

## **Tromboembolismo venoso e cancro: rischi e conseguenze .**

Studio sperimentale per la ricerca di nuovi biomarkers predittivi di TVP “oncologico-correlata” in età geriatrica.

Il Tromboembolismo venoso è una complicanza frequente nei tumori maligni, molto frequente nei pazienti anziani associata o meno a comorbidità, che fu segnalata per primo da Armand Trousseau nel 1865, e la combinazione delle due condizioni viene spesso ancora chiamata *sindrome di Trousseau*. (1). Comunque, nonostante l'accumulo, nel corso degli anni, di un considerevole volume di dati epidemiologici la fisiopatologia rimane ancora poco conosciuta. I pazienti sottoposti ad intervento chirurgico per neoplasia maligna presentano un rischio più alto di trombosi venosa profonda postoperatoria (TVP) rispetto a quelli operati per patologia non neoplastica (1) Studi autoptici hanno riportato percentuali più alte di embolia polmonare (PE) in pazienti con cancro comparati con pazienti senza neoplasia maligna (2). Inoltre, il rischio di recidiva dopo un primo episodio di TVP è più alto nei pazienti con cancro rispetto a quelli senza patologia maligna (3) Infine individui che presentano un episodio non spiegabile di TVP è più probabile che presentino un cancro occulto, rispetto a quelli con un fattori di rischio identificabili per trombosi, nei sei mesi successivi dopo l'episodio acuto. (4,5) In questa revisione, viene discussa in 6 sezioni l'epidemiologia della trombosi e cancro: (1) l'incidenza di TVP in pazienti con cancro con o senza trattamento antineoplastico; (2) i tumori associati più frequentemente con la trombosi; (3) l'associazione tra TVP e la malignità occulta; (4) gestione della TVP nei pazienti con cancro; (5) l'associazione inversa tra terapia anticoagulante e sopravvivenza al cancro, e (6) la prognosi dei pazienti di cancro con trombosi venosa.

### **Incidenza di TVP nei pazienti con neoplasia maligna e in trattamento antineoplastico.**

Secondo i dati clinici raccolti prospetticamente da Silverstein e coll., nella popolazione della Contea di Olmsted nel Minnesota, dal 1966 l'incidenza annuale di un primo episodio di TVP o PE nella popolazione generale è stato di 117 casi su 100.000 abitanti (0,1 %) (6). Un cancro da solo era associato a trombosi nel 4,1 punti, mentre la chemioterapia aumentava il rischio a 6,5 (7) Combinando questi dati si stima che possa verificarsi una incidenza annuale approssimativa di TVP di 1 caso su 200 in una popolazione di pazienti affetti da cancro.

Le evidenze più attendibili dell'incidenza di TVP, in individui con una forma maligna specifica, provengono da studi clinici controllati relativi alla terapia sistemica nelle donne con cancro della mammella in stadio precoce. (8-15) Sulla base dei TRIALS B14 e B20 del National Surgical Adjuvant Breast Project (8,9) che coinvolsero donne con cancro della mammella con linfonodi negativi e con recettori estrogeno positivi, l'incidenza a 5-anni di TVP nelle donne con trattate con placebo, tamoxifene, e tamoxifene più chemioterapia è stata dello 0,2%, 0,9%, e 4,2% rispettivamente. In donne con cancro della mammella con linfonodi positivi in trattamento con chemioterapia, la percentuale di trombosi varia tra l' 1% ed il 10%, con le percentuali più alte di trombosi nelle donne in postmenopausa. (10-18) In questi trials, la chemioterapia più tamoxifene aumentò il rischio di TVP rispetto alla chemioterapia da sola di circa 4 punti. Inoltre, la TVP si verifica solamente durante il trattamento e non nel periodo del follow-up della terapia adiuvante. L'età, il trattamento ormonale e la chemioterapia giocano dei ruoli sinergici nello sviluppo della trombosi nei pazienti con cancro.

L'estensione del cancro influenza anche il rischio di trombosi. In alcuni studi condotti in donne in trattamento chemioterapico per cancro della mammella in stadio differente la percentuale di trombosi si presentava abbastanza elevata (tab. 1)

	N° pazienti	Tipo di tumore	Chemioterapia in pazienti con trombosi	
			durante	dopo
Weiss (1981) (16)	433	Mammella I stadio	22 (5%)	0*
Goodnough (1984) (19)	159	Mammella IV stadio	24 (1%)	4 (2,5%)
Levine (1988) (10)	205	Mammella II stadio	14 (7%)	0*
Saphner (1991) (14)	2352	Mammella	128 (5%)	0*

\*statisticamente significativo

tab. 1 – Trombosi venosa e arteriosa nelle pazienti con tumore della mammella e trattate con chemioterapia

Un rischio molto più basso di 4,5% al di sotto dei 6 mesi è stato riportato in uno studio più recente randomizzato che includeva donne con cancro metastatico. (20) Percentuali alte di trombosi sono stati riportate anche in altri tipi di cancro, specialmente in pazienti con malattia avanzata in trattamento antineoplastico. Per esempio, hanno sviluppato una TVP circa il 10% delle donne con cancro ovarico avanzato in trattamento chemioterapico, (21) e il 28% dei pazienti con glioma maligno.(22, 23) I pazienti con malattie ematologiche maligne presentano anche un alto rischio per complicanze trombotiche, nonostante il tipo di malattia o la trombocitopenia indotta dalla chemioterapia. Pazienti con leucemia linfoblastica acuta presentano un rischio di trombosi vascolare cerebrale del 4% durante la terapia con L-asparaginasi, (24, 25) mentre il 10% dei pazienti con linfoma di Hodgkin o non-Hodgkin sviluppa una TVP (26,27) .

