

Presentazione

Il COVID-19 (dall'acronimo inglese *CO*rona*V*irus *D*isease 19), ha causato, a partire dai primi mesi del 2020, un grandissimo numero di contagi nel mondo: oltre 770 milioni secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) a febbraio 2024. Di questi, oltre 7 milioni sono deceduti per complicanze a carico di quasi tutti gli organi, soprattutto del cuore, dei vasi sanguigni, del cervello e dei neuroni, nonché dei reni, del fegato e degli organi riproduttivi. I pazienti con COVID grave e critico possono presentare insufficienza polmonare grave con sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), insufficienza renale acuta, insufficienza cardiaca, disfunzione epatica. Dalla compromissione della funzionalità di questi organi derivano alterazioni di grado diverso di molti esami di laboratorio. La principale causa di mortalità nei pazienti con COVID-19 è l'insufficienza respiratoria da ARDS, tuttavia, i decessi derivanti da COVID-19 sono significativamente associati a lesioni vascolari e l'infezione da SARS-CoV-2 induce importanti cambiamenti in tutte le componenti del sistema emostatico (endotelio, piastrine, coagulazione e fibrinolisi).

Tali alterazioni fisiopatologiche determinano uno squilibrio del sistema emostatico in senso protrombotico e quindi generano trombosi arteriose e, principalmente, venose, soprattutto nei pazienti con sintomi gravi. Questi eventi trombotici si verificano più frequentemente nel polmone dove sono stati segnalati sia macro- che microtrombi, questi ultimi solitamente non rilevabili dalle tecniche di diagnostica per immagini, ma solo dall'autopsia *post-mortem*. Il COVID-19, analogamente ad altri agenti infettivi, è in grado di indurre nell'organismo infettato uno stato di sepsi che determina l'insorgenza della Sindrome da Risposta Infiammatoria Sistemica (SIRS) come risposta alla invasione di tessuti, fluidi o cavità corporee normalmente sterili. Le complesse interazioni tra il microrganismo infettante, il sistema immunitario dell'ospite, le risposte infiammatorie e il sistema dell'emostasi influenzano l'esito della sepsi, che ha un elevato tasso di mortalità, cinque volte superiore all'ictus e dieci volte all'infarto.

Numerose pubblicazioni a partire dal 2020 hanno messo ancora di più in evidenza come vi siano strette correlazioni non solo tra l'infiammazione e il sistema dell'emostasi ma anche con il sistema immunitario e il sistema del complemento.

Lo squilibrio protrombotico che si genera nei pazienti con manifestazioni gravi può determinare diversi stadi:

- alterazioni asintomatiche della coagulazione (CAC, *COVID Associated Coagulopathy*),
- alterazioni sintomatiche gravi legate allo stato settico (SIC, *Sepsis Induced Coagulopathy*),
- coagulazione intravascolare disseminata (IC), con un significativo aumento della mortalità.

Tra i parametri più indagati in corso di COVID-19, un posto di primo piano è sicuramente occupato dal D-dimero, che è un test molto utilizzato ma nello stesso tempo è un test impegnativo e non così banale. Contrariamente a quanto si pensa, esistono molte problematiche per questo test sia di tipo laboratoristico che clinico. La mancanza di standardizzazione comporta ampia variabilità tra i metodi e potenziale confusione nella interpretazione dei risultati.

Esistono numerosi metodi commerciali per il dosaggio del D-dimero; i test differiscono per l'epitopo del D-dimero bersaglio dell'anticorpo, per il metodo di cattura, per la strumentazione richiesta e per lo standard di calibrazione. Anche se i test ELISA ed ELFA sono considerati i metodi di riferimento per la loro elevata sensibilità, i test più utilizzati in laboratorio sono quelli che utilizzano particelle di lattice in vari formati e che sono completamente automatizzabili sui coagulometri. Revisioni sistematiche di studi che hanno valutato i test del D-dimero per la diagnosi di TEV hanno riportato sensibilità e specificità molto variabili, di conseguenza, i risultati del D-dimero nei vari studi clinici non possono essere confrontati tra di loro. Non è attualmente disponibile uno standard internazionale per la calibrazione di questi metodi, il che aumenta la variabilità tra i test. I risultati del D-dimero possono essere espressi con 2 diversi tipi di unità: unità D-dimero (D-DU) e unità equivalenti di fibrinogeno (FEU). Anche in questo caso, non esiste un tipo di unità standard e i test attualmente disponibili in commercio possono esprimere i risultati in D-DU o in FEU. Un ulteriore problema è rappresentato dalle varie unità di misura utilizzate per riportare i risultati. In definitiva solo con la conoscenza di questi problemi i laboratori saranno in grado di fornire risultati clinicamente utili.

