorragie) hanno un'incidenza complessiva del 3% (16). Le eparine a basso peso molecolare sono sicure per il feto poiché non attraversano la placenta ed hanno un'efficacia ed una sicurezza paragonabili a quella dell'eparina ENF. Non vi sono dati circa la dose più appropriata ma ci si basa sul peso corporeo. Nelle gravidanze ad alto rischio per eventi trombotici potrebbe essere una soluzione utilizzare una dose di Dalteparina 5000 UI ogni 24h nelle donne di peso < 100 Kg e 5000UI ogni 12h nelle donne con peso > 100 Kg. La percentuale di complicanze (collasso vertebrale per osteoporosi) è sovrapponibile a quella delle eparine non frazionate (2,2%). (17) Una metanalisi di Sanson sulla sicurezza dell'eparina LMWH in gravidanza ha riportato un'incidenza di outcome sfavorevoli nel gruppo di pazienti con patologie associate del 13% e solo del 3% in quelle senza patologie. (18) Per quanto riguarda le complicanze emorragiche delle pazienti che fanno uso delle eparine LMWH rispetto a quelle che non ne fanno uso, si è osservato un maggior rischio di emorragie durante il parto ed una maggior incidenza di anemia, un maggior tempo di degenza. (19) Il solfato di protamina è l'antidoto di scelta in caso di emorragia da eparina ad un dosaggio di circa 1 mg ogni 100 UI tranne che per la nadroparina che necessita della metà del dosaggio. Gli anticoagulanti orali (derivati cumarinici) possono attraversare la placenta e causare una grave embriopatia (displasia ossea, ipoplasia nasale). L'incidenza è del 5-10% soprattutto tra la 6a e la 12a settimana di gestazione. Secondo molti autori vi è un rischio maggiore di aborto rispetto alle pazienti trattate con eparina. (20) Altre malformazioni possono interessare il SNC e gli occhi. Stando ad alcuni dati il rischio di embriopatia sembrerebbe legato alla dose del farmaco e quindi le pazienti che richiedono dosi <5 mg potrebbero non sospendere il farmaco.

Questi dati tuttavia necessitano di conferme. (21) Poiché non passano nel latte il loro uso può riprendere nel puerperio e durante l'allattamento. L'acido acetilsalicilico è un farmaco sicuro in gravidanza quando somministrato a basse dosi (50-150 mg). In nessuno studio clinico controllato l'ASA determina differenza significativa rispetto al placebo nell'incidenza di preclampsia, parto pretermine, morte endouterina. (22-23) Ancora è da stabilire se l'aspirina ha un ruolo aggiuntivo a quello dell'eparina. La prevalenza alta della trombofilia, dell'infarcimento placentare e della tendenza alla ricorrenza forniscono un razionale per dei trials sulla profilassi anticoagulante per migliorare l'outcome delle donne trombofiliche con perdita fetale ricorrente. A supporto di questa ipotesi il miglior outcome nelle donne con anticorpi antifosfolipidi che ricevono terapia antitrombotica; il tasso di nati vivi è maggiore nelle donne che ricevono eparina più aspirina (80%) rispetto alle donne che ricevono solo aspirina (40%) (24-25) Donne trombofiliche con complicanze ostetriche serie, hanno mostrato nelle successive gravidanze un miglior flusso al Doppler delle arterie uterine dopo trattamento con enoxaparina e aspirina a basse dosi suggerendo un miglioramento della per fusione placentare. (26) Si riportano di seguito le linee guida di alcuni organi autorevoli.

Tab.VI Linee Guida prevenzione tromboembolismo e uso eparina in gravidanza (7, 8, 30)

SISET (2002)	ACCP (2004)	RCOG (2004)
a) Rischio basso moderato: controllo clinico/strumentale, elastocompressione, mobilità precoce	a) TVP + rischio transitorio: sorveglianza e profilassi (LMWH) postpartum	a) Pregressa TVP no trombofilia LMWH solo post partum. Antepartum se TVP ricorrenti, fattori di rischio non transitori, familiarità per TVP
b) Rischio alto no trombofilia: LMWH 2000-5000 UI/die sc ultime settimane e postpartum + a)	b) TVP + trombofilia o familiarità: profilassi antepartum e postpartum (LMWH)	b) Pregressa TVP + trombofilia LMWH antepartum e post-partum
c) Rischio alto + trombofilia: LMWH 2000-5000 UI/die sc durante gravidanza a seconda del peso + a) + b)	c) Numerose TVP profilassi antepartum + maggior durata postpartum (LMWH)	c) trombofilia senza TVP profilassi antepartum e/o postpartum in base ai fattori di rischio
	d) Anticorpi antifosfolipidi LMWH + ASA	d) donne con 4 o più fattori di rischio eventuale antepartum e 3-5 giorni postpartum LMWH