Percentuali molto alte di TVP sono state riportate in pazienti trattati con terapia di combinazione che includeva un agente antiangiogenico. Per esempio, quando viene combinata la talidomide con una chemioterapia antineoplastica, è stata riportata una percentuale di TVP nel 28% dei pazienti con mieloma multiplo e nel 43% dei pazienti con carcinoma del rene. (28,29) Agenti antiangiogenici sperimentali più nuovi sono stati associati anche con un alto imprevisto rischio di complicanze trombotiche nella fase precoce dei trials. (30,31) Le basi fisiopatologiche delle trombosi non sono stati chiariti in questi studi, ma sono stati proposti come meccanismo sia la cattiva funzione dell'endotelio, che le modifiche dei livelli delle proteine pro- e anticoagulanti, come anche il cattivo funzionamento dell'attività delle citochine.

Complicanze trombotiche sono anche frequenti nei portatori di cateteri a permanenza. L'incidenza non è ben definita, ma i primi studi hanno riportato percentuali di trombosi sintomatiche da catetere nel 14% dei pazienti o 1 evento ogni 1000 giorni di uso del catetere. (32) Recenti studi prospettici comunque hanno permesso di osservare che il rischio di trombosi da catetere è più basso aggirandosi intorno al 4% . (33, 34) Anche se neanche la patogenesi delle trombosi da catetere non è stata ben individuata, questa può essere causata dal danno endoteliale e dall'attivazione locale della coagulazione sanguigna. L'infusione di agenti chemioterapeutici o la irradiazione locale del torace o dell'area della spalla aggiungono danni del vaso coinvolto ed aumentano il rischio di trombosi nei pazienti che sottoposti a trattamento antineoplastico.

Alcuni pazienti con cancro possono avere anche una trombofilia ereditaria che può predisporre a complicazioni trombotiche, ma solamente alcuni studi, non numerosi, hanno valutato questo problema. Le due cause genetiche più comuni di trombofilia identificate ad oggi, come il fattore V di Leiden ed la mutazione del gene della protrombina, non sono state associate specificatamente con una trombosi nei pazienti con cancro in base a studi caso controllo (35, 36) .

### **Tumori strettamente associati con la Trombosi**

Studi autoptici e revisioni retrospettive hanno permesso di rilevare che il cancro del pancreas, del polmone, dello stomaco e gli adenocarcinomi di origine sconosciuta, sono associati più frequentemente con la trombosi, (37, 38) e esistono numerose evidenze che i cancro produttori di mucina sono molto spesso associati con TVP. Studi più recenti hanno chiarito sulla prevalenza di questo tipo tumore a sostegno di questa ipotesi. In uno studio su Medicare basato su una popolazione molto ampia, basato sulle diagnosi di dimissione, in più di 7.000 pazienti (con età superiore di 65 anni) che furono ricoverati in ospedale con un diagnosi di neoplasia maligna associata a TVP, Levitan e coll. trovarono le percentuali più alte di TVP nei casi di carcinoma ovarico (1,2%), tumori cerebrali (1,2%), e carcinoma del pancreas (1,1%) (39). In uno studio clinico recente sono stati valutati gli agenti antitrombotici in circa il 20% di soggetti che presentavano una neoplasia, i cancro più comuni interessano la prostata, colon, polmone, e cervello negli uomini, e la mammella, polmone, ed ovaio nelle donne. (40) Queste scoperte sono confermate dal rapporto di Levitan e coll. nel quale il cancro del polmone incide nel 21% di casi, il cancro del colon nel 18% e il cancro di prostata nel 17%.(39)

In sintesi, anche se i pazienti con adenocarcinoma produttore di mucina sembrano più probabilmente che sviluppano una trombosi, la maggior parte dei cancro che si osservano nella popolazione associati a trombosi sono quelli più frequenti.

### **Associazione tra TVP e cancro occulto**

Un'associazione tra trombosi e cancro occulto è conosciuta da parecchio tempo. Eventi trombotici si possono manifestare come una TVP classica o una PE, ma possono svilupparsi anche in distretti meno comuni, come le vene delle braccio o del collo, la vena cava, o la circolazione viscerale, portale, o cerebrale. (41)

Una diagnosi di cancro è più probabile che venga posta in pazienti senza fattori di rischio identificati per trombosi che si presentano con una TVP apparentemente spontanea che in quelli nei quali si verifica una TVP secondaria postoperatoriamente o in un'altra situazione ad alto rischio, o nei pazienti con segni e sintomi di TVP nei quali una trombosi viene susseguentemente esclusa. Sulla base di una analisi che riuni 4 studi di coorte, il rapporto sulla differenza tra i pazienti con malignità diagnosticata recentemente con TVP comparati con quelli nei quali era stata esclusa una TVP era di 3.2. (4), Analogamente esiste un maggiore incidenza di cancro diagnosticato successivamente nei pazienti con trombosi idiopatica che in quelli con un fattore rischio di TVP (Tab. 2) . (5, 42-46) La variazione nell'incidenza riportata probabilmente riflette le diverse definizioni per casi idiopatici e secondari, e la diversa intensità di sorveglianza del cancro in ogni studio. In una approfondita analisi di questi studi, il rapporto di diversità (odds ratio) per un successivo cancro nei pazienti che si presentano con una TVP idiopatica comparati con quelli con TVP secondaria fu di 4.8. (44) Sulla base dei risultati di studi di coorte e prove cliniche, nel 10% circa degli individui che presentano una TVP idiopatica viene successivamente diagnosticato un cancro nell'arco di 5 - 10 anni, e la diagnosi viene formulata all'interno del primo anno di presentazione della TVP in una percentuale superiore del 75% di casi. (5,42-47)

<b>Studio</b>	<b>Percentuale di Cancro</b>	
	<b>Idiopatico (%)</b>	<b>Secondario (%)</b>
Aderka 1986 (43)	9/35 (25.7)	2/48 (4.2)
Prandoni 1992 (42)	11/145 (7.6)	2/105 (1.9)
Ahmed 1996 (46)	3/113 (2.7)	0/83 (0.0)
Monreal 1997 (44)	4/96 (4.2)	4/563 (0.7)
Hettiarachchi 1998 (5)	10/137 (7.3)	3/189 (1.6)
Rajan 1998 (45)	13/152 (8.6)	8/112 (7.1)

## **Tab. 2 - Incidenza di cancro dopo diagnosi di TVP**

Questa probabilità di poter diagnosticare un cancro occulto dopo un episodio di TVP idiopatica è sostenuta da due ampi studi retrospettivi, pubblicati nel 1998, sulla base dei registri tumori. In Danimarca, Baron e coll. usando i dati di un ospedale di riferimento nazionale e i registri tumore, trovarono che la percentuale di incidenza standardizzata (SIR, numero di casi osservati diviso il numero di casi previsto nella normale popolazione e in relazione con l'età) era di 4.4 volte più elevata nei pazienti affetti da cancro a 1 anno dopo diagnosi di TVP idiopatica. (48) In Svezia, usando un database simile, Sørensen e coll. riscontrarono una SIR più bassa di 1,3 per il cancro nei pazienti con TVP o PE con un follow-up di 15 anni (49). In ambedue gli studi, la SIR era più alta nei primi 6 mesi, abbassandosi a livello fino a zero a 12 mesi dopo la presentazione della TVP. Una associazione più spiccata fu osservata nel cancro del pancreas, ovaio, fegato e cervello. Nello studio di Sørensen e coll. il 40% dei pazienti a cui fu diagnosticato un cancro entro 1 anno dopo una TVP presentavano metastasi a distanza al tempo della diagnosi di cancro.

Data l'associazione tra TVP idiopatica e cancro occulto, è stato suggerito che i pazienti con una trombosi non provocata da fattori esterni dovrebbero essere studiati come se fossero affetti da neoplasia maligna. I risultati preliminari di un piccolo studio randomizzato che valutava lo screening esteso contro nessun screening in pazienti che presentavano una TVP idiopatica è stato riportato recentemente. (50) La serie di indagini usate nei programmi di screening includono gli ultrasuoni e la tomografia computerizzata dell'addome e della pelvi, esame con il guaiaco per la ricerca del sangue occulto nelle feci, gastroscopia, colonoscopia, citologia dell'escreato, mammografia, la visita manuale della pelvi o della prostata, e il dosaggio dei markers tumorali (es, antigene prostata-specifico e antigene carcinoembrionario). Uno studio multicentrico (50) randomizzato con un follow-up di 2 anni su circa 200 pazienti apparentemente non neoplastici con un primo episodio di TVP idiopatica o EP, dopo negatività dei test di routine, ha valutato l'opportunità di eseguire o no i test di screening. Dei 14 casi di tumori maligni identificati nell'ampio programma diagnostico, lo screening ha consentito di individuare tredici su 99 pazienti (13,1%), (soprattutto mediante TAC) comparati con nessuno dei 102 pazienti nel gruppo controllo, in cui fu trovato un cancro iniziale. Durante il periodo di follow-up, una diagnosi di cancro fu riscontrata in 10 pazienti nel gruppo di controllo (9,8%) e in uno (1,0%) nel gruppo sottoposto a screening. Non c'è stata riscontrata una significativa differenza nella mortalità relativa al cancro tra i 2 gruppi (3,9% contro 2,0%, rispettivamente), anche se questa scoperta sia stata fatta su un piccolo numero di soggetti studiati. Ancora, questi risultati portano alla conclusione preliminare che una precoce diagnosi di cancro non si traduce in una migliore prognosi e sopravvivenza. Nei pazienti con TVP idiopatica, un'anamnesi supplementare e un esame fisico con esami del sangue di base, ed una radiografia del torace nei fumatori, può permettere di scoprire il 90% circa dei cancri occulti. (51)

In sintesi, una TVP acuta può essere la prima manifestazione di una malignità occulta, e i pazienti che presentano una TVP idiopatica è più probabile che presentino un cancro rispetto a quelli nei quali è apparente una causa secondaria di trombosi. Uno screening esteso per cancro in pazienti con TVP idiopatica non è di solito garantito. Comunque, sono necessari ulteriori studi su vasta scala del ruolo dei programmi di screening nella TVP idiopatica.

## **Trattamento della TVP nei pazienti con cancro**

Un trattamento anticoagulante a lungo termine con l'uso di antagonisti della vitamina K è associata con percentuali alte di TVP ricorrente e sanguinamento nei pazienti con cancro. Questa terapia è anche difficile da supervisionare in questo gruppo di pazienti, come richiede controlli frequenti di sangue per mantenere i livelli di somministrazione all'interno del range terapeutico. Ricercatori con il recente trial

CLOT hanno riportato una significativa riduzione della TVP ricorrente nei pazienti trattati in maniera randomizzata con eparina a basso peso molecolare (LMWH) comparata con pazienti che ricevettero eparina più un antagonista della vitamina K. (52) Questo beneficio fu realizzato senza alcun aumento del sanguinamento. I risultati dallo studio possono cambiare nel modo in cui questo speciale sottoinsieme di pazienti viene trattato.

### **Terapia con anticoagulanti e progressione del cancro**

L'ipotesi potenziale che la terapia anticoagulante ritarda la progressione del tumore e migliora la sopravvivenza è stata osservata per prima in un grande studio clinico nel 1984. (53) Sin da allora, evidenze di supporto ma non conclusive circa un effetto antineoplastico da parte delle eparine e di altri agenti antitrombotici sono stati osservate su modelli di tumore animale e le analisi retrospettive di trials clinici. (54, 55) Sono stati riportati recentemente i risultati del primo studio che si propose di esaminare specificatamente l'influenza dell' LMWH sulla sopravvivenza complessiva dei pazienti affetti da tumori solidi avanzati. (56) In questo studio randomizzato con controllato con placebo, Kakkar e al. non trovarono differenza nella sopravvivenza a 1, 2, e 3 anni tra i 185 pazienti trattati con dalteparina e nei 181 pazienti che ricevettero placebo. Comunque, c'era in una analisi a sottogruppo relativa ai pazienti prognosi buona, in cui fu osservato un miglioramento statisticamente significativo nella sopravvivenza in favore dell'LMWH. Questi risultati stanno incoraggiando ad effettuare ulteriori studi che valuteranno gli effetti antineoplastici dell'LMWH.

### **Prognosi dei pazienti con cancro e TVP**

I pazienti con cancro che sviluppano una TVP hanno aspettativa di vita più breve. Sulla base di dati di follow-up a lungo termine nei pazienti con trombosi, quelli con cancro hanno da 4 a 8 punti più alti di rischio di morire dopo un evento trombotico ed acuto rispetto ai pazienti senza cancro. (57,58) Inoltre, i pazienti con cancro e trombosi hanno una percentuale di sopravvivenza più bassa rispetto a quelli con cancro senza trombosi. In uno studio basato su una vasta popolazione, Sørensen e coll. esaminarono la sopravvivenza dei pazienti con cancro e TVP e li compararono con quelli senza TVP accoppiati per tipo di cancro, sesso, età, e l'anno di diagnosi. (59) La percentuale di sopravvivenza ad un anno per i pazienti con trombosi fu del 12% comparati con il 36% dei pazienti controllo ( $P < 0.001$ ). Il tasso di mortalità maggiore associato con la TVP era di 2,2 per il periodo di follow-up di un anno. Questa alta mortalità probabilmente include i morti a causa del tromboembolismo e al decorso più aggressivo delle malignità associate con la TVP.

**\*In questo ambito stiamo conducendo uno studio sperimentale randomizzato controllato contro placebo:** ricerca di nuovi bio-markers e valutazione del ruolo della profilassi antitrombotica con eparina a basso peso molecolare.

Estremamente affascinante appare la scoperta della connessione tra il fisiologico sistema di emostasi e lo sviluppo della neoplasia, per cui il primo non solo rappresenta il meccanismo responsabile del fenomeno trombotico quale complicanza del tumore, ma anche uno dei processi che permette alla neoplasia di crescere e metastatizzare.

La presenza di un tumore solido si associa ad una condizione di attivazione del sistema di coagulazione, con la presenza di anomalie dei test di laboratorio come la trombocitosi, aumento del fibrinogeno, dei fattori V, VIII, IX, XI e dei prodotti di degradazione del fibrinogeno; tutto ciò sottintende un continuo processo di formazione e degradazione della fibrina, anche in assenza di trombosi conclamata, fibrina che oggi sappiamo essere responsabile del legame delle cellule

neoplastiche all'endotelio, e quindi, partecipe del processo di passaggio delle cellule neoplastiche dal sangue ai tessuti circostanti.

Gli studi hanno evidenziato che le cellule neoplastiche possiedono proprietà protrombotiche dirette, in grado di attivare la cascata coagulativa, con la produzione di sostanze procoagulanti, come il Tissue Factor, che agisce indirettamente, mediante l'attivazione del processo di formazione della trombina e, quindi, attivazione delle piastrine con rilascio da parte di queste di fattori proangiogenetici (tra i quali VEGF e FGF), e direttamente perché capace di promuovere la neoangiogenesi e di conseguenza la crescita tumorale e la metastatizzazione; altro fattore prodotto dalla neoplasia è il cancer procoagulant, poco studiato nelle neoplasie solide.

Gli adenocarcinomi ricchi di mucine sono in grado di attivare direttamente il processo coagulativo, mediante il legame con alcune molecole di adesione, le selectine, espresse sulle cellule endoteliali, leucociti e piastrine.

Si potrebbe a questo punto formulare un'interessante ipotesi che vedrebbe l'eparina in grado di impedire il legame tra mucine e selectine, e quindi impedire il processo di metastatizzazione, oltre che interrompere il processo coagulativo. L'attivazione del processo di fibrinolisi, favorisce il processo di metastatizzazione con l'innescò dei meccanismi di degradazione della matrice extracellulare e proangiogenetica; la plasmina appare in grado di degradare la matrice extracellulare e numerose neoplasie si accompagnano ad alti livelli sia di attivatori del plasminogeno (u-Pa), sia di inibitori di attivatori del plasminogeno (uPAI), a conferma di una intrinseca attivazione di tutto il processo coagulativo durante la crescita e la diffusione della neoplasia.

Da questi dati risulta chiara l'importanza di individuare marcatori biomolecolari in grado di predire l'evento trombotico; di chiarire i meccanismi che conducono allo stato protrombotico, ciò potrebbe essere utile per sviluppare trattamenti mirati alla prevenzione delle complicanze trombotiche nei pazienti oncologici e ad un eventuale effetto terapeutico sulla malattia neoplastica.

La letteratura presente in materia di trombosi e possibile ruolo di marcatori biomolecolari è abbastanza ampia, tuttavia mancano studi condotti su pazienti neoplastici che confermino il ruolo dei suddetti marcatori nel controllo e nella prevenzione del fenomeno trombotico.

Lo studio si propone quindi di valutare la prevalenza e l'incidenza della patologia tromboembolica nei pazienti portatori di neoplasia, possibili correlazioni con tipo di neoplasia, istologia, stadio, età, sesso; valutazione di fattori di rischio di sviluppo di fenomeni tromboembolici, quali sede della neoplasia, stadio, età del paziente, sesso, farmaci antitumorali, presenza di CVC, tissue factor (TF), trombofilia congenita (valutata con il dosaggio di Proteine C ed S anticoagulanti, del Fattore V Leiden, Protrombina G20210A, omocisteina plasmatica), valore di emoglobina, ematocrito, conta piastrinica, PT, PTT, INR, D-dimero, antitrombina III, fibrinogenemia, PCR h.s.

Lo studio si è proposto, inoltre, di valutare alcuni marcatori biomolecolari di seguito riportati:

Polimorfismo del gene 4G/5G dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1).

Polimorfismo del gene G20210A codificante per la protrombina.

Polimorfismo della metalloproteasi-9

Polimorfismo del gene promotore -174 G>C codificante l'interleuchina-6:

Tra le citochine proinfiammatorie, l'interleuchina-6 potrebbe giocare un ruolo chiave nel comprendere meglio il meccanismo trombotico nel cancro.

I principali induttori fisiologici di IL-6 sono due citochine tipicamente proinfiammatorie, il "tumor necrosis factor" (TNF) e l'interleuchina-1 (IL-1); l'IL-6 viene prodotta anche da alcune cellule T attivate.

Tra le azioni svolte dalla IL-6, quella più interessante ai fini del nostro studio è l'induzione della sintesi, da parte degli epatociti, di numerose proteine plasmatiche, tra cui il fibrinogeno.

Elevati livelli di interleuchina-6 sono associati ad un incremento del rischio di eventi acuti vascolari e ad un peggioramento della prognosi. Il polimorfismo del promoter G>C -174 è stato frequentemente riscontrato in pazienti con eventi vascolari e disordini aterosclerotici. Uno studio condotto da Flex e collaboratori su polimorfismo del gene per l'IL-6 e peripheral artery occlusive disease (PAOD) in uno studio caso-controllo ha rilevato una forte associazione tra l'alterazione del gene per la citochina proinfiammatoria e la malattia vascolare, supportando l'ipotesi secondo cui IL-6 e il polimorfismo del gene per l'IL-6 sono importanti nella fisiopatologia e nell'evoluzione della malattia ischemica degli arti inferiori.

Il ruolo svolto dall'IL-6 come citochina proinfiammatoria giustifica il nostro interesse nei confronti di questa proteina, ma soprattutto nei confronti del polimorfismo responsabile del danno vascolare indotto dalla citochina stessa.

### **Polimorfismo C936T del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF).**

Il nostro studio intende infine porre l'attenzione anche su un altro possibile marcatore biomolecolare: il polimorfismo del gene per il vascular endothelial growth factor (VEGF).

Il VEGF è uno dei principali fattori responsabili dell'angiogenesi; viene espresso in tessuti differenti quali il cervello, il fegato, il rene e la milza, ed è stato ritrovato anche nell'ovaio, nell'utero e nella fase proliferativa della cicatrizzazione di una ferita.

Il Fattore di Crescita Endoteliale è fondamentale sia nella regolazione dell'angiogenesi fisiologica che di quella patologica, poiché viene prodotto anche dalle cellule neoplastiche di alcuni tipi di tumore, quando si trovano in stato di forte ipossia.

Uno studio, condotto nel 2004 da ricercatori italiani su mutazioni genetiche e livelli plasmatici di diversi possibili marcatori di trombosi venosa in pazienti con glioma ad alto grado, è arrivato alla conclusione che i fattori di rischio genetici non possono da soli spiegare l'alta incidenza di tromboembolismo venoso, osservato in pazienti con glioma; i più alti livelli plasmatici di queste molecole influenzano il pathway della coagulazione e suggeriscono che il tumore da solo può provocare un aumento del rischio di trombosi venosa .

### **Obiettivi dello studio:**

1) prevalenza del TEV in generale e della TVP degli arti in pazienti affetti da neoplasia alla loro 1<sup>a</sup> osservazione clinica;

- correlazione con:

- a) sede della neoplasia,
- b) istotipo della neoplasia,
- c) tempo della diagnosi della neoplasia,
- d) stadio della malattia neoplastica,

- e) sesso,
  - f) in pazienti con catetere venoso centrale (CVC)
  - g) fattori di rischio per neoplasia (familiarità, fumo, attività lavorativa, obesità, alimentazione)
- 2) incidenza del TEV e della TVP nel follow-up a breve termine (1 anno) ed a medio termine (3 anni)
- 3) individuazione delle variabili idonee all'insorgenza del TEV o della TVP (patologia neoplastica, stadio, età del paziente, sesso, farmaci antitumorali, presenza di CVC, tissue factor (TF), trombofilia congenita (valutata con il dosaggio di Proteine C ed S anticoagulanti, del Fattore V Leiden, Protrombina G20210A, omocisteina plasmatica),. PCR high sensitivity
- 4) valutazione degli effetti del trattamento con EBPM sugli eventi tromboembolici venosi (embolia polmonare, trombosi venosa profonda) nei pazienti con neoplasia con metastasi.
- 5) valutazione degli effetti collaterali del trattamento con EBPM.

#### **Obiettivo secondario**

- valutazione di eventuali effetti antineoplastici dell'EBPM

#### **Metodologia dello studio.**

Sono stati considerati per questa ricerca pazienti con neoplasia e che vengono valutati all'anamnesi per la presenza attuale o pregressa di patologia tromboembolica venosa.

Tutti i Pazienti sono stati seguiti con un follow-up di un anno per valutare l'incidenza di fenomeno tromboembolico venoso nel periodo di osservazione, se questo si dovesse verificare saranno sottoposti ad una valutazione clinica e strumentale angiologica.

I Pazienti la cui anamnesi risulti positiva per TEV, vengono sottoposti alla valutazione angiologia clinica e strumentale (visita angiologia ed eco-color-doppler) ed ad una valutazione sierica di parametri di laboratorio sotto indicati.

Sono stati , quindi, arruolati per la ricerca, 400 Pazienti con neoplasia e con metastasi o con malattia in sede non operata in prima diagnosi, valutati con:

- ▶ anamnesi oncologica che definisce sede di malattia, istotipo, metastasi, tipo di chemioterapia, risposta al trattamento.
- ▶ esame eco-color-doppler del circolo venoso degli arti superiori ed inferiori che eseguita c/o un unico centro con esperienza nella diagnostica con gli ultrasuoni).

*Per la diagnosi di TVP* sono considerati i seguenti reperti strumentali :

- presenza di materiale esogeno all'interno del lume vascolare
- mancata risposta al test della compressione con sonda (CUS)
- assenza della codifica del color flow

*Per la diagnosi di tromboflebite superficiale (TVS) a rischio per TVP:*



- esame clinico
- presenza di materiale esogeno in una grossa vena superficiale (safena interna od esterna, una delle vene alte di un arto superiore) che sbocca in un collettore venoso profondo

### **Flow-chart del protocollo di ricerca:**

A) l'esame eco-color doppler effettuato:

tempo 0 → 7gg. → 15gg. → 45gg. → 3° mese → 6° mese → 12° mese

B) prelievo ematico per le misure di: emocromo e conta piastrinica, PT, PTT, D-dimero, antitrombina III, azotemia, creatininemia, fibrinogenemia

C) prelievo per la misura di: Proteina C ed S anticoagulanti, PCR h.s, ricerca del Fattore V Leiden, della protrombina G20210A, misura della omocisteina plasmatici, del Tissue factor.

- ▶ le misure di cui al punto B, la omocisteinemia ed il TF, eseguiti ai tempi:

0 → 7gg. → 15gg. → 45gg → 12° mese

- ▶ i prelievi ematici eseguiti per la valutazione dei marcatori biomolecolari,

- ▶ i pazienti arruolati per la ricerca sono stati quindi suddivisi in due gruppi secondo un random opportunamente predisposto (2x2) :

**Gruppo A)** trattamento con EBPM s.c. a posologia di profilassi (100 U.I. antiX/kg/die s.c.) corretta per il peso per un periodo di 45 gg.

**Gruppo B)** nessuna profilassi farmacologica

- ▶ I Pazienti con trombofilia congenita in base alle misure eseguite in precedenza o con recente pregresso episodio di TEV (<6 mesi), saranno tutti assegnati al gruppo con profilassi antitrombotica (sec. il punto quanto previsto A)

- ▶ I Pazienti che nel corso del follow-up dimostreranno la comparsa di TEV (TVP, E.P.) saranno trattati con EBPM s.c. alla posologia suggerita per trattamento del TEV (200-250 U.I. antiX/die s.c.) e la terapia sarà mantenuta per i successivi 3 mesi (se TVP), 6 mesi (se TVP+ E.P. o E.P. da sola).

### **Criteri di esclusione.**

**Non sono stati considerati per la ricerca:**

- pazienti con grave compromissione sistemica
- pazienti scompenso cardiaco in atto

- pazienti con insufficienza renale anche mediamente compensata (Cr.> 2.0 mg/dl),
- pazienti patologia epatica scompensata (attività protrombinica < 50%),
- pazienti con con *Hb* < 12 g/l e G.R. < 3.000.0000 mm<sup>3</sup>, conta piastrinica <100.000/mm<sup>3</sup>.

La raccolta dei dati è ancora in corso. I risultati dello studio saranno disponibili entro pochi mesi.

## Conclusioni

I pazienti con cancro presentano fattori di rischio multipli per una malattia tromboembolica. L'ulteriore ricerca epidemiologica provvederà a fornire stime più affidabili di rischio trombotico associato con i diversi tipi di tumore, stadi di malattia, e trattamenti antitumorali. È anticipato che una migliore comprensione delle interazioni tra la crescita del tumore e la coagulazione di sangue, insieme coi risultati della trial CLOT, aiuterà a migliorare le strategie profilattiche e di trattamento per la TVP in questi pazienti complessi.

## Bibliografia

1. Clagett GP, Reisch JS. Prevention of venous thromboembolism in general surgical patients. Results of meta-analysis. *Ann Surg.* 1988;208:227–240.
2. Shen VS, Pollak EW. Fatal pulmonary embolism in cancer patients: is heparin prophylaxis justified? *South Med J.* 1980;73:841–843.
3. Prandoni P, Lensing AW, Piccioli A, et al. Recurrent venous thromboembolism and bleeding complications during anticoagulant treatment in patients with cancer and venous thrombosis. *Blood.* 2002;100: 3484–3488.
4. Prins MH, Hettiarachchi RJ, Lensing AW, et al. Newly diagnosed malignancy in patients with venous thromboembolism. Search or wait and see? *Thromb Haemost.* 1997;78:121–125.
5. Hettiarachchi RJ, Lok J, Prins MH, et al. Undiagnosed malignancy in patients with deep vein thrombosis: incidence, risk indicators, and diagnosis. *Cancer.* 1998;83:180–185.
6. Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, et al. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study. *Arch Intern Med.* 1998;158:585–593.
7. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, et al. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based case-control study. *Arch Intern Med.* 2000;160:809–815.
8. Fisher B, Costantino J, Redmond C, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. *N Engl J Med.* 1989;320:479–484.
9. Fisher B, Dignam J, Wolmark N, et al. Tamoxifen and chemotherapy for lymph node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89:1673–1682.
10. Levine MN, Gent M, Hirsh J, et al. The thrombogenic effect of anticancer drug therapy in women with stage II breast cancer. *N Engl J Med.* 1988;318:404–407.
11. Pritchard KI, Paterson AH, Paul NA, et al. Increased thromboembolic complications with concurrent tamoxifen and chemotherapy in a randomized trial of adjuvant therapy for women with breast cancer. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Breast Cancer Site Group. *J Clin Oncol.* 1996;14:2731–2737.
12. Clahsen PC, van de Velde CJ, Julien JP, et al. Thromboembolic complications after perioperative chemotherapy in women with early breast cancer: a European Organization for Research and Treatment of Cancer Breast Cancer Cooperative Group study. *J Clin Oncol.* 1994;12: 1266–1271.
13. Rivkin SE, Green S, Metch B, et al. Adjuvant CMFVP versus tamoxifen versus concurrent CMFVP and tamoxifen for postmenopausal, nodepositive, and estrogen receptor-positive breast cancer patients: a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 1994;12:2078–2085.
14. Saphner T, Tormey DC, Gray R. Venous and arterial thrombosis in patients who received adjuvant therapy for breast cancer. *J Clin Oncol.* 1991;9:286–294.
15. Fisher B, Redmond C, Legault-Poisson S, et al. Postoperative chemotherapy and tamoxifen compared with tamoxifen alone in the treatment of positive-node breast cancer patients aged 50 years and older with tumors responsive to

- tamoxifen: results from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-16. *J Clin Oncol*. 1990;8:1005–1018.
16. Weiss RB, Tormey DC, Holland JF, et al. Venous thrombosis during multimodal treatment of primary breast carcinoma. *Cancer Treat Rep*. 1981;65:677–679.
  17. Wall JG, Weiss RB, Norton L, et al. Arterial thrombosis associated with adjuvant chemotherapy for breast carcinoma: a Cancer and Leukemia Group B Study. *Am J Med*. 1989;87:501–504.
  18. von Tempelhoff GF, Dietrich M, Hommel G, et al. Blood coagulation during adjuvant epirubicin/cyclophosphamide chemotherapy in patients with primary operable breast cancer. *J Clin Oncol*. 1996;14:2560–2568.
  19. Goodnough LT, Saito H, Manni A, et al. Increased incidence of thromboembolism in stage IV breast cancer patients treated with a five-drug chemotherapy regimen. A study of 159 patients. *Cancer*. 1984;54: 1264–1268.
  20. Levine M, Hirsh J, Gent M, et al. Double-blind randomised trial of a very-low-dose warfarin for prevention of thromboembolism in stage IV breast cancer. *Lancet*. 1994;343:886–889.
  21. von Tempelhoff GF, Dietrich M, Niemann F, et al. Blood coagulation and thrombosis in patients with ovarian malignancy. *Thromb Haemost*. 1997; 77:456–461.
  22. Marras LC, Geerts WH, Perry JR. The risk of venous thromboembolism is increased throughout the course of malignant glioma: an evidence-based review. *Cancer*. 2000;89:640–646.
  23. Quevedo JF, Buckner JC, Schmidt JL, et al. Thromboembolism in patients with high-grade glioma. *Mayo Clin Proc*. 1994;69:329–332.
  24. Priest JR, Ramsay NK, Steinherz PG, et al. A syndrome of thrombosis and hemorrhage complicating L-asparaginase therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 1982;100:984–989.
  25. Gugliotta L, Mazzucconi MG, Leone G, et al. Incidence of thrombotic complications in adult patients with acute lymphoblastic leukaemia receiving L-asparaginase during induction therapy: a retrospective study. The GIMEMA Group. *Eur J Haematol*. 1992;49:63–66.
  26. Ottinger H, Belka C, Kozole G, et al. Deep venous thrombosis and pulmonary artery embolism in high-grade non-Hodgkin's lymphoma: incidence, causes and prognostic relevance. *Eur J Haematol*. 1995;54: 186–194.
  27. Seifter EJ, Young RC, Longo DL. Deep venous thrombosis during therapy for Hodgkin's disease. *Cancer Treat Rep*. 1985;69:1011–1013.
  28. Zangari M, Anaissie E, Barlogie B, et al. Increased risk of deep-vein thrombosis in patients with multiple myeloma receiving thalidomide and chemotherapy. *Blood*. 2001;98:1614–1615.
  29. Desai AA, Vogelzang NJ, Rini BI, et al. A high rate of venous thromboembolism in a multi-institutional phase II trial of weekly intravenous gemcitabine with continuous infusion fluorouracil and daily thalidomide in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Cancer*. 2002;95: 1629–1636.
  30. Marx GM, Steer CB, Harper P, et al. Unexpected serious toxicity with chemotherapy and antiangiogenic combinations: time to take stock! *J Clin Oncol*. 2002;20:1446–1448.
  31. Kuenen BC, Rosen L, Smit EF, et al. Dose-finding and pharmacokinetic study of cisplatin, gemcitabine, and SU5416 in patients with solid tumors. *J Clin Oncol*. 2002;20:1657–1667.
  32. Bona RD. Thrombotic complications of central venous catheters in cancer patients. *Semin Thromb Hemost*. 1999;25:147–155.
  33. Couban S, Goodyear M, Burnell M, et al. A randomized double-blind placebo-controlled study of low dose warfarin for the prevention of symptomatic central venous catheter-associated thrombosis in patients with cancer. *Blood*. 2002;100:703a.
  34. Walshe LJ, Malak SF, Eagan J, et al. Complication rates among cancer patients with peripherally inserted central catheters. *J Clin Oncol*. 2002; 20:3276–3281.
  35. Otterson GA, Monahan BP, Harold N, et al. Clinical significance of the FV:Q506 mutation in unselected oncology patients. *Am J Med*. 1996;101: 406–412.
  36. Fareed J, Hoppensteadt D, Bacher P, et al. Hypercoagulable state in cancer patients is independent of molecular defects of thrombophilia. Presented at the Am Society of Hematology Meeting, Philadelphia, PA, December 6–10, 2002. *Blood*. 2002;100:270a.
  37. Sack GH, Jr., Levin J, Bell WR. Trousseau's syndrome and other manifestations of chronic disseminated coagulopathy in patients with neoplasms: clinical, pathophysiologic, and therapeutic features. *Medicine (Baltimore)*. 1977;56:1–37.
  38. Lieberman JS, Borrero J, Urdaneta E, et al. Thrombophlebitis and cancer. *JAMA*. 1961;177:542–545.

39. Levitan N, Dowlati A, Remick SC, et al. Rates of initial and recurrent thromboembolic disease among patients with malignancy versus those without malignancy. Risk analysis using Medicare claims data. *Medicine (Baltimore)*. 1999;78:285–291.
40. Levine M, Gent M, Hirsh J, et al. A comparison of low-molecular-weight heparin administered primarily at home with unfractionated heparin administered in the hospital for proximal deep-vein thrombosis. *N Engl J Med*. 1996;334:677–681.
41. Lee AY, Levine MN. The thrombophilic state induced by therapeutic agents in the cancer patient. *Semin Thromb Hemost*. 1999;25:137–145.
42. Prandoni P, Lensing AW, Buller HR, et al. Deep-vein thrombosis and the incidence of subsequent symptomatic cancer. *N Engl J Med*. 1992;327: 1128–1133.
43. Aderka D, Brown A, Zelikovski A, et al. Idiopathic deep vein thrombosis in an apparently healthy patient as a premonitory sign of occult cancer. *Cancer*. 1986;57:1846–1849.
44. Monreal M, Fernandez-Llamazares J, Perandreu J, et al. Occult cancer in patients with venous thromboembolism: which patients, which cancers. *Thromb Haemost*. 1997;78:1316–1318.
45. Rajan R, Levine M, Gent M, et al. The occurrence of subsequent malignancy in patients presenting with deep vein thrombosis: results from a historical cohort study. *Thromb Haemost*. 1998;79:19–22.
46. Ahmed Z, Mohyuddin Z. Deep vein thrombosis as a predictor of cancer. *Angiology*. 1996;47:261–265.
47. Schulman S, Lindmarker P. Incidence of cancer after prophylaxis with warfarin against recurrent venous thromboembolism. Duration of Anticoagulation Trial. *N Engl J Med*. 2000;342:1953–1958.
48. Baron JA, Gridley G, Weiderpass E, et al. Venous thromboembolism and cancer. *Lancet*. 1998;351:1077–1080.
49. Sørensen HT, Mellekjær L, Steffensen FH, et al. The risk of a diagnosis of cancer after primary deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *N Engl J Med*. 1998;338:1169–1173.
50. Piccioli A, Prandoni P. Idiopathic venous thromboembolism as a manifestation of cancer. *Haemostasis*. 2001;31(suppl 1):37–39.
51. Cornuz J, Pearson SD, Creager MA, et al. Importance of findings on the initial evaluation for cancer in patients with symptomatic idiopathic deep venous thrombosis. *Ann Intern Med*. 1996;125:785–793.
52. Lee AYY, Levine MN, Baker RI, et al. Low-molecular-weight heparin versus coumarin for the prevention of recurrent venous thromboembolism in cancer. *N Engl J Med*. In press.
53. Zacharski LR, Henderson WG, Rickles FR, et al. Effect of warfarin anticoagulation on survival in carcinoma of the lung, colon, head and neck, and prostate. Final report of VA Cooperative Study #75. *Cancer*. 1984;53:2046–2052.
54. Hettiarachchi RJ, Smorenburg SM, Ginsberg J, et al. Do heparins do more than just treat thrombosis? The influence of heparins on cancer spread. *Thromb Haemost*. 1999;82:947–952.
55. Zacharski LR, Meechan KR, Algarra SM, et al. Clinical trials with anticoagulant and antiplatelet therapies. *Cancer Metastasis Rev*. 1992;11: 421–431.
56. Kakkar AK, Kadziola Z, Williamson RC, et al. on behalf of the Fragmin Advanced Malignancy Outcome Study. Low molecular weight heparin therapy and survival in advanced cancer. *Blood*. 2002;100:148a.
57. Prandoni P, Lensing AW, Cogo A, et al. The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med*. 1996;125:1–7.
58. Carson JL, Kelley MA, Duff A, et al. The clinical course of pulmonary embolism. *N Engl J Med*. 1992;326:1240–1245.
59. Sørensen HT, Mellekjær L, Olsen JH, et al. Prognosis of cancers associated with venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2000;343: 1846–1850.
60. Lee A. Y.Y., and Levine M. N.: Venous Thromboembolism and Cancer: Risks and Outcomes *Circulation*. 2003; 107: I–17–I–21.