Per quello che riguarda gli aspetti clinici è opportuno ricordare che la diagnosi di un evento trombotico acuto venoso (TEV) o embolia polmonare (EP) non deve essere limitato alla determinazione del D-dimero in quanto questo test possiede elevata sensibilità (98-100%) a seconda dei test utilizzati, ma bassa specificità (molto spesso inferiore al 50%). Il D-dimero deve essere utilizzato nell'ambito di protocolli diagnostici (*score*) che prevedono tre passaggi: valutazione della probabilità clinica di TVP o EP, sulla base dell'anamnesi e dell'esame fisico del paziente, dosaggio del D-dimero e studi di diagnostica per immagini che rappresentano il *gold standard* per queste patologie. Nel caso di pazienti di età >50 anni deve essere utilizzato un cut-off aggiustato per l'età. Il dosaggio del D-dimero, infine, è stato proposto anche per stratificare il rischio individuale di recidiva e rivalutare la durata della terapia.

Per la determinazione del D-dimero vengono utilizzati metodi immunometrici che, peraltro, trovano sempre maggiore impiego nella diagnostica dei disordini dell'emostasi. Numerosi parametri vengono determinati con questa metodologia: il dosaggio degli inibitori fisiologici della coagulazione, di alcuni fattori procoagulanti e di vari altri parametri ma il loro utilizzo è fondamentale soprattutto in tre patologie: la sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS), la trombocitopenia da eparina (HIT) e la porpora trombotica trombocitopenica (TTP). Nel caso della APS, per la determinazione degli anticorpi anticardiolipina e anti-beta2-glicoproteina I, trovano sempre più spazio metodi innovativi rispetto ai tradizionali metodi ELISA su micropiastra. Metodi in chemiluminescenza (CLIA), fluoroimmunoenzimatici (EliA) e immunofluorimetrici (MFI) sono oggi più frequentemente utilizzati

rispetto agli ELISA; inoltre, l'uso combinato di LIA e CLIA consente di raggiungere una sensibilità pari a quella dei saggi ELISA (99%) nell'approccio al paziente con sospetto di HIT, riducendo quindi la possibilità di falsi negativi. Inoltre, l'integrazione dei risultati dei due test rapidi con il pre-test clinico 4T score, consente di identificare con una specificità del 98% i pazienti con anticorpi anti-eparina/PF4 in grado di attivare le piastrine, riducendo quindi la necessità di eseguire un test di conferma della HIT in un numero significativo di pazienti.

Infine, per quello che riguarda la TTP è necessario ricordare che anche questa patologia, come la HIT, presenta una gravità variabile e richiede una diagnosi rapida. La patologia è determinata dalla carenza congenita o acquisita dell'enzima *ADAMTS13* (*A Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin type 1 repeats, member 13*), proteasi responsabile del taglio dei multimeri ad alto peso molecolare (ULVWF) del fattore di von Willebrand (VWF). Anche per questo parametro dell'emostasi, oltre alle tradizionali metodiche ELISA, sono state recentemente introdotte sul mercato una metodica CLIA completamente automatizzata ed una metodica FRET automatizzata su coagulometro che consentono il dosaggio di ADAMTS13 attività in tempi rapidi. Questo consente di raggiungere una maggiore standardizzazione nella sua determinazione e di poterlo introdurre in regime di urgenza.

Nella presente rassegna, i relatori dalla sessione svolta sull'argomento nel corso del 27 Simposio annuale di ELAS-Italia tenutosi a Bologna nel novembre 2022, e che ringraziamo per la squisita disponibilità, sviluppano i diversi aspetti clinici e laboratoristici e le relative criticità di utilizzo dei parametri coinvolti (e resi fondamentali proprio dall'evento pandemico) nei processi emostatici. Viene ribadita, e testimone ne è il titolo che gli autori hanno voluto dare alla monografia, l'aspetto fondamentale dell'interazione tra clinica e laboratorio nell'interpretazione e gestione degli esami di coagulazione con una particolare attenzione ad uno degli attori principali quale è appunto il D-dimero.

Benedetto Morelli
Coordinatore Gruppo di Studio Emostasi di SIBioC
Consulente Scientifico Emostasi e Trombosi SYNLAB ITALIA
Castenedolo (BS)