



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

SCUOLA DI MEDICINA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA TRASLAZIONALE

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in Medicina e Chirurgia

Tesi di Laurea

**Tromboelastografia come strumento predittivo di fallimento nella
Reversal Therapy in pazienti in terapia anticoagulante con
sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante**

Relatore:

Dott. Francesco Gavelli

Candidato:

Gabriele Faletti

Matricola 20020963

Anno Accademico 2023/2024

Sommario

INTRODUZIONE	4
Generalità sull'emostasi	4
Emostasi primaria e secondaria	6
I fattori della coagulazione	8
Via intrinseca	9
Via estrinseca.....	10
Via comune	11
Fibrinolisi e meccanismi di controllo della coagulazione.....	13
Terapia anticoagulante	15
Farmaci anticoagulanti.....	18
Complicanze emorragiche	25
Emorragia cerebrale associata a Warfarin	27
Punteggio HAS-BLED e rischio emorragico	27
<i>Reversal therapy</i>	28
<i>Reversal therapy</i> in pazienti trattati con Warfarin	28
<i>Reversal therapy</i> in pazienti in trattamento con DOACs.....	30
Tromboelastografia (TEG).....	34
Generalità sulla TEG	34
Funzionamento e parametri	35
Altri utilizzi	39
MATERIALI E METODI	43
Pazienti.....	43
Obiettivo dello studio	43
Criteri di inclusione, esclusione e protocollo	43
Tromboelastografia	45
Case report Form (CRF).....	46
Metodologia statistica	47
Numerosità campionaria	47
Analisi statistica	47
RISULTATI	49
DISCUSSIONE.....	56
CONCLUSIONI.....	59
BIBLIOGRAFIA.....	60
RINGRAZIAMENTI.....	64

INTRODUZIONE

Generalità sull'emostasi

L'emostasi è il processo fisiologico che permette l'arresto dell'emorragia. È un processo sofisticato, in equilibrio tra trombosi ed emorragia, comprendente fattori pro-coagulanti ed anticoagulanti. I fattori pro-emostatici favoriscono l'adesione e l'aggregazione piastrinica (emostasi primaria) e la formazione del coagulo di fibrina (emostasi secondaria). I fattori anti-emostatici sono gli inibitori naturali della coagulazione (PC, PS, AT) ed il sistema fibrinolitico. Ruolo non secondario in questo fine processo, è svolto dalla cellula endoteliale attraverso la produzione di fattori pro-emostatici ed anti-emostatici. Il danno endoteliale, infatti, rappresenta il punto di partenza di tutto il processo emostatico. I protagonisti principali dell'emostasi sono^{1,2}:

- 1) L'endotelio, vascolare e cardiaco;
- 2) Le piastrine ed i fattori della coagulazione, i quali agiscono sulla formazione del tappo piastrinico (emostasi primaria);
- 3) La cascata enzimatica emocoagulativa (emostasi secondaria);
- 4) Il sistema fibrinolitico

L'emostasi, intesa come processo finalizzato ad arrestare l'emorragia, è divisibile in tre componenti^{1,2}:

- 1) Emostasi primaria, a sua volta composta da:
 - a) vasocostrizione riflessa;
 - b) attivazione e adesione piastrinica;
 - c) formazione del tappo piastrinico.
- 2) Emostasi secondaria (o emocoagulazione) che, attraverso una complessa attivazione enzimatica a cascata, porta alla formazione del reticolo insolubile di fibrina.
- 3) Fibrinolisi che porta alla dissoluzione di fibrina e fibrinogeno riportando alla normalità il lume del vaso riparato.

A seguito di un danno tissutale, avviene quindi, l'attivazione del processo di emostasi, questo si attiva ogni volta che si verifica un'emorragia, ovvero là fuori uscita di sangue da un vaso. L'emostasi è l'insieme di processi e di meccanismi fisiologici deputati al mantenimento

dell'integrità vascolare e all'arresto di una emorragia è quindi un processo che limita la perdita ematica.

Il processo coinvolge varie componenti dei vasi sanguigni, usa tempi di reazione molto veloci, ma deve essere attivata solo quando serve, altrimenti ostacola gravemente la perfusione dei tessuti.

La risposta emostatica coinvolge^{1,2}:

- Vasi, tramite la contrazione della muscolatura vascolare, con conseguente riduzione del lume vasale e quindi rallentamento del flusso
- Cellule, con l'attivazione delle piastrine
- Proteine del plasma, che regolano la cascata coagulativa e i processi di fibrinolisi

Fasi della risposta emostatica:

1. Danno vasale
2. Risposta vascolare
3. Risposta piastrinica, formazione del tappo piastrinico
4. Attivazione della coagulazione, e formazione del coagulo
5. Fibrinolisi e riparazione

I fenomeni di aggregazione e di coagulazione sono autonomi, ma fisiologicamente sono interdipendenti. L'emostasi primaria permette la formazione del tappo piastrinico.

L'emostasi secondaria invece è il processo di coagulazione del sangue: costituisce una risposta addizionale all'emostasi primaria; infatti, il coagulo contribuisce alla stabilizzazione del tappo piastrinico formato dal processo di emostasi primaria². Il processo di coagulazione coinvolge proteine circolanti, che vengono attivate in cascata attraverso tagli proteolitici, questi tagli causano idrolisi parziale di queste proteine, creando un meccanismo di amplificazione: ogni proteina attivata va ad interagire ed attivare altre proteine; quindi, la cascata si espande in maniera esponenziale in modo da rendere il processo capace di rispondere in tempi brevi².

La cascata coagulativa è distinta in tre complessi:

- Via intrinseca
- Via estrinseca
- Via comune

Emostasi primaria e secondaria

L'emostasi primaria inizia quando avviene il danno all'endotelio ed è composta da una fase vascolare ed una piastrinica^{1,2}:

- Fase vascolare:

in seguito al danno vasale avviene la vasocostrizione riflessa che è mediata da:

- Risposta diretta delle fibrocellule muscolari lisce al trauma;
- Riflesso neurovegetativo mediato dai *vasa-nervorum*;
- Liberazione di fattori vasoattivi da parte delle cellule endoteliali stesse (quali l'endotelina-1) e dalle piastrine (quali la serotonina, l'ADP ed altre) contenute all'interno dei granuli densi, alfa e delta.

Questa fase, nella sua totalità, ha la funzione di minimizzare la quantità di sangue perso attraverso la lesione e di modulare il flusso stimolando l'attivazione piastrinica.

- Fase piastrinica (composta da attivazione ed aggregazione piastrinica)^{3,4}:

- Attivazione: Con il danno endoteliale vengono esposti al lume vascolare ed ai componenti ematici il collagene sub-endoteliale ed i suoi proteoglicani che si legano a determinati recettori piastrinici (adesine). Il legame avviene inizialmente tra collagene sub-endoteliale ed il recettore glico-proteico GpIa-IIa (un'integrina di membrana) presente sulla membrana piastrinica; questo legame viene poi stabilizzato dal complesso formato dal *von Willebrand factor* (vWf) (di sintesi prevalentemente endoteliale) con la glicoproteina GpIb-IX (il vWf fa da ponte tra la GpIb ed il subendotelio) ed altre adesine tra cui trombospondina, fibronectina. La GpIb ha una subunità alfa ed una beta ma è solo la subunità alfa quella responsabile del legame con il vWf. L'interazione tra recettori piastrinici ed il subendotelio e tra piastrine e fattori pro-aggreganti solubili porta all'attivazione piastrinica. Questa comprende alterazioni morfo-funzionali che, dalla classica forma discoidale delle piastrine circolanti in riposo funzionale, le converte in una forma irregolare e sferoidale con pseudopodi sempre più lunghi atti a favorire il contatto tra piastrine vicine, processo ATP mediato ed avviene tramite le varie componenti citoscheletriche intracellulari (microtubuli, filamenti sottili e filamenti intermedi).

In seguito, avviene la liberazione dei granuli densi, alfa e delta contenenti sostanze in grado di mantenere ed amplificare i processi di attivazione ed

aggregazione piastrinica, in particolare ADP, ioni Ca^{2+} , serotonina, trombospondina (TSP) ed altri agonisti dell'aggregazione. I granuli piastrinici sono classificati in:

- Granuli alfa contenenti il fattore piastrinico 4 (PAF-4), FV, FXIII, fibrinogeno, vWf e diversi growth factors (GF);
- Granuli densi contenenti ioni Ca^{2+} , ADP e serotonina;
- Granuli gamma contenenti idrolasi lisosomiali e perossisomiali.

Tra questi fattori (ad esempio ADP, serotonina) alcuni hanno attività stimolante sulle piastrine, mentre altri come PAF-4 hanno effetto opposto. Il danno endoteliale stesso e lo stress tessutale associato fa liberare alle cellule endoteliali fattori attivanti le piastrine quali ADP ed epinefrina. Molti di questi processi portano le piastrine all'esposizione di acido arachidonico (AA) e fosfolipidi di membrana che, in seguito a processi fosfolipasi dipendenti (fosfolipasi A2 e C) attivati da proteine G (a sette eliche trans-membrana) che a loro volta generano diacilglicerolo (DAG) ed inositolo-3-fosfato (IP3), sono i mediatori intracellulari necessari per la liberazione dei granuli piastrinici. L'acido arachidonico stesso diventa substrato degli enzimi ciclo-ossigenasi (COX-1) e trombossano-sintetasi formando mediatori infiammatori quali trombossani (TXA₂), prostaglandine (PG) e prostacicline (PC). L'attivazione della fosfolipasi A2 (PLA₂) porta alla liberazione di acido arachidonico (AA) dalla membrana cellulare piastrinica per azione sequenziale di ciclossigenasi, lipossigenasi e trombossano sintetasi. L'attivazione di questi enzimi termina con la formazione dei mediatori ultimi, tra cui il trombossano A₂ (TXA₂), che è il più potente agonista dell'aggregazione piastrinica noto (stimolando l'esposizione, sulla membrana piastrinica, della GpIIb-IIIa) ed è implicato anche nella vasocostrizione riflessa del vaso leso. L'attivazione di una piastrina stimola ed amplifica, così, l'attivazione e l'adesione delle piastrine adiacenti e molti dei fattori solubili liberati agiscono stimolando anche l'emostasi secondaria.

- Aggregazione: una volta attivate le piastrine si legano tra loro tramite il legame della GpIIb-IIIa ed il recettore del fibrinogeno; questo legame tra due glicoproteine di due piastrine diverse ed un'unica molecola di fibrinogeno è stabilizzato dalla TSP. L'aggregazione è divisa in due parti: primaria, che è reversibile, e secondaria in cui il legame tra piastrine diventa impermeabile ed irreversibile. Sull'aggregazione piastrinica agisce un delicato equilibrio tra

fattori pro-aggreganti ed anti-aggreganti regolato soprattutto dagli eicosanoidi: prostaglandine (PG), tromboxani (TXA₂) e prostaciline (PGI₂); le prime due classi di molecole sono pro-aggreganti e vasocostrittori, mentre l'ultima classe è anti-aggregante e vaso-dilatante.

L'emostasi secondaria è una complessa sequenza di reazioni enzimatiche a catena atte a trasformare il Fibrinogeno (FI o Fib) in Fibrina (FIa) formando, così, un reticolo contenente più elementi cellulari del sangue: il tappo emostatico². La maggior parte dei fattori della coagulazione sono sintetizzati a livello epatico e sono dei proenzimi con attività serino-proteasica ad attivazione sequenziale a cascata, che ne impedisce un'attivazione impropria. La cascata coagulativa comprende una via intrinseca ed una estrinseca che sono parzialmente separate per fattori e modalità di attivazione e sono convergenti su una via finale comune. Molti di questi proenzimi sono caratterizzati dalla presenza di un dominio ricco in acido gamma-carbossi-glutammico che deriva dalla carbossilazione in posizione gamma del glutammato, reazione vitamina K (1-4naftochinone) dipendente. I fattori vitamina K dipendenti sono il FII, FVII, FIX, FX, PC e PS^{1,2}.

I fattori della coagulazione

Sono indicati con un numero romano e alcuni hanno ricevuto anche specifici nomi, si possono usare entrambe le denominazioni. Sono proteine plasmatiche presenti in concentrazioni molto varie, hanno un peso molecolare variabile e l'emivita è variabile, generalmente bassa, per gestire al meglio la loro attività, sono quindi continuamente sintetizzate e degradate. Queste proteine sono prodotte dal fegato, dall'endotelio dei vasi sanguigni o dalle piastrine (solo il fattore VIII). Molte di queste proteine hanno la caratteristica di avere gruppi gamma-carbossilici a livello della loro estremità amino-terminale; la gamma carbossilazione dei residui di acido aspartico e acido glutammico dei fattori della coagulazione costituisce una caratteristica fondamentale per queste molecole per poter legare il calcio^{1,2}.

Attraverso il calcio i fattori della coagulazione possono legarsi alle superfici fosfolipidiche, su cui avvengono la maggior parte delle reazioni coagulative, risulta quindi un cofattore fondamentale per l'attività di molti fattori della coagulazione.

Questa caratteristica permette di rendere il sangue reversibilmente incoagulabile tramite la privazione di calcio, tecnica utilizzata in laboratorio: si usano sostanze anticoagulanti che, come effetto, hanno la chelazione del calcio (alcuni esempi sono il citrato o l'ossalato), per revertire poi il processo basta aggiungere calcio e la coagulazione ritorna possibile.

Le gamma-carbossilasi sono dipendenti o, meglio, hanno come cofattore la vitamina K. La sua carenza è rara, in terapia si utilizzano antagonisti della vitamina K: i cumarinici (un esempio è il coumadin), detti anche TAO (terapia anticoagulante orale), questi sono usati come anticoagulanti perché agiscono come antagonisti della vitamina K, bloccando la gamma carbossilazione dei fattori della coagulazione⁵.

Problemi della coagulazione possono derivare quindi da problemi epatici, intossicazione da sostanze, ad esempio cumarinici, comunemente utilizzati anche come pesticidi o da difetti genetici, ad esempio le emofilie: l'emofilia A è un deficit del fattore VIII, la B è un deficit di fattore IX, sono le forme più comuni e gravi di disordini ereditari. Si tratta di deficit ereditari legati al cromosoma X e pertanto coinvolgono prevalentemente individui di sesso maschile mentre le donne sono di solito portatrici asintomatiche.

Via intrinseca

La sua attivazione è determinata dal rilascio da parte dei tessuti di *tissue factor*^{1,2} (TF), rilasciato dall'endotelio danneggiato o attivato dal tessuto connettivo o dalle piastrine attive.

Il TF è un segnale di attivazione specifico della via estrinseca: si combina con il fattore VII attivandolo, in presenza di fattore VII attivato è sempre necessaria la presenza di calcio e fosfolipidi (tromboplastina: indica che in vitro si usano fosfolipidi. Il TF non va confuso con la tromboplastina, che è infatti un estratto tissutale composto quasi esclusivamente dal fattore tissutale e da fosfolipidi anionici. Esistono diverse tromboplastine in commercio, che differiscono in termini di attività pro-coagulante, sono comunemente utilizzate in laboratorio per effettuare test di screening dell'emostasi).

In presenza di calcio e fosfolipidi il TF è in grado di attivare direttamente il fattore X a fattore X attivo. Il fattore X attivo, quindi, si combina con fattore V per attivare la protrombina e formare fibrina² [utilizzando il fibrinogeno]. Il fattore VII richiede solo TF per la sua attivazione: quindi la via estrinseca risponde molto rapidamente al danno tissutale.

La stimolazione di rilascio di TF può essere innescata da stimoli diversi oltre che dall'attivazione di endotelio e piastrine, alcuni esempi sono:

- immunocomplessi circolanti
- fattori del complemento come c3b e c5a
- alcune endotossine batteriche
- la fagocitosi di batteri
- l'interazione di cellule con superfici cariche

Questi meccanismi sono una via di interazione tra cascata coagulativa e risposta infiammatoria: quando si attiva l'infiammazione, abbiamo sempre un certo coinvolgimento della cascata coagulativa; il rilascio di TF è proprio un meccanismo fondamentale per questa interazione tra i due meccanismi.

Inoltre, va ricordato che, le piastrine quando vengono attivate liberano dai loro granuli fattore V già attivato, questo viene internalizzato e attivato, in modo che possa essere facilmente liberato. Viene rilasciato anche TF, liberato dai granuli alfa con le microparticelle. Le piastrine sono anche in grado di sintetizzare de novo TF. In questi modi le piastrine attivate supportano l'attività dei fattori della coagulazione (vedi figura 1).

