

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

Direttore: Ch.mo Prof. Giorgio Perilongo

CLINICA DI ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA

Direttore: Ch.ma Prof.ssa Alessandra Biffi

TESI DI LAUREA

**TROMBOSI NEI BAMBINI AFFETTI DA NEOPLASIE
EMATOLOGICHE: CASISTICA DELLA CLINICA DI
PADOVA**

RELATORE: Prof.ssa Alessandra Biffi

CORRELATORE: Dott.ssa Maria Caterina Putti

LAUREANDA: Camilla Musacchio

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

<i>ELENCO DELLE ABBREVIAZIONI</i>	1
<i>ABSTRACT</i>	3
<i>INTRODUZIONE</i>	7
Neoplasie ematologiche pediatriche.....	7
La Leucemia Linfoblastica Acuta	8
Epidemiologia	8
Fisiopatologia e fattori di rischio	8
Caratteristiche cliniche.....	10
Diagnosi	11
Caratterizzazione ematologica della malattia	11
Citomorfologia	12
Caratterizzazione immunologica	12
Anomalie citogenetiche	14
Fattori prognostici.....	17
Prognosi	19
Principi di terapia	20
Stratificazione del rischio	21
L-Asparaginasi.....	22
Tossicità da L-Asparaginasi.....	24
Discoagulopatia.....	25
Leucemia Mieloide Acuta (LMA).....	27
Linfoma di Hodgkin (LH).....	28
Trombosi nei bambini affetti da neoplasie ematologiche	29
Epidemiologia	29
Fisiopatologia.....	33
Fattori di rischio	34
Presentazione clinica e diagnosi	43
Profilassi	46
Trattamento	52
Outcome	54
<i>SCOPO DELLA TESI</i>	56
<i>MATERIALI E METODI</i>	57
Caratteristiche generali e struttura del Registro	57
Periodo e popolazione oggetto di studio	58
Diagnosi di TE e definizione.....	59
Variabili analizzate nella coorte.....	59
Trombosi venose cerebrali e sistemiche nei pazienti affetti da LLA	60
Analisi dei fattori di rischio in bambini affetti da LLA (protocolli 2009 e 2017)	61
Analisi statistiche	62
<i>RISULTATI</i>	63
Epidemiologia	63

Fattori di rischio.....	65
Presentazione clinica e diagnosi	67
Trombosi venosa cerebrale (TVC).....	67
Trombosi venosa sistemica (TVS)	69
Tromboembolismo arterioso cerebrale (TAC).....	72
Trattamento.....	72
Outcome alla dimissione e follow-up.....	76
Trombosi venose cerebrali e sistemiche nei pazienti affetti da LLA	77
Analisi dei fattori di rischio in bambini affetti da LLA (protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017)	81
DISCUSSIONE.....	85
CONCLUSIONI.....	99
BIBLIOGRAFIA.....	100

ELENCO DELLE ABBREVIAZIONI

AIEOP: Association of Pediatric Hematology and Oncology

AT: antitrombina

BFM: protocollo Berlin-Frankfurt-Munster

CVC: catetere venoso centrale

COALL: COoperative study group for childhood Acute Lymphoblastic Leukemia

CP: cancer procoagulant

CSVT: trombosi dei seni venosi cerebrali

DFCI: Dana-Farber Cancer Institute

DOAC: anticoagulante orale diretto

DXM: Desametasone

EFS: sopravvivenza libera da eventi

ETP: precursori T precoci

FAB: gruppo cooperativo Franco-Americano-Britannico

FISH: Fluorescent in situ hybridization

FVL: Fattore V Leiden

HR: rischio alto

JACLS: Japan Association of Childhood Leukemia Study

L-Asp: L-Asparaginasi

LLA: leucemia linfoblastica acuta

LMA: leucemia mieloide acuta

LH: Linfoma di Hodgkin

LMWH: eparina a basso peso molecolare

LNH: Linfoma non-Hodgkin

MR: rischio intermedio

MRD: malattia residua minima

MTHFR: metilene tetraidrofolato reduttasi

NOPHO: Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology

OS: sopravvivenza globale

PAI-1: inibitore del fattore attivante il plasminogeno

PARKAA: Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with Asparaginase

PDN: Prednisone

PICC: catetere centrale ad inserimento periferico

PC: proteina C

PDN: Prednisone

PFC: plasma fresco congelato

PGR: prednisone good response

PLT: piastrine

PPR: Prednisone poor response

PROTEKT: PROphylaxis of ThromboEmbolism in Kids Trial

PS: proteina S

PT: tempo di protrombina

PTS: sindrome post-trombotica

RITI: Registro Italiano Trombosi Infantili

RM: risonanza magnetica

SNC: sistema nervosa centrale

SOC: standard of care

SR: rischio standard

TC: tomografia computerizzata

TE: tromboembolismo

TEV: tromboembolismo venoso

TF: fattore tissutale

TVC: trombosi venosa cerebrale

TVP: trombosi venosa profonda

TVS: trombosi venosa sistemica

UFH: eparina non frazionata

UKALL: United Kingdom medical research council Acute Lymphoblastic Leukemia

VKA: antagonista della vitamina K

vFW: fattore di von Willebrand

WBC: conta leucocitaria

WHO: World Health Organization

ABSTRACT

Introduction. Thromboembolic events (TE) are frequent complications observed during treatment for haematological malignancies in paediatric patients. These events result in a temporary interruption of planned chemotherapy and may lead to significant medium- to long-term outcomes. The importance of this complication is also discussed in the literature due to the difficulty of identifying effective prophylaxis interventions.

Aim of the study. The aim is to assess the incidence of thrombosis in the various paediatric haematological malignancies, particularly in Acute Lymphoblastic Leukaemia (ALL), and to identify what might be the areas of intervention to reduce the occurrence of these events.

Materials and methods. All cases of thrombosis reported in children with haematological neoplasia (acute leukaemia and lymphoma) at the Paediatric Oncohaematology Clinic of Padua over a period of about 20 years (from 2000 to the present) were included in the study. Patients diagnosed with TE in ALL who were enrolled in the treatment protocols that were in use at the clinic during the time frame studied (AIEOP-BFM ALL 2000, 2009 and 2017) were then investigated in depth. Data for each patient were entered into the Italian Infantile Thrombosis Registry (R.I.T.I.) and subjected to statistical analysis.

Results and considerations. A total of 44 patients presenting a total of 52 thrombotic events were identified. The incidence of TE was 5.7% in ALL, 2.8% in Acute Myeloid Leukaemia (AML) and 2.4% in Hodgkin's Lymphoma (HL). After a descriptive analysis of the entire sample, given the higher prevalence of this complication in children with ALL, the analysis focused on the predisposing characteristics and conditions within this population.

A significant increase in incidence ($p < 0.001$) was observed in ALL patients progressively enrolled in the AIEOP-BFM ALL protocols 2000 (1.5%), 2009 (6.7%) and 2017 (16.1%). In part, this increase could be attributed to the introduction of pegylated L-Asparaginase since the AIEOP-BFM ALL 2009 protocol.

In the case series studied:

1. Cerebral venous thrombosis (CVT) was the most severe form of TE due to the presence of distant outcomes. The incidence in ALL was 4.3% in the AIEOP-BFM ALL 2009 protocol and 6.3% in the AIEOP-BFM ALL 2017 protocol.
2. Systemic venous thrombosis (SVT) showed an increased incidence in the AIEOP-BFM ALL 2017 protocol compared to 2009 (3% in AIEOP-BFM ALL 2009 vs 9.8% in 2017), mostly attributable to the use of vascular devices or invasive procedures.
3. In the cohort of ALL patients, CVTs occurred more frequently in B-ALL patients, whereas T-ALL patients were almost all affected by SVT.
4. In ALL, male gender was significantly associated with the development of TE ($p=0.0035$). The same cannot be said for age, leucocyte count, risk arm and obesity.
5. Also suggestive was the finding of hypertriglyceridemia in 32% of patients with thrombotic events.
6. Finally, in the AIEOP-BFM ALL 2009 and 2017 protocols no correlation was found between the presence of hereditary thrombophilia and incidence of TE, suggesting the positive influence of prophylaxis with low molecular weight heparin (LMWH) in children with prothrombotic genetic defects being treated for ALL.

Conclusions. The analysis of the case history of thrombosis in the paediatric oncohaematology population showed the importance of this complication during chemotherapy treatment and identified some points of possible preventive intervention. These include anticoagulant prophylaxis in patients with familial thrombophilia and more careful management of central and peripheral venous accesses.

For a better understanding of the influence of thrombosis on long-term outcome, it will be necessary to continue this analysis with the study of overall survival (OS) and event-free survival (EFS) of the identified patients.

RIASSUNTO

Introduzione. Gli eventi tromboembolici (TE) sono frequenti complicanze osservate durante il trattamento per neoplasie ematologiche in età pediatrica. Questi eventi determinano una interruzione temporanea delle chemioterapie programmate e possono determinare esiti a medio-lungo termine anche significativi. L'importanza di questa complicanza è discussa in letteratura anche per la difficoltà di identificare interventi di profilassi efficace.

Scopo dello studio. L'obiettivo è valutare l'incidenza di trombosi nelle diverse neoplasie ematologiche pediatriche in particolare nella Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA) e identificare quali possano essere gli ambiti di intervento per ridurre l'insorgenza di questi eventi.

Materiali e metodi. Sono stati inclusi nello studio tutti i casi di trombosi segnalati nei bambini affetti da neoplasia ematologica (leucemia acuta e linfoma) presso la Clinica di Oncoematologia Pediatrica di Padova in un arco temporale di circa 20 anni (dal 2000 ad oggi). Sono stati poi approfonditi i pazienti con diagnosi di TE in LLA arruolati nei protocolli di cura che sono stati in uso presso la clinica nell'arco temporale studiato (AIEOP-BFM ALL 2000, 2009 e 2017). I dati relativi ad ogni paziente sono stati inseriti nel Registro Italiano Trombosi Infantili (R.I.T.I.) e sottoposti ad analisi statistica.

Risultati e considerazioni. Sono stati identificati 44 pazienti che hanno presentato un totale di 52 eventi trombotici. L'incidenza di TE è risultata pari al 5.7% nella LLA, 2.8% nella Leucemia Mieloide Acuta (LMA) e 2.4% nel Linfoma di Hodgkin (LH). Dopo un'analisi descrittiva dell'intero campione, data la maggiore prevalenza di questa complicanza nei bambini affetti da LLA, l'analisi si è concentrata sulle caratteristiche e le condizioni predisponenti all'interno di questa popolazione.

Un significativo aumento di incidenza ($p < 0.001$) è stato osservato nei pazienti affetti da LLA arruolati progressivamente nei protocolli AIEOP-BFM ALL 2000 (1.5%), 2009 (6.7%) e 2017 (16.1%). In parte, questo aumento potrebbe essere

ricondotto alla introduzione della L-Asparaginasi pegilata a partire dal protocollo AIEOP-BFM ALL 2009.

Nella casistica studiata:

1. Le trombosi venose cerebrali (TVC) sono risultate le forme più gravi di TE per la presenza di esiti a distanza. L'incidenza nelle LLA è risultata pari al 4.3% nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 e al 6.3% nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2017.
2. Le trombosi venose sistemiche (TVS) hanno mostrato un incremento dell'incidenza nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2017 rispetto al 2009 (3% nel AIEOP-BFM ALL 2009 vs 9.8% nel 2017), per lo più riconducibile all'uso di dispositivi vascolari o procedure invasive.
3. Nella coorte dei pazienti affetti da LLA, le TVC sono insorte più frequentemente nei pazienti affetti da LLA-B, mentre le LLA-T sono state interessate nella quasi totalità da TVS.
4. Nelle LLA il sesso maschile è risultato significativamente associato allo sviluppo di TE ($p=0.0035$). Non si può dire altrettanto per quanto riguarda l'età, la conta leucocitaria, il braccio di rischio e l'obesità.
5. Suggestivo è stato poi il riscontro di ipertrigliceridemia nel 32% dei pazienti con eventi trombotici.
6. Infine, nei protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017 non è stata riscontrata alcuna correlazione fra presenza di trombofilia ereditaria e incidenza di TE, suggerendo l'influenza positiva della profilassi con eparina a basso peso molecolare (LMWH) nei bambini portatori di difetti genetici protrombotici in trattamento per LLA.

Conclusioni. L'analisi della casistica di trombosi nella popolazione oncoematologica pediatrica ha mostrato l'importanza di questa complicanza nel corso di trattamento chemioterapico e ha identificato alcuni punti di possibile intervento preventivo. Tra questi, la profilassi anticoagulante nei pazienti portatori di trombofilia familiare e una più attenta gestione degli accessi venosi centrali e periferici.

Per una migliore comprensione dell'influenza della trombosi sull'outcome a lungo termine, sarà necessario proseguire questa analisi con lo studio della sopravvivenza globale (OS) e libera da eventi (EFS) dei pazienti identificati.

INTRODUZIONE

Questa tesi si propone di analizzare la frequenza delle complicanze tromboemboliche nelle neoplasie ematologiche in età pediatrica e di approfondire questa complicanza nella Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA), in quanto neoplasia più diffusa in questa categoria di pazienti e nella quale questi eventi si presentano con maggior frequenza.

Neoplasie ematologiche pediatriche

In età pediatrica, le patologie neoplastiche del sistema emopoietico sono quasi esclusivamente di tipo acuto. Si distinguono in leucemie e linfomi, a seconda del coinvolgimento del midollo osseo e del sangue periferico (leucemie) oppure del solo sistema linfatico (linfomi). La classificazione WHO (1) identifica le diverse categorie di neoplasie emoproliferative, di cui i tipi principali sono riassunti nella Tabella I. Di gran lunga la patologia più frequente nei bambini è la Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA).