In puerperio si può continuare con LMWH o anticoagulanti orali. La profilassi per le donne a rischio non è ancora stabilita viste le insufficienze evidenze basate più sull'opinione di esperti che su trial. I pochi trials effettuati, infatti, pur confrontando un metodo di profilassi con placebo o 2 metodi di profilassi tra loro non permettono di stabilire l'efficacia di una terapia per la bassa numerosità del campione ed il basso numero di trials effettuanti lo stesso confronto. (9) Il dosaggio ottimale dell'eparina a basso peso molecolare è ancora da stabilire ed al fine di massimizzare il successo gestazionale sono necessari studi prospettici randomizzati. Dosaggi proposti dal RCOG (Tab. VII)

Tab. VII Profilassi prenatale e dosi terapeutiche di LMWH. RCOG 2004 (30)

Profilassi	Enoxaparina (100U/mg)	Dalteparina	Tinzaparina
Normale peso (50-90Kg)	40 mg/die	5000 U/die	4500 U/die
Peso < 50 Kg	20 mg/die	2500 U/die	3500 U/die
Peso > 90 KG	40mg/12h	5000 U/12h	4500 U/12h
Più alta dose profilattica	40mg/12h	5000 U/12h	4500 U/12h
Dose terapeutica	1mg/kg 12h	90 U/Kg 12h	90U/kg 12h

Un trial multicentrico randomizzato prospettico ha paragonato l'efficacia di due dosi di enoxaparina in donne con perdita fetale ricorrente. Dosi di 40 mg e dosi di 80mg sono egualmente efficaci con tassi di nati vivi dell'81% e del 77%, paragonati al solo 28% in precedenti gravidanze. L'incidenza di preclampsia e distacco di placenta sono significativamente più basse. (27-28) Ad ogni modo non vi sono ancora trials completi che determinino l'efficacia dell'eparina sull'outcome ostetrico di donne con trombofilia. (29) Idealmente dovrebbe essere condotto un trial placebo-controllo che ne valuti i reali benefici superando le difficoltà etiche di un simile arruolamento.

Bibliografia

1. Kujovich JL. Thrombophilia and pregnancy complications. *Am J Obstet Gynecol* 2004 191, 412-24
2. Brenner B. Clinical management of thrombophilia-related placental vascular complications. *Blood* 2004; 103: 4003-9
3. Buchanan GS et al. The inherited thrombophilias : genetics, epidemiology and laboratory evaluation. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2003 Vol 17: 3, 397-411
4. Laude I et al. Circulating procoagulant microparticles in women with unexplained pregnancy loss: a new insight. *Thrombosis and Haemostasis* 2001; 85: 18-21
5. Gallus AS. Management options for Thrombophilias. *Semin Thromb Hemost* 2005 Feb 31 (1): 118-26
6. Togliola MR et al. Venous thromboembolism during pregnancy: a current review of diagnosis and management. *Obstet Gynecol Surv* 1996; 52: 60-72
7. Grandone E. Linee Guida Siset in Ostetricia e Ginecologia. *Hematologica* 2002 www.siset.org
8. Bates SM et al. Use of antithrombotic agents during pregnancy : the seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004, 126 Sup: 627S-644S
9. Gates S et al. Prophylaxis for venous thromboembolic disease in pregnancy and the early postnatal period. *Cochrane Review. The Cochrane Library* Issue 2, 2005
10. Eldor A. The use of low-molecular-weight heparin for the management of venous thromboembolism in pregnancy. *J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002 Aug 5; 104 (1): 3-13
11. Sanson et al. The use of low molecular weight heparin in pregnancy. *Blood* 1998; 92 (SI): 360a
12. Gris JC et al. Use of low-molecular weight heparin (Enoxaparin) or of a phenformin-like substance (Moroxydine Chloride) in primary early recurrent aborters with an impaired fibrinolytic capacity. *Thrombosis and Haemostasis* 1995; 73: 362-7
13. Brenner B et al. Gestational outcome in thrombophilic women with recurrent pregnancy loss treated by enoxaparin. *Thrombosis and Haemostasis* 2000; 83: 693-7
14. Brenner B & Kupfermanc MJ. Inherited thrombophilia and poor pregnancy outcome. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2003 Vol 17 n°3 427-39
15. Ginsberg JS et al. Risks to the fetus of anticoagulant therapy during pregnancy. *Thromb Haemost* 1989; 61: 197-203
16. Dahlman TC. Osteoporotic fractures and recurrence of thromboembolism during pregnancy and puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 1265-70
17. Hunt BJ et al. Thromboprophylaxis with low molecular weight heparin (Fragmin) in high risk pregnancies. *Thromb Haemost* 1997; 77: 39-43
18. Sanson BJ et al. Safety of low molecular weight heparin in pregnancy : a systematic review. *Thromb Haemost* 1999; 81: 668-72
19. Lindqvist PG & Dahlback B. Bleeding complications associated with low molecular weight heparin prophylaxis during pregnancy. *Thromb Haemost* 2000; 84: 140-1
20. Chan WS et al. Anticoagulation of pregnant women with mechanical heart valves. A systematic review of the literature. *Arch Intern Med* 2000; 160: 191-6
21. Vitale N et al. Dose-dependent fetal complications of warfarin in pregnant women with mechanical heart valves. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1637-41
22. CLASP: a randomized trial of low dose aspirin for the prevention and treatment of pre-eclampsia among 9364 pregnant women. CLASP (Collaborative Low dose aspirin Study in pregnancy) Collaborative Group. *Lancet* 1994; 343: 619-29
23. Kupfermanc MJ, Eldor A. Inherited thrombophilia and gestational vascular complications. *Semin Thromb Hemost*. 2003 Apr; 29 (2): 185-94
24. Rai R et al. Randomised controlled trial of aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies. *BMJ* 1997; 314: 253-7
25. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1584-9
26. Bar J et al. Effect of thromboprophylaxis on uterine and fetal circulation in pregnant women with a history of pregnancy complications. *Thromb Res* 2001; 101: 235-41
27. Brenner B. Enoxaparin treatment improves the gestational outcome of pregnant women with thrombophilia and recurrent pregnancy loss: the LIVE-ENOX Study. *Blood* 2003: 102
28. Brenner B. Efficacy and safety of two doses of enoxaparin in pregnant women with thrombophilia and recurrent pregnancy loss. *Blood* 2002; 100: 2765
29. Walker MC et al. Heparin for pregnant women with acquired or inherited thrombophilias. (Cochrane review). *The Cochrane Library*, Issue 2, 2005
30. Royal College of Obstetricians and Gynecologist. Thromboprophylaxis during pregnancy, labour and after vaginal delivery. Guideline 37 January 2004