Via estrinseca

La sua attivazione può essere innescata anche se i tessuti non sono danneggiati e non sono attivati. Infatti, se una goccia di sangue cade su un tavolo nel giro di pochi minuti coagula irreversibilmente. In questo caso non sono coinvolte piastrine attivate, ma è la via intrinseca che attiva la cascata coagulativa. Questa via dimostra che il processo coagulativo può avvenire anche senza TF, ma se presente il processo avviene molto più velocemente, si parla di attivazione da contatto. La via intrinseca si basa infatti sull'interazione di proteine plasmatiche (fattore XII) e superfici cariche come l'endotelio o il collagene^{1,2}. Il meccanismo prevede che, le interazioni di carica cambino la forma del fattore XII, esponendo il suo sito attivo; il fattore XII ha bisogno di interagire con il chinogeno ad alto peso molecolare (HMWK) per poter agire, il fattore XII dunque attiva la precallicreina (PK) a callicreina (K); la callicreina è una proteasi che agisce sul fattore XII attivandolo, in più agisce su HMWK per liberare le chinine. Tutte queste trasformazioni avvengono tramite tagli proteolitici: si tagliano reciprocamente generando le forme attive, inoltre, questi tagli permettono di regolare il processo. Il fattore XII attivato attiva il fattore XI, che a sua volta diverrà fattore XI attivato; questo, attiva il fattore IX, in questo processo si ha bisogno di calcio e l'interazione con i fosfolipidi. Il fattore IX attivato attiva il fattore VIII, sempre in presenza di calcio e fosfolipidi; fattore VIII si lega al FVW. Il FVW permette di fissare il fattore VIII sul collagene e sulle piastrine, permettendo una più facile attivazione di fattore VIII. A questo punto di forma un complesso, formato da: fattore VIII, fattore IX, fattore VII (il fattore VII si occupa di stabilizzare l'intero complesso), TF, calcio e fosfolipidi; questo complesso può attivare il fattore X, proseguendo poi con la via comune. Questi sono eventi che accadono insieme come un intero complesso, quindi, vicino è già presente il fattore V (vedi figura 1). In generale la vicinanza fisica di tutti i fattori funge da fattore di regolazione per mantenere attiva la cascata ed è anche un bersaglio per bloccare

l'intero processo. Nei tessuti l'emostasi deve essere un processo il più rapido possibile, avviene nell'arco di secondi, ognuna di queste interazioni serve per velocizzare il processo.

Via comune

Questa è l'ultima fase: il fattore X attivato dalla via intrinseca o estrinseca va ad attivare la protrombina in trombina, l'enzima chiave della cascata coagulativa^{1,2}. La trombina effettua due tagli sul fibrinogeno, formando fibrina; questa a sua volta polimerizza formando le reti di fibrina facenti parte del coagulo.

Il fattore I è detto anche fibrinogeno: è il più abbondante tra i fattori della coagulazione, pesa 341 kDa, ed è costituito da 3 catene alfa, beta e gamma unite da ponti di solfuro.

Gran parte del fibrinogeno circola nel plasma ed è una proteina di fase acuta; quindi, aumenta quando viene consumato dalle risposte infiammatorie. Viene sintetizzato dal fegato, ma lo troviamo anche nei granuli alfa delle piastrine (liberato durante la degranolazione), si lega sui suoi recettori presenti sulle piastrine favorendo l'aggregazione piastrinica. Durante l'azione proteolitica della trombina, dal fibrinogeno si liberano i fibrinopeptidi alfa (FPA) e beta (FPB) localizzati all'estremità della fibrina. I prodotti di degradazione della fibrina sono importanti perché competono con i siti attivi della trombina inibendola, così si legano al posto del fibrinogeno e ne riducono la conversione in fibrina. Questi prodotti di degradazione agiscono anche come fattori chemiotattici per macrofagi e fibroblasti per l'innescamento di processi riparativi. Tra questi ricordiamo il d-dimero, molto importante nella pratica clinica, viene usato per valutare se c'è o meno un'enorme attivazione di fibrinolisi.

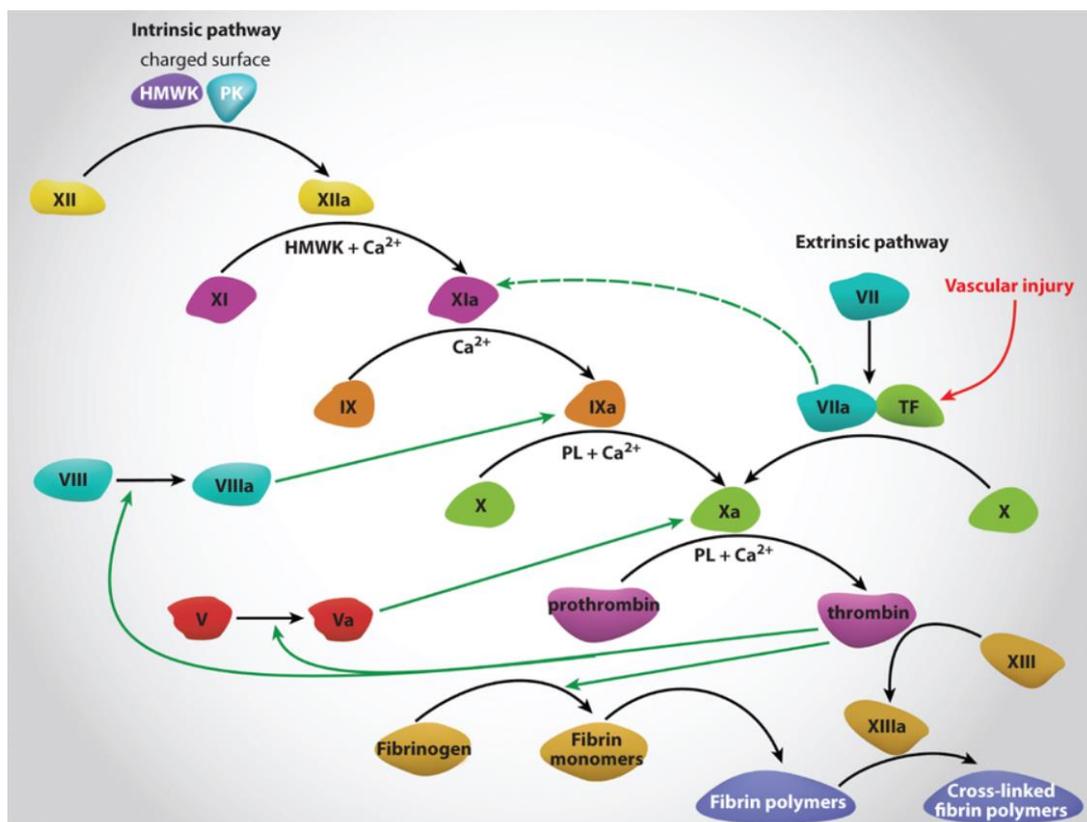
Il fattore II, detto anche trombina, ha un'emivita relativamente breve durante la cascata coagulativa (un altro dei meccanismi di regolazione del processo coagulativo). La formazione di trombina da protrombina è mediata dal fattore X attivato e dal fattore V attivato (detto anche proaccelerina), questi due formano un complesso che si lega ai fosfolipidi, in presenza di calcio.

Il fattore V viene detto anche proaccelerina ed è il fattore coagulativo che ha peso molecolare più grande. È secreto dalle piastrine e dal fegato, nella sua forma inattiva; solo le piastrine sono in grado di secernere fattore V già attivato. La sua conversione a fattore V attivato avviene ad opera della trombina. Quando attivato si lega alla superficie dei fosfolipidi e lega il fattore X attivato, questo complesso lega successivamente la protrombina per formare trombina. Il legame del fattore V, serve a potenziare l'attività del fattore X, è poi il fattore X che converte la protrombina in trombina. Quindi il fattore X per poter funzionare richiede: calcio, fosfolipidi, fattore V e protrombina².

Questo è un altro meccanismo di regolazione del sistema, in quanto piccole quantità di protrombina possono attivarsi per azione di altre proteasi, ma se non si forma il complesso fattore X e V, l'attivazione della protrombina è meno efficace e quindi la probabilità di attivare l'intera cascata coagulativa è minore.

Il complesso fattore X e V è la chiave per la regolazione della via comune, e della amplificazione nella generazione di fibrina a partire da fibrinogeno, dunque, deve essere strettamente regolato.

L'attività dei fattori di coagulazione è tale da riuscire a trasformare in pochi secondi l'intero fibrinogeno in fibrina nell'intero organismo, quindi, la cascata coagulativa deve essere strettamente regolata in maniera da produrre solo la fibrina che serve per l'emostasi. La fibrina una volta formata polimerizza spontaneamente. forma una rete, la cui resistenza meccanica viene aumentata e stabilizzata dal fattore XIII o trans-glutamminasi: questo fattore forma legami trasversali tra i residui di glutammina delle fibrine, questi legami rendono la rete di fibrina più solida. L'attivazione del fattore XIII avviene contemporaneamente all'attivazione della fibrina (vedi figura 1).



“Figura 1 – Cascata coagulativa²”

Fibrinolisi e meccanismi di controllo della coagulazione

I meccanismi di controllo della cascata coagulativa potremmo dividerli in due gruppi^{1,2}:

1. Il primo che potremmo definire come proprietà intrinseche dei fattori, ovvero il fatto che i vari fattori necessitano di interazioni fisiche tra i singoli costituenti per essere attivati; quindi, la vicinanza tra i vari fattori è importante. In aggiunta c'è anche la breve emivita delle proteasi coinvolte.
2. Il secondo invece può essere costituito da regolazioni specifiche: queste si attivano contemporaneamente coi meccanismi che innescano il processo, e ne modulano l'attività. Il sistema però deve poter essere bloccato in qualunque momento perché la coagulazione deve avvenire solamente dove c'è il danno. Questi sono:
 - a. Inibitore del TF, agisce: per quanto riguarda la via estrinseca direttamente sul fattore VII, in questo modo non si può legare al TF; questo legame è necessario per l'attivazione di fattore VII. Questo è uno dei principali inibitori della via estrinseca. Per quanto riguarda la via intrinseca, l'inibizione avviene indirettamente, perché bloccando l'attivazione del fattore VII, questo non svolgerà la sua azione stabilizzatrice del complesso formato dai fattori VIII, IX, VII, TF in presenza di calcio e fosfolipidi.
 - b. Sistema della proteina C e proteina S: la proteina C attivata insieme alla proteina S, un suo coattivatore forma un complesso con il 'recettore endoteliale della proteina C' o EPCR; questo complesso taglia proteoliticamente il fattore V attivato bloccando la generazione di fattore X attivo e l'attivazione di trombina da parte di fattore V e X. Blocca anche il fattore VIII attivato facendogli perdere la funzione. Questo meccanismo costituisce la principale via di regolazione dell'innescamento della via comune perché il complesso fattore V e VIII attivati è il regolatore della conversione in trombina, qualunque sia il meccanismo d'innescamento. La trombina attiva per taglio proteolitico la proteina C; questo taglio è favorito da trombomodulina (proteina di membrana endoteliale), che aumenta l'efficienza della catalisi con cui la trombina forma proteina C attiva. Normalmente la trombina ha forte affinità per il fibrinogeno, in questo senso dunque la trombina ha attività 'procoagulante', però se la trombina lega la trombomodulina cambia specificità di substrato, invece di legare il fibrinogeno lega la proteina C tagliandola e quindi attivandola, in questo senso ha dunque attività 'anticoagulante' (viene definita retroinibizione della cascata

coagulativa). La proteina C agisce in presenza di calcio e fosfolipidi. Altri fattori in grado di modulare il complesso proteina C ed S sono il fattore C4beta e la proteina legante il C4beta; questi, modulano questo complesso agendo sulla proteina S. Grazie alla formazione di questi complessi si disattiva quindi il sistema che genera trombina: così si regola la quantità di trombina che viene continuamente prodotta. Proteina C e proteina S sono importanti nel regolare la cascata coagulativa in molte sindromi protrombotiche, in queste si osserva una disregolazione di questo sistema. Ad esempio, nella mutazione del fattore V (detta mutazione di Leiden), comune nella popolazione caucasica ed è un fattore di rischio per le trombosi. Consiste nel fatto che un'arginina è sostituita da una glutammina; questo fa sì che il fattore V non diventi più aggredibile dalla proteina C; L'attività della proteina S sul fattore VIII resta invece inalterata.

- c. Antiproteasi: il sistema proteasico è comune a coagulazione e sistema fibrinolitico, quindi, hanno regolatori comuni che sono le antiproteasi. Queste inattivano gruppi di proteasi, in questo caso possono essere aspecifiche o specifiche proteasi. Tra queste antiproteasi troviamo:
- i. Alfa1-antitripsina (blocca la tripsina) e alfa1-antichimotripsina queste antiproteasi sono aspecifiche, cioè, attaccano diversi tipi di proteasi.
 - ii. Antitrombina 3, è specifica e agisce sulle serino-proteasi come i fattori della coagulazione. L'antitrombina 3 è un inibitore di tutti i fattori della coagulazione con attività serino-proteasica, in particolare inibisce la trombina; si lega al sito attivo delle serino-proteasi e lo blocca, formando un complesso molecolare. L'antitrombina 3 è un enzima plasmatico prodotto da fegato e rilasciato in circolo, in condizioni basali è molto debole, la sua azione viene aumentata dall'interazione con sostanze come eparansolfati o eparina, presenti nella ECM o rilasciati dai basofili e mastociti. L'eparina è un equivalente degli eparansolfati; queste sostanze attivano quindi l'antitrombina 3 rendendola capace di bloccare l'attività dei fattori della coagulazione. L'eparina è usata come anticoagulante, la sua azione è proprio legata al fatto che attiva l'antitrombina 3.

Il sistema della fibrinolisi invece è un meccanismo di regolazione della coagulazione che permette la demolizione delle reti di fibrina e del coagulo, ma è anche un meccanismo con cui

le reti di fibrina sono rimosse durante i processi di riparazione tissutale. La degradazione della fibrina viene innescata insieme ai processi di coagulazione, ma durante i processi di coagulazione si genera così tanta fibrina che comunque una quota riesce ad agire. Più la concentrazione dei fattori della coagulazione si riduce, più l'azione dei processi di fibrinolisi diventa più importante per rimuovere il coagulo quando questo non è più necessario, in questo modo è possibile ripristinare il flusso sanguigno. La fibrinolisi coinvolge la generazione di una proteasi specifica detta plasmina, generata a partire dal plasminogeno, suo precursore inattivo: il plasminogeno si lega spontaneamente alle reti di fibrina, questo legame ne facilita la conversione a plasmina mediante taglio proteolitico operato dall'attivatore tissutale del plasminogeno o TPA, oppure dall'urochinasi o UPA (queste due proteine sono secrete dall'endotelio). Anche le proteasi coinvolte nella cascata coagulativa sono in grado di attivare il plasminogeno a plasmina. La plasmina prodotta da questi processi contribuisce anche ad altri effetti oltre che a degradare la fibrina, infatti attiva la cascata delle chinine e attiva il complemento per taglio proteolitico.

L'attività della plasmina è modulata da antiproteasi che sono: l'antiplasmina, il fattore XII stimola la produzione di antiplasmina, antitripsina e antichimotripsina. La plasmina ha anche un inibitore specifico secreto dalle cellule endoteliali che è l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno o PAI, principale antagonista della formazione della plasmina. L'endotelio attivato libera sia TPA che PAI, questi bilanciando la loro attività, modulano l'attività della fibrina. Tutto questo serve a regolare la quantità di plasmina formata e quindi modulare la degradazione della rete di fibrina impedendo che si formino aggregati di fibrina in maniera incontrollata all'interno dei vasi.

Terapia anticoagulante

La terapia anticoagulante è un trattamento medico che ha lo scopo di rallentare la normale coagulazione del sangue. La terapia anticoagulante, sia essa per via orale o sottocutanea deve evitare che si formino coaguli, mantenere il sangue fluido ed evitare che la persona vada incontro a complicanze trombotiche. Questo tipo di trattamento però predispone i pazienti che ne fanno uso ad un aumentato rischio di sanguinamenti e complicanze emorragiche, a seconda del tipo di anticoagulante con cui sono in terapia; tuttavia, la complicanza emorragica risulta essere più semplice da gestire rispetto alla complicanza trombotica.

La terapia anticoagulante è indicata, in linea generale, in tutti quei pazienti che sono a rischio di formare trombi o coaguli, a causa di una patologia preesistente o delle condizioni cliniche momentanee in cui si trovano.

Le principali indicazioni per l'utilizzo della terapia anticoagulante sono^{6,7}:

- Profilassi del tromboembolismo venoso: situazione in cui la persona per un determinato periodo di tempo necessita di allettamento, o comunque avrà una mobilità ridotta. Fra le situazioni più comuni ci sono le fratture agli arti inferiori, interventi agli arti inferiori e l'allettamento cronico.
- Trombosi venosa profonda (TVP): formazione di un coagulo che va ad occludere un vaso venoso di un arto, tipicamente avviene a livello degli arti inferiori, ma raramente può accadere anche negli arti superiori; tutto ciò comporta un ridotto flusso ematico all'arto stesso. Il trattamento anticoagulante è necessario al fine dello scioglimento del trombo e del ripristino del normale flusso ematico oltre che a scongiurare il rischio di embolia polmonare.
- Fibrillazione atriale: patologia frequente, caratterizzata da una contrazione cardiaca irregolare dove gli atri non si contraggono ma tremano; questa situazione predispone alla stasi ematica e quindi all'aumentato rischio di formazione di coaguli.
- Valvulopatie, cardiomiopatia dilatativa, protesi valvolari, infarto: sono tutte patologie ad alto rischio di coagulopatia.