Tipi di neoplasie ematologiche	
Mieloide	<ul style="list-style-type: none"> - Leucemia mieloide acuta - Leucemia mieloide cronica - Neoplasie mieloproliferative - Mielodisplasia - Altro
Neoplasie a cellule B	<ul style="list-style-type: none"> - Leucemia acuta a precursori B - Leucemia acuta a cellule B mature - Linfoma di Burkitt (linfoma linfoblastico a cellule B) - Linfoma diffuso a grandi cellule B
Neoplasie a cellule T	<ul style="list-style-type: none"> - Leucemia acuta a cellule T - Linfoma linfoblastico a cellule T
Linfoma di Hodgkin	

Tabella I. Classificazione delle neoplasie ematologiche in età pediatrica (modificato da Arber et al. 2016).

La Leucemia Linfoblastica Acuta

Le neoplasie maligne sono la seconda causa di morte nei bambini tra 1 e 14 anni, precedute solo dagli incidenti. Quasi un terzo dei tumori diagnosticati in questa fascia di età sono leucemie, seguite da tumori del sistema nervoso centrale (21%), sarcomi dei tessuti molli (tra cui il neuroblastoma e il rabdomiosarcoma), tumore renale di Wilms e linfomi non Hodgkin (2).

Tra le leucemie, la LLA è la più frequente, costituendo l'80% delle forme leucemiche nell'età pediatrica (0-18 anni) (3). Circa l'85% delle LLA è rappresentato da proliferazioni maligne di precursori della linea B (pB-LLA), mentre il 15% deriva dal coinvolgimento di precursori della linea T (T-LLA).

Epidemiologia

Negli Stati Uniti, la LLA ha un'incidenza annuale di 4.1 casi ogni 100.000 soggetti di età compresa tra 0 e 14 anni e di circa 1.7 casi ogni 100.000 soggetti di età compresa tra 15 e 19 anni. Si osserva un picco netto nell'incidenza di LLA nei bambini di età compresa tra i 2 e i 3 anni (>90 casi ogni 100.000 bambini all'anno), che risulta essere da quattro a cinque volte superiore a quella dei bambini di età pari o superiore a 10 anni.

L'incidenza di LLA sembra essere più alta nei bambini ispanici (4.3 casi ogni 100.000 bambini/anno) e in generale è sostanzialmente più alta nei bambini indoeuropei rispetto a quelli neri.

In Italia, presso il Centro Raccolta Dati dell'Associazione Italiana Emato-Oncologia Pediatrica (AIEOP) in collaborazione con il CINECA, sono stati registrati circa 500 nuovi casi/anno di leucemia pediatrica, di cui circa 400 sono LLA (3).

Fisiopatologia e fattori di rischio

La patogenesi della LLA comporta la proliferazione e la differenziazione anomala di una popolazione clonale di cellule linfoidi.

Le aberrazioni cromosomiche sono il segno distintivo della LLA, ma non sono sufficienti a generare la leucemia. Le traslocazioni caratteristiche includono t(12;21), t(9;22) e il riarrangiamento del gene MLL (4). Uno studio ha però

dimostrato l'origine prenatale delle leucemie che si verificano nei gemelli monozigoti caratterizzate dalla traslocazione t(12;21) e nei bambini di età inferiore ai dodici mesi con riarrangiamento del gene MLL (5).

I fattori di rischio congeniti riconosciuti per la LLA sono (6):

- Condizioni genetiche sindromiche:
 - Sindrome di Down (trisomia 21), predispone allo sviluppo di LLA e LMA con un rischio cumulativo del 2.1% entro i 5 anni di età e del 2.7% entro i 30 anni.
 - Neurofibromatosi di tipo 1.
 - Sindrome di Bloom.
 - Sindrome di Fanconi (più frequentemente associata a LMA).
 - Sindrome Li-Fraumeni.
 - Atassia Teleangectasia.
- Altre alterazioni genetiche:
 - Mutazioni bialleliche di geni coinvolti nel mismatch repair (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2).
 - Una traslocazione robertsoniana che coinvolge i cromosomi 15 e 21 predispone alla comparsa di amplificazione intracromosomica del cromosoma 21 (iAMP21-LLA).
 - Studi di associazione genomica hanno identificato una serie di polimorfismi genetici germinali che sono associati allo sviluppo di LLA. Un esempio è la mutazione di ARID5B, associata allo sviluppo di B-ALL iperdiploidi (51-65 cromosomi) (7).

I fattori di rischio post-natali possono essere molteplici e sono tutt'ora oggetto di discussione: un'anomala risposta immune a comuni infezioni (ad esempio virus di Epstein-Barr) potrebbe costituire la causa di un secondo danno genetico ("second hit") e quindi dell'avvio della leucemogenesi (3).

Altri noti fattori predisponenti sono l'esposizione a radiazioni ionizzanti e a sostanze chimiche (benzene, pesticidi, alcuni solventi). Di grande importanza è il pregresso uso di farmaci citostatici, che può determinare lo sviluppo di leucemie secondarie in pazienti già guariti da una prima leucemia.

Ad ogni modo, nella maggior parte dei casi, la LLA si presenta de novo in individui precedentemente sani (4).

Caratteristiche cliniche

La clinica d'esordio delle LLA pediatriche è tendenzialmente caratterizzata dai sintomi dell'insufficienza midollare: l'anemia comporta astenia, pallore e tachicardia, la neutropenia può essere responsabile di infezioni prolungate e ricorrenti e la piastrinopenia (<25000/mmc nel 30% dei casi) determina la comparsa di petecchie e manifestazioni emorragiche; può inoltre essere presente dolore osseo e osteoarticolare (8).

La conta leucocitaria all'esordio può essere molto ridotta (forme "aplastiche") o più frequentemente aumentata (leucocitosi). Nel 10% dei casi gli esami ematochimici mostrano una grave iperleucocitosi (WBC >100000/mmc).

Tra i segni e sintomi di infiltrazione d'organo, i più comuni sono l'epatosplenomegalia e la linfadenopatia, presenti all'esordio nel 50% dei casi.

L'evidenza all'imaging di allargamento del mediastino, eventualmente associato ad effusione pleurica o pericardica, non è un reperto raro dell'esordio di LLA ed è più comunemente associato ad immunofenotipo T. In presenza di una massa mediastinica anteriore/superiore, è possibile che si sviluppino importanti complicanze, come la Sindrome della Vena Cava Superiore (VCS) e la compressione tracheobronchiale, la cui rilevanza clinica e la sintomatologia conseguente possono essere molto variabili.

Altre localizzazioni peculiari di malattia sono l'infiltrazione testicolare e quella delle meningi e del sistema nervoso centrale (SNC). Quest'ultima costituisce solo una piccola quota di pazienti all'esordio (<5%). I bambini con T-LLA, presentano una più alta incidenza di malattia SNC e ciò potrebbe essere dovuto alla maggior propensione delle cellule T a migrare in siti extramidollari. L'infiltrazione leucemica cerebrale può essere clinicamente occulta, pertanto è indicata una TC/RM cerebrale in tutti i pazienti alla diagnosi (9).

Alla diagnosi i pazienti leucemici possono presentare alterazioni metaboliche quali l'iperuricemia, l'ipercalcemia e l'iperfosforemia, con possibile compromissione

anche grave della funzione renale (“sindrome da lisi tumorale”), a cui porre particolare attenzione all’inizio della terapia citoriduttiva (8).

Diagnosi (9)

Oltre alla valutazione clinico-anamnestica, per l’inquadramento diagnostico sono richieste le seguenti indagini:

1. Emocromo e formula leucocitaria
2. Aspirato di sangue midollare per diagnosi e caratterizzazione biologica della LLA
3. Puntura lombare con studio citomorfologico e chimico-fisico
4. RX Torace, anche per lo studio della eventuale localizzazione mediastinica
5. TC cranio o RM encefalo

La diagnosi di LLA è prima di tutto basata sull’esame citomorfologico del midollo osseo, del sangue periferico e del liquido cerebrospinale. Per porre diagnosi di LLA è richiesta la presenza di linfoblasti $\geq 25\%$ nel midollo osseo. La conta periferica è obbligatoria, così come la conta liquorale e l’allestimento di preparati citologici per la valutazione dell’interessamento SNC.

Sono poi richieste indagini di inquadramento generale per valutare lo stato funzionale dei diversi organi e apparati, allo scopo di identificare possibili alterazioni e per la valutazione nel follow-up di possibili effetti collaterali o complicanze.

Caratterizzazione ematologica della malattia (9,10)

La caratterizzazione della malattia è fondamentale per distinguere i diversi sottotipi biologici di LLA al fine di modulare i trattamenti sulla base della loro differente prognosi. La diagnosi di leucemia prevede l’esame citomorfologico e citochimico del sangue periferico e midollare; sono inoltre necessari la tipizzazione immunofenotipica e lo studio citogenetico e molecolare dei blasti leucemici.

Citomorfolgia

Il mielogramma e la classificazione del gruppo cooperativo Franco-Americano-Britannico FAB, proposta per la prima volta nel 1976, dovrebbero essere eseguiti su strisci di sangue midollare preferibilmente colorati con colorazione di May-Grünwald-Giemsa. Tale colorazione è richiesta anche per la valutazione citomorfológica degli strisci di sangue periferico e dei preparati di liquor. La citochimica convenzionale non è richiesta di routine, ma può essere utile in casi altrimenti incerti. Tuttavia, i linfoblasti devono essere obbligatoriamente negativi all'esame della mieloperossidasi, eseguito mediante citochimica o immunofenotipizzazione.

Si identificano tre principali sottotipi morfologici di LLA (11):

- L1: Blasti piccoli con citoplasma scarso (forma prevalente al di sotto dei 15 anni di età).
- L2: Blasti più grandi e di dimensioni variabili, con evidenti nucleoli e contorni nucleari irregolari.
- L3: Blasti di grandi dimensioni con citoplasma vacuolizzato e intensamente basofilo (cellule simili a quelle del linfoma di Burkitt).

Nel 2008 la World Health Organization (WHO) ha effettuato una revisione della classificazione delle LLA, limitando l'utilizzo della più datata classificazione FAB, che voleva le LLA dividersi per criteri unicamente morfologici (12).

Caratterizzazione immunologica

L'immunofenotipizzazione mediante citometria a flusso è parte integrante del work-up iniziale di ogni paziente con LLA per le sue conseguenze dirette sulla stratificazione e sulla terapia. La tipizzazione immunofenotipica delle cellule neoplasiche viene eseguita tendenzialmente su prelievo di sangue midollare e permette di distinguere l'appartenenza alla linea B o T, oltre che lo specifico sottogruppo immunologico di ciascuna linea (Tabella II). È indispensabile l'analisi dei seguenti marcatori: mieloperossidasi, CD45, cyCD79a, CD19, CD10, cyIg, CD20, smIg, CD7, CD5, CD1a, cyCD3, sCD3, CD13, CD33, CD34, TdT, HLA-DR (3).

		MARCATORI								
B - LLA	FAB	CD34	CD19	cCD22	CD79 α	HLADR	CD10	c μ	SIg	
Pro-B (B1)	L1, L2	+	+	+	+	+	-	-	-	
B common (B2)	L1, L2	+/-	+	+	+	+	+	-	-	
Pre-B (B3)	L1	-	+	+	+	+	+/-	+	-	
B matura (B4)	L3	-	+		+	+	-	-	+	
T-LLA	FAB	cCD3	CD3	CD2	CD7	TdT	TcR	CD1a	CD4	
Pro-T (T1)	L1, L2	+	+/-	-	+	+	+	-	-	
Pre-T (T2)	L1, L2	+/-	+	+/-	+	+/-	+	-	-	
T corticale (T3)	L1, L2	-	+	+	+	+/-	+	+	-	
T matura (T4)	L1, L2	-	+	+	+	-	+	-	+	

Tabella II. Classificazione immunologica della LLA secondo i criteri EGIL (modificato da Bene et al. 1995).

La dicitura “leucemia linfoblastica a precursori B” è stata cambiata in “leucemia linfoblastica B” nella classificazione WHO 2008, ma è ancora in uso per discriminarle dalle LLA a cellule B mature (12).

Nella LLA B matura (EGIL B4), i blasti L3 esprimono le catene pesanti delle Immunoglobuline (k o λ) sulla superficie e presentano traslocazioni del gene MYC identiche a quelle del linfoma di Burkitt (gene MYC unito a un gene per le Ig). Per questo motivo i pazienti con LLA B4 sono indirizzati al trattamento chemioterapico secondo i protocolli per il linfoma di Burkitt.

Le LLA a precursori B (pB-LLA) sono l’80% delle LLA pediatriche e sono definite immunofenotipicamente dalla positività per CD19, CD22, CD79 α e HLA-DR. Il 90% di esse presenta inoltre positività per l’antigene di superficie CD10 (antigene “Common”) e sono definite LLA Common (EGIL B2).

La presenza di immunoglobuline intracitoplasmatiche (c μ) identifica il sottogruppo LLA pre-B (EGIL B3), spesso associata a traslocazione t(1;19).

L’assenza di CD10 è tipica delle LLA pro-B (EGIL B1) e si associa spesso a riarrangiamenti del gene MLL con una prognosi tendenzialmente sfavorevole (vedi oltre) (13).

Le T-LLA sono invece definite dall'espressione sulla superficie dei linfoblasti degli antigeni di linea T. Queste forme sono associate con maggiore frequenza a sesso maschile, età alla diagnosi più avanzata, massa mediastinica e leucocitosi.

La variante di LLA a precursori T precoci (ETP) costituisce il 16% circa delle T-LLA e presenta un fenotipo caratteristico (assenza di CD1a e CD8, CD5 debolmente espresso, espressione di uno o più markers staminali o mieloidi) (14). I risultati ottenuti in Italia con il protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 dimostrano che la LLA-ETP ha raggiunto una sopravvivenza libera da eventi sovrapponibile a quella delle altre varianti di LLA a cellule T, sebbene le LLA-ETP siano tendenzialmente associate a una più lenta risposta ai trattamenti (15).

Esistono inoltre le forme a immunofenotipo misto, appartenenti al gruppo delle leucemie acute con lineage ambiguo, che costituiscono circa il 5% delle leucemie pediatriche. Le LA bifenotipiche sono caratterizzate dalla presenza simultanea sulle cellule neoplastiche di antigeni di linea differenti (linfoidi e mieloidi), mentre le LA bilineari sono costituite da popolazioni cellulari distinte riconducibili a due diversi cloni neoplastici (solitamente uno linfoide e uno mieloide) (12).