BIBLIOGRAFIA

- 1) "How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review" Alfirevic Z., Roberts D., Martlew V. *European Journal of Obst&Gyn and Reprod.Biology* 101(2002) 6-14
- 2) "Thrombolism and Thrombophilia" Girling J. *Current Obstetrics&Gyn.*(2001) II,15-22
- 3) "Outcome of pregnancy in women with hereditary thrombophilia" Ogueh O., Chen M.F., Spurlin G., Benjamin A. *Intern.J of Gyn&Obst.* 74(2001) 247-253
- 4) "Placental Pathology in Early Onset Pre-eclampsia and Intra-uterine Growth Restriction in Women With and Without Thrombophilia" Sikkema JM, Franx A., et al. *Placenta*(2002) 23,337-342
- 5) « Thrombophilia, Preeclampsia and Fetal Demise : A Case Report » Manuel C. Vallejo, Abdullah S. Raed, Kaul B., Ramanathan S. *J.of Clin.Anesthesia*

14:449-451,2002

- 6) "Postnatal Screening for Thrombophilia in Women With Severe Pregnancy Complications" Alfirevi Z., Mousa H.A., Martlew V. et al. *Obst&Gyn* vol.97 N°5 part1 May 2001
- 7) "Mid-Trimester severe intrauterine growth restriction is associated with a high prevalence of thrombophilia" Kupferminc J.M., Many A., Bar-AM A, et al. *BJOG* Dec 2002 Vol.109 pp.1373-1376
- 8) "The prevalence of thrombophilia in patients with chronic venous leg ulceration" MacKenzie K.R., Ludlam A.C. et al. *J. of Vascular Surgery* April 2002
- 9) "Severe Preeclampsia and High Frequency of Genetic Thrombophilic Mutations" Kupferminc M.J., Fait G., Many A., et al. *Obst&Gyn* Vol.96 n° 1, July 2000
- 10) »Inherited Thrombophilia : A Possible Cause of In Utero Vascular Thrombosis in Children With Intestinal Atresia" Johnson M.S., Meyers R.L. *J of Pediatric Surgery* Vol36 n°8 Aug 2001 pp 1146-1149
- 11) "Biparental contribution to fetal thrombophilia in discordant twin intrauterine growth restriction" Khong Yee T., Hague W.M.
- 12) "Incidence of the Factor V Leiden-mutation, Coagulation Inhibitor Deficiency, and Elevated Antiphospholipid-Antibodies in Patients with Preeclampsia or HELLP-Syndrome" Von Tempelhoff GF, Heilmann L., et al. *Thrombosis Research* 100 (2000) 363-365
- 13) "Third-Trimester Unexplained Intrauterine Fetal Death Is Associated With Inherited Thrombophilia" Many A., Elad R., Yaron Y. , et al. *Obst&Gyn* Vol99 N°5 part 1 May 2002
- 14) "Acquired and inherited thrombophilia in women with unexplained fetal losses" Alonso A., Soto I., Urgelles F.M. et al. *AmJObstGyn* Nov 2002