Esistono inoltre dei punteggi che possono essere consultati per decidere se effettuare terapia anticoagulante in alcuni pazienti, un esempio è il punteggio CHADS2-VASc: un acronimo che sta per *Congesture heart failure, Hypertension, Age, Diabetes, Stroke, Vascular disease, Sex category*. Questo punteggio serve a stratificare il rischio di ictus nei pazienti affetti da fibrillazione atriale, ampiamente utilizzato dai cardiologi, a cui ogni voce

corrisponde un punteggio, la somma totale poi definisce la probabilità di ictus, come illustrato nella tabella sottostante (Tabella 1).

Risk Factors	Score	CHA ₂ DS ₂ -VASc score	Stroke Risk per Year
Congestive Heart Failure/LV dysfunction	1	0	0%
		1	1.3%
Hypertension	1	2	2.2%
Age ≥ 75 years	2	3	3.2%
Diabetes Mellitus	1	4	4.0%
Stroke/TIA/Thromboembolism	2	5	6.7%
Vascular Disease	1	6	9.8%
Age 65 – 74	1	7	9.6%
Female	1	8	6.7%
Total	9	9	15.2%

“**Tabella 1** – Punteggio CHADS₂-VASc ⁶”

I criteri per poi decidere se effettuare terapia anticoagulante si basano sui vari punteggi del paziente e sulla patologia da cui è affetto, come riportato nella seguente tabella (Tabella 2):

Indicazioni alla terapia anticoagulante orale.

FA	Terapia raccomandata
FA valvolare	-
	VKA con range INR 2-3
FA non valvolare	< 65 anni
	Nessuna terapia antitrombotica
	CHA ₂ DS ₂ VASc = 0
	Nessuna terapia antitrombotica
	CHA ₂ DS ₂ VASc ≥ 1
	VKA con range 2-3 oppure NAO (dabigatran o apixaban)
	CHA ₂ DS ₂ VASc ≥ 3
	VKA con range 2-3 oppure NAO (dabigatran, apixaban o rivaroxaban)

FA: fibrillazione atriale; NAO: nuovi anticoagulanti orali; VKA: antagonisti della vitamina K; INR: *International Normalized Ratio*.

“**Tabella 2** – Indicazioni alla terapia anticoagulante orale ⁶”

Farmaci anticoagulanti

Antagonisti della Vitamina K

All'inizio del secolo scorso i primi derivati cumarinici furono isolati dal meliloto (*Melilotus officinalis*, detto anche erba vetturina gialla); le sue proprietà furono scoperte per caso nell'inverno del 1933, quando questo trifoglio fermentato fu dato come foraggio per il bestiame; questo causò un'epidemia di malattia emorragica nei bovini del Wisconsin⁵. Utilizzati inizialmente come rodenticidi, questi composti furono infine testati su esseri umani affetti da condizioni protrombotiche, dopo che il presidente Eisenhower, colpito da trombosi, richiese di essere curato con il farmaco antitrombotico più potente in quel momento: il warfarin, appunto, che (nonostante le scarse conoscenze sulla posologia di questa molecola) riuscì nell'intento di guarire il Presidente Americano guadagnandosi così la notorietà.

Il warfarin, conosciuto anche con il nome commerciale di Coumadin è un antagonista della vitamina K⁵, il suo meccanismo si esplica impedendo la sintesi delle forme biologicamente attive dei fattori di coagulazione II, VII, IX e X dipendenti da calcio e vitamina K, nonché dei fattori di regolazione come la proteica C ed S^{8,9}. Questi fattori poter divenire attivi devono subire delle modificazioni post-traduzionali che consistono nella carbossilazione di alcuni residui di acido glutammico, al fine di generare l'acido γ -carbossiglutammico¹⁰ (vedi figura 2). La vitamina K, durante la reazione di carbossilazione, fissa e poi cede la molecola di CO₂, viene trasformata in vitamina K epossido che viene poi riconvertita dall'enzima vitamina K epossido riduttasi nella forma precedente. Questo enzima è il bersaglio dell'azione del warfarin, il quale ne determina l'inibizione. Affinché compaiano gli effetti anticoagulanti del farmaco, è necessario che il pool della vitamina K venga in buona parte trasformato in epossido. Solo allora, infatti, i fattori della coagulazione prodotti non verranno resi attivi e non saranno in grado di esplicare la propria azione. Inoltre alcuni fattori della coagulazione hanno un'emivita di alcuni giorni: si dovrà attendere che vengano naturalmente consumati o degradati per raggiungere un'azione farmacologica completa. È per tali ragioni che gli effetti del farmaco incominciano a comparire dopo 8-12 ore dall'assunzione e raggiungono il massimo effetto dopo 48-72 ore⁸.

Il coumadin è commercializzato in compresse divisibili da 5mg, la dose deve essere stabilita in base al valore di INR (a seconda della patologia del paziente, il range può variare), che tendenzialmente deve essere compreso tra due e tre. In questo tipo di terapia compare anche il concetto di Time in Therapeutic Range (TTR): ovvero il tempo, espresso in percentuale, in cui il paziente si trova nel range di INR terapeutico. Rappresenta la percentuale di tempo in cui il

trattamento ha l'effetto desiderato. Nella pratica clinica è stato visto che solo il 40% dei pazienti in TAO presenta INR in range per oltre il 70% del tempo di trattamento.

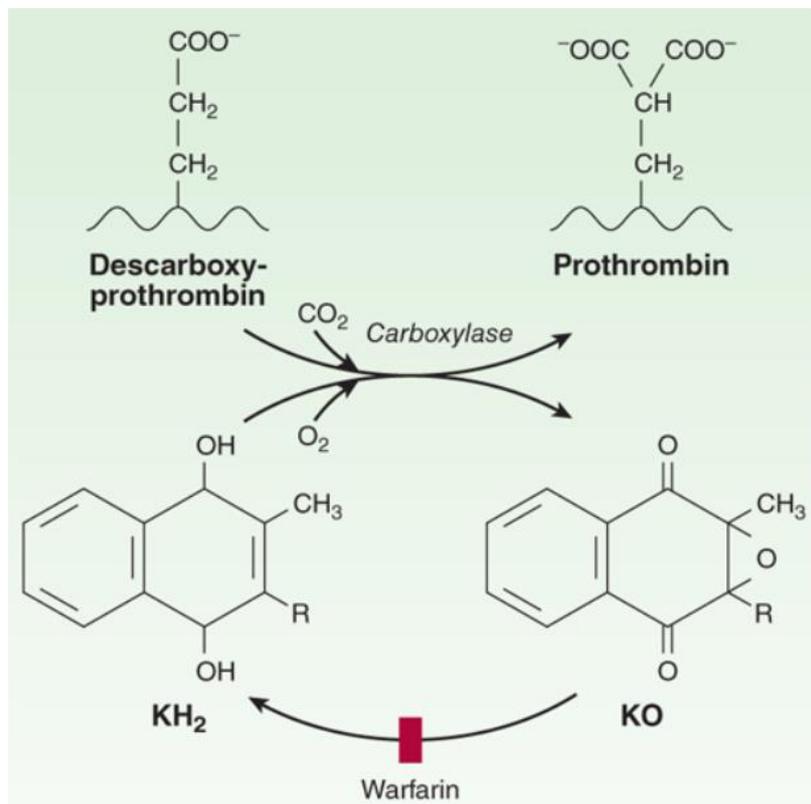
Il warfarin dopo essere stato assunto viene assorbito in maniera completa e rapida. Tale processo viene rallentato dalla contemporanea assunzione di cibo ma non ne viene sostanzialmente compromesso. Una volta in circolo, il farmaco si lega all'albumina per il 97%. Il warfarin è in grado di oltrepassare la placenta.

È presente sotto forma di due enantiomeri (S e R), di cui il primo presenta un'attività anticoagulante maggiore del secondo. I due enantiomeri vengono metabolizzati da due diversi citocromi, isoenzimi del citocromo P450: il CYP2C9, che si occupa del S-warfarin e il CYP3A4, che si occupa di quello R. Tali isoenzimi determinano la produzione di metaboliti inattivi che vengono coniugati con acido glucuronico a livello epatico ed eliminati nelle feci e nelle urine. L'isomero S-warfarin è 2-5 volte più potente dell'isomero R nel produrre una risposta anticoagulante.

Il trattamento con warfarin ha un'elevata latenza di azione, il farmaco inoltre, presenta una lunga emivita (circa quaranta ore), quindi ha una prolungata coda d'azione dopo la sua sospensione¹¹. Risente anche dell'interazione con svariati cibi, farmaci (associati alla sua metabolizzazione) e alcol.

L'effetto avverso più comune è l'emorragia, dalle più piccole alle più grandi¹¹. Nel caso di sanguinamenti minori è sufficiente sospendere l'assunzione del farmaco, nei casi più gravi può essere necessaria una reversal therapy, fino all'intervento di embolizzazione da parte del radiologo interventista o tramite intervento chirurgico¹¹.

Altre possibili complicanze della terapia con warfarin possono essere necrosi della cute, o di altri tessuti, ateroemboli sistemici e microemboli di colesterolo.



“Figura 2 – Meccanismo d’azione della vitamina K⁵”

Anticoagulanti orali diretti (DOACs)

Anticoagulanti orali diretti o DOACs (dall'inglese *direct-acting oral anticoagulants*), detti anche NOAC (dall'inglese *Non-vitamin K oral anticoagulants*) e precedentemente denominati nuovi anticoagulanti orali o NAO, sono una classe di farmaci anticoagulanti diversi da quelli tradizionali (eparina e warfarin) perché agiscono direttamente sui fattori della coagulazione: fattore II, detto anche trombina e il fattore Xa.

Il primo inibitore naturale del fattore X fu trovato da Spellman et al. nel 1971; nel 1987 Tuszynski et al. scoprono un inibitore (antistasina) nella sanguisuga messicana (*Haementeria officinalis*). Successivamente, fu trovata un'altra molecola inibitrice in un estratto di zecca (*Ornithodoros moubata*). Negli ultimi decenni il loro utilizzo è aumentato, andandosi a sostituire alla tradizionale terapia anticoagulante con Warfarin, affermandosi come valida se non migliore alternativa^{12,13}.

Il vantaggio di questi nuovi farmaci è la loro minor probabilità di dare effetti avversi emorragici, dovuta alla loro proprietà¹³:

- azione mirata

- breve latenza di azione
- emivita breve
- non vengono metabolizzati dal citocromo P450, quindi hanno molte meno interazioni con altri farmaci, e tutte quelle possibili sono note e prevedibili
- ottima correlazione dose/effetto
- non necessitano del controllo dell'INR

Queste caratteristiche rendono i DOACs più “maneggevoli” da punto di vista clinico. Il loro impiego è associato alla prevenzione di ictus e embolia sistemica in pazienti con fibrillazione atriale non valvolare, con uno o più fattori di rischio, trattamento della TVP e dell'embolia polmonare.

In generale si dividono in due gruppi^{6,12,14}:

1. Inibitori diretti del fattore Xa, questi sono: Rivaroxaban (Xarelto), Apixaban (Eliquis), Edoxaban (Lixiana). Il meccanismo di azione è l'inibizione diretta e molto selettiva del fattore Xa. Essi bloccano la trasformazione della protrombina II in trombina II attivata. L'inibizione del fattore Xa causata dalla molecola blocca contemporaneamente la via intrinseca e la via estrinseca della cascata della coagulazione. In tal modo viene inibita sia la formazione di trombina, sia lo sviluppo di trombi. Queste molecole non necessitano dell'antitrombina III per svolgere l'attività antitrombotica. Non hanno effetti inibitori sulla trombina (fattore II attivato) e non agiscono in alcun modo sulla aggregazione delle piastrine, ma inibiscono indirettamente l'aggregazione piastrinica che viene indotta dalla trombina. In conseguenza dell'inibizione del FXa la molecola determina un prolungamento di diversi test di coagulazione, ed in particolare del tempo di protrombina (PT), *l'International Normalized Ratio* (INR) e il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT).
2. Inibitori diretti della trombina: Dabigatran (Pradaxa). Il dabigatran esercita l'attività anticoagulante come potente inibitore diretto, competitivo, reversibile della trombina. Esso agisce inibendo sia la trombina libera circolante che quella legata al coagulo di fibrina, è anche in grado di ridurre l'aggregazione piastrinica stimolata dalla trombina. Per questo motivo è più efficace degli inibitori indiretti della trombina, come ad esempio l'eparina non frazionata, che non può inibire la trombina legata alla fibrina.

Le principali caratteristiche sono riassunte nella tabella sottostante (Vedi tabella 3):

Characteristics	Direct thrombin inhibitor	Factor Xa inhibitors		
	Dabigatran	Apixaban	Edoxaban	Rivaroxaban
Product	Pradaxa	Eliquis	Lixiana (Japan) Savaysa (USA)	Xarelto
Manufacturer	Boehringer Ingelheim	Bristol-Myers Squibb/Pfizer	Daiichi Sankyo	Bayer HealthCare/Janssen Pharmaceuticals
Prodrug	Yes	No	No	No
Bioavailability (%)	3–7	50	62	80
Time to peak concentration (h)	1–3	1–3	1–3	2–4
Half-life (h)	12–17	8–15	8–10	7–13
Excretion	80% renal 20% liver	25% renal 75% fecal	35% renal 65% liver	33% renal 67% liver
Dosing regimen	75–110–150 mg twice daily ^a	2.5–5 mg twice daily ^a	15–30 mg once daily ^a	10–30 mg once daily ^a
Metabolism	P-gp	P-gp, CYP3A4	P-gp, CYP3A4	P-gp, CYP3A4
Laboratory monitoring	dTT ^b ECT APTT	Anti-FXa ^b dPT HepTest	Anti-FXa ^b	Anti-FXa ^b PT ratio
Antidotes	aDabi-Fab	Andexanet alfa	Andexanet alfa	Andexanet alfa PER977

“Tabella 3 – Caratteristiche principali dei DOACs¹³”

I più utilizzati sono Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban; Apixaban e Dabigatran sono somministrati due volte al giorno; Edoxaban e Rivaroxaban una volta al giorno: un’unica somministrazione al giorno è un sistema più vantaggioso per la somministrazione ma meno vantaggioso rispetto alla doppia somministrazione per la cessazione dell’effetto, la scelta dipende anche dalla compliance del paziente alla terapia. I NAO non necessitano di monitoraggio con INR^{1,6,8}.

Apixaban 2.5 mg o 5 mg bid⁶

- Efficace e più sicuro di Warfarin in AF e PE
- Risente in misura lieve della variazione della funzione renale
- Richiede doppia somministrazione per garantire un adeguato effetto anticoagulante nelle 24 ore
- Utilizzabile *ab initio* nel trattamento dell’embolia polmonare (10 mg ogni 12 h per 7 giorni, poi dose std)
- PT/INR e aPTT inaffidabili

Rivaroxaban 15 mg o 20 mg/die⁶

- Efficace e sicuro in AF e PE

- Risente in misura lieve della variazione della funzione renale
- Consente mono somministrazione
- Utilizzabile *ab initio* nel trattamento dell'embolia polmonare
- Determina aumento dell'INR ma non lineare
- aPTT non utile

Dabigatran 110 mg o 150 mg bid⁶

- Efficace e sicuro in AF e PE
- Dializzabile in caso di sovradosaggio
- Disponibilità di anticorpo monoclonale che ne neutralizza l'azione
- Maggior incidenza di sanguinamenti gastro-intestinali rispetto al Warfarin
- Nella TEPA è indicato l'avvio del trattamento dopo LMWH (a dose standard)
- Determina aumento dell'aPTT ma non lineare
- PT/INR non utili, si dovrebbe misurare dTT
- Ha un antidoto

I DOACs non dovrebbero essere prescritti nei pazienti portatori di insufficienza renale, indicativamente con FVG < 30 ml/min^{6,12,14}; tuttavia, nelle schede tecniche di rivaroxaban e apixaban viene riportata la possibilità di utilizzo con cautela nei pazienti con VFG da 15 a 29 ml/min. Inoltre, non devono essere utilizzati nei pazienti con FA nell'ambito di una valvulopatia clinicamente rilevante o in presenza di protesi valvolare meccanica, nei pazienti in trattamento con farmaci che hanno dimostrato interferenze clinicamente rilevanti con i NAO e in quelli nei quali è prevedibile una bassa aderenza terapeutica. Le principali interazioni farmacologiche sono riportate nella seguente tabella (tabella 4):

Interazioni tra NAO e altri farmaci.

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
Controindicati/da evitare	Ciclosporina, itraconazolo, dronedarone, ketoconazolo rifampicina	Dronedarone, rifampicina, fenitoina, carbamazepina, fenobarbital, erba di S. Giovanni	-
Non raccomandati	Tacrolimus, inibitori della proteasi del HIV (ritonavir)	Ketoconazolo, itraconazolo, voriconazolo, posaconazolo, ritonavir	Ketoconazolo, itraconazolo, voriconazolo, posaconazolo, ritonavir
Cautela	Amiodarone, posaconazolo, chinidina, verapamil, claritromicina, ticagrelor	Eritromicina e claritromicina (pazienti con compromissione renale)	Rifampicina, fenitoina, carbamazepina, fenobarbital, erba di S. Giovanni
	L'utilizzo concomitante di FANS, agenti antiplastrinici (ad es. clopidogrel), SSRI (ad es. citalopram, paroxetina) e SNRI (ad es. venlafaxina) potrebbe, inoltre, aumentare il rischio di sanguinamento		

FANS: farmaci anti-infiammatori non steroidei; SSRI: inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina; SNRI: inibitori della ricaptazione della serotonina-norepinefrina.