Anomalie citogenetiche

La citogenetica rappresenta un test diagnostico cruciale che svolge un ruolo importante nella stratificazione del rischio dei pazienti e presenta quindi importanti implicazioni prognostiche. I progressi della tecnologia citogenetica sono stati fondamentali per la scoperta di nuove alterazioni genetiche, che hanno ulteriormente contribuito alla comprensione della leucemogenesi e alla gestione dei pazienti (16). L'analisi citogenetica classica consente l'identificazione di anomalie cromosomiche clonali numeriche e strutturali. Altri test diagnostici che permettono la rilevazione delle anomalie cromosomiche strutturali sono l'analisi citofluorimetrica del contenuto medio di DNA (DNA index) o la FISH (Fluorescent in situ hybridization). Quest'ultima permette di identificare lesioni cromosomiche non visibili dalla citogenetica classica e il suo vantaggio consiste nel poter essere impiegata su cellule in interfase, superando la difficoltà di ottenere metafasi analizzabili da blasti di LLA. I blasti leucemici sono caratterizzati da numerose anomalie citogenetiche (vedi Figura 1), in particolare aneuploidie, traslocazioni,

delezioni, inserzioni e inversioni. La loro forma può essere bilanciata o sbilanciata; nel secondo caso comportano cambiamenti nel numero di copie (16). Nel 90% dei pazienti con LLA le cellule neoplastiche presentano aberrazioni cromosomiche clonali (8). Le anomalie cromosomiche numeriche sono frequenti nella LLA pediatrica. L'iperploidia (presenza di oltre 50 cromosomi nei blasti leucemici) è considerata un fattore prognostico favorevole; al contrario, l'elevato grado di ipodiploidia è associata ad una prognosi peggiore. Metodiche più recenti, quali gene expression arrays e SNP-arrays consentono di evidenziare rispettivamente il profilo di espressione e i polimorfismi dei diversi geni (3).

La revisione della classificazione WHO delle neoplasie mieloidi e delle leucemie acute distingue le leucemie linfoblastiche sulla base dell'associazione a specifiche anomalie cromosomiche ricorrenti; i casi di pB-LLA privi di queste anomalie sono considerati "non altrimenti specificati" (1):

- pB-LLA con alterazioni citogenetiche ricorrenti
 - pB-LLA con t(12;21) - TEL-AML1, è la più frequente anomalia delle LLA pediatriche, solitamente rilevata tramite FISH e considerata a prognosi favorevole.
 - pB-LLA con t(1;19) - E2A-PBX1 (TCF3-PBX1), spesso associata a LLA pre-B con morfologia L1.
 - pB-LLA con t(9;22) - BCR-ABL1 (Phi+). Costituisce il 3-5% delle LLA pediatriche, ma la frequenza sale fino al 25% nei giovani adulti. Nella metà dei casi il punto di rottura sul gene BCR è più prossimale rispetto a quanto avviene nella leucemia mieloide cronica (LMC) e questo genera una proteina di fusione di 190 kD (anziché 210 kD). Questo sottotipo è tradizionalmente associato ad un outcome sfavorevole; tuttavia, la prognosi è nettamente migliorata con l'introduzione dei farmaci inibitori tirosinchinasici (TKI).
 - pB-LLA con traslocazioni coinvolgenti il locus 11q23, ottenendo riarrangiamenti del gene MLL. Questi sono presenti nell'80% dei bambini con LLA e sono associati a una sopravvivenza a lungo termine < 50%.
 - pB-LLA con iperploidia. L'alta iperploidia (>50 cromosomi) è riscontrabile nel 25% dei casi di pB-LLA ed è associata a prognosi favorevole. Oltre il 97% dei blasti iperdiploidi presenta 3 o 4 copie del cromosoma 21, il quale

ospita il gene per il trasportatore del methotrexate nelle cellule: l'aumento di questo trasportatore risultante dal sovradosaggio genico rende i blasti particolarmente sensibili ai trattamenti con antimetaboliti (17).

- pB-LLA con ipoploidia (<45 cromosomi). Rappresenta l'1% dei casi e ha una prognosi meno favorevole (sopravvivenza del 40%).
- pB-LLA con t(5;14) - IL3-IGH.
- pB-LLA "BCR-ABL1 like" (entità provvisoria), con traslocazioni che coinvolgono tirosinchinasi o recettori citochinici. Queste alterazioni sono associate a prognosi sfavorevole, ma rispondono in alcuni casi a terapia con TKI. I casi con traslocazioni di CRLF2 (cytokinereceptor-like factor 2) sono spesso associati a mutazioni del gene JAK e sono particolarmente comuni nei bambini con sindrome di Down.
- pB-LLA con iAMP21 (entità provvisoria). Le LLA con amplificazione del gene AML1 sul cromosoma 21 costituiscono il 2% delle forme a precursori B e sono associate a prognosi sfavorevole.
- pB-LLA non altrimenti specificate.
- T-LLA (entità provvisoria). La classificazione non è ulteriormente sviluppata perché i test per identificare i meccanismi genetici nelle T-LLA non sono ancora standardizzati e le implicazioni prognostiche sono controverse.

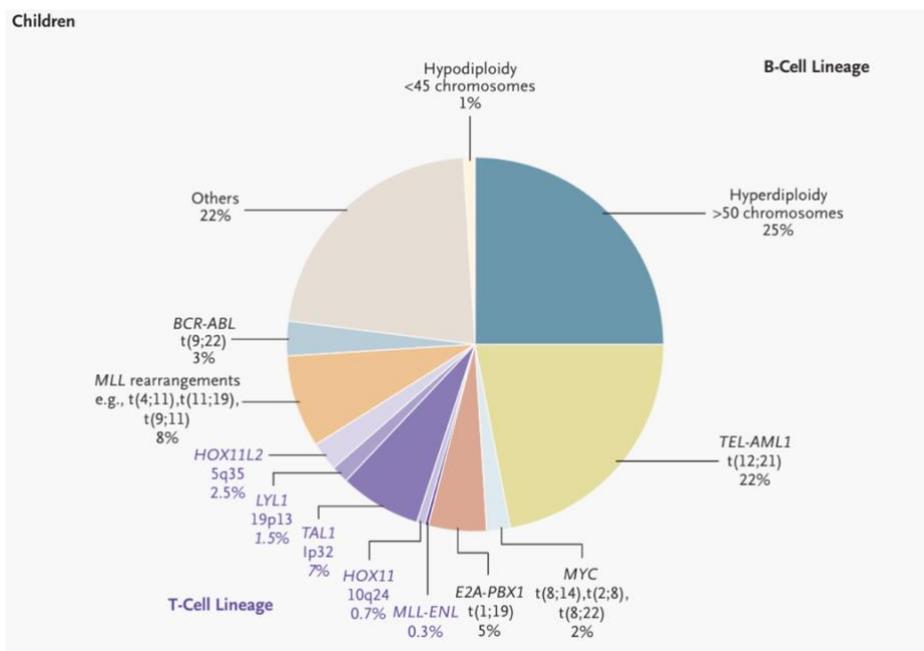


Figura 1. Frequenza delle principali anomalie citogenetiche riportate nei blasti leucemici nei pazienti con LLA pediatrica (17).

Fattori prognostici

Grazie all'efficacia dei moderni protocolli polichemioterapici, per questi pazienti la sopravvivenza a cinque anni raggiunge l'80/90% (6).

Gli sforzi per migliorare la terapia della LLA di nuova diagnosi e per prevenire la recidiva della malattia hanno incluso la stratificazione dell'intensità del trattamento in base a fattori prognostici predittivi di esito. La rilevanza di un singolo fattore di rischio può essere modificata nel tempo dallo stesso miglioramento delle cure (18). Si distinguono fattori prognostici legati alle caratteristiche del paziente, alle caratteristiche biologiche della malattia e all'iniziale risposta ai trattamenti.

I fattori prognostici riconosciuti per la LLA sono (6,18):

- L'età alla diagnosi. La fascia d'età associata a miglior prognosi è quella tra 1 e 10 anni, mentre i bambini di età inferiore a 1 anno rappresentano i pazienti più a rischio (19). Si è inoltre osservata un'influenza dell'età sulla prognosi di alcuni sottotipi genetici di LLA. Per esempio, i pazienti di età compresa tra 1 e 9 anni affetti da LLA positiva al cromosoma Philadelphia presentano una prognosi migliore rispetto agli adolescenti e agli adulti con la stessa forma di leucemia. Tra i pazienti con LLA e riarrangiamento del gene MLL, i neonati di età inferiore a un anno hanno una prognosi notevolmente peggiore rispetto ai bambini più grandi. Le ragioni di questo fenomeno potrebbero risiedere nel diverso metabolismo dei farmaci tra questi gruppi di pazienti, oltre che alla diversa combinazione di eventi genetici secondari (17).
- La conta leucocitaria (WBC) alla diagnosi. Un'elevata conta leucocitaria alla diagnosi (definita come conta dei globuli bianchi superiore a 50.000 cellule/mm³) è stata associata a un rischio più elevato di recidiva, in particolare nella pB-LLA. Le T-LLA tendono a esordire con una WBC maggiore rispetto alle pB-LLA, ma il significato prognostico della conta leucocitaria presente nelle T-LLA è meno chiaro.

La conta leucocitaria e l'età alla diagnosi fanno parte dei parametri per la stratificazione del rischio proposta dal National Cancer Institute (NCI).

- Infiltrazione del SNC o testicolare alla diagnosi.

- L'immunofenotipo. Storicamente, i pazienti affetti da T-LLA hanno una prognosi peggiore. Tuttavia, grazie all'aumentata efficacia dei protocolli terapeutici, gli outcome delle T-LLA sono migliorati e sono ora simili a quelli delle pB-LLA.
- Le caratteristiche citogenetiche (vedi Figura 2):
 - TEL-AML1 e iperdiploidia sembrano associate a una prognosi migliore. Prognosi sfavorevole presentano invece le LLA Ph₁⁺, le LLA ipodiploidi e le LLA con riarrangiamenti MLL. È indicativo che per il protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 la t(4;11) e l'ipodiploidia rappresentino criteri sufficienti per l'assegnazione alla fascia di rischio elevato (9).
 - Le delezioni del gene IKZF1, che codifica per il fattore di trascrizione Ikaros, sono presenti nel 15% delle pB-LLA pediatriche, con una frequenza maggiore nelle LLA Ph₁⁺. Sono più comuni nei bambini più grandi e nei pazienti con elevata conta leucocitaria. Diversi studi hanno dimostrato che costituiscono un predittore di eventi avversi (18).
 - I pazienti con polimorfismi della TPMT (un gene coinvolto nel metabolismo delle tiopurine come la mercaptopurina) sembrano avere una prognosi migliore, ma possono essere a maggior rischio di sviluppare tossicità legate alle suddette terapie. Pertanto, alcuni pazienti vengono trattati con dosi ridotte di 6-mercaptopurina e 6-tioguanina per evitare una tossicità eccessiva (6).
- È ancora discusso il ruolo di altri fattori quali:
 - Trisomia 21. È noto che i pazienti con sindrome di Down sono particolarmente a rischio di tossicità severa in caso di chemioterapia, soprattutto Methotrexate. Peraltro, un trattamento meno intensivo o una riduzione delle dosi in questi pazienti correlano con un maggior tasso di recidive. Ciò suggerisce la necessità di un trattamento intensivo in questo gruppo di pazienti. L'esperienza clinica ha dimostrato che la tolleranza al trattamento è molto variabile in questa popolazione e che un'ampia percentuale di pazienti non sviluppa una tossicità estesa. Si raccomanda quindi uno stretto monitoraggio, con riduzione della dose esclusivamente quando si presenta un'effettiva tossicità (10).

- Sesso maschile. Diversi studi hanno riscontrato una prognosi più sfavorevole nei pazienti di sesso maschile.
- Status socioeconomico e razza. L'outcome nei bambini neri e ispanici è risultato inferiore rispetto ai bambini di etnia indoeuropea (6).

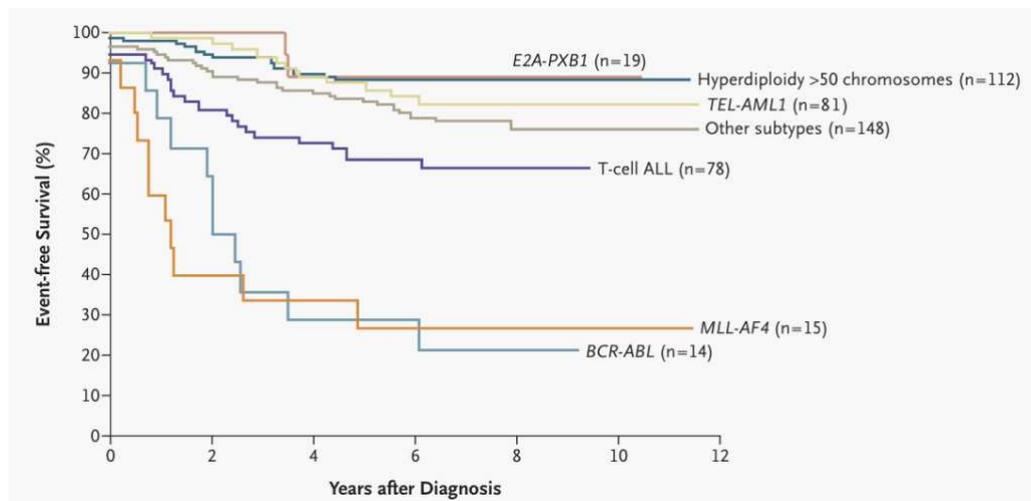


Figura 2. Analisi di Kaplan-Meier della sopravvivenza libera da eventi (EFS) in base al sottotipo citogenetico in 467 bambini con LLA arruolati presso il St. Jude Children's Research Hospital dal 1991 al 1999 (17).