- 15) "Thrombophilias: An Overview" Mira Hellmann Elsevier Prim Care Update Ob/Gyns 2002
- 16) "Inherited Thrombophilias in Pregnant Patients: Detection and Treatment Paradigm" Charles J. Lockwood Obst&Gyn Vol.99 n°2 Febr 2002
- 17) »Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss" N Engl J Med 2000,343:1015-8
- 18) "Hereditary Thrombophilias are not associated with a decreased live birth rate in women with recurrent miscarriage" Carp H., Dolitzky M., et al. Fertility&Sterility vol.78 n°1 July 2002
- 19) "Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage" Sarig G., Younis S.J., Hoffmann R. et al. Fert&Ster Vol.77 n°2 Febr 2002

- 20) "Factor XII but not protein C, protein S, antithrombin III, or factor XIII is a predictor of recurrent miscarriage" M.S. Ogasawara, K. Aoki, K. Katano et al. Fert.&Ster. Vol.75 n°5 May 2001
- 21) "Thrombophilia: implications for pregnancy outcome" Ian A. Greer- Pergamon Thrombosis Research 109 (2003)
- 22) "Role of the geneticist in testing and counseling for inherited thrombophilia" L.M. Reich, M. Bower, N.S. Key Genetics in Medicine 2003
- 23) "Risk factors for thrombosis in pregnancy" W.M. Hague, G.A. Dekker Best Practice & Research Clinical Haematology Vol.16 N°2 2003
- 24) "Inherited thrombophilia and poor pregnancy outcome" B. Brenner, M.J. Kupferminc- Best Pract. & Res. Clinical Obst. & Gynaec. Vol.17 n°3 May 2003
- 25) "Inherited thrombophilia and gestational vascular complications" E. Grandone M. Margaglione- Best Pract. & Res. Clinical Haemat. Vol.16 June 2003
- 26) "Pre-eclampsia and thrombophilia" J. Said, G. Dekker Best Pract. & Res. Clinical

Obstetrics & Gynaecology Vol.17 N°3 2003

- 27) "Inherited thrombophilia and pregnancy loss" B.Brenner Best Pract. Res.Clin. Haematol. Vol.16 June 2003
- 28) "Acquired thrombophilias and pregnancy" M.Khare,Nelson-Piercy C. Best Pract. Res.Clin.Obstetrics & Gynaecology Vol.17 June 2003
- 29) "Inherited thrombophilia:resistance to activated protein C as a pathogenic factor venous Thromboembolism".Blood 85: 607-614,1995
- 30) "The coagulation cascade initiation , maintenance , and regulation".Biochemistry 30 , 10363-10373 Dawie EW et al.
- 31) « A natural anticoagulant pathway protein C, &C4b-binding protein and thrombomodulin".Dahlback B e Stenflo J.Haemostasis and Thrombosis 671-693 (1994)
- 32) "Mutation in blood coagulation Factor V associated with resistance to activated protein C" Bertina et al. Nature 369:64-64 (1994)
- 33) "The incidence of the Factor V Leiden mutation in an obstetric population and its relationship to deep venous thrombosis" Dizon-Towson DS, Nelson LM ,Jang H Am.J.Obstet.Gynecol.1997;176:883-6
- 34) "Activated protein C resistance can be associated with recurrent pregnancy loss" Brenner et al. Br.J.Haematology 551-554 (1997)
- 35) »Second trimester pregnancy loss is associated with activated protein resistance" Rai et al. Br.J.Haematology 92, 489-90 (1995)
- 36) »Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent fetal losses » Grandone E, Margaglione M,Colaizzo D Thromb.Haemost.1997
- 37) "Thrombophilia:a mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta" Arias et al.J Maternal