“**Tabella 4** – Principali interazioni tra NAO e altri Farmaci⁶”

Inoltre, è possibile effettuare degli switch terapeutici tra i vari anticoagulanti, rispettando le giuste tempistiche per la somministrazione senza perdere l’effetto scoagulante, come riportato nella tabella seguente (vedi tabella 5):

Indicazioni per il passaggio da una terapia anticoagulante a un'altra.

Switching	
Da VKA a NAO	Sospendere VKA, controllare INR, quando INR < 2 iniziare NAO
Da EBPM/Fondaparinux a NAO	Sospendere EBPM e dopo 2 ore può essere iniziata terapia con NAO
Da NAO a VKA	Assumere per 2 gg NAO + VKA, poi controllo INR, sospendere NAO quando INR ≥ 2
Da NAO a EBPM/Fondaparinux	Sospendere NAO e iniziare EBPM/Fondaparinux dopo 24 ore

“**Tabella 5** – Indicazioni per il cambio di terapia anticoagulante⁶”

Complicanze emorragiche

Le complicanze emorragiche sono il principale effetto avverso delle varie terapie anticoagulanti¹⁵, in questi pazienti quindi è necessario sospendere la terapia e in base alla classificazione del sanguinamento effettuare quella che viene definita *reversal therapy*: ovvero la somministrazione di farmaci, antidoti o emoderivati, anche in associazione, per ristabilire la capacità coagulante del paziente e fermare il sanguinamento. Se queste misure non dovessero essere sufficienti i pazienti potrebbero essere poi sottoposti a procedure di radiologia interventistica di embolizzazione o interventi chirurgici per fermare il sanguinamento.

Gli scenari possibili in cui effettuare una *reversal therapy* sono:

- Paziente con emorragia spontanea in corso di trattamento anticoagulante
- Paziente con evento traumatico in corso di terapia anticoagulante
- Paziente in terapia anticoagulante con necessità di intervento chirurgico in emergenza/urgenza

I sanguinamenti a loro volta vengono classificati in^{9,14,16-19}:

- Sanguinamenti maggiori, sanguinamento acuto clinicamente evidente accompagnato da uno o più dei seguenti:
 - Diminuzione del valore di Hb ≥ 2 g/dL
 - Trasfusione di una o più unità di emazie concentrate
 - Sanguinamenti in uno dei seguenti siti critici:
 - Intracranico, intraspinale o intraoculare (un sanguinamento congiuntivale non è considerato come oculare)
 - Pericardico
 - Intra-articolare
 - Intramuscolare con sindrome compartimentale
 - Retroperitoneale
 - Sanguinamento fatale
- Sanguinamenti non maggiori ma clinicamente rilevanti, corrispondono alle seguenti caratteristiche:
 - Se compromette l'emodinamica
 - Se porta al ricovero
 - Ematoma sottocutaneo maggiore di 25cm² o 100 cm² se associato a causa traumatica
 - Ematoma intramuscolare documentato con ultrasuoni

- Epistassi che dura più di 5 minuti, ripetitiva o che ha portato ad un intervento terapeutico
- Sanguinamento gengivale verificatosi spontaneamente o che dura da più di 5 minuti
- Ematuria macroscopica e spontanea o che dura più di 24 ore dopo manovre invasive (es. posizionamento di catetere vescicale o chirurgia) del tratto urogenitale
- Emorragie gastrointestinali che includono almeno un episodio di melena o ematemesi
- Sanguinamento rettale, se più consistente di qualche goccia sulla carta igienica
- Emottisi, se più di qualche macchia nell'escreato e non correlata ad un contesto di embolia polmonare
- Ogni altro tipo di sanguinamento considerato avere conseguenze cliniche per il paziente (necessità di terapia medica o di temporanea cessazione del trattamento anticoagulante)
- Sanguinamenti minori, sono ogni altro sanguinamento che non rientra nei criteri di classificazione per sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante.

Secondo le indicazioni del *British Committee for Standards in Haematology* e della Federazione Centri per la Diagnosi della Trombosi e la Sorveglianza delle terapie antitrombotiche (FCSA) le emorragie in corso di trattamenti anticoagulanti con VKA o DOAC si possono più semplicemente suddividere in^{9,14,16-19}:

- Emorragie minori, che non richiedono provvedimenti terapeutici particolari
- Emorragie maggiori, non a rischio di vita, o di perdita di un organo/funzione, che richiedono provvedimenti terapeutici generali fra cui la sospensione temporanea del farmaco
- Emorragie maggiori a rischio di vita o di perdita di un organo/funzione che richiedono oltre ai trattamenti terapeutici generali anche provvedimenti specifici

Emorragia cerebrale associata a Warfarin

È la più grave tra le complicanze della terapia con Warfarin. È causa del 90% delle morti dovute al Warfarin ed è associata a grave disabilità in coloro che sopravvivono all'evento acuto. L'incidenza di emorragia intracranica nei pazienti con età superiore a 70 anni con INR tra 2 e 3 è compresa tra 0.3 e 0.6 percento/anno²⁰ (vs 0.15 percento/anno nei pazienti non trattati con anticoagulanti). Il ripristino di una normale coagulazione è prioritaria e rappresenta un'emergenza medica dato che la "scoagulazione" è associata a crescita dell'ematoma, deterioramento neurologico, rischio di morte e invalidità permanente. La terapia anticoagulante è sia un fattore di rischio per l'ingrossamento dell'ematoma che per esiti peggiori dopo emorragia intracranica. La crescita dell'ematoma, in particolare entro le prime 24 ore dopo l'ICH, è un predittore indipendente di mortalità e di esito sfavorevole²⁰. Il grado di prolungamento dell'INR al momento dell'ICH associato a warfarin è correlato alla dimensione iniziale dell'ematoma, al progressivo allargamento dell'ematoma dopo il ricovero, all'esito funzionale e alla mortalità. La metà dei pazienti con emorragia intracranica associata a warfarin muore entro 30 giorni dall'esordio di questa complicanza. In uno studio, l'ICH associata al warfarin è stata fatale in due terzi dei pazienti i cui INR erano > 3,0 alla presentazione. La maggior parte degli episodi di emorragia intracranica associata a warfarin si verificano in pazienti con un livello terapeutico di anticoagulazione (INR compreso tra 2,0 e 3,5)²⁰.

Punteggio HAS-BLED e rischio emorragico

Esistono numerosi punteggi di rischio per prevedere l'emorragia nelle persone che utilizzano warfarin e anticoagulanti simili. Un punteggio comunemente usato è lo HAS-BLED: punteggio in grado di identificare i soggetti a maggior rischio di sviluppare emorragia maggiore. Un punteggio HAS-BLED maggiore o uguale a tre indica prudenza e controlli più frequenti nei pazienti con FA in TAO e suggerisce inoltre la correzione di quei fattori di rischio di sanguinamento potenzialmente reversibili.

La valutazione del punteggio HAS-BLED è consigliata nei pazienti con FA a rischio tromboembolico intermedio (CHA2DS2-VASC =1), per i quali, in caso di HAS-BLED > 3 potrebbe essere ragionevole un rinvio della TAO o l'uso dei nuovi anticoagulanti orali. Il punteggio si basa sulla valutazione di alcuni parametri con l'assegnazione di un punteggio, in base alla

somma dei punteggi viene designato il rischio emorragico, come mostrato nella tabella sottostante ^{6,21} (vedi tabella 6).

Valutazione del rischio emorragico.		
Lettera	Caratteristiche cliniche	Punti
H	(Hypertension) ipertensione arteriosa sistolica > 160 mmHg	1
A	Funzione renale e/o epatica Anormali (1 punto ognuna)*	1 o 2
S	Stroke precedente	1
B	(Bleeding) sanguinamento anamnestico o predisposizione (anemia)	1
L	INR labile (< 60 % del tempo in range terapeutico TTR)	1
E	Età >65 anni	1
D	Uso concomitante di FANS, antiaggreganti piastrinici (Drugs) o abuso di alcool (1 punto ognuno)	1 o 2
* Per funzione renale anormale si intende dialisi renale, trapianto renale o creatinina $\geq 2,2$ mg/dl; per funzione epatica anormale si intende una cirrosi o valori di bilirubina > 2 volte il valore superiore del normale con ALT o AST o fosfatasi alcalina > 3 volte il valore superiore del normale.		

“Tabella 6 – punteggio HAS-BLED^{6,21}”

Reversal therapy

Reversal therapy in pazienti trattati con Warfarin

Il principio cardine di questa terapia è ripristinare la funzionalità dei fattori della coagulazione vitamina K dipendenti; quindi, per prima cosa, viene sospesa l’assunzione dell’anticoagulante, poi viene iniziata la terapia, che nel caso del warfarin prevede la somministrazione di Vitamina K ad alte dosi 5-10 mg ad infusione lenta, di circa 1 mg/min per evitare reazione anafilattiche. L’azione però non è immediata, servono circa dodici ore perché vengano prodotti nuovi fattori della coagulazione carbossilati e si raggiunga una concentrazione stechiometrica molto superiore a quella del Warfarin.; quindi, nel paziente in acuto viene supportato tramite l’associazione di fattori della coagulazione disponibili come: plasma fresco congelato (FFP) e complesso protrombinico a tre o quattro fattori, in maniera da ripristinare nell’immediato la funzionalità coagulativa, aspettando poi l’effetto della somministrazione della vitamina K^{9,14,22-25}.

Il plasma fresco congelato contiene tutti i fattori della coagulazione, è facile da utilizzare e subito disponibile (servono solo 30 minuti per la determinazione del gruppo e per lo scongelamento), ad un prezzo contenuto (circa 200-400 euro per correggere un INR di 3). Tuttavia, la sua durata di azione è limitata, e possono essere necessarie fino a 8U corrispondenti

a circa 3L di plasma per correggere un INR di 3; questi volumi di infusione possono determinare dei problemi di sovraccarico in pazienti con patologie cardiache e aumentano il rischio di edema cerebrale e ipertensione endocranica. Inoltre, ogni unità di plasma viene somministrata lentamente, sono necessari circa 30 min a unità; quindi, vengono somministrato in associazione il complesso protrombinico, in questo modo sono necessarie solo 2U di plasma^{9,14,22-25}.

Il complesso protrombinico contiene alte concentrazioni di fattori vitamina K dipendenti, e si distinguono due tipologie:

- PCC a quattro fattori, contenente i fattori II, VII, IX e X
- PCC a tre fattori contenente solo i fattori II, IX e X, più economico, può essere somministrato in combinazione con il plasma; in questo modo viene integrata la carenza di fattore VII, e ne viene somministrato in quantità inferiori a quelle richieste quando somministrato da solo; è una buona scelta terapeutica che consente un buon ripristino della coagulazione senza sovraccaricare troppo il paziente.

I complessi protrombinici normalizzano l'INR più rapidamente del plasma e della vitamina K, sono sufficienti circa 10' per normalizzare la coagulazione, ma anche in questo caso hanno un effetto transitorio; per questo è sempre necessario somministrare in associazione la vitamina K. Il costo è circa 1000 – 2000 € per il trattamento di un paziente con un'emorragia intracranica in trattamento con Warfarin e INR di 3. Non si sa ancora se usare un dosaggio fisso o un dosaggio profilo, in quanto l'uso di un dosaggio fisso si è dimostrato non inferiore all'uso di dosi correlate al peso del paziente e al valore di INR. La dose raccomandata è di 1500 - 2000 IU, somministrata alla velocità di 100 IU/min in bolo endovenoso lento, quindi 1500 IU in 15 min. La maggior parte dei preparati PCC contengono basse dosi di eparina per prevenire l'attivazione dei fattori della coagulazione²³. Contengono inoltre quantità variabili di proteina C e proteina S, anticoagulanti vitamina K-dipendenti che co-purificano con le proteine della coagulazione. Non è noto se questi componenti attenuino il rischio trombotico dei preparati a base di PCC. Non sono disponibili dati che confrontino gli esiti clinici utilizzando PCC a quattro rispetto a quelli a tre fattori.

È disponibile anche Fattore VII ricombinante, sintetizzato in batteri o altre cellule, ma non è indicato in pazienti con emorragia da Warfarin in quanto non compensa la carenza degli altri fattori, ha emivita breve (2-3 ore), rischio pro-trombotico non trascurabile, costi molto elevati (superiori a 10.000 € per un paziente con emorragia intracranica e INR di 3); è utilizzato negli emofilici in cui non si può più usare il VIII e plasma²³.

Riassumendo:

- Tutte le linee guida supportano la somministrazione precoce di vitamina K.
- In generale è preferibile l'uso di PCC rispetto a FFP.
- Tra i PCC sarebbe da preferire quello a quattro fattori.
- L'uso di fattore VIIa ricombinante non è raccomandato

Protocollo operativo^{9,14,22-25}:

- Sospendere tutti gli anticoagulanti e gli antiaggreganti
- Somministrare in bolo lento 1500-2000 U di PCC a tre o quattro fattori
- Richiedere 2 U di FFP da infondere appena possibile
- Somministrare 10 mg di vitamina K endovena in 10 minuti
- Controllare l'INR dopo 30 minuti dalla somministrazione della terapia, se non è normalizzato (INR<1.4) ripetere PCC o FFP
- Ricontrollare INR ogni 4-6 ore nelle prime 24 ore
- Se INR persistentemente elevato somministrare 5 mg di vitamina K endovena in 10 minuti ogni 12 ore
- L'obiettivo è mantenere l'INR < 1,4 per almeno 72 ore

Reversal therapy in pazienti in trattamento con DOACs

Nella maggior parte delle situazioni di sanguinamento maggiore causato dai DOAC, si consiglia di utilizzare un agente antifibrinolitico e di eliminare il farmaco in eccesso tramite emodialisi (per dabigatran) e/o carbone attivo per via orale (per tutti i farmaci), specialmente se l'ultima dose di anticoagulante è stata assunta nelle ore precedenti.

Riserviamo terapie più potenti, come l'idarucizumab²⁶ (antidoto specifico per il dabigatran) e i concentrati di complesso protrombinico attivati o non attivati (aPCC o PCC, rispettivamente), per i casi più gravi e pericolosi di sanguinamenti associati ai DOAC^{22,25,27}, come quelli in corso che potrebbero portare a gravi conseguenze se non fermati immediatamente. Tuttavia, i PCC possono causare trombosi alle dosi utilizzate per trattare il sanguinamento e la loro efficacia nel trattamento dei sanguinamenti legati ai DOAC non è stata confermata in studi clinici prospettici. I dati attualmente disponibili si basano principalmente su volontari che non hanno sanguinato, report di casi e modelli preclinici. Di conseguenza, evitiamo l'uso

dei PCC nei pazienti con sanguinamenti meno gravi. È fondamentale sottolineare che l'utilizzo di questi prodotti non dovrebbe essere considerato uno “standard of care”.

In generale, evitiamo l'uso del fattore VII attivato ricombinante (rFVIIa), del plasma fresco congelato (FFP) o del crioprecipitato per i sanguinamenti associati ai DOAC poiché non esistono prove a suffragio dell'utilizzo di tali prodotti e presentano rischi associati come sovraccarico di volume e reazioni trasfusionali. Un'eccezione è l'uso del FFP per correggere una coagulopatia concomitante (ad esempio, da trauma).

Come già accennato, risultati anomali ai test di coagulazione sono indicativi di un effetto continuo dei DOAC, ma risultati normali non escludono la presenza di concentrazioni clinicamente importanti di questi farmaci. Di conseguenza, i risultati dei test di coagulazione o la loro evoluzione nel tempo non forniscono informazioni significative sulla risoluzione del sanguinamento associato ai DOAC²². Nella maggior parte dei casi, la gestione si basa sulla condizione clinica del paziente e sul suo andamento nel tempo piuttosto che sui risultati dei test di coagulazione.

Come protocollo generale adottiamo i seguenti punti:

1. Indispensabile conoscere quando è avvenuta l'ultima assunzione del farmaco
2. Sospendere tutti i farmaci anticoagulanti o antiaggreganti
3. Rimozione di eventuale farmaco ancora nell'organismo, che sia nel lume intestinale o in circolo
4. Somministrazione di agenti antifibrinolitici
5. Somministrazione di PCC

Nello specifico in caso di paziente con trattamento di inibitori del fattore Xa (Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban) distinguiamo i seguenti casi^{9,14,22-25,27-29}:

- Sanguinamento maggiore associato a rischio di morte imminente; in questo caso si somministrano PCC a quattro fattori, 50 U/Kg, se non disponibile PCC a tre fattori con 2 U di FFP. Questo trattamento ha un alto rischio trombotico e non viene considerato uno standard of care perché non è supportato da studi clinici RCT.
- Sanguinamento maggiore non associato a rischio di morte imminente, in questo caso vengono somministrati
 - Acido tranexamico 1g endovena se il farmaco è ancora in circolo
 - Carbone vegetale per os (50-100g) se il farmaco è ancora nel lume intestinale
 - Entro 8 ore per rivaroxaban
 - Entro 6 ore per apixaban

- Entro 2 ore per edoxaban
 - In caso di mancata risposta si segue in trattamento come per il sanguinamento maggiore associato a morte imminente
- I sanguinamento minori vengono approcciati con un approccio conservativo, monitorando il paziente e sospendendo il farmaco anticoagulante

Come ulteriore trattamento per i pazienti trattati con solo inibitori del fattore Xa è disponibile un antidoto classe specifico, Andexanet-alfa³⁰ (ONDEXXYA), utile sia per gli inibitori orali che parenterali (eparine e fondaparinux). I dosaggi si basano sull'ultima somministrazione e sulla dose del farmaco assunta; quindi, si esegue un bolo endovenoso con una velocità target di 30 mg/min seguito da un'infusione continua, come riportato nelle tabelle sottostanti (vedi tabella 7 e 8).