Prognosi

In Italia, da oltre 50 anni, il trattamento della LLA si realizza nei centri AIEOP specializzati in ematologia pediatrica, attraverso protocolli di terapia in continuo perfezionamento (20). La seconda metà degli anni '70 è stata caratterizzata da un considerevole progresso delle conoscenze cliniche, biologiche e farmacologiche, che ha permesso di superare il concetto di leucemia pediatrica come malattia incurabile. Gli studi contemporanei sulla LLA infantile hanno mostrato tassi di sopravvivenza globale (OS) a 5 anni superiori al 90% (21).

Più del 95% dei bambini raggiunge la remissione e circa l'85% diventa un sopravvissuto a lungo termine libero da eventi (22). L'obiettivo della terapia della LLA è la "guarigione globale" medica, libera da complicanze a medio-lungo termine, ma anche psicologica, educativa e sociale. Grande importanza assumono tutti gli interventi orientati a promuovere lo sviluppo psicologico, educativo e l'acquisizione di consapevolezza. Il fine ultimo è assicurare al bambino lo sviluppo migliore per raggiungere l'età adulta e l'inserimento nella vita sociale nelle condizioni migliori (3).

Principi di terapia

Gli elementi fondamentali degli attuali protocolli terapeutici sono (3):

1. Trattamento steroideo: ripetuto più volte nel corso della terapia e per un periodo di tempo prolungato. Nei protocolli europei viene applicata una “prefase steroidea” della durata di 7 giorni prima di introdurre la chemioterapia vera e propria. Questa consiste nella somministrazione di Prednisone (PDN) per 7 giorni e di una dose di methotrexate intratecale. Terminata la prefase è possibile distinguere i casi PGR (Prednisone Good Responders) dai PPR (Prednisone Poor responders, >1000 blasti/mm³), destinati a trattamenti più intensivi (ad alto rischio).
2. Induzione della remissione (fase Ia): comprende 4 farmaci, quali steroide, vincristina, antraciclina, L-Asparaginasi.
3. Consolidamento: ciclofosfamide, citarabina, 6-mercaptopurina.
4. Protocollo M: methotrexate ad alte dosi e 6-mercaptopurina.
5. Reinduzione o protocollo II: si ripete la somministrazione dei farmaci utilizzati nella fase di induzione sostituendo il Prednisone con il Desametasone.
6. Mantenimento: solitamente con soli 6-mercaptopurina e methotrexate per un totale di 24 mesi.
7. Profilassi al SNC tramite l'uso ripetuto di methotrexate intratecale (a volte si usa citarabina e steroide). In aggiunta, le somministrazioni di methotrexate e citarabina ad alte dosi hanno permesso di riservare la radioterapia profilattica craniale ad una selezione ristretta di pazienti (T-LLA iperleucotomiche o meningosi all'esordio).
8. Nei pazienti a rischio elevato il protocollo M è costituito da 3 “blocchi HR” polichemioterapici, ognuno della durata di 6 giorni. Seguono la fase di reinduzione, costituita dalla ripetizione per 3 volte del “protocollo III”, e la terapia di mantenimento.
9. I 3 bracci terapeutici prevedono un trattamento polichemioterapico della durata complessiva e indicativa di 104 settimane.

Stratificazione del rischio (9,10)

I pazienti vengono suddivisi in gruppi di rischio caratterizzati da prognosi differenti e richiedenti diverse intensità di trattamento. Tradizionalmente, nei protocolli italiani ed europei i 3 bracci di rischio sono: standard (SR), intermedio (MR) e alto (HR).

La stratificazione in AIEOP-BFM ALL 2017 rivede ed estende i precedenti tentativi di fornire una terapia sempre più personalizzata e adattata al rischio. L'ampia gamma di caratteristiche biologiche della leucemia (immunofenotipo, aberrazioni cromosomiche, eccetera) è alla base del diverso esito di questi sottogruppi. Di conseguenza, è necessario soddisfare requisiti molto diversi per quanto riguarda l'intensificazione e/o la modifica del trattamento. Già il protocollo AIEOP-BFM ALL 2000 aveva evidenziato la superiorità della valutazione della malattia residua minima (MRD) rispetto alle caratteristiche clinico-laboratoristiche d'esordio per l'identificazione dei gruppi di rischio. La valutazione precisa della risposta al trattamento (risposta al prednisone, risposta dopo l'induzione, malattia residua minima) è fondamentale per l'identificazione dei pazienti ad alto rischio. Lo studio AIEOP-BFM ALL 2009 ha dimostrato che la stratificazione orientata alla risposta può essere realizzata in oltre il 99% dei pazienti.

La risposta al trattamento è misurata attraverso:

- Risposta allo steroide al giorno +8: si distinguono pazienti "prednisone good responders" (PGR) e "prednisone poor-responders" (PPR) in base alla conta dei blasti nel sangue periferico.
- Risposta precoce al giorno +15 di chemioterapia: valutazione di malattia residua in citofluorimetria (FCM-MRD).
- Ottenimento della remissione ematologica completa dopo un mese di terapia (giorno +33), definita come presenza di <5% di linfoblasti all'esame morfologico dell'aspirato midollare, in presenza di recupero ematologico.
- Livelli di malattia residua minima in PCR-quantitativa (PCR-MRD) ai giorni +33 (TP1) e +78 (TP2).

L'analisi della MRD ai punti TP1 e TP2 consente la stratificazione dei diversi gruppi di rischio.

Lo studio AIEOP-BFM ALL 2017 ha individuati ulteriori elementi prognostici sfavorevoli che, insieme ai criteri HR già validati nei protocolli precedenti, aiutano a definire precocemente i pazienti “early HR” o “early non HR” e orientano verso l’intensificazione della fase IB.

I criteri genetici HR che rimangono invariati in AIEOP-BFM ALL 2017 sono la traslocazione t(4;11) con la fusione del gene MLL-AF4 e l’ipodiploidia (<45 cromosomi). Si aggiungono, invece, la traslocazione t(17;19) con il gene di fusione TCF3-HLF (E2A-HLF), quasi sempre segnalata con esito fatale e in presenza della quale è necessario attuare da subito terapie sperimentali e la ricerca del genotipo definito come Ikaros plus. Vengono inoltre inseriti nuovamente come eleggibili al protocollo gli “infant” con qualunque traslocazione che coinvolga KMT2A e trattati come HR.

Altra novità del protocollo AIEOP-BFM ALL 2017 è l’utilizzo di nuovi farmaci in prima linea di trattamento, in particolare Bortezomib nel Consolidamento e Blinatumomab sia per i pazienti HR che per i pazienti MR. Queste introduzioni sono state applicate grazie a studi randomizzati. L’obiettivo è quello di ridurre significativamente il rischio di recidiva senza aumentare la tossicità. La terapia dovrebbe quindi essere abbastanza intensiva da prevenire le ricadute di leucemia, ma non più intensiva di quanto assolutamente necessario, per evitare nel miglior modo possibile la manifestazione di effetti collaterali.

L-Asparaginasi (9)

La L-asparaginasi (L-Asp) è un farmaco utilizzato a livello internazionale nella terapia della LLA ed è parte del trattamento polichemioterapico delle fasi di Induzione ed intensificazione della remissione in tutti i protocolli pediatrici.

È un enzima che catalizza l’idrolisi dell’aminoacido asparagina in acido aspartico ed ammonio nello spazio extracellulare. La sua efficacia dipende dall’incapacità delle cellule linfoblastiche di sintetizzare asparagina e dalla loro dipendenza da un supplemento esterno per espletare la sintesi di proteine ed acidi nucleici. Esse sono particolarmente sensibili al farmaco perché una carenza di tale aminoacido porta ad un’alterazione di tali processi con conseguente apoptosi cellulare e riduzione della proliferazione neoplastica.

A partire dagli anni Ottanta, essa è divenuta componente fondamentale dei protocolli terapeutici per la cura della LLA, con un miglioramento sostanziale in termini di Event Free Survival (EFS), Disease Free Survival (DFS) e frequenza di remissione completa continuativa.

Sono attualmente disponibili in commercio tre preparazioni altamente purificate di L-Asp: due derivate da *Escherichia coli*, rispettivamente il prodotto nativo (n-E.coli L-Asp) e la sua formulazione pegilata (PEG-Asp), una da *Erwinia chrysantemy* (*Erwinia* L-Asp). Da un punto di vista farmacocinetico, se assunta per bocca, la L-Asp non viene assorbita perché subisce una degradazione metabolica. Dopo somministrazione intramuscolare, invece, il picco plasmatico si verifica a distanza di 14-24 ore. Approssimativamente il 30% del farmaco viene legato a proteine plasmatiche. L'emivita è pari a 5,7 giorni, decisamente più lunga rispetto a quella dell'n-E.Coli L-Asp (1,24 giorni) e a quella dell'*Erwinia* L-Asp (0,65 giorni). Il farmaco è eliminato con le urine in modeste quantità.

La PEG-L-Asp, utilizzata da diversi anni nel trattamento delle LLA, viene ottenuta dal legame covalente della n-E.Coli L-Asp con catene di mono-metossipoli-etilenglicole di 5000Da (PEG) e presenta una riduzione delle proprietà immunogene, una minore reattività anticorpale e, come detto precedentemente, un aumento dell'emivita rispetto alla formulazione nativa. Grazie a queste caratteristiche, essa è stata utilizzata nello studio AIEOP-BFM ALL 2000 come seconda linea in caso di reazione allergica all'n-E.Coli L-Asp, con una buona tollerabilità e senza eventi avversi inattesi. Ulteriori esperienze americane ed europee hanno dimostrato l'efficacia dell'uso della PEG-L-Asp nel trattamento di prima e seconda linea per la LLA in età adulta e pediatrica, con un profilo di tossicità simile a quello osservato con il prodotto nativo. Il suo impiego come prima linea terapeutica ha comportato una riduzione dell'incidenza delle reazioni allergiche e, di conseguenza, ne ha aumentato l'efficacia terapeutica.

Nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2000 la L-Asp nativa è stata utilizzata nella fase di Induzione (8 dosi a 5000 U/m³), nei blocchi HR e in fase di Reinduzione (4 dosi). A partire dal protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 si è sostituita la L-Asp nativa con la forma pegilata (PEG-L-Asp) come terapia di prima linea in tutti i pazienti. È somministrata al dosaggio di 2500 UI/m² e.v. in 2 ore in singola dose, con dose massima assoluta di 3750 UI. La somministrazione è prevista durante l'Induzione

IA nei giorni +12 e +26, in ciascun blocco HR in singola dose al giorno +6, durante la Reinduzione II al giorno +8 e nella Reinduzione III al giorno +1 (Figura 3).

I protocolli seguenti hanno mantenuto questo schema di somministrazione.

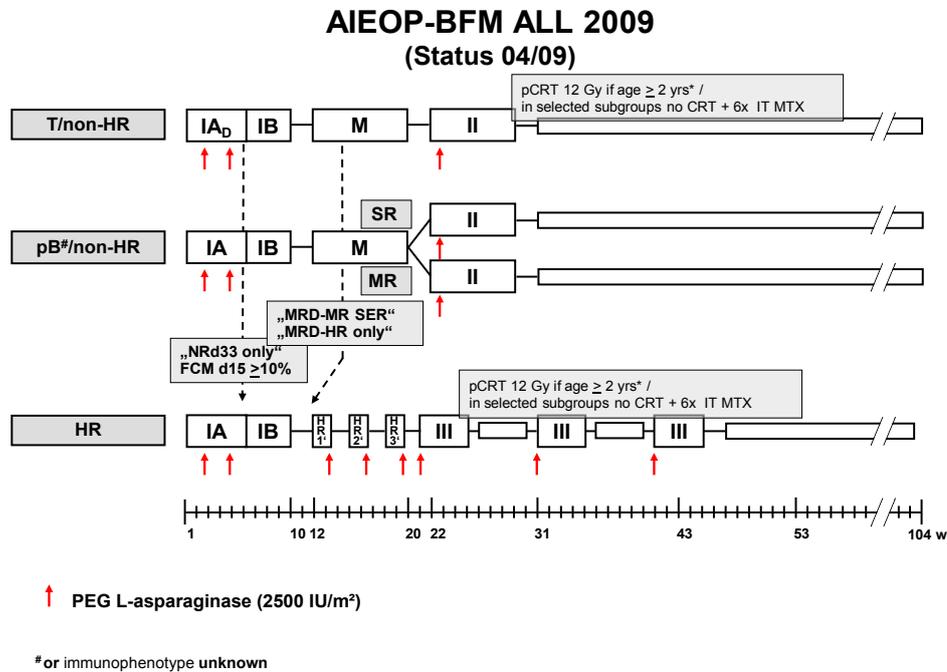


Figura 3. Somministrazione di PEG-L-Asp nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 (9).

È prevista inoltre la somministrazione sperimentale protratta di PEG-L-Asp nell'ambito di due Randomizzazioni: R₂ (9 dosi di PEG-Asp aggiuntive ogni due settimane nel corso della Reinduzione II e dell'inizio del Mantenimento) per i pazienti appartenenti al braccio di rischio intermedio ed R_{HR} (4 PEG-Asp aggiuntive a cadenza settimanale durante l'Induzione IB) per i pazienti del braccio di rischio alto. Tali studi mirano a migliorare la prognosi dei pazienti, considerati l'unicità del meccanismo d'azione della PEG-Asp e l'assenza di una sua tossicità a lungo termine.

Tossicità da L-Asparaginasi

L'uso della L-Asp è caratterizzato da un profilo di tossicità molto peculiare (vedi Figura 4). La mielodepressione è molto scarsa, ma le alterazioni metaboliche e di funzionalità d'organo (fegato, pancreas, discoagulopatia) sono frequenti.

La tossicità da L-Asp può determinare alterazioni della sua somministrazione con un ritardo o una diminuzione delle dosi, fino alla sua sospensione, evento correlato ad una riduzione dell'EFS (23).