- 38) "Resistance to activated protein C and the Leiden mutation: high prevalence in patients with abruptio placentae" Wiener-Megnagy et al. *Am.J.Obstet. Gynecol.* 179,1565-1567
- 39) "Severe preeclampsia associated with coinheritance of Factor V Leiden mutation and Protein S deficiency" Kahn et al. *Obstet.Gynecol.* 1998
- 40) "Thrombophilic mutations are a main risk factor for placental abruption" Facchinetti F , Marozio L , Grandone E , Pizzi C , Volpe A , Benedetto C *Haematologica.* 88(7):785-8;2003 July
- 41) "Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia" Preston F.E., Rosendaal F.R., Walzer I.D., Briet E., Berntorp E., Canard J. Et al. *Lancet* 1996;348:913-6
- 42) "Risk of pregnancy-related venous thrombosis in carriers of severe inherited thrombophilia" Martinelli I., Legnani C, Bucciarelli P , Grandone E , De Stefano V , Mannucci PM. *Thromb Haemost* 2001 Sep;86(3):800-3
- 43) "Preventing adverse obstetric outcomes in women with genetic thrombophilia" Grandone E, Brancaccio V , Colaizzo D , Sciannone N , Pavone G , Di Minno G Margaglione M. *Fertil.Steril.* 2002 Aug;78(2):371-5
- 44) "Thrombophilia polymorphism and intrauterine growth restriction". *N Engl J Med.* 2002 Nov 7;347(19):1530-1;author reply 1530-1
- 45) "Pregnancy outcome in Patients with a History of Recurrent Spontaneous Miscarriages and Documented Thrombophilias". Krabbendam I, Dekker GA *Gynecol Obstet. Invest.* 2004;57(3):127-131. Epub 2003 Dec 23
- 46) "Clinical Management of Thrombophilia Related Placental Vascular Complications" Brenner B. *Blood.* 2004 Feb 12
- 47) "Thrombophilia and Pregnancy complications" Kujovich JL. *Am J Obstet Gynecol* 2004 191 , 412-24

- 48) "Clinical Management of Thrombophilia-related placental vascular Complications . Blood 2004; 103:4003-9 Brenner B.
- 49) "Management Options for Thrombophilias ". Semin Thromb Hemost Gallus A.S. 2005 Feb 31(1):118-26
- 50) "Linee Guida SISET in Ostetricia e Ginecologia" Grandone E. Haematologica 2002
- 51) "Use of Antithrombotic Agents during Pregnancy":the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy Bates SM et al. Chest 2004 , 126 Sup:627S-644S
- 52) "Prophylaxis for Venous Thromboembolic Disease in Pregnancy" and the Early Postnatal Period" Gates S et al. Cochrane Review The Cochrane Library Issue 2 , 2005
- 53) "Bleeding Complications associated with Low Molecular Weight Heparin Prophylaxis during Pregnancy" Lindqvist PG & Dahlback B Thromb Haemost 2000;84:140-1
- 54) "Effect of Thromboprophylaxis on uterine and fetal circulation in pregnant women with a history of Pregnancy Complications" Bar J et al. Thromb Res 2001 ; 101:235-41
- 55) "Enoxaparina Treatment improves the Gestational Outcome of Pregnant Women with Thrombophilia and Recurrent Pregnancy Loss" Brenner B The Live-Enox Study. Blood 2003:102
- 56) "Efficacy and Safety of two doses of Enoxaparina in Pregnant Women with Thrombophilia and Recurrent Pregnancy Loss .

Brenner B Blood 2002; 100:2765

- 57) "Thromboprophylaxis during Pregnancy , Labour and after Vaginal Delivery" Royal College of Obstetricians and Gynecologists Guideline 37 January 2004
- 58) "Heparin for Pregnant Women with Acquired or Inherited Thrombophilias" Walker MC et al. (Cochrane Review) The Cochrane Library Issue 2 , 2005
- 59) "The Antiphospholipid Syndrome" Levine JS Branch DW Rauch J New England Journal of Medicine 2002 ; 346:752-763
- 60) "Antiphospholipid Antibody-Associated Recurrent Pregnancy Loss: Treatment with Heparine and Low Dose Aspirin is superior to low Dose Aspirin alone." Kutteh WH Am J Obstet Gyn 1996 ; 174: 1584-1589
- 61) "Treatment of the Antophospholipid Syndrome" Roubey RA Current Opinion in Rheumatology 2002 ; 14:238-442
- 62) "Obstetric Vascular Disease in Antophospholipid Syndrome Dyson-Towson D e Branch DW in Levine SR e Brey RL (eds) Clinical Approach to Antiphospholipid Antibodies . Boston: Butterworth Heinemann , 2000 , pp 81-94
- 63) "Acquired Thrombophilias and Pregnancy" Khare M Nelson-Piercy C Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology , Vol 17 N° 3 , pp 491-507 , 2003