Inibitore del FXa	Ultima dose	Tempo dall'ultima dose prima dell'inizio di Ondexxya	
		< 8 ore o non noto	≥ 8 ore
Apixaban	≤ 5 mg	Dose bassa	Dose bassa
	> 5 mg/ non nota	Dose elevata	

Inibitore del FXa	Ultima dose	Tempo dall'ultima dose prima dell'inizio di Ondexxya	
		< 8 ore o non noto	≥ 8 ore
Rivaroxaban	≤ 10 mg	Dose bassa	Dose bassa
	> 10 mg/ non nota	Dose elevata	

“Tabella 7 – Dosaggio DOACs e ultima assunzione^{14,28}”

	Bolo endovenoso iniziale	Infusione endovenosa continua	Numero totale di flaconcini da 200 mg necessari
Dose bassa	400 mg a una velocità target di 30 mg/min	4 mg/min per 120 minuti (480 mg)	5
Dose elevata	800 mg a una velocità target di 30 mg/min	8 mg/min per 120 minuti (960 mg)	9

“**Tabella 8** – Dosaggio Ondexxya^{14,28,30}”

Nel caso invece di pazienti in trattamento con inibitori diretti della trombina (dabigatran), si utilizza come primo approccio l’antidoto specifico, ovvero l’idarucizumab²⁶, anticorpo monoclonale diretto contro l’inibitore diretto della trombina. Anche in questo caso distinguiamo i seguenti casi^{22,25,27}:

- Sanguinamento maggiore associato a rischio di morte imminente, in questo caso si somministra idarucizumab per via parenterale, due dosi da 2,5mg a distanza di quindici minuti. Se non disponibile l’idarucizumab:
 - Somministrare aPCC (FEIBA) 50-80 U/kg endovena
 - Se FEIBA non è disponibile si somministra PCC 4 fattori 50 U/kg (o 2000 U)
 - Se PCC 4 fattori non disponibile si somministra PCC 3 fattori (2000 U) + 2 U di FFP
- Sanguinamento maggiore non associato a rischio di morte imminente si somministrano acido tranexamico 1g endovena e vegetale (50-100 g) entro due ore dall’ultima assunzione. In caso di mancata risposta o peggioramento clinico procedere come sanguinamento maggiore con rischio di morte imminente
- I sanguinamento minori vengono approcciati con un approccio conservativo, monitorando il paziente e sospendendo il farmaco anticoagulante

Tromboelastografia (TEG)

Generalità sulla TEG

La tromboelastografia (TEG) è stata sviluppata dal Dr. Helmut Hartert negli anni 40³¹, in Germania. Il test globale è stato inizialmente utilizzato per monitorare i cambiamenti nella coagulazione e fibrinolisi associata al trapianto di fegato. Gli avanzamenti tecnologici degli ultimi decenni hanno prodotto risultati significativi, con miglioramenti, che hanno portato all'utilizzo del TEG nella comune pratica clinica, con applicazione in molteplici campi, tra cui la medicina d'emergenza-urgenza.

I pazienti che accedono al pronto soccorso con condizioni come traumi, malattie epatiche, lesioni alla testa e sepsi hanno un rischio di esiti peggiori quando queste condizioni sono accompagnate da coagulopatia; esistono diverse cause di coagulopatia, tra queste, il processo patologico stesso, come la malattia epatica o una diatesi emorragica ereditaria, può causare la coagulopatia; cause iatrogene come farmaci anticoagulanti o altre strategie terapeutiche (ad esempio, eccessiva rianimazione dei liquidi nei traumi) possono anche causare coagulopatia. I test di coagulazione di routine come il tempo di protrombina (PT), il rapporto internazionale normalizzato (INR), il tempo parziale di tromboplastina (PTT), le piastrine e il fibrinogeno sono facilmente disponibili nella maggior parte degli ospedali. Tuttavia, questi test sono imperfetti perché spesso i risultati non sono restituiti in tempi utili per facilitare le decisioni d'emergenza. Un'alternativa ai test ematici appena descritti è utilizzare il monitoraggio viscoelastico (VEM), un gruppo di test di coagulazione che misurano il tempo e la forza dello sviluppo del coagulo di sangue per valutare la cascata della coagulazione in tempo reale. Due forme di VEM, che operano sugli stessi principi, sono disponibili: la tromboelastografia (TEG) e la tromboelastometria rotazionale (ROTEM)³². Ciascun test ha parametri simili che, sebbene non siano interscambiabili, corrispondono tra loro e a specifici elementi della cascata della coagulazione^{33,34}.

La tromboelastografia è uno dei tanti metodi di valutazione della coagulazione viscoelastica attualmente disponibili sul mercato. Tutti gli strumenti disponibili forniscono rappresentazioni grafiche della dinamica della polimerizzazione della fibrina nel sangue intero: citrato o non citrato e plasma ricco o povero di piastrine, con o senza dinamica di attivazione. I risultati vengono visualizzati in tempo reale e forniscono un riscontro numerico dei parametri relativi al tempo impiegato per l'inizio dei processi coagulativi, rapidità di formazione e sviluppo del coagulo, forza e stabilità del coagulo insieme alla valutazione del fase fibrinolitica iniziale³¹.

Gli studi VEM sono ampiamente riportati nella chirurgia cardiaca e trapianto durante il periodo perioperatorio e postoperatorio. Nel complesso, l'uso del VEM in questi contesti clinici è associato a una riduzione dell'uso di prodotti ematici³⁴ e potrebbe migliorare gli esiti, ma sono necessari ulteriori studi. Lo scopo principale di questo progetto di ricerca è correlare i dati ottenuti dal TEG e identificare fattori predittivi dell'efficacia della *reversal therapy*.

Il PT e il PTT forniscono informazioni solo sulla fase iniziale della cascata di coagulazione, e che questi test possono valutare solo il componente plasmatico della coagulazione, non il sangue intero.

Diversi fattori preanalitici e analitici possono influenzare l'aspetto della traccia TEG, ed è importante prestare molta attenzione a questi fattori, che includono tutte le istruzioni del produttore, prelievo di sangue, anticoagulazione del campione, tempo tra il prelievo di sangue e analisi, livelli di ematocrito, temperatura, pH ed eparinizzazione del campione di prova. Esiste una potenziale influenza da parte di conteggio e funzione dei globuli bianchi, rossi e delle piastrine, fibrinogeno e il livello e la funzione di altre proteine della coagulazione, nonché l'equilibrio emostatico complessivo.

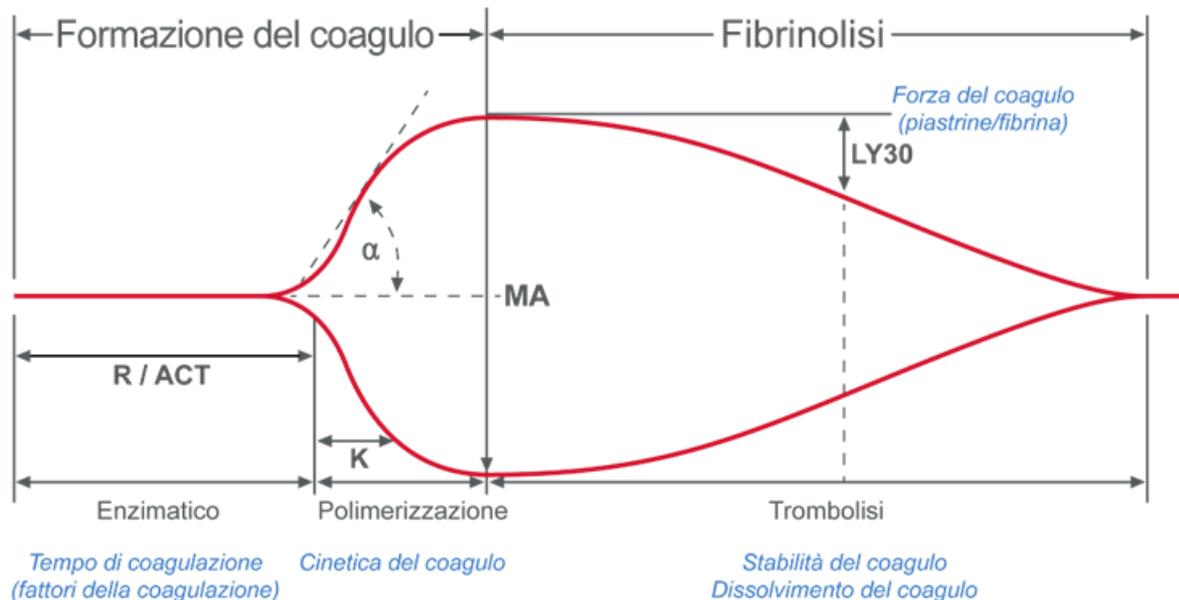
Funzionamento e parametri

Per eseguire il VEM, un campione di sangue viene posto in una piccola coppa con un attivatore di coagulazione. Un perno su un filo di torsione è immerso nel sangue, e la coppa e il perno vengono ruotati l'uno rispetto all'altro. Il modulo di taglio del coagulo - cioè, la forza richiesta per ruotare il sangue attraverso un arco di rotazione predefinito - viene misurato nel tempo. Queste informazioni vengono riportate come un insieme di variabili e visualizzate graficamente come una deviazione attorno a una linea di base.

Nel TEG, la coppa ruota e il perno è fermo; nel ROTEM, avviene il contrario. Un apparecchio VEM più recente, l'analizzatore TEG 6S, effettua misurazioni simili a quelle di TEG e ROTEM misurando la vibrazione di un campione utilizzando l'illuminazione a LED, e utilizza una cartuccia che non richiede pipettatura. Questo apparecchio ha una risposta minima ai cambiamenti di movimento e temperatura. Il principale vantaggio del VEM dal punto di vista della gestione del paziente è che fornisce informazioni sull'intera cascata di coagulazione e quindi potrebbe identificare specifiche intenzioni che possono essere applicate in risposta ai risultati del test. Il tracciato VEM produce un quadro completo della formazione del coagulo e della fibrinolisi; viene interpretato secondo parametri specifici, delineati nella figura, che

corrispondono agli elementi della cascata di coagulazione. TEG e ROTEM hanno nomi diversi per parametri simili; la nomenclatura TEG sarà utilizzata qui.

Di seguito è riportato un esempio di tracciato grafico (figura 3):



“Figura 3 – Esempio di tracciato grafico dato dalla TEG³¹”

Il principale vantaggio del VEM dal punto di vista della gestione del paziente è che fornisce informazioni sull'intera cascata di coagulazione e quindi potrebbe identificare specifiche intenzioni che possono essere applicate in risposta ai risultati del test. Il tracciato VEM produce un quadro completo della formazione del coagulo e della fibrinolisi; viene interpretato secondo parametri specifici, delineati nella figura soprastante, che corrispondono agli elementi della cascata di coagulazione. TEG e ROTEM hanno nomi diversi per parametri simili; la nomenclatura TEG e quella utilizzata in questa tesi. Il tempo di reazione, la durata dall'inizio del test alla deviazione iniziale rispetto alla linea di base (specificamente, uno spostamento di 2 mm del perno), corrisponde alla funzione della cascata di coagulazione, durante la quale uno stimolo come trauma o infiammazione può portare a una serie amplificante di conversioni enzimatiche. Il PT e il PTT corrispondono alla stessa fase della coagulazione; cioè, una serie di conversioni enzimatiche amplificanti che convergono su un percorso comune finale. Il risultato di questo processo è la conversione del fibrinogeno in fibrina, che polimerizza sulla superficie del tappo emostatico primario (composto da globuli rossi e piastrine) per formare il tappo emostatico secondario più resistente (globuli rossi e piastrine legati insieme dalla fibrina reticolata). Il tempo cinetico (K) corrisponde al tempo, tra il tempo di reazione e il punto in cui il tracciato VEM raggiunge una deviazione di 20 mm dalla linea di base, che indica le fasi iniziali della reticolazione della fibrina. Un parametro simile è l'angolo α , che è definito come

l'angolo tra la linea di base e una linea tracciata tra R e K o una linea che interseca R e tangente alla curva TEG crescente. Tuttavia, in molti campioni di pazienti affetti da coagulopatia, il tracciato non raggiunge mai i 20 mm. Pertanto, negli algoritmi moderni che utilizzano il TEG per guidare la trasfusione massiccia nei traumi, il tempo K è stato sostituito dall'angolo. La misurazione finale della coagulazione è l'ampiezza massima, la maggiore deviazione rispetto alla linea di base. L'ampiezza massima corrisponde alla massima deviazione del perno e riflette i contributi di tutti i fattori di coagulazione, ma dipende principalmente dalla funzione delle piastrine e dal contributo della fibrina; la fibrina forma approssimativamente il 20% del contributo all'ampiezza massima, mentre la quantità e la funzione delle piastrine contribuiscono approssimativamente all'80%. Una volta raggiunta l'ampiezza massima, il test VEM passa dalla formazione del coagulo alla valutazione della fibrinolisi. Il LY30, o la diminuzione dell'ampiezza della curva 30 minuti dopo aver raggiunto l'ampiezza massima (espressa come percentuale), riflette il grado di fibrinolisi. Per il completamento di un test VEM completo possono essere necessari dai 30 ai 60 minuti, la maggior parte dei risultati è disponibile entro 10-30 minuti. Inoltre, variazioni del test, come l'aggiunta di fattore tissutale al TEG, possono generare l'ampiezza massima (un parametro in una fase successiva) entro 5-10 minuti; questa variazione è utilizzata in alcuni protocolli di trasfusione massiva. Infine, i dati provenienti dalla letteratura sull'anestesia e sui traumi suggeriscono che i parametri ROTEM precoci, come l'ampiezza della curva a 5, 10 e 15 minuti, possono prevedere la massima forza di coagulo. La VEM potrebbe offrire diversi vantaggi rispetto ai test di coagulazione di routine, che generalmente includono il tempo di protrombina (PT), il tempo parziale di tromboplastina (PTT), il conteggio delle piastrine e la concentrazione di fibrinogeno. I principali vantaggi sono che la VEM riflette tutti i componenti della cascata di coagulazione nel sangue intero, che viene eseguita rapidamente con un campione di sangue intero e che i risultati tornano relativamente velocemente³². Il PT e il PTT hanno diversi limiti. In primo luogo, PT e PTT sono test più spesso eseguiti in laboratorio clinico che richiedono un campione di plasma, il che significa che il campione del prelievo venoso deve essere centrifugato e quindi crea un ritardo temporale. In secondo luogo, il test richiede quasi 45 minuti per essere completato quando i campioni sono normali e ancora più tempo quando sono anomali. In terzo luogo, sebbene questi test forniscono informazioni di alto livello sulla porzione della cascata di coagulazione che include i fattori di coagulazione, non forniscono informazioni su altre caratteristiche importanti, come la forza totale del coagulo (il test termina non appena viene rilevato qualsiasi fibrina e quindi termina prima che venga generata la maggior parte della fibrina), il contributo delle piastrine (perché i test vengono eseguiti sul plasma di un campione centrifugato) e la fibrinolisi. Inoltre, il PT e il

PTT possono essere fuorvianti in molte circostanze, ad esempio: la coagulopatia della malattia epatica cronica eleva il PT e l'INR in modo simile alla coagulopatia associata all'uso di coumadin. Il paziente che riceve coumadin ha una diatesi emorragica iatrogena, mentre il paziente cirrotico può essere coagulopatico, trombofilico o né l'uno né l'altro (a seconda dell'equilibrio dei fattori pro e anticoagulanti prodotti dal fegato danneggiato). Allo stesso modo, la coagulopatia degli anticoagulanti specifici (come apixaban e rivaroxaban) non è accuratamente riflessa dal PT o dal PTT. Il PT, l'INR e il PTT sono test progettati per studiare le carenze di fattore e monitorare la terapia anticoagulante, ma non sono mai stati pensati per guidare la terapia nei pazienti con altre coagulopatie o sanguinamento in situazioni di emergenza³². Il conteggio delle piastrine (parte del conteggio CBC) è rapidamente disponibile per i medici ma non fornisce informazioni sulla funzione delle piastrine, che potrebbe essere compromessa in molte popolazioni di pronto soccorso; ad esempio, coloro che ricevono farmaci antinfiammatori non steroidei o altri farmaci antiaggreganti, coloro con disturbo da uso di alcol o coloro con uremia causata da insufficienza renale acuta o cronica. Anche se in teoria un basso conteggio piastrinico potrebbe indicare la necessità di una trasfusione di piastrine, le soglie di trasfusione piastrinica non sono chiaramente stabilite per molte condizioni e si basano principalmente sull'opinione degli esperti. Infine, per quanto riguarda il fibrinogeno, questo test ha spesso un tempo di risposta inaccettabile per la decisione clinica nei pazienti che richiedono un intervento di emergenza. Questo test, nonostante ciò, può essere correlato a una terapia specifica (ad esempio, trasfusione di crioprecipitato o di concentrato di fibrinogeno). Tuttavia, un'importante limitazione del livello di fibrinogeno nella gestione acuta dei pazienti coagulopatici è che non è direttamente correlato alla forza complessiva del coagulo e l'effetto sulla forza complessiva del coagulo dipende dalla concentrazione delle piastrine. In sintesi, sebbene i test di coagulazione di routine forniscano informazioni importanti nella cura dei pazienti con sospetta coagulopatia, presentano molte limitazioni.

Riassumendo i parametri considerati nel TEG sono^{31,32}:

- R: tempo di coagulazione (tempo di reazione, tra inizio del test e formazione del primo coagulo)
- K: tempo necessario per arrivare ad un'apertura della curva di 20 mm (tempo tra inizio della coagulazione e la formazione di un coagulo dotato di forma sufficiente)
- Angolo α : angolo tangente alla curva a livello dell'apertura di 20 mm (velocità di formazione del coagulo dotato di forza sufficiente)
- MA: massima ampiezza del grafico (massima stabilità del coagulo)

- LY30: percentuale della lisi (attività di fibrinolisi) del coagulo a 30 minuti dalla massima ampiezza (MA)

Altri utilizzi

Di seguito sono riportati alcuni esempi di come il monitoraggio viscoelastico (VEM) viene utilizzato, sebbene ancora in maniera sperimentale, per la gestione di particolari gruppi di pazienti affetti da coagulopatie³².

- Nella sepsi, sindrome clinica comune e mortale, in cui un'infezione causa infiammazione sistemica, è una delle principali cause di morbilità e mortalità significative. L'infiammazione è nota per danneggiare il sistema vascolare e attivare la cascata di coagulazione, che porta alla deposizione di fibrina nei vasi di piccole e medie dimensioni. Si ritiene che questo processo medi la disfunzione e l'insufficienza degli organi. L'attivazione della cascata di coagulazione nella sepsi esiste lungo un continuum: alcuni pazienti con lieve disfunzione degli organi possono avere solo deposizione microvascolare di fibrina, mentre quelli che progrediscono verso la coagulazione intravascolare disseminata possono avere trombosi macrovascolari. Il meccanismo fisiopatologico alla base è l'attivazione delle citochine della cascata di coagulazione attraverso la via del TF, oltre alla disregolazione dei meccanismi che tipicamente regolano la formazione del trombo. Inizialmente, i pazienti possono diventare ipercoagulabili, ma con il progredire dell'infezione e dell'infiammazione, possono evolvere verso la coagulazione intravascolare disseminata (CID). Diversi studi hanno valutato l'uso della VEM nella sepsi. I risultati dei test VEM sono anormali nelle popolazioni con sepsi rispetto a quelli dei controlli, e le anomalie della VEM sono associate ad un peggioramento della malattia con maggiore mortalità. Inoltre, i pazienti con stati ipocoagulabili sembrano avere una maggiore incidenza di coagulazione intravascolare disseminata e più frequentemente hanno esiti peggiori rispetto ai pazienti con profili normali o ipercoagulabili. Esiste una significativa variazione degli effetti e non sono chiare le definizioni degli stati iper o ipocoagulabili. L'ampiezza massima (MA) è un parametro generale per la coagulazione complessiva. I pazienti con sepsi frequentemente presentano uno stato ipercoagulabile o ipocoagulabile. Tuttavia, qualsiasi anomalia della VEM è associata a un esito peggiore rispetto a una VEM normale, di cui un profilo ipocoagulabile (di solito rappresentato da una diminuzione dell'ampiezza massima o della fermezza massima del coagulo) è associato a un

peggioramento della disfunzione degli organi e dell'esito clinico. È possibile che i pazienti con diversi fenotipi di coagulazione di base rispondano diversamente alle strategie di trattamento. Ad esempio, se la fluidoterapia a grande volume contribuisce a uno stato ipocoagulabile (come osservato nel trauma), forse i pazienti ipocoagulabili trarrebbero beneficio da una strategia di fluidi restrittiva con precoci vasopressori rispetto a una strategia di fluidi più liberale. Studi precedenti sulla sepsi e su altre patologie hanno suggerito che certe anomalie nella VEM sono associate alla gravità della malattia e agli esiti delle stesse; queste informazioni prognostiche possono aiutare a identificare i pazienti che necessitano di cure più precoci e aggressive. Infine, la VEM potrebbe identificare bersagli terapeutici. Ad esempio, la terapia anticoagulante o antifibrinolitica potrebbe aiutare alcuni pazienti con sepsi.

- Nella malattia epatica cronica, dove è nota la compromissione della sintesi dei fattori della coagulazione e che i pazienti con malattia epatica cronica sperimentano morbilità e mortalità sia da eventi emorragici che trombotici. Sebbene la trombocitopenia e il prolungamento del PT siano indicatori clinici validati della gravità della malattia epatica, essi correlano scarsamente con l'insorgenza e la gravità delle complicanze emorragiche in questa popolazione. Il PT è prolungato a causa della diminuzione della produzione epatica di proteine di coagulazione (incluse i fattori di coagulazione, il fibrinogeno e le proteine anticoagulanti). Inoltre, la malattia epatica cronica aumenta la produzione di fattore VIII e fattore di von Willebrand. Il fattore di von Willebrand è presente a livelli molto più alti nei pazienti con cirrosi, è essenziale per l'interazione tra piastrine e superficie subendoteliale per formare un coagulo e può limitare l'effetto ipocoagulabile della trombocitopenia correlata al fegato. Il risultato clinico è che il sangue dei pazienti con cirrosi può essere procoagulante o anticoagulante, oppure possono avere un fenotipo emostatico bilanciato, e i test di coagulazione di routine forniscono solo una chiarificazione parziale. La VEM potrebbe aiutare a dimostrare il vero stato della coagulazione nei pazienti con malattia epatica cronica. La TEG potrebbe avere il potenziale per fornire informazioni accurate sul vero stato di coagulazione nei pazienti epatici. I parametri TEG sono più probabilmente normali nei pazienti con cirrosi rispetto a quelli dei test di coagulazione di routine. Quando queste informazioni vengono considerate insieme ai risultati di studi randomizzati in pazienti cirrotici con sanguinamento gastrointestinale che mostrano una diminuzione delle trasfusioni nei gruppi guidati da TEG, suggerisce che la TEG potrebbe avere un ruolo nel rilevare la coagulazione riequilibrata. Tuttavia, ci sono alcune limitazioni. La riproducibilità a

breve termine nel contesto della cirrosi stabile è stata confermata; tuttavia, manca la variazione all'interno di un singolo paziente nel tempo con la progressione della malattia. Si è suggerito che i pazienti con malattia epatica grave potrebbero richiedere ulteriori studi come coorte per stabilire intervalli di riferimento distinti per i parametri TEG. Nonostante queste lacune di conoscenza, la TEG ha mostrato promesse nel migliorare lo standard di cura per la trasfusione di pazienti con cirrosi. Nel complesso, la VEM potrebbe consentire una terapia trasfusionale individualizzata per i pazienti con sanguinamento correlato alla cirrosi, riducendo gli eventi avversi e garantendo un uso oculato dei prodotti ematici. Mostra promesse nella diagnosi della coagulopatia della malattia epatica e nel migliorare il trattamento delle condizioni emorragiche nei pazienti con cirrosi, ma sono necessarie ulteriori ricerche per definire i suoi ruoli più appropriati.

- Nei pazienti con lesione cerebrale traumatica che presentano coagulopatia, in questo caso la VEM potrebbe fornire informazioni utili e aiutare nella gestione acuta. Nella lesione cerebrale traumatica isolata, la coagulopatia, definita come qualsiasi valore anomalo di una misurazione di laboratorio standard (ad esempio, INR, PTT, fibrinogeno, conta piastrinica), si svilupperà fino al 36% dei pazienti durante il loro ricovero in ospedale. La frequenza della coagulopatia aumenta con la gravità della lesione cerebrale traumatica; risulta essere rara nella lesione cerebrale traumatica lieve e più alta nella lesione penetrante rispetto a quella contudente. Diversi studi hanno utilizzato la VEM nella lesione cerebrale traumatica acuta per descrivere disturbi della coagulazione funzionali e stratificare il rischio dei pazienti. La coagulopatia occulta, o parametri VEM anomali con normali misurazioni di laboratorio tradizionali, può essere presente; sebbene sia difficile stimare in modo affidabile quanto frequentemente ciò accada, data la mancanza di definizioni standardizzate e variabilità metodologica, è stato riportato nel 30% al 88% dei casi. Se la principale anomalia in questi pazienti sia dei fattori di coagulazione, della fibrina o della funzione piastrinica non è ancora stato stabilito con fermezza. Infatti, sebbene la maggior parte dell'attenzione sia stata concentrata sull'ipocoagulabilità, le misurazioni VEM hanno dimostrato che fino al 16% dei pazienti con lesione cerebrale traumatica potrebbe presentare un'occulta ipercoagulabilità. L'identificazione tempestiva e la correzione della coagulopatia nella lesione cerebrale traumatica al momento dell'arrivo del paziente in ospedale è un'area attiva di indagine perché l'espansione delle emorragie intracraniche traumatiche è comune, e la coagulopatia in questa popolazione di pazienti è stata associata a un aumento di 7 volte del tasso di mortalità. L'ipocoagulabilità misurata dalla VEM alla

presentazione con grave lesione cerebrale traumatica acuta è stata predittiva di declino neurologico e mortalità a 30 giorni, ma non è chiaro che questa capacità predittiva superi quella dei test di coagulazione di routine. La VEM ha mostrato un significativo potenziale nella predizione dell'espansione dell'ematoma nei pazienti con emorragia intracranica spontanea che altrimenti presentano valori normali nei test standard di coagulazione.

Ci sono diverse limitazioni nell'uso della VEM nell'assistenza di emergenza. In primo luogo, sebbene la VEM sia utilizzata clinicamente nella cura dei pazienti traumatizzati, la sua utilità nella gestione delle altre condizioni descritte in precedenza è promettente ma rimane sperimentale. Inoltre, le dimensioni ridotte dello studio e la significativa eterogeneità negli studi sulla VEM possono limitare la capacità di trarre conclusioni dai dati combinati. Sono necessari ulteriori studi per comprendere meglio il ruolo della VEM nelle condizioni elencate in precedenza³².

MATERIALI E METODI

Pazienti

In questo uno studio osservazionale prospettico monocentrico sono stati reclutati pazienti affetti da un sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante, in terapia anticoagulante all'accesso presso il Dipartimento di Emergenza e Accettazione dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria "Maggiore della Carità" di Novara. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Interaziendale dell'Ospedale Maggiore della Carità di Novara (numero di approvazione del Comitato Etico: CE 184/21, versione 2.0 del 21 ottobre 2021) ed è stato condotto da dicembre 2022 a gennaio 2024. Per ogni paziente giunto in pronto soccorso, che rispettasse i criteri di inclusione è stato raccolto un consenso informato scritto.

Obbiettivo dello studio

Endpoint primario di questo studio è stato quello di cercare eventuali caratteristiche tromboelastografiche, cliniche o laboratoristiche, che possano essere utilizzate come parametro per identificare un eventuale fallimento della *reversal therapy*, in pazienti in terapia anticoagulante con VKA o DOACs, con una diagnosi di sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante, che vengono trattati tramite somministrazione di plasma fresco congelato e PCC a tre o quattro fattori.

In particolare, come fallimento della *reversal therapy* si intende:

- Necessità di nuova somministrazione di PCC o plasma fresco congelato
- Incremento del sanguinamento intracranico alla TC cerebrale di controllo
- Necessità di ripetere procedura di emostasi (endoscopica, angiografica)
- Necessità di intervento chirurgico per arrestare il sanguinamento
- Decesso legato al sanguinamento

Criteri di inclusione, esclusione e protocollo

Sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti di maggiore età in terapia anticoagulante attiva con VKA o DOACs che accedono presso il Dipartimento di Emergenza e Accettazione dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria "Maggiore della Carità" di Novara per un sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante. La definizione di sanguinamento maggiore e clinicamente rilevante seguirà le indicazioni precedentemente spiegate.

Riassumendo brevemente:

- Pz in terapia anticoagulante attiva con VKA o DOACs che accedono in PS per sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante con indicazione a *reversal therapy*,
- Età ≥ 18 anni
- Espressione e firma di un consenso informato

Sono stati considerati criteri di esclusione:

- Età < 18 anni;
- Gravidanza in atto;
- Mancata espressione di consenso informato da parte del paziente o di un rappresentante secondo le normative vigenti.

Secondo il protocollo dello studio: all'accesso in pronto soccorso i pazienti sono stati presi in carico dal medico d'urgenza ed a seguito della diagnosi di sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante è richiesto il consenso informato; una volta raccolto il consenso sono stati raccolti i dati, prelevate le provette di sangue per le indagini emocromocitometriche e tromboelastografiche; contemporaneamente però è anche avviata la *reversal therapy* tramite somministrazione di PFC e PCC a tre o quattro fattori, come illustrato precedentemente, dato che, è doveroso sottolineare, il fatto che il protocollo dello studio non ha mai inficiato sulla qualità o la tempistiche delle cure dei pazienti. Quindi al T0 sono stati raccolti i dati del paziente, i parametri vitali, eseguite le indagini emocromocitometriche e tromboelastografiche e avviata la *reversal therapy*, riportati su apposita CRF (come illustrato successivamente). A 24h, ovvero a T1, dalla *reversal therapy* sono stati ripresi i parametri vitali, rifatte le indagini emocromocitometriche e tromboelastografiche, annotando sempre i dati sul CRF. A 48h, ovvero a T2, è stato valutato l'endpoint definito dall'eventuale successo della *reversal therapy*, quindi, i pazienti sono stati classificati come responsivi o non responsivi. I pazienti responsivi sono quelli che al T2 non presentavano un sanguinamento ricorrente, mentre i non responsivi a T2 sono i pazienti con necessità di reintervento, nei quali quindi c'è stato un fallimento della *reversal therapy*.

Ad un mese dall'evento emorragico, ovvero a T3, è stato effettuato un follow-up telefonico per raccogliere eventuali informazioni sullo stato di salute, successivi ricoveri, complicanze o modifiche alla terapia. A 4 mesi, ovvero a T4, è stato effettuato invece un follow-up solamente riguardo eventuali nuovi ricoveri o eventuale decesso tramite PsNet.

Tromboelastografia

A ciascun paziente che ha acconsentito a partecipare allo studio è stata prelevata una quantità di circa 2 ml di sangue venoso in una provetta con citrato (tappo azzurro). Entro 30 minuti dal momento del prelievo venoso è stata eseguita l'analisi al tromboelastografo (TEG® 6S Tromboelastograph Hemostasis Analyzer System, Haemonetics Corporation, Boston, Massachusetts, USA) presente in dotazione presso il Dipartimento di Emergenza e Accettazione dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria "Maggiore della Carità" di Novara.

In particolare, sono stati esaminati quattro canali di studio:

1. Tromboelastografia con Caolino, per esaminare la via intrinseca della coagulazione.
2. Tromboelastografia con Caolino più Eparinasi, per valutare la concomitante presenza di eparine o eparinoidi.
3. Tromboelastografia rapida (Rapid TEG) con il reagente Tissue Factor, per esaminare rapidamente la via intrinseca ed estrinseca della coagulazione.
4. Tromboelastografia con inibitore piastrinico GP IIb/IIIa, per valutare il contributo della fibrina alla forza del coagulo e il contributo relativo del fibrinogeno e delle piastrine alla forza complessiva del coagulo.

Dai canali di studio sono stati raccolti ed analizzati i seguenti dati:

- I. R: Tempo di coagulazione
- II. K: tempo necessario per arrivare ad un'apertura della curva di 20 mm
- III. α : angolo tangente alla curva a livello dell'apertura di 20 mm
- IV. MA: massima ampiezza del grafico
- V. LY30: percentuale della lisi del coagulo a 30 minuti dalla massima ampiezza (MA)

In associazione alle analisi tromboelastografiche sono stati eseguiti i normali prelievi venosi, a cui è stata associata la richiesta per il profilo coagulativo e il dosaggio del fibrinogeno (T0).

Nei pazienti con sanguinamento, la valutazione tramite tromboelastografia, così come l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico e la valutazione di PT, aPTT e fibrinogeno sono state ripetute, su sangue prelevato con le medesime modalità precedenti a 24 ore dalla somministrazione della *reversal therapy* (T1).

Case report Form (CRF)

In concomitanza alle metodiche di laboratorio è stato compilato un CRF (*Case Report Form*), questionario contenente i seguenti dati:

- Anagrafica (data di nascita, sesso, età, peso, altezza)
- Informazioni di accesso al pronto soccorso (data e ora di accesso, data e ora di contatto con il primo medico, provenienza)
- Terapia anticoagulante domiciliare (tipo di farmaco, dosaggio, ultima assunzione)
- Sanguinamento (tipo di sanguinamento, dinamica, sede)
- Gestione terapeutica (tipo di *reversal therapy* e dosaggi dei vari farmaci)
- Parametri al T0 – al momento della visita in pronto soccorso
 - Parametri vitali
 - Emocromo
 - Biochimica
 - Coagulazione
 - Caolino TEG
 - Caolino TEG con eparinasi
 - Rapid TEG
 - Fibrinogeno funzionale TEG
- Score fragilità T0 – al momento della visita in pronto soccorso
 - *Activities of daily living (ADL)*
 - *Mobilità Barthel*
 - *Instrumental activities of daily living scale (IADL)*
 - *Short portable mental status questionnaire (SPMSQ)*
 - *Mini nutritional assessment - short form (MNA-SF)*
 - *Comorbidità - cumulative illness rating scale (CIRS)*
- Parametri al T1 – 24h dalla *reversal therapy*
 - Parametri vitali
 - Emocromo
 - Biochimica
 - Coagulazione
 - Caolino TEG
 - Caolino TEG con eparinasi
 - Rapid TEG
 - Fibrinogeno funzionale TEG
- Esito a 48h della *reversal therapy* – T2
- Score fragilità T3 – follow-up telefonico ad un mese

- *Activities of daily living (ADL)*
- *Mobilità Barthel*
- *Instrumental activities of daily living scale (IADL)*
- *Short portable mental status questionnaire (SPMSQ)*
- *Mini nutritional assessment - short form (MNA-SF)*
- *Comorbidità - cumulative illness rating scale (CIRS)*
- Follow-up a 4 mesi tramite PsNet – T4
 - Numero di accessi in pronto soccorso negli ultimi 4 mesi
 - Morte
 - Eventuale data di morte

Tutti i dati raccolti, quindi, sono stati resi anonimi e trasferiti su un database online condiviso tra gli sperimentatori autorizzati sul software RedCap, in uso all'Università del Piemonte Orientale.

Metodologia statistica

Numerosità campionaria

La numerosità campionaria è stata calcolata essere di 155 pazienti da reclutare, utilizzando il software Quanto (versione 1.2.4).

Infatti, ipotizzando un 25% di non responsivi alla *reversal therapy* ed assumendo un modello genetico additivo per polimorfismi con frequenza allelica compresa tra 0,15 e 0,5, la dimensione campionaria calcolata per evidenziare un *effect size* (odds ratio, OR) di 2,5, ossia clinicamente rilevante, considerando un livello di significatività statistica del 5% e potenza dello studio dell'80%, è stata di 135 pazienti. Assumendo che un 15% di questi possa essere perso al follow-up, dovranno essere reclutati in totale 155 pazienti, che potranno essere arruolati nel corso di 3 anni.

Analisi statistica

Per sintetizzare le informazioni rilevate ai soggetti inclusi nello studio, sono state utilizzate statistiche descrittive. Le variabili categoriche sono state riportate come frequenze assolute e percentuali, le variabili numeriche come media e deviazione standard (DS) o mediana e range interquartile (differenza tra primo e terzo quartile Q1-Q3) se non normalmente distribuite, in accordo con il test di Shapiro-Wilks e dall'osservazione del QQplot.

Per valutare la presenza di una variazione nei parametri TEG misurati all'arrivo al Pronto Soccorso ed a 24 ore è stato utilizzato il Signed rank test. Modelli di regressione logistica univariabili sono stati utilizzati per valutare l'associazione tra i valori degli esami ematochimici

(emoglobina e coagulazione) e dei parametri TEG, età, sesso e terapia con PCC a 3 fattori e plasma fresco congelato, PCC a 4 fattori o idarucizumab somministrato in Pronto Soccorso ed il fallimento della *reversal therapy* a 48 ore dall'ingresso. Tali modelli hanno consentito di stimare gli odds ratio (OR) ed i corrispondenti intervalli di confidenza al 95% (95%CI) per l'associazione tra le variabili precedentemente elencate misurate a T0.

Infine, modelli di regressione di Poisson univariabili con varianza robusta sono stati utilizzati per stimare i rischi relativi (RR) ed i corrispondenti 95%CI per l'associazione delle variabili precedentemente studiate ed il rischio di decesso a 4 mesi. Il modello di Poisson è stato preferito al modello di regressione logistica in quanto gli OR avrebbero rappresentato una sovrastima eccessiva del rischio relativo; bisogna ricordare che la stima dell'OR è sempre un'estremizzazione della stima dell'RR. La significatività statistica è stata considerata per un valore di $p < 0.05$.

Il software statistico con il quale è stata condotta l'analisi è stato Stata 18.

RISULTATI

Nel periodo compreso tra dicembre 2022 e gennaio 2024 sono stati arruolati in totale 71 pazienti, nei quali è stato diagnosticato un sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante, che hanno soddisfatto i criteri di inclusione, previo consenso informato e nei quali è stata sottoposta la *reversal therapy*. Tutti i pazienti sono stati arruolati in pronto soccorso (T0) secondo il protocollo; è stato effettuato un follow-up telefonico ad un mese di distanza (T3), e ricontrollati gli eventuali altri accessi in pronto soccorso o un eventuale decesso tramite PsNet a 4 mesi (T4).

Tabella 1: statistiche descrittive dei pazienti arruolati nello studio

	N	%
Sesso		
Maschi	47	66.2
Femmine	24	33.8
Provenienza		
Domicilio	49	0.69
Altro DEA o reparto	16	0.23
RSA o recupero	6	0.08
Esito		
Dimissione	8	0.11
Ricovero	62	0.87
Decesso	1	0.01
Reparto di ricovero		
Internistico	19	0.31
Chirurgico	8	0.13
Terapia semi-intensiva/intensiva	35	0.56
Ricovero in RIA nelle 24h successive all'accesso in PS		
No	62	0.87
Sì	9	0.13
Terapia Domiciliare		
Eparina	3	0.04
VKA	14	0.20
DOACs	57	0.80
Anti-aggreganti	9	0.13
Dinamica del sanguinamento		
Spontaneo	44	0.62
Post-traumatico	26	0.37
Non chiaro	1	0.01

Altre terapie domiciliari		
Antipertensivi	65	0.92
Diuretici	50	0.70
Antibiotici	3	0.04
Antidiabetici	12	0.17
Età e BMI	MEAN	SD
Età	81.54	8.87
BMI	26.53	3.70

*Età e BMI sono descritti con media (Mean) e deviazione standard (SD)

Come riportato in tabella 1 la maggior parte dei pazienti erano maschi (66%), con un'età media di 81 anni, ed un BMI medio di 26.5. La maggior parte proveniva dal domicilio (69%), dei restanti, il 23% derivava da un altro DEA o un altro reparto, mentre solo una minoranza (8%) da una RSA. La quasi totalità dei pazienti (87%), è stata ricoverata, solo in pochi sono stati rimandati al domicilio (11%), mentre si è verificato un solo decesso. Il reparto dove sono stati ricoverati maggiormente è stata la terapia intensiva o semi-intensiva, circa il 56%, in ambito internistico il 31% e in ambito chirurgico l'8%. Per il 13% dei pazienti è stato necessario il ricovero in rianimazione. La terapia domiciliare prevalente è stata quella con DOACs (79%), seguita da quella con VKA (20%). Da sottolineare il fatto che alcuni pazienti erano in terapia con più farmaci contemporaneamente. La dinamica del sanguinamento per la maggior parte dei casi è stata spontanea (62%).

Tabella 2: Tipologia di sanguinamento

	N	%
Tipologia di sanguinamento		
Emorragia cerebrale	18	0.25
• Ematoma intracranico	10	0.14
• ESA	3	0.04
• Ematoma extradurale	2	0.03
• Ematoma subdurale	6	0.08
Emotorace	4	0.06
Emoperitoneo	2	0.03
Emorragia intraparenchimale addominale	3	0.04
• Rene	2	0.03
• Fegato	1	0.01
Ematoma rifornito	25	0.35
• Arto superiore destro	2	0.03

• Arto inferiore destro	5	0.07
• Arto inferiore sinistro	3	0.04
• Torace	1	0.01
• Muscoli retti addome	3	0.04
• Retroperitoneo	4	0.06
• Bacino	8	0.11
Sanguinamento gastrointestinale	24	0.34
• Stomaco	6	0.08
• Duodeno	3	0.04
• Tenue	2	0.03
• Colon	13	0.18

In tabella 2 vengono mostrate le tipologie di sanguinamento, i più comuni risultano essere gli ematomi riforniti e i sanguinamenti gastrointestinali corrispondenti rispettivamente al 35 e 34%. Le emorragie cerebrali rappresentano circa un quarto del totale, e tra le varie sottocategorie quella più rappresentata sono i sanguinamenti intracerebrali (14%). Infine, abbiamo percentuali minori di emotorace (6%), emorragia intraparenchimale addominale (4%) ed emoperitoneo (3%). Da notarsi come alcuni pazienti hanno avuto eventi multipli.

Tabella 3: Farmaci somministrati, esito della reversal therapy e decessi

	N	%
Farmaci somministrati prima dell'arrivo in DEA		
Cristalloidi	13	0.18
Emazie concentrate	9	0.13
Plasma	3	0.04
Complesso protrombinico 3F	5	0.07
Vitamina K	5	0.07
Idarucizumab	2	0.03
Acido tranexamico	8	0.11
Farmaci somministrati in PS nelle prime 24h		
Cristalloidi	42	0.59

Emazie concentrate	34	0.48
Plasma	43	0.61
Piastrine	1	0.01
Complesso protrombinico 3F	43	0.61
Complesso protrombinico 4F	3	0.04
Vitamina K	12	0.17
Idarucizumab	15	0.21
Acido tranexamico	2	0.03
Fallimento reversal therapy a 48h		
No	62	0.87
Sì	9	0.13
Decesso a 4 mesi		
No	50	0.70
Sì	21	0.30

In tabella 3 invece sono descritte le informazioni relative alla terapia farmacologica a cui sono stati sottoposti i pazienti, se la *reversal therapy* ha fallito e il numero di decessi a 4 mesi. Da questi dati si nota che tendenzialmente i farmaci per avviare la *reversal therapy* vengono avviati in pronto soccorso mentre solo in una minoranza di casi vengono somministrati prima dell'accesso in DEA. Nel 59% dei pazienti sono stati somministrati cristalloidi. Sempre da questi dati si nota che, come *reversal therapy* nel 61% dei casi, è stato utilizzato il complesso protrombinico a 3F, mentre solo nel 4% quello a 4F. Quando è stato possibile è stato somministrato l'idarucizumab (21% dei casi), antidoto specifico per il dabigatran²⁶. La Vitamina K è stata utilizzata nel 17% dei casi per antagonizzare l'effetto del coumadin¹⁴. Nel 48% dei pazienti è stato necessario somministrare anche emazie concentrate. A livello pre-ospedaliero si riscontra una maggiore somministrazione di acido tranexamico (11% dei casi), coerente con sanguinamenti di tipo traumatico, in cui la sua somministrazione deve avvenire il prima possibile³⁵.

Il fallimento della *reversal therapy* è avvenuto solo nel 13% dei casi. A 4 mesi i decessi sono stati il 30%.

Tabella 4: confronto dati parametrici coagulativi e del TEG a T0 e T1

	T0		T1		T0-T1		
Emoglobina e coagulazione	Mediana	IQR#	Mediana	IQR#	Mediana	IQR#	P-value
HB	10,10	4,70	9,90	2,05	-0,20	2,95	0,7184
INR	1,46	0,66	1,16	0,18	-0,24	0,46	<0.0001
PT	14,70	5,30	12,60	1,70	-2,20	3,70	<0.0001
aPTT	37,70	19,00	32,10	7,20	-4,70	10,30	<0.0001
Caolino TEG (K)							
R	7.50	4.20	5.70	2.80	-1.60	4.80	0.0087
K	1.20	0.60	1.10	0.70	0.00	0.60	0.263
Angolo	74.25	7.30	74.75	5.30	0.90	5.50	0.1539
MA	65.80	8.70	64.85	7.70	-0.50	3.90	0.4128
LY30	0.00	0.20	0.00	0.60	0.00	0.20	0.1653
Caolino TEG con Eparinasi (KH)							
R	7.50	3.70	5.60	2.00	-1.75	2.55	0.0003
K	1.10	0.40	1.00	0.40	0.00	0.40	0.2605
Angolo	75.50	4.20	76.50	4.00	0.25	4.95	0.158
MA	66.40	7.20	66.15	5.75	-1.05	3.10	0.0956
Rapid TEG							
R	0.70	0.80	0.40	0.30	-0.20	0.40	0.0002
K	1.00	0.60	0.90	0.70	0.00	0.40	0.6279
Angolo	76.80	4.70	77.40	4.10	0.40	2.30	0.0372
MA	66.00	8.40	66.30	7.50	-1.00	4.00	0.1645
LY30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.7758
Fibrinogeno funzionale TEF (FF)							
MA	26.95	15.50	29.10	11.20	0.00	7.40	0.9828

In tabella 4 sono riportati i dati parametrici coagulativi e del TEG misurati al T0, ovvero all'ingresso in DEA, e al T1, ovvero a 24h dalla terapia e la loro differenza. I dati sono riportati come mediana, primo e terzo quartile, e P-value del test dei ranghi con segno (equivalente non parametrico del test t) utilizzato per verificare se esiste una variazione statisticamente significativa nel tempo dei parametri indagati, tenendo conto che, le misurazioni a T0 e T1 sono effettuate sugli stessi pazienti.

Da questi dati si è osservata una stabilità dei valori di emoglobina ed una riduzione significativa degli indici coagulativi di laboratorio tra T1 e T0 ($p < 0.05$).

Per quanto riguarda il TEG, invece, si è riscontrata una diminuzione statisticamente significativa solamente per il parametro R (tempo di coagulazione), ovvero il parametro che definisce dopo quanto tempo inizia a formarsi il coagulo. Questa diminuzione è presente per tutte le modalità misurate (K, KH e RT), in particolare:

- Nella modalità K passa da un valore medio di 7.50 al T0, ad un valore medio di 5.70 al T1
- Nella modalità KH a T0 è di 7.50 per passare a 5.60 al T1
- Nella modalità RT passa da 0.70 al T0 a 0.40 nel T1
- Per tutti gli altri valori non c'è stata una riduzione statisticamente significativa.

Tabella 5: Fallimento della reversal therapy a 48h dall'ingresso in PS.

T0				
95% CI				
	OR	LL	UL	P-Value
Caolino TEG (K)				
R	0.97	0.84	1.11	0.67
K	0.70	0.30	1.64	0.41
Angolo	1.03	0.96	1.10	0.41
MA	1.00	0.92	1.07	0.91
LY30	1.51	0.54	4.26	0.43
Caolino TEG con eparinasi (KH)				
R	1.11	0.86	1.43	0.44
K	1.17	0.37	3.74	0.79

Angolo	0.96	0.85	1.09	0.52
MA	0.94	0.85	1.05	0.27
Rapid TEG (RT)				
R	0.95	0.49	1.83	0.87
K	0.68	0.24	1.95	0.47
Angolo	1.04	0.95	1.14	0.43
MA	1.00	0.92	1.08	0.93
LY30	1.00	0.43	2.33	>0.999
Fibrinogeno funzionale (FF)				
MA	0.96	0.90	1.03	0.27
Predittori dicotomici				
Età	1.03	0.95	1.13	0.49
Sesso	0.52	0.10	2.72	0.44
Plasma	6.17	0.73	52.38	0.10
PCC 3F	2.53	0.49	13.17	0.27
PCC 4F	1.17	0.12	10.99	0.89
Idarucizumab	0.43	0.05	3.73	0.44

In tabella 5 sono riportati gli OR e i corrispondenti intervalli di confidenza (95%), per l'associazione tra i parametri TEG al T0, età, sesso, terapia con plasma, PCC a 3F e 4F, idarucizumab, somministrati in pronto soccorso e il fallimento della *reversal therapy* a 48h. Dai dati ottenuti si evince che dati gli intervalli di confidenza e i valori dell'OR, nessuna delle variabili, sia misurate al T0, sia misurate come differenza tra T0 e T1 può essere considerata come fattore predittivo di fallimento della *reversal therapy* a 48h in maniera statisticamente significativa.

DISCUSSIONE

Questo studio si concentra sulla valutazione dell'efficacia della tromboelastografia (TEG) come strumento predittivo del fallimento della *reversal therapy* nei pazienti in terapia anticoagulante con VKA (*vitamin K antagonists*) o DOACs (*direct oral anticoagulants*), con sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante. L'obiettivo principale è stato determinare se i parametri misurati dalla TEG al momento dell'ammissione del paziente in pronto soccorso (T0) o la differenza tra i valori al T0 e a 24h dalla *reversal therapy* (T1) potessero predire il fallimento della *reversal therapy* a 48 h.

I dati ottenuti riportati in tabella 1 hanno permesso di descrivere la popolazione affetta da sanguinamento: come riportato dai dati, la maggior parte dei pazienti nella popolazione in studio sono stati anziani, con un età media di 81,5 anni. Si tratta, quindi, tipicamente di pazienti polipatologici in politerapia; tra le terapie più presenti vediamo i farmaci antipertensivi, presenti nel 92% dei casi, diuretici presenti nel 70% dei casi e antidiabetici nel 17% dei casi. Il luogo di provenienza da dove i pazienti sono provenuti maggiormente è stato dal loro domicilio (69%), nella restante parte dei casi invece si trattava di pazienti provenienti o da altri reparti (23%) o da RSA e case di recupero (8%). La causa del sanguinamento più comune è stata quella di tipo spontaneo, caratteristica in realtà prevedibile, in quanto è uno dei principali effetti collaterali della terapia anticoagulante (62%). I sanguinamenti di tipo traumatico invece sono stati il 37%, mentre la dinamica non è stata possibile chiarirla per un solo caso. Per quanto riguarda la tipologia del sanguinamento come riportato nella tabella 2, le sedi maggiormente colpite sono state il sistema nervoso centrale con un quarto dei casi totali e il sistema gastrointestinale con più di un terzo dei casi. Gli ematomi riforniti, come macrocategoria, rappresentano la maggior parte degli eventi, ma distribuiti su molte più sedi. Infine, è da sottolineare che alcuni pazienti hanno avuto eventi multipli, in particolare a livello cerebrale, dove l'emorragia rappresenta una problematica particolarmente grave e di difficile gestione, dove quindi anche la *reversal therapy* ha avuto maggior tasso di fallimento.

Dai dati raccolti e riportati in tabella 3 si evince che la *reversal therapy* tipicamente viene somministrata in pronto soccorso, mentre prima dell'accesso le cure si concentrano maggiormente sulla stabilità emodinamica dei pazienti. A tal proposito a livello pre-ospedaliero i farmaci più utilizzati sono stati cristalloidi nel 18% dei casi ed emazie concentrate nel 13% dei casi. Il complesso protrombinico a 3F e la vitamina K sono stati somministrati entrambi nel 7% dei casi, l'idarucizumab solamente nel 3% dei casi. La somministrazione di acido tranexamico, coerentemente con quanto detto, è avvenuta maggiormente a livello pre-

ospedaliero (11%) dato che il trattamento dei sanguinamenti di tipo traumatico, la sua somministrazione deve avvenire il prima possibile, in quanto riduce il rischio di mortalità³⁵.

A livello ospedaliero troviamo sempre nella maggioranza dei casi la somministrazione di cristalloidi ed emazie concentrate ma in associazione alla *reversal therapy*: il plasma fresco congelato è stato utilizzato nel 61% dei casi, così come il PCC a 3F, la vitamina K nel 17% dei casi e l'idarucizumab nel 21% dei casi. Solo nel 4% dei casi è stato utilizzato il PCC a 4F. L'acido tranexamico è stato utilizzato solamente nel 3% dei casi.

Il fallimento sul nostro campione in studio si è verificato nel 13% dei casi, ovvero in soli 9 pazienti, questo dato conferma l'efficacia della *reversal therapy* ma contemporaneamente, dato il numero ridotto di fallimenti, non ci fornisce abbastanza dati per definire quelli che potrebbero essere dei parametri predittivi per il fallimento.

La mortalità a quattro mesi è risultata essere del 30%, ovvero 21 pazienti sono deceduti, numero abbastanza elevato, considerando però, che si trattava di pazienti in età avanzata con più patologie croniche in corso. L'emorragia in corso di terapia anticoagulante rimane una complicanza di difficile gestione ed elevata mortalità, descritta ancora da pochi dati in letteratura.

Tramite i parametri tromboelastografici è possibile esaminare la coagulazione del paziente in toto, tramite una valutazione dinamica della formazione del coagulo. Tra i parametri osservati che rispecchiano il tempo di formazione, stabilità, forza e dissoluzione del coagulo si è potuto osservare una variazione statisticamente significativa solo per il parametro R, corrispondente al tempo necessario all'inizio della formazione del coagulo; parametro che può essere influenzato sia da variazioni interindividuali tra i soggetti in studio, ma sicuramente anche dalla terapia anticoagulante. Caratteristiche che vengono rispecchiate dai parametri TEG, dato che, mediamente al T0 il parametro R ha valori maggiori, mentre al T1, ovvero dopo la *reversal therapy*, i valori diminuiscono.

I risultati ottenuti indicano che nessuna delle variabili tromboelastografiche analizzate al T0 o come differenza tra T0 e T1 ha mostrato una modifica statisticamente significativa nel predire il fallimento della *reversal therapy*. Questo suggerisce che, nella nostra popolazione, i parametri TEG non possono essere utilizzati in modo affidabile per prevedere l'esito della *reversal therapy* nei pazienti anticoagulati.

Questi risultati – raccolti su un campione ancora parziale dello studio in oggetto – ci dicono quindi che i soli parametri TEG non sono sufficienti a predire l'eventuale fallimento della *reversal therapy*. In futuro potrebbe essere possibile correlare questi dati ad altri dati clinici o laboratoristici per supportare le analisi tromboelastografiche e aiutare nelle decisioni in

situazioni di emergenza. Inoltre, le caratteristiche individuali dei pazienti (gravità del sanguinamento, le comorbidità del paziente e altri parametri emodinamici) potrebbero anche sottolineare l'importanza di un trattamento personalizzato per la gestione di questa categoria di pazienti.

Tra i punti di forza di questo studio abbiamo l'utilizzo della TEG come metodica point-of-care, data la sua capacità di dare risultati in tempi brevi e in tempo reale, caratteristiche con un ruolo di rilievo nella medicina d'emergenza e urgenza, data la possibilità di indirizzare nelle decisioni terapeutiche da intraprendere. Inoltre, come altro punto di forza c'è la raccolta dati della popolazione in studio, dato che, in letteratura i dati disponibili sono ancora pochi. Tramite l'apposito CRF ci è stato possibile descrivere in maniera accurata la popolazione in terapia anticoagulante, descrivendo non solo il tipo di terapia ma anche dinamica, tipologia di sanguinamento e dove è avvenuto il maggiore tasso di fallimento della *reversal therapy*.

Infine, lo studio presenta diverse limitazioni che potrebbero aver influenzato i risultati:

1. La dimensione relativamente piccola del campione limita la potenza statistica dello studio. Studi con campioni più ampi sono necessari per confermare i risultati ottenuti.
2. La variabilità nella tempistica della raccolta dei dati e dell'inizio della terapia potrebbe aver influenzato i risultati. È fondamentale standardizzare il più possibile questi aspetti per minimizzare le fonti di bias.
3. Pazienti derivanti da altre strutture sanitarie o da regimi pre-ospedalieri che hanno già effettuato terapie possono aver influenzato i dati, specialmente se queste modalità di *reversal therapy* sono diverse dal protocollo dello studio.
4. La diversità nelle condizioni cliniche dei pazienti, comprese le diverse tipologie di sanguinamento e i vari farmaci anticoagulanti utilizzati, potrebbe aver contribuito alla variabilità dei risultati.
5. Inoltre, il trattamento gold standard per i pazienti trattati con DOACs non prevede la somministrazione di PCC a 3F o 4F ma il trattamento dovrebbe essere fatto con Andexanet alfa o Idarucizumab.

In sintesi, mentre la TEG rappresenta uno strumento utile nella gestione del sanguinamento, i risultati attuali evidenziano la necessità di ulteriori ricerche e di un approccio integrato e personalizzato per migliorare gli esiti terapeutici nei pazienti anticoagulati.

CONCLUSIONI

In conclusione, questo studio osservazionale prospettico monocentrico ha consentito di evidenziare che i parametri tromboelastografici misurati al T0 e come differenza tra T0 e T1, non possono essere considerati come predittori affidabili del fallimento della *reversal therapy* nei pazienti in terapia anticoagulante con VKA o DOACs, con sanguinamento maggiore o clinicamente rilevante.

L'aver individuato però una variazione statisticamente significativa sul parametro R, in tutte le modalità di misurazione, ci permette di supportare la tromboelastografia come metodo di indagine. Con i risultati attuali sono necessarie ulteriori ricerche, ampliando il campione numerico, per identificare altre variazioni dei parametri già presi in considerazione o altri marker più affidabili o combinazioni di parametri che possano migliorare la previsione degli esiti della *reversal therapy*.

BIBLIOGRAFIA

1. Konkle, B. A. Bleeding and Thrombosis. in *Harrison's Principles of Internal Medicine* (eds. Loscalzo, J. et al.) (McGraw-Hill Education, New York, NY, 2022).
2. King, M. W. Blood Coagulation. in *High-Yield Q & A Review for USMLE Step 1: Biochemistry and Genetics* (McGraw Hill Education, New York, NY, 2023).
3. Kroll, M. & Schafer, A. Biochemical mechanisms of platelet activation. *Blood* **74**, 1181–1195 (1989).
4. Shen, J. *et al.* Coordination of platelet agonist signaling during the hemostatic response in vivo. *Blood Advances* **1**, 2767–2775 (2017).
5. Zehnder, J. L. Drugs Used in Disorders of Coagulation. in *Katzung's Basic & Clinical Pharmacology* (ed. Vanderah, T. W.) (McGraw-Hill, New York, NY, 2024).
6. Parretti, D., Giustini, S. E. & Società, R. *NAO-FA I Nuovi Anticoagulanti Orali Nella Profilassi Antitromboembolica in Pazienti Con Fibrillazione Atriale.*
7. Harter, K., Levine, M. & Henderson, S. Anticoagulation Drug Therapy: A Review. *WestJEM* **16**, 11–17 (2015).
8. Milling Jr., T. J. & Ziebell, C. M. A review of oral anticoagulants, old and new, in major bleeding and the need for urgent surgery. *Trends in Cardiovascular Medicine* **30**, 86–90 (2020).
9. Tomaselli, G. F. *et al.* 2020 ACC Expert Consensus Decision Pathway on Management of Bleeding in Patients on Oral Anticoagulants. *Journal of the American College of Cardiology* **76**, 594–622 (2020).
10. Furie, B., Bouchard, B. A. & Furie, B. C. Vitamin K-Dependent Biosynthesis of γ -Carboxyglutamic Acid. *Blood* **93**, 1798–1808 (1999).

11. Dhakal, P., Rayamajhi, S., Verma, V., Gundabolu, K. & Bhatt, V. R. Reversal of Anticoagulation and Management of Bleeding in Patients on Anticoagulants. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* **23**, 410–415 (2017).
12. Mbbs, N. C. Direct oral anticoagulants: evidence and unresolved issues. **396**, (2020).
13. Raymond, J. *et al.* Pharmacogenetics of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. (2021).
14. Steffel, J. *et al.* The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *European Heart Journal* **39**, 1330–1393 (2018).
15. Neumann, I. *et al.* DOACs vs LMWHs in hospitalized medical patients: a systematic review and meta-analysis that informed 2018 ASH guidelines. **4**, (2020).
16. Chai-Adisaksopha, C., Crowther, M., Isayama, T. & Lim, W. The impact of bleeding complications in patients receiving target-specific oral anticoagulants: a systematic review and meta-analysis. *Blood* **124**, 2450–2458 (2014).
17. Kaatz, S., Ahmad, D., Spyropoulos, A. C. & Schulman, S. Definition of clinically relevant non-major bleeding in studies of anticoagulants in atrial fibrillation and venous thromboembolic disease in non-surgical patients: Communication from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* **13**, 2119–2126 (2015).
18. *Definition of Major Bleeding in Clinical Investigations of Antihemostatic Medicinal Products in Non-Surgical Patients*. <http://www.eudra.org/emea.html>.
19. Schulman, S. *et al.* Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in surgical patients. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* **8**, 202–204 (2010).

20. Aiyagari, V. & Testai, F. D. Correction of coagulopathy in warfarin associated cerebral hemorrhage: *Current Opinion in Critical Care* **15**, 87–92 (2009).
21. Pisters, R. *et al.* A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: The euro heart survey. *Chest* **138**, 1093–1100 (2010).
22. Yee, J. & Kaide, C. Emergency Reversal of Anticoagulation. *WestJEM* **20**, 770–783 (2019).
23. Sørensen, B., Spahn, D. R., Innerhofer, P., Spannagl, M. & Rossaint, R. Clinical review: Prothrombin complex concentrates - evaluation of safety and thrombogenicity. (2011).
24. Hoffman, M. The impact of prothrombin complex concentrates when treating DOAC-associated bleeding: a review. (2018).
25. Piran, S. & Schulman, S. Treatment of bleeding complications in patients on anticoagulant therapy. *Blood* **133**, 425–435 (2019).
26. Reilly, P. A., Van Ryn, J., Grottke, O., Glund, S. & Stangier, J. Idarucizumab, a Specific Reversal Agent for Dabigatran: Mode of Action, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, and Safety and Efficacy in Phase 1 Subjects. *The American Journal of Medicine* **129**, S64–S72 (2016).
27. Gressenberger, P. Reversal strategies in patients treated with direct oral anticoagulants. *Vasa* **48**, 389–392 (2019).
28. Heubner, L., Vicent, O., Beyer-Westendorf, J. & Spieth, P. M. Bleeding management in patients with direct oral anticoagulants. *CMAJ. Canadian Medical Association Journal* **89**, 707–715 (2023).

29. Chaudhary, R. *et al.* Evaluation of Direct Oral Anticoagulant Reversal Agents in Intracranial Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open* **5**, E2240145 (2022).
30. Connolly, S. J. *et al.* Andexanet Alfa for Acute Major Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med* **375**, 1131–1141 (2016).
31. Othman, M. & Kaur, H. Thromboelastography (TEG). in *Methods in Molecular Biology* vol. 1646 533–543 (Humana Press Inc., 2017).
32. Tyler, P. D. *et al.* New Uses for Thromboelastography and Other Forms of Viscoelastic Monitoring in the Emergency Department: A Narrative Review. *Annals of Emergency Medicine* **77**, 357–366 (2021).
33. Whiting, P. *et al.* Viscoelastic point-of-care testing to assist with the diagnosis, management, and monitoring of haemostasis: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess* **19**, 1–228 (2015).
34. Wikkelsø, A., Wetterslev, J., Møller, A. M. & Afshari, A. Thromboelastography (TEG) or thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment versus usual care in adults or children with bleeding. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2018**, (2016).
35. The CRASH-2 trial: a randomised controlled trial and economic evaluation of the effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and transfusion requirement in bleeding trauma patients. *Clinical Governance: An International Journal* **18**, (2013).

RINGRAZIAMENTI

In primo luogo, desidero ringraziare il mio relatore, il dott. Francesco Gavelli, sempre disponibile nei miei confronti fin dal primo giorno in cui gli chiesi di poter frequentare il pronto soccorso, desidero anche ringraziare tutto il personale del reparto, medici, specializzandi ed infermieri che mi hanno sempre permesso di trovare un posto all'interno del reparto, dove sentirmi parte dell'equipe e imparare senza essere d'intralcio o di troppo.

Ringrazio Pippo e Teo, amici e compagni fin dalle medie, con cui ho condiviso il liceo, scelta che a detta di tutti non era la mia strada, ma che in realtà tanto sbagliata non era, per poi finire coinquilini per un periodo all'università, dove abbiamo condiviso momenti indimenticabili, tra allenamenti, serate in casa ad ammazzare il tempo, Chicco divenuto praticamente nostro quarto coinquilino, le partite a freccette e tutte le canzoni che ad oggi riascoltarle ci fanno rivivere quei momenti.

Ringrazio Teo, per ricordarmi sempre di quanto sia orgoglioso di me e della strada che ho intrapreso. Michi e Jonny amici e soci in arrampicata, con cui ho condiviso le vie più belle in arrampicata, sempre pronti ad una nuova via o un nuovo progetto. Paul, Marta e tutti gli altri soci di scalata, con cui purtroppo avrei voluto passare più tempo scalando insieme, ma che dato lo studio ho dovuto rinunciare, sempre pronti però a chiedermi come fossi organizzato nel fine settimana per andare a scalare e staccare un po' la testa. Ste, anche lui sempre presente, socio con cui oggi condivido numerosi chilometri di pedalate.

Ringrazio Teo, compagno di serate fin dal liceo e grazie al quale ho scoperto Asimov, amico con il quale condividere idee, impressioni e sensazioni su film e libri, sempre presente per una birretta in compagnia.

Grazie anche a tutti gli amici con cui abitualmente ci si trova al venerdì o al sabato a Gattinara per intraprendere discussioni sui massimi sistemi dell'universo, Michi, Gillo, Luca, Zeno, Jen e tutti gli altri.

Un grazie anche ai miei compagni di corso con cui ho legato di più in questi anni, l'unico rimpianto è aver legato con loro solamente verso la fine, senza i quali però, probabilmente non sarei riuscito a laurearmi in tempo, quindi grazie Anto, Giuli e Vale.

Infine, ringrazio i mie genitori per avermi supportato ed avermi permesso di raggiungere i miei obiettivi, mio fratello Alex, sua moglie Silvia e la loro bellissima famiglia, con i miei nipoti Tommy e Marti.