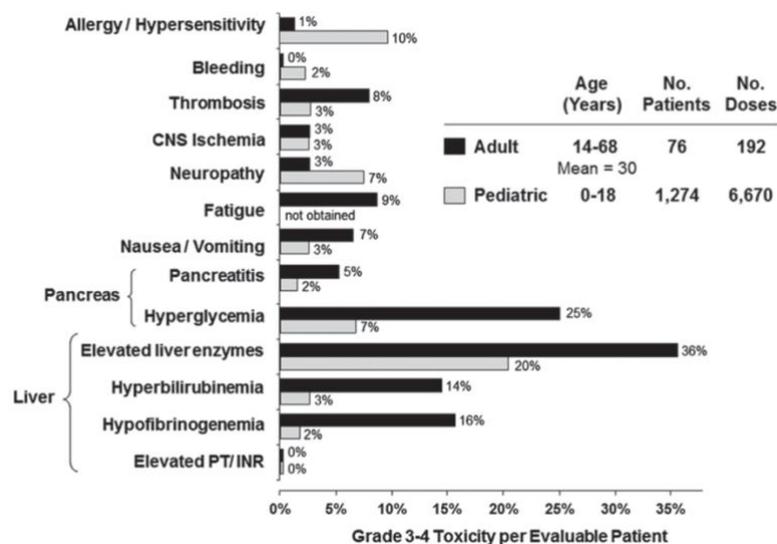


Figura 4. Distribuzione di eventi avversi di III-IV grado connessi ad una tossicità da L-Asp in pazienti adulti e pediatrici con LLA (24).

Discoagulopatia

Aspetto peculiare della L-Asp è l'alterazione della sintesi dei fattori della coagulazione che determina un importante e molto discusso rischio sia trombotico che emorragico.

Il deficit di sintesi proteica riduce la concentrazione plasmatica di molteplici fattori della coagulazione, con un'alterazione dell'equilibrio emostatico sia in senso trombotico (carenza di antitrombina, proteina C, proteina S e plasminogeno), sia in senso emorragico (carenza di fibrinogeno, fattori VII, IX, X, XI, glicoproteina ricca di istidina, alfa-2-macroglobulina, alfa-2-antiplasmina) (24). Tale fenomeno va ad inserirsi in un contesto generale di alterazione dell'equilibrio del sistema coagulativo, prevalentemente in senso trombotico, dovuto alla malattia neoplastica in sé, alla presenza di un catetere venoso centrale e alla chemioterapia concomitante (steroidi) (25–27). Nella popolazione adulta è stato dimostrato come una singola dose di L-Asp induca un deficit di antitrombina in due terzi dei pazienti (28).

Per quanto riguarda gli eventi emorragici, nelle fasi precoci della terapia, con l'avvio della L-Asp, si può riscontrare un'ipofibrinogenemia di grado moderato o

severo che, insieme alla piastrinopenia, può condurre al sanguinamento. La maggior parte degli eventi emorragici è di entità lieve o moderata, con interessamento cutaneo e mucoso (29).

Per quanto riguarda gli eventi trombotici, essi sono prevalentemente a carico del distretto venoso, molto rari invece a livello arterioso. Sono eventi avversi severi, correlati a morbilità e mortalità significative (30). La conseguente interruzione della terapia con L-Asp si è dimostrata associata ad una prognosi peggiore (23,31). Non è ancora stata individuata una strategia efficace e univoca per la prevenzione degli eventi emorragici e trombotici. Non c'è accordo sulla modalità di monitoraggio dei parametri coagulativi in letteratura, data la debolezza delle evidenze scientifiche. Questo determina comportamenti molto variabili: in alcuni centri essi vengono controllati a cadenza regolare nel corso della chemioterapia, in altri solo nell'ambito di studi clinici (32,33), in altri ancora esclusivamente in presenza di una comorbidità che ne renda il rischio molto elevato (29).

Altrettanto incerta è l'indicazione alla profilassi e alle sue modalità. I possibili approcci di prevenzione comprendono: la trasfusione con plasma fresco congelato (PFC), la somministrazione di crioprecipitati o di concentrati di specifici fattori della coagulazione. L'utilizzo di PFC determina un aumento non significativo dei fattori della coagulazione plasmatici, in particolare antitrombina e fibrinogeno (34). Esso costituisce inoltre una fonte di asparagina, con una potenziale riduzione dell'efficacia terapeutica della L-Asp (35). Il crioprecipitato contiene una concentrazione di fibrinogeno superiore a quella del PFC, ma questa quantità è variabile. Inoltre, esso include il fattore VIII e il fattore di von Willebrand, che potrebbero portare a un aumento del rischio di trombosi (36). La somministrazione di concentrati di fibrinogeno non ha trovato ancora una definitiva collocazione. I livelli di fibrinogeno per i quali viene posta indicazione alla supplementazione sono variabili in letteratura. In ogni caso, la somministrazione di concentrato di fibrinogeno sembra essere la più adeguata per la sua purezza, l'elevata e nota concentrazione, l'inattivazione virale e l'efficacia (37).

L'alterazione isolata dei parametri di laboratorio non rappresenta controindicazione alla somministrazione di L-Asp; non sono fornite indicazioni relative alla loro correzione. In presenza di trombosi la terapia con L-Asp deve essere interrotta e sospesa definitivamente in mancanza di risoluzione del quadro (38).

Leucemia Mieloide Acuta (LMA)

La LMA è definita come un disordine mieloproliferativo clonale secondario a trasformazione maligna di un progenitore emopoietico della linea mieloide (3). Le LMA rappresentano il 15-20% delle leucemie nei bambini, il 33% negli adolescenti (39). Nonostante i progressi nella terapia per LMA pediatrica negli ultimi decenni, la sopravvivenza globale rimane intorno al 70% (40).

La soppressione della differenziazione delle normali cellule ematopoietiche determina una compromessa produzione di eritrociti (anemia), granulociti (neutropenia) e piastrine (trombocitopenia), con i conseguenti sintomi associati.

Lo sviluppo di LMA è associato a sindromi genetiche ereditarie, come la sindrome di Down, l'anemia di Fanconi, la sindrome di Bloom, eccetera. Come nella LLA, oltre a fattori congeniti, contribuiscono alla patogenesi della malattia anche fattori post-natali, ad esempio l'esposizione a radiazioni, sostanze chimiche, precedenti chemioterapie e pregresse malattie ematologiche (8).

L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha proposto una classificazione dei disordini mieloproliferativi che include criteri clinici, morfologici (FAB), immunofenotipici, citogenetici e biologico-molecolari (12). Anche per la LMA è possibile stratificare la popolazione affetta in fasce di rischio per le quali sono previsti trattamenti diversificati (3).

Il trattamento della LMA pediatrica può essere schematizzato in una prima fase di induzione della remissione e successivamente in una terapia post-remissione. Il gold standard consiste nell'associazione tra citarabina e antraciclina, somministrate attraverso uno schema chiamato abitualmente "3+7". L'obiettivo è quello di raggiungere la remissione completa dopo aver superato il periodo di aplasia. La terapia post-remissione, compreso il trapianto di cellule staminali ematopoietiche, è suddivisa per gruppi di rischio in base alle caratteristiche citogenetiche e alla risposta alla terapia di induzione (41).

Alcuni fattori prognostici negativi sono: età avanzata, precedenti malattie ematologiche, iperleucocitosi all'esordio, presenza di interessamento SNC e la morfologia M7. Tra i fattori favorevoli alla prognosi troviamo: ridotta positività per CD13, CD14 e CD34, anomalie citogenetiche quali t(8;21) o inv(16) e alcune mutazioni somatiche ad esempio NPM1 e IDH (8).

Linfoma di Hodgkin (LH)

Il LH rappresenta una forma di linfoma maligno caratterizzato dalla proliferazione di cellule neoplastiche (cellule di Hodgkin, cellule di Reed-Sternberg) associate ad una componente cellulare polimorfa di tipo reattivo (linfociti, istiociti, eosinofili, neutrofili e plasmacellule). L'incidenza in Europa è di 2.2 casi ogni 100.000 persone all'anno (8). Caratteristica è la distribuzione bimodale dell'incidenza con un primo picco intorno ai 15-30 anni e un secondo dopo i 50-60. Anche per il LH non vi sono certezze per quanto riguarda l'eziologia, ma sembrano giocare un ruolo importante i fattori infettivi, soprattutto il virus di Epstein-Barr (EBV) (3,8).

La classificazione WHO 2008 distingue il LH in due sottogruppi principali: la forma a prevalenza linfocitaria nodulare e la forma di Hodgkin classico, che include i sottotipi a sclerosi nodulare, a cellularità mista, a deplezione linfocitaria e ricco in linfociti (12).

La malattia esordisce generalmente con comparsa di manifestazioni a carico dei linfonodi (linfadenopatie laterocervicali, sovraclaveari, ascellari e inguinali) associate o meno a manifestazioni sistemiche (febbre, sudorazione, calo ponderale, prurito e astenia). Il LH tende a diffondersi per contiguità linfatica al mediastino; se la localizzazione mediastinica ha grosse dimensioni (malattia "bulky") può determinare significative complicanze a causa della compressione delle strutture vicine (8). La diagnosi si basa principalmente sulla biopsia linfonodale, a cui segue una caratterizzazione istologica ed immunoistochimica della malattia. Essa permette anche di acquisire informazioni che possono avere valenza prognostica, come la presenza di uno specifico pattern morfologico, l'espressione di determinati marcatori, differenziazioni peculiari. È poi necessaria l'esecuzione dell'aspirato midollare e l'esame del liquido cefalo-rachidiano (3). Ulteriori esami radiologici sono necessari alla stadiazione. Quest'ultima è quella di Ann Arbor (1971) rivista nel 1988 e adottata dal protocollo AIEOP (42).

La strategia di trattamento del LH prevede l'utilizzo di chemioterapia combinata o meno al trattamento radioterapico. Si tratta di una delle forme tumorali infantili più curabili, con tassi di sopravvivenza a 5 anni stimati che eccedono il 90%, ma la sopravvivenza globale diminuisce sia per i decessi ritardati dovuti al linfoma sia per la tossicità tardiva legata alla terapia (43).

Trombosi nei bambini affetti da neoplasie ematologiche

Nelle ultime decadi si è sviluppata una maggiore consapevolezza nei confronti delle complicanze tromboemboliche nella popolazione pediatrica. Questa tendenza è probabilmente dovuta al fatto che sono notevolmente avanzate le strategie terapeutiche volte a contrastare le più severe patologie pediatriche. Il tromboembolismo nei bambini rappresenta solitamente una complicanza di condizioni primarie sottostanti ad esempio sepsi, cancro, patologie cardiache congenite, interventi terapeutici come l'impianto del catetere venoso centrale (44). Il cancro è un importante fattore di rischio di trombosi pediatrica, contando circa un quinto dei casi (45). La trombosi, sia venosa che arteriosa, può accompagnare qualsiasi tipologia di cancro (46). I bambini oncologici che sviluppano trombosi sono caratterizzati da un' aumentata morbilità e mortalità rispetto alla popolazione generale pediatrica (47). Storicamente, le complicanze trombotiche sono descritte più frequentemente nei pazienti con tumori solidi; tuttavia, alcuni studi dimostrano che il tasso di TEV nei pazienti con neoplasie ematologiche è simile a quello osservato nei pazienti con tumori solidi ad alto rischio di trombosi (48).

Epidemiologia

L'incidenza del tromboembolismo venoso (TEV) nella popolazione pediatrica varia da 0.7 a 1.4 casi su 100.000 bambini e 53 casi su 100.000 ospedalizzazioni, molto più bassa rispetto a quella della popolazione adulta. Uno studio di popolazione condotto da Walker et al. nel Regno Unito ha evidenziato un tasso di TEV tra i bambini affetti da cancro di 1.52 su 1000 persone/anno contro un tasso di 0.06 su 1000 persone/anno nei controlli non affetti da cancro (49). L'incidenza delle trombosi sintomatiche nella popolazione pediatrica oncologica varia da 2.1 a 16%, mentre quella delle trombosi asintomatiche è significativamente più alta (circa 40%). L'insorgenza di trombosi, inoltre, varia in base alla tipologia di cancro (50). Uno studio di coorte retrospettivo che includeva 2183 pazienti ha dimostrato che l'incidenza di eventi tromboembolici nei pazienti oncologici è aumentata dallo 0,8% tra il 1989 e il 1993 al 10,4% tra il 2009 e il 2013 e che età ≥ 12 anni, diagnosi di LLA e linfoma sono fattori di rischio indipendenti per TEV nei bambini con patologie oncologiche (51).

Incidenza di TE nella LLA

La più comune neoplasia nella popolazione pediatrica è la LLA, per la quale è stata riportata un'incidenza di trombosi che varia dal 1.1 al 36.7%. La metanalisi condotta da Caruso et al. ha riportato un rischio globale di trombosi sintomatica del 5.2% in 17 studi di LLA pediatrica. Lo studio PARKAA ha riportato un tasso di prevalenza di trombosi del 36.7%, percentuale che si riferisce a eventi per la maggior parte asintomatici e scoperti durante la sorveglianza radiologica richiesta dallo studio. L'ampia variazione di incidenza di TEV in letteratura è legata al fatto che i diversi studi hanno un disegno differente (retrospettivo o prospettico), prendono in considerazione casi sintomatici o asintomatici e diversi regimi chemioterapici (33,52,53). Tabella III.

Studio	Periodo Protocollo Disegno	Numero totale	Numero di trombosi	Incidenza/prevalenza (95% CI)
Mitchell et al (1994)	1989 - 1991 DFCI 87-001 prospettico	26	3 (4 eventi)	11.5%
Mauz-Korholz et al (2000)	1992-1998 COALL 92/97 prospettico	108	3	2.8%
Silverman et al (2001)	1991-1995 DFCI 91-01	377	N/D	< 9 anni 2% 9-18 anni 15%
Nowak-Gottle et al (2001)	1992-1998 BFM 90/95	300	35	11.6%
Nowak-Gottle et al (2003)	1994-2002 BFM 90/95 BFM 2000	280 56	29 1	10.4% 1.8%
Mitchell et al (2003a) PARKAA	1997-1999 Screening prospettico	60	22	36.7% 5% sintomatiche
Caruso et al (2006)	Metanalisi degli studi prospettici 1986-2003	1752	91	5.2%
Vora et al (2007)	UKALL 2003	1242	36	2.8%

Tabella III. Studi selezionati sull'incidenza di TE nella popolazione pediatrica affetta da LLA (modificato da Payne et al. 2007).

Incidenza di TE nella LMA

L'incidenza del TEV nella Leucemia Mieloide Acuta (LMA) varia notevolmente tra gli studi (dal 2 al 13%) (54). Le complicanze trombotiche sono solitamente presenti nel decorso iniziale della malattia, probabilmente a causa dell'effetto reologico dell'iperleucocitosi e della coagulazione intravascolare disseminata che sono comuni nelle neoplasie mieloidi acute (55).

Incidenza di TE nei linfomi

Per quanto riguarda le complicanze tromboemboliche nei bambini con linfoma, Athale et al. nel loro studio hanno riportato una prevalenza cumulativa del 12% e hanno dimostrato che la presenza di una massa mediastinica aumenta significativamente il rischio di TE. In uno studio su pazienti neutropenici ospedalizzati, Khorana et al. hanno documentato un tasso di TEV del 5% nei pazienti con linfoma non-Hodgkin (LNH) e del 3.9% nei pazienti con linfoma di Hodgkin (LH) (56). Tabella IV.

Studio e tipo di linfoma	Tipo di studio	Numero di pazienti	Numero di pazienti con TEV	Incidenza TEV (%)
Linfoma Non-Hodgkin				
Clarke <i>et al</i> (1990)	Retrospettivo	75	11	14.6%
Khorana <i>et al</i> (2006)	Retrospettivo	12977	650	5%
Athale <i>et al</i> (2008)	Retrospettivo	23*	3	13%
Khorana <i>et al</i> (2005)	Prospettico	267	4	1.5%
Ottinger <i>et al</i> (1995)	Prospettico	953	3	6.6%
Linfoma Hodgkin				
Khorana <i>et al</i> (2006)	Retrospettivo	2042	79	3.9%
Athale <i>et al</i> (2008)	Retrospettivo	52*	6	11.5%
Khorana <i>et al</i> (2005)	Prospettico	49	4	8.1%
Linfoma del SNC				
Goldschmidt <i>et al</i> (2003)	Retrospettivo	42	25	59.5%
Linfoma a grandi cellule B				
Komrokji <i>et al</i> (2006)	Retrospettivo	211	17	8%

*pazienti pediatrici

Tabella IV. Incidenza di TEV in pazienti con linfoma. (modificato da Falanga et al.2009).

Sesso

Anche l'effetto del genere sullo sviluppo di trombosi non è chiaro. La maggior parte degli studi osservano una preponderanza di pazienti maschi (52,57–60), tuttavia alcune casistiche meno recenti riportano una prevalenza femminile (61).

Sede della trombosi

La trombosi venosa è molto più prevalente rispetto a quella arteriosa nei pazienti pediatrici oncologici. In un ampio studio retrospettivo che includeva un totale di 2318 pazienti trattati per LLA, si è riscontrata una percentuale di ictus ischemici pari al 0.47% (11 eventi), tutti dovuti a trombosi dei seni venosi (59).

Per quanto riguarda le principali localizzazioni di trombosi nei bambini affetti da LLA, la metanalisi di Caruso et al. ha evidenziato una prevalenza del 53.8% dei casi a livello del sistema nervoso centrale e una del 42.8% in altri siti venosi: arti superiori (27.5%), inferiori (7.7%), embolia polmonare (1.1%), atrio destro (1.1%) (45,52). Lo studio PARKAA, che include principalmente casi asintomatici, riporta la maggior parte degli eventi (95.5%) nel sistema venoso superiore, con solo il 4.5% a livello del SNC. La presenza del catetere venoso centrale (CVC) è stata fortemente associata alla causa di trombosi venosa superiore (33). Figura 5.

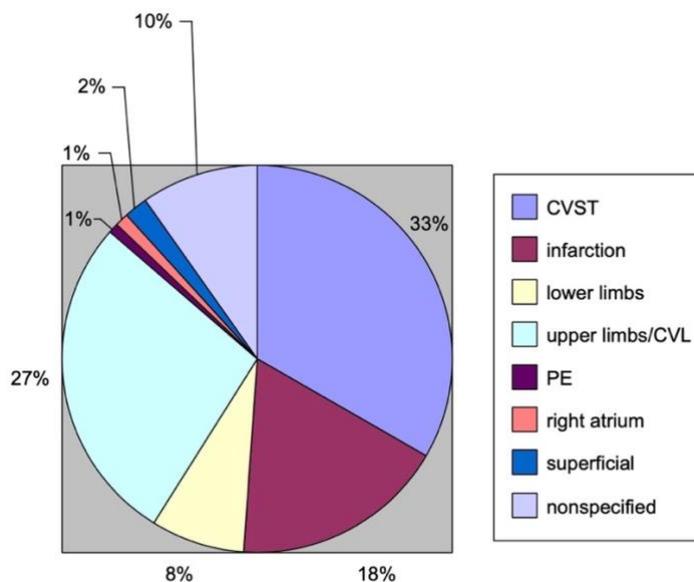


Figura 5. Distribuzione delle localizzazioni del TEV sintomatico nei bambini sottoposti a chemioterapia per LLA nella metanalisi di Caruso et al. (CVST, trombosi cerebrale dei seni venosi; CVL, catetere venoso; PE, embolia polmonare) (45).

La trombosi correlata al catetere è stata riscontrata in ogni tipologia di cancro. Il CVC viene solitamente inserito nel sistema venoso superiore/torace, che rappresenta anche la sede più comune della massa tumorale nei linfomi. Athale et al. nel loro studio hanno evidenziato che tutti pazienti con TE correlato a CVC presentavano anche una linfadenopatia mediastinica, a indicare che la presenza del tumore può peggiorare il rischio trombotico del CVC (50,56,62).

Fisiopatologia

La fisiopatologia della trombosi venosa si basa sulla triade di Virchow: alterazione del flusso sanguigno, danno endoteliale e ipercoagulabilità. Le cellule tumorali hanno un ruolo nella patogenesi della trombosi influenzando questi meccanismi. Esse infatti rilasciano sostanze procoagulanti, quali il fattore tissutale (TF) e una proteasi cisteinica chiamata cancer procoagulant (CP) e sostanze antifibrinolitiche, tra cui l'inibitore del fattore attivante il plasminogeno (PAI-1). L'interazione delle cellule tumorali con monociti e macrofagi può favorire il rilascio di citochine proinfiammatorie (IL-1 β , IL-6, TNF- α), che possono causare danno endoteliale e indurre uno stato di ipercoagulabilità. In aggiunta, la presenza di molecole adesive sulla superficie tumorale (TF) ne facilita l'adesione all'endotelio e permette l'interazione con altre cellule modificandone l'attività in senso protrombotico (25,46,47). La risposta dell'organismo verso la neoplasia, come la reazione di fase acuta, l'infiammazione, la necrosi e la produzione di fattori emodinamici, può contribuire alla coagulopatia (63).

I tumori solidi, in virtù dell'effetto massa, possono determinare compressione dei vasi e alterare la dinamica del flusso sanguigno portando a stasi. Nei bambini con linfoma, la presenza di una massa mediastinica può comprimere le vene dell'arto superiore (25,56). In uno studio che ha esaminato la trombosi nel linfoma Hodgkin pediatrico, il 92,7% dei casi riguardava pazienti con una massa mediastinica (47,62).

Fattori di rischio

La trombosi nei bambini oncologici è una condizione multifattoriale data dall'interazione di fattori di rischio individuali e correlati alla neoplasia (vedi figura 6). Molti fattori contribuiscono alla diatesi trombotica nelle neoplasie ematologiche: gli effetti del tumore stesso, la chemioterapia e le complicanze associate (ad esempio le infezioni), la presenza di cateteri venosi e difetti protrombotici acquisiti o ereditari (47,52,64).

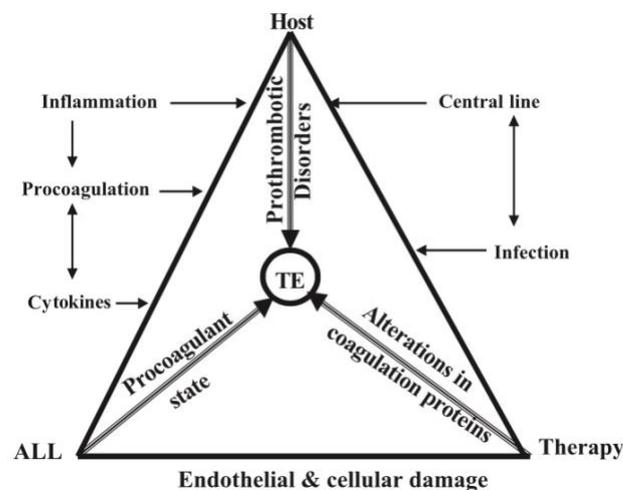


Figura 6. Diagramma schematico del modello proposto per la patogenesi del TE in associazione con la LLA pediatrica (65).

Età

Non è chiaro se l'età sia un fattore rilevante nel determinare il rischio di TEV nella fascia d'età pediatrica. Appel et al. sostengono che i bambini affetti da LLA di età compresa tra gli 11 e i 16 anni mostrano, durante il trattamento chemioterapico, un declino più considerevole dei parametri anticoagulanti e fibrinolitici, con conseguente aumento del rischio di TEV (60). I dati del Dana Faber Cancer Institute (DFCI 91-01) hanno mostrato che i bambini più grandi (9-18 anni) hanno un'incidenza maggiore di trombosi rispetto ai bambini più piccoli (15% vs 2%) (23). Athale et al. hanno riportato che l'età più avanzata è associata a un aumento del rischio di eventi trombotici nei bambini trattati con i protocolli più recenti del DFCI-ALL. Tuttavia, anche la malattia ad alto rischio (HR) è stata associata a un rischio più elevato di trombosi, quindi il rischio legato all'età può in parte riflettere

l'effetto della stratificazione del rischio di ALL e del trattamento più intensivo dato che tutti i bambini di età superiore ai 10 anni nei protocolli DFCI 95-01 e 2000-01 erano considerati HR (57,66). L'aumento del rischio di TE nei bambini più grandi è inoltre probabilmente legato alla maturazione del sistema emostatico: gli adolescenti hanno una riduzione fisiologica del potenziale fibrinolitico e una ridotta risposta allo stress da occlusione venosa (60,67).

Per quanto riguarda i linfomi, i bambini più grandi (≥ 10 anni di età) e quelli con malattia in stadio III o IV hanno una probabilità doppia di sviluppare TE rispetto ai bambini più piccoli e con malattia in stadio inferiore. È vero, però, che il linfoma stesso ha una maggiore probabilità di svilupparsi nella fascia adolescenziale e questo può spiegare la maggiore prevalenza di TE nei bambini più grandi con linfoma. In aggiunta, il sistema emostatico svolge un ruolo importante nella diffusione metastatica dei tumori solidi e la malattia metastatica è nota per aumentare il rischio di TE nella popolazione adulta. Non sorprende quindi che vi sia una maggiore prevalenza di TE nei bambini con linfoma in stadio avanzato (56).

Neoplasia

Il tumore porta allo sviluppo della trombosi attraverso effetti biochimici e meccanici. Ad alterare l'emostasi in senso protrombotico contribuiscono le molecole procoagulanti sintetizzate direttamente dalla neoplasia, le citochine infiammatorie rilasciate come risposta dell'ospite e l'interazione con le cellule endoteliali (53,64,68). Diversi studi hanno dimostrato che i blasti caratteristici della leucemia acuta, sia mieloide che linfoide, esprimono il fattore tissutale (TF), principale attivatore della coagulazione e il cancer procoagulant, più tipico delle cellule maligne (69). Questi effetti possono spiegare perché l'insorgenza della leucemia sia caratterizzata dall'incremento dell'attività della protrombina, dei valori plasmatici del fattore VIII, vFW e dell' $\alpha 2$ -macroglobulina (70).

Secondo Giordano et al. vi è una maggior prevalenza dell'immunofenotipo T nelle trombosi dei bambini affetti da LLA (71). Questo può essere dovuto al fatto che le cellule T naïve producono molte più citochine durante l'attivazione rispetto alle cellule B naïve; ciò porta ad un ambiente più infiammatorio nella T-LLA rispetto alla pB-LLA (72). In aggiunta, secondo Athale et al. la malattia ad alto rischio ha più probabilità di sviluppare trombosi (66,73).

Chemioterapia

L'importanza del trattamento nella patogenesi della trombosi nei bambini affetti da LLA è evidente dal fatto che la grande maggioranza degli eventi avviene durante la fase di Induzione, seguita da quella di Consolidamento, che includono entrambe la L-Asparaginasi come chemioterapico (45,70,74). Un recente studio ha osservato come la mediana di intervallo di tempo tra la diagnosi di LLA e quella di TE sia equivalente a 4 mesi, che corrisponde alla tempistica della terapia di intensificazione con L-Asp, confermando i dati visti in precedenza (73).

La L-Asp è un chemioterapico efficace sia nei confronti della LLA che nei linfomi non-Hodgkin (45). Si tratta di un enzima di origine batterica che converte l'aminoacido asparagina in acido aspartico e ammoniaca. La sua citotossicità è legata al fatto che determina una deplezione dell'asparagina nei linfoblasti i quali, privi dell'enzima asparagina sintetasi, sono dipendenti dalla supplementazione esogena dell'aminoacido e per questo particolarmente suscettibili al farmaco (74). A causa della sua azione di deplezione della sintesi proteica a livello epatico, la L-Asp è responsabile di una riduzione dei livelli delle proteine sia pro- che anticoagulanti, determinando un incremento sia del rischio trombotico che emorragico. La ridotta secrezione di antitrombina, proteina C e proteina S determina un'alterata inibizione della trombina e dunque una condizione di ipercoagulabilità (72,75). Caruso et al. hanno osservato un maggior tasso di trombosi nei pazienti a cui venivano somministrate dosi più basse di L-Asp per un periodo di tempo più prolungato (52).

I corticosteroidi rappresentano un importante componente del trattamento per la LLA e sono frequentemente somministrati in combinazione con la L-Asp per indurre la remissione della malattia. Gli steroidi contribuiscono a creare un ambiente protrombotico attraverso l'incremento di produzione di fattori procoagulanti (XII, XI, IX, X, VIII, VII e II) e di inibitori della fibrinolisi (PAI-1 e anti-plasmina) (27). Un confronto storico tra due popolazioni di bambini affetti da LLA, trattati rispettivamente con il protocollo BFM 90/95 e il BFM 2000, ha evidenziato un minor rischio di trombosi con il desametasone rispetto al prednisolone (76). Successivamente, lo studio di Santoro et al. ha mostrato che i pazienti randomizzati a ricevere desametasone tendevano ad avere un tasso più

elevato di TEV (2.8%) rispetto a quelli che avevano ricevuto prednisone (16%), differenza tuttavia non statisticamente significativa (60).

Quando L-Asp e corticosteroidi vengono utilizzati separatamente il rischio trombotico è relativamente basso, mentre se somministrati in combinazione esso incrementa di 8-10 volte (45,46,52). Questo dato è stato dimostrato da uno studio che ha comparato il rischio di trombosi sintomatica nei bambini tedeschi affetti da LLA trattati con il protocollo COALL 92/95 e quelli trattati con il protocollo BFM 90/95. I bambini che hanno sviluppato trombosi sono risultati rispettivamente il 2.5% nel COALL contro l'11.6% nel BFM. In entrambi i protocolli gli eventi si sono manifestati durante l'esposizione a L-Asp, ma se nel protocollo BFM la somministrazione di L-Asp si accompagnava a quella di corticosteroidi sin dalle prime fasi dell'induzione, nel caso della coorte COALL, la L-Asp era somministrata durante il consolidamento, quando i pazienti non ricevevano corticosteroidi (27,45,64). Questi risultati concordano con quelli del protocollo DFCI 87-001 in cui la L-Asp era stata somministrata durante la fase di consolidamento e l'insorgenza di TEV si era limitata a quella determinata fase (70).

Catetere

La presenza del catetere venoso centrale (CVC) rappresenta il singolo fattore più frequente di trombosi pediatrica (77,78). L'utilizzo dei CVC è progressivamente aumentato nel corso degli ultimi 30 anni nella gestione dei bambini oncologici. I bambini affetti da LLA sono più predisposti allo sviluppo di trombosi CVC-correlata rispetto ai bambini affetti da altre neoplasie (45,67). I CVC sono fondamentali per somministrare la chemioterapia, terapie di supporto intensive come agenti antimicrobici, analgesici, emoderivati, idratazione e nutrizione parenterale. Possono essere tunnellizzati (a singolo o multiplo lume) con una cuffia sottocutanea adiacente al sito d'uscita del catetere (ad esempio, Broviac Hickman o Groshong) oppure totalmente impiantati con un serbatoio sottocutaneo (Port). L'uso del CVC è gravato da complicanze meccaniche, infettive o trombotiche, che colpiscono il 14-36% dei pazienti entro due anni dal suo posizionamento (77).

La formazione di coaguli all'interno del lume o a livello dell'apice del catetere porta inevitabilmente ad una difficoltà di ottenimento del sangue. Una complicanza più severa è rappresentata dalla trombosi venosa profonda, la quale si manifesta

prevalentemente nel sistema venoso superiore (26). Figura 7. La bassa gittata cardiaca, il lento deflusso venoso dalle estremità inferiori e la compressione da parte del legamento inguinale potrebbero contribuire all'aumento dell'incidenza di trombosi associata ai cateteri femorali (78). Raramente possono verificarsi anche trombosi atriali destre, che si verificano sulla punta del catetere e richiedono un'attenzione particolare (47).

Molti fattori contribuiscono alla patogenesi della trombosi correlata al CVC: il danno della parete vasale conseguente all'inserimento, la stasi venosa/l'ostruzione del deflusso venoso come conseguenza della permanenza del catetere, l'occlusione del vaso dovuta alle dimensioni del CVC rispetto a quelle relativamente ridotte del lume delle vene degli arti superiori, il danno a carico dell'endotelio da parte del CVC stesso (26). Il rischio di trombosi CVC-correlata nei pazienti oncologici è maggiore in pazienti con una storia di infezioni CVC-correlate e occlusioni del catetere (79). Molti studi hanno riscontrato un'associazione tra CVC esterno e maggior rischio di trombosi nella popolazione pediatrica oncologica (53,80). Tuttavia, un ulteriore studio non ha evidenziato differenze statisticamente significative tra CVC esterno ed interno nel determinare lo sviluppo di trombosi (67). L'ultimo studio del Registro Italiano Trombosi Infantili (R.I.T.I.) ha confermato come nonostante la relativa facilità d'uso, il PICC (catetere centrale ad inserimento periferico) presenti un rischio sostanziale di trombosi, simile o superiore a quello dei cateteri centrali tunnellizzati (78).

Le trombosi catetere-correlate possono essere sintomatiche, con segni di infiammazione (edema, dolore, discromia), o completamente asintomatiche, rilevabili solo attraverso tecniche di imaging. Una disfunzione del CVC (incapacità di aspirare o infondere) potrebbe essere l'unico segno di trombosi, quindi deve sempre destare sospetto (77,81). La maggior parte delle trombosi CVC-correlate è asintomatica e si localizza più frequentemente nel punto di ingresso del catetere nella vena (33).

La venografia con contrasto è considerata il gold standard per la diagnosi di trombosi catetere correlata, ma si tratta di una procedura invasiva e non sempre disponibile. L'ecodoppler è un'alternativa facilmente disponibile e affidabile (82).

Una diagnosi precoce e un trattamento adeguato sono fondamentali per prevenire complicanze acute o sequele a lungo termine, come l'interruzione della terapia, la sindrome post-trombotica, l'embolia polmonare e infine la morte (81,83).

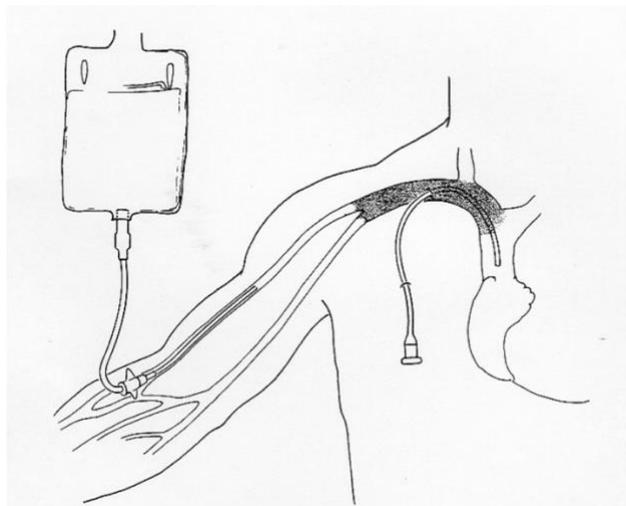


Figura 7. Illustrazione di una trombosi CVC-correlata (84).

Trombofilia ereditaria

Un fattore di rischio intrinseco al paziente è la trombofilia ereditaria, che insieme ai fattori iatrogeni può esacerbare il rischio individuale di sviluppare trombosi nei pazienti pediatrici affetti da LLA (85).

I principali difetti protrombotici includono: il fattore V Leiden (FVL), la carenza di proteine anticoagulanti naturali (proteina C, proteina S, antitrombina), la mutazione del gene della protrombina G20210A e aumentati livelli plasmatici di fattore VIII, IX e XI. Le mutazioni dell'enzima metilene tetraidrofolato reduttasi MTHFR C677T sono più comuni e determinano solo un lieve aumento del rischio di TEV nella popolazione generale. Aumentati livelli di omocisteina e Lipoproteina (a) sono inoltre fattori di rischio di TE riconosciuti successivamente (86).

I dati relativi alla rilevanza della trombofilia ereditaria nel determinare un aumentato rischio di sviluppare TE sono controversi. Uno studio multicentrico BFM 90/95 ha rilevato un rischio di TEV sintomatico maggiore nei bambini con trombofilia ereditaria (46.5% vs 2.2%). Lo stesso studio ha dimostrato che il rischio era significativamente più elevato nei pazienti con difetti multipli e in presenza del fattore V Leiden (58). Diversamente, Mitchell et al. nello studio PARKAA non hanno trovato alcuna correlazione tra lo sviluppo di trombosi e la presenza fattore

V Leiden o mutazione del gene della protrombina G20210A (33). Successivamente, la metanalisi di Caruso et al. ha invece evidenziato un incremento di circa 8 volte del rischio di trombosi in presenza di trombofilia ereditaria (52).

Tutti i difetti protrombotici analizzati in seguito nella metanalisi di Young et al. hanno mostrato un'associazione significativa con la prima insorgenza di TEV pediatrico e in particolare questa è risultata più marcata per i tratti genetici combinati e le carenze di antitrombina, proteina C e proteina S. Il TEV ricorrente si è invece dimostrato più fortemente associato con le carenze di proteina C, proteina S e antitrombina, la presenza della mutazione del gene della protrombina G20210A e di multipli disordini trombofilici (87) (vedi Tabella V).

L'ampia variabilità con cui in letteratura è stato definito il ruolo di questi disordini ereditari trombofilici nella patogenesi delle complicanze tromboemboliche può essere attribuita alle differenze nel disegno dello studio, ai test utilizzati, ai diversi regimi di trattamento e, soprattutto, alle caratteristiche demografiche della popolazione presa in considerazione (88).

Trait genetico	Odds Ratio (95% CI) p-value	
	Primo episodio VTE	VTE ricorrente
Protrombina 20210 (eterozigosi)	2.63 (1.61 - 4.29) < 0.0001	2.15 (1.12 - 4.10) 0.020
Fattore V Leiden (eterozigosi)	3.56 (2.57 - 4.93) < 0.0001	0.77 (0.40 - 1.45) 0.42
Carenza di proteina S	5.77 (3.07 - 10.85) < 0.0001	3.76 (1.76 - 8.04) 0.0006
Carenza di proteina C	7.75 (4.48 - 13.38) < 0.0001	2.53 (1.3 - 4.92) 0.006
Carenza di antitrombina	8.73 (3.12 - 24.42) < 0.0001	3.37 (1.57 - 7.20) 0.001
Lipoproteina > 30 mg/dl	4.50 (3.19 - 6.35) < 0.001	0.84 (0.50 - 1.40) 0.50
≥ 2 trait genetici	8.89 (3.43 - 23.06) < 0.0001	4.91 (3.12 - 7.74) 0.0001

Tabella V. Associazione tra trombofilia ereditaria e TEV nei bambini basata sui dati di Young et al. 2008 (88).

In un recente studio israeliano la trombofilia era l'unico fattore di rischio indipendente per la trombosi nei bambini affetti da LLA (89).

Sebbene il ruolo della trombofilia nella patogenesi del TEV correlato al cancro sia ancora in discussione, si raccomanda di valutare la presenza dei difetti trombofilici, soprattutto tra i bambini con trombosi ricorrenti, al fine di valutare una terapia anticoagulante prolungata ed eventualmente una profilassi in caso di neoplasie ad alto rischio all'interno di specifici gruppi etnici (47,89).

Infezioni

Le infezioni e la sepsi sono una complicanza ben nota nei bambini affetti da leucemia sottoposti a chemioterapia intensiva. Inoltre, la presenza di cateteri venosi centrali aumenta il rischio di infezione. Vi è una dimostrata interazione tra il sistema emostatico e le vie infiammatorie: diverse proteine della coagulazione, tra cui l'antitrombina, la proteina C, la proteina S, il fattore tissutale e la trombina, agiscono come mediatori nelle reazioni infiammatorie indotte dalla sepsi. Pertanto, è probabile che gli episodi infettivi aumentino il rischio di TE nei pazienti in terapia per cancro (25,74). Alcuni organismi Gram positivi, inoltre, rilasciano mucopolisaccaridi, che a loro volta possono avviare la trombogenesi attraverso l'attivazione delle piastrine e della serinproteasi. In aggiunta, le citochine pro-infiammatorie rilasciate da alcuni organismi Gram negativi possono portare ad un danno endoteliale (25).

Obesità

L'obesità è un altro fattore di rischio spesso associato a trombosi. Nei soggetti obesi sono state osservate diverse alterazioni emostatiche che possono spiegare questa correlazione: l'aumento del PAI-1, che determina un'inibizione della fibrinolisi, la maggior produzione del fattore di von Willebrand (vWF), accompagnata da una resistenza alla proteina C e livelli più elevati di fibrinogeno, fattori VII e VIII, che nel complesso aumentano l'aggregabilità piastrinica (53). Un'altra teoria sulla fisiopatologia della trombosi nei soggetti obesi si basa sul fatto che l'obesità centrale è associata ad un'aumentata pressione intra-addominale e quindi ad una riduzione del ritorno venoso nelle estremità inferiori, che favorisce la stasi venosa (90). Uno studio retrospettivo su bambini trattati per LLA tra il 2008 e il 2016 ha dimostrato come l'obesità alla diagnosi abbia conferito un rischio più che triplicato

di TEV sintomatico. L'aumento del rischio di TEV associato all'obesità durante la terapia antitumorale osservato è risultato quasi doppio rispetto a quello riportato nelle popolazioni obese non oncologiche. Sono necessarie ulteriori indagini per definire ulteriormente il contributo dell'adiposità all'ipercoagulabilità durante la terapia antitumorale. Una maggiore precisione nella determinazione del rischio di TEV nei pazienti obesi potrebbe favorire l'eventuale considerazione di una prevenzione trombotica mirata in questo gruppo a rischio (91). Poiché l'obesità continua ad aumentare nella popolazione pediatrica, essa dovrà essere presa maggiormente in considerazione tra i fattori di rischio di trombosi (53).

Ipertrigliceridemia

La somministrazione combinata di L-Asp e steroidi è responsabile di cambiamenti nei livelli di lipidi nel siero. I corticosteroidi aumentano la sintesi dei trigliceridi, inducono la mobilizzazione degli acidi grassi e incrementano l'attività della lipoproteina lipasi, enzima necessario all'idrolisi dei trigliceridi; al contrario, la L-Asp inibisce la lipoproteina lipasi. Quando steroidi e L-Asp vengono somministrati insieme, i trigliceridi vengono rapidamente formati ma non efficientemente eliminati. Dati sulla prevalenza dell'ipertrigliceridemia grave nei bambini trattati per LLA sono molto limitati, anche se questa sembra essere molto maggiore rispetto alla popolazione pediatrica sana. Lo studio condotto da Bhojwani et al. riporta la più ampia coorte di bambini con LLA sottoposti a screening per dislipidemia durante la terapia. I bambini più grandi e quelli sottoposti ad una chemioterapia più intensa (gruppo ad alto rischio) sono risultati più a rischio di sviluppare ipertrigliceridemia grave.

Sebbene l'associazione dell'ipertrigliceridemia con la malattia coronarica sia ben nota, la sua associazione con il TEV non è chiara e potrebbe essere correlata ad alterazioni del sistema fibrinolitico. In questo studio circa il 20% dei pazienti con ipertrigliceridemia grave ha sviluppato TEV, risultato che necessita ulteriore approfondimento (92).

Gruppo sanguigno

Recentemente Athale et al. hanno dimostrato che pazienti con gruppo sanguigno non 0 hanno un tasso significativamente più alto di TE. La posizione degli antigeni AB0 sul fattore di von Willebrand (vWF) è vicina al dominio di legame dell'ADAMTS13, il che riduce il clivaggio del vWF: questo probabilmente determina una maggiore produzione di grandi multimeri di vWF. Inoltre, a causa della ridotta clearance, i pazienti con gruppo sanguigno non 0 hanno un'emivita del vWF 2.5 volte più lunga rispetto ai soggetti con gruppo sanguigno 0. La combinazione di questi elementi può predisporre gli individui con gruppo sanguigno non 0 a sviluppare TE (73).

Presentazione clinica e diagnosi

La diagnosi di trombosi in pazienti affetti da cancro è complessa dal momento che possono essere presenti altre comorbidità. I sintomi, infatti, potrebbero essere confusi con quelli della neoplasia stessa oppure essere attribuiti alla terapia. L'interpretazione dei parametri di laboratorio, inoltre, potrebbe essere inficiata dall'effetto delle terapie, da altre complicanze come le infezioni o dalla presenza di disfunzione epatica. Di conseguenza, è fondamentale prendere in considerazione questa complicanza e sospettarla; la diagnosi richiederà poi la conferma di esami strumentali (25).

Tromboembolismo venoso cerebrale (TVC)

I bambini affetti da trombosi cerebrale possono presentare un ampio spettro di sintomi e segni, dalla cefalea isolata al coma. Le manifestazioni cliniche dipendono dall'età del paziente, dall'eziologia e dalla localizzazione ed estensione della trombosi. I sintomi più comuni nei bambini con trombosi cerebrale includono cefalea, alterazione dello stato di coscienza, deficit focali (come emiparesi e paralisi dei nervi cranici) e crisi epilettiche (93,94). Altri sintomi meno comunemente riportati sono nausea/vomito, vertigini, confusione e dolore al collo. Tra i segni rilevabili all'esame può essere rappresentativo il papilledema (95).

Vi sono alcune differenze per quanto riguarda il tipo di esame strumentale utilizzato alla diagnosi nel registro italiano R.I.T.I. rispetto ad altri registri. Similmente a ciò che è riportato in letteratura, le tecniche di imaging più frequentemente eseguite sono state l'RM cerebrale con e senza mezzo di contrasto e l'angio-RM. Tuttavia, strumenti come l'angiografia cerebrale sono stati utilizzati in una minoranza di casi, mentre la angio-RM venosa è stata impiegata maggiormente nel registro italiano rispetto ad altri. In effetti, quest'ultimo esame radiologico è diventato strumento diagnostico cruciale soltanto recentemente, in ragione della sua capacità di rilevare trombosi anche quanto TC e RM falliscono (96). La figura 8 mostra le fasi di una trombosi cerebrale alla RM in un bambino affetto da LLA.

Per quanto riguarda la localizzazione, il sistema venoso superficiale è più frequentemente coinvolto rispetto al sistema venoso profondo e in particolare vengono interessati più comunemente i seni trasversi, il seno sagittale superiore, i seni sigmoidei e il seno retto. Fino a due terzi dei bambini con diagnosi di tromboembolismo venoso centrale potrebbe presentare lesioni parenchimali come infarti venosi ed emorragie (97).

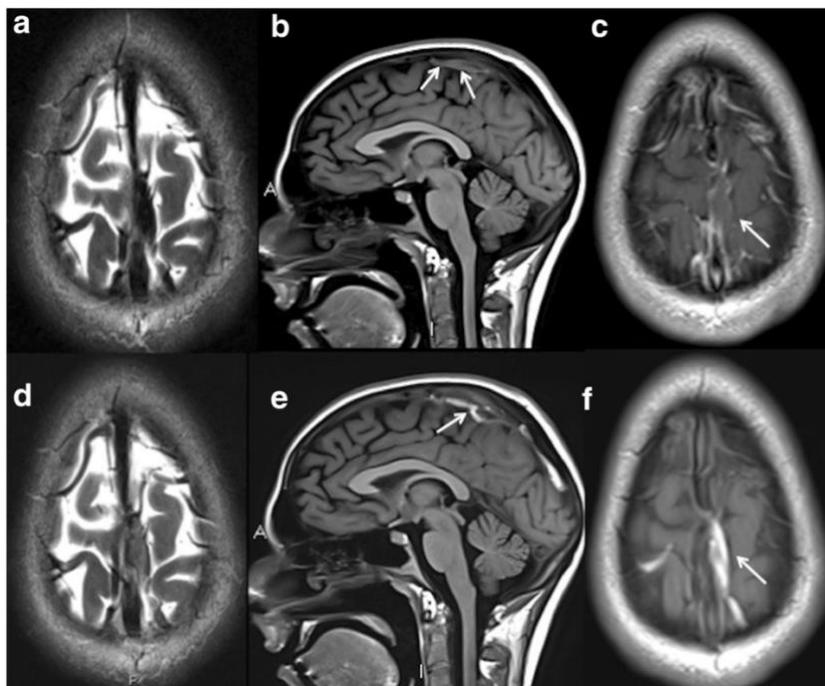


Figura 8. Trombosi del seno sagittale superiore ed emorragia parenchimale in un ragazzo di 15 anni affetto da LLA. Fasi del trombo alla RM:
a-c Fase acuta, **d-f** Fase subacuta (98).

Trombosi venosa sistemica (TVS)

Tra i bambini affetti da LLA della popolazione analizzata da Santoro et al., tutti coloro che hanno sviluppato TVP hanno manifestato i classici segni e sintomi, ovvero dolore e gonfiore nelle aree coinvolte (60). Diversamente, nella più ampia coorte di Giordano et al., la diagnosi di TVP è stata incidentale nel 15% dei casi, di cui oltre la metà era correlata a catetere. L'importanza clinica della TVP asintomatica è ancora oggetto di dibattito (99). Il 77% delle trombosi CVC-correlate rilevate nell'ultimo studio del registro italiano R.I.T.I. erano sintomatiche, mentre per il restante 23% completamente asintomatiche, riscontrate accidentalmente nel corso di indagini radiologiche effettuate a causa della patologia di base. I sintomi più comunemente rilevati erano edema, dolore, cianosi/discromia. In misura minore si sono manifestate con vena collaterale superficiale, sindrome della vena cava e malfunzionamento del CVC.

La diagnosi di TEV non cardiaco è stata effettuata più frequentemente con ecodoppler venoso, esame affidabile, non invasivo e facilmente disponibile, mentre il TEV intracardiaco è stato diagnosticato attraverso ecocardiografia. Nonostante in letteratura la venografia rappresenti il gold standard, si tratta di un esame più rischioso in quanto prevede l'infusione di mezzo di contrasto ed espone a radiazioni; per questo motivo negli ultimi anni è stata ampiamente sostituita dall'ecodoppler (78).

Tra i casi di trombosi venosa sistemica della coorte di Santoro et al., due terzi hanno coinvolto gli arti superiori e un terzo gli arti inferiori (60). Al contrario, Giordano et al. hanno riportato il 65% dei casi a livello del sistema venoso inferiore, il 34% a livello del sistema venoso superiore e l'1% nel sistema venoso splancnico (99). Analogamente, nel campione di Lasagni et al. che, come quello di Giordano et al., non include esclusivamente bambini oncologici, il compartimento venoso più frequentemente interessato è stato quello delle estremità inferiori, in particolare le vene femorali (78).

Profilassi

Il tromboembolismo è una complicanza ben riconosciuta del cancro pediatrico, che può portare ad un aumento di mortalità e morbilità. La tromboprofilassi, di conseguenza, andrebbe presa in considerazione nei gruppi ad alto rischio. Tuttavia, esistono opinioni contrastanti sulla sua efficacia e sicurezza nei bambini tali da non giustificarne ancora l'uso di routine (64,100).

Tromboprofilassi nei bambini con LLA

È noto che i livelli plasmatici di antitrombina (AT) diminuiscono durante la somministrazione di L-Asp. Per correggere questo deficit temporaneo vengono utilizzati plasma fresco congelato (PFC) e supplementazione di AT. Molti studi, però, hanno dimostrato l'inefficacia del PFC nell'incrementare il valore di AT (53). La supplementazione di AT può invece correggere l'ipercoagulabilità data dalla L-Asp, ma non è chiaro se abbia dei benefici dal punto di vista clinico. Hongo et al., per esempio, non sono stati in grado di dimostrare un vantaggio in termini di diminuzione di eventi trombotici in seguito alla supplementazione di AT nei bambini affetti da LLA e sottoposti a terapia con L-Asp (64). Diversamente, lo studio PARKAA (Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with ALL treated with Asparaginase), studio randomizzato e multicentrico di fase II, ha evidenziato come la profilassi con concentrato di AT mostri una tendenza all'efficacia (in termini di riduzione degli eventi trombotici) e alla sicurezza (indicato dall'assenza di eventi emorragici) (32).

Oltre alla supplementazione di AT, nella profilassi primaria per TE nei pazienti pediatrici oncologici sottoposti ad L-Asp gioca un ruolo fondamentale l'eparina a basso peso molecolare (LMWH). Elhasid et al. hanno studiato l'utilizzo di enoxaparina profilattica durante terapia con L-Asp in una coorte non randomizzata di 41 bambini affetti da LLA. Rispetto ad un controllo storico, non si sono verificate complicanze trombotiche o emorragiche. Questo studio ha posto le basi per i futuri trial randomizzati sull'utilizzo di LMWH in prevenzione di eventi trombotici durante la terapia per LLA (101).

Meister et al. hanno condotto uno studio prospettico confrontando la profilassi combinata LMWH e AT rispetto alla sola AT (controllo storico) in bambini affetti da LLA trattati secondo i protocolli BFM 95/2000. Dalla rilevazione è emerso che nel 12.7% dei bambini sottoposti a profilassi con AT si è sviluppato TEV sintomatico, mentre nessun evento è insorto nel braccio della profilassi combinata (102).

Esiste una relazione diretta tra l'effetto anticoagulante dell'LMWH e la concentrazione di AT. Legandosi all'AT, l'eparina ne modifica la conformazione aumentando la sua capacità di inattivare enzimi della coagulazione, in particolare la trombina. È noto che la L-Asp riduca i livelli circolanti di AT e, di conseguenza, si prevede possa influire sull'efficacia della terapia a base di eparina (103).

Anche per quanto riguarda il CVC, altro importante fattore di rischio di trombosi pediatrica, vari studi hanno esplorato il ruolo della profilassi anticoagulante. In particolare, lo studio PROTEKT (PROphylaxis of ThromboEmbolism in Kids Trial) ha randomizzato 186 bambini con CVC a ricevere LMWH (precisamente la reviparina) o lo standard di cura. Purtroppo, lo studio è stato chiuso prematuramente a causa della sua lentezza e non è riuscito a dimostrare alcuna differenza nell'incidenza di trombosi correlata a catetere tra i due bracci (104). Qualche anno più tardi, uno studio randomizzato e controllato con placebo su bambini con nuova diagnosi di cancro e CVC collocato in vena giugulare, ha analizzato l'utilizzo del warfarin a basso dosaggio con obiettivo di INR tra 1.3 e 1.9 in prevenzione della trombosi catetere correlata. Anche in questo caso, Ruud et al. non hanno riscontrato differenze tra i due bracci dello studio, che si è concluso in anticipo (105).

Nel 2018 è stato pubblicato lo studio THROMBOTECT, un ampio studio prospettico randomizzato che ha confrontato efficacia e sicurezza della profilassi antitrombotica nei bambini trattati per LLA secondo i protocolli ALL-BFM 2000 e AIEOP-BFM 2009. I 949 bambini arruolati sono stati randomizzati a ricevere uno dei due trattamenti tromboprolattici sperimentali, ovvero l'enoaparina (LMWH) o l'AT adattata all'attività, oppure al braccio di controllo, cioè eparina non frazionata (UFH) a basso dosaggio. I pazienti randomizzati al braccio di sostituzione dell'AT hanno ricevuto supplementazione di AT quando l'attività era inferiore all'80%. I pazienti assegnati a ricevere UFH hanno mostrato un'incidenza

di TE decisamente maggiore (8%) rispetto a quelli sottoposti a enoxaparina (3.5%) o AT (1.9%). Secondo Greiner et al., entrambi gli interventi (enoxaparina e sostituzione dell'AT adattata all'attività) sono stati ugualmente efficaci (106).

Sebbene sia stata dimostrata l'efficacia della sostituzione di AT come mezzo di prevenzione del TE, i risultati hanno mostrato come questo tipo di intervento abbia avuto un impatto negativo sugli esiti dei pazienti, in quanto è stata riscontrata una maggiore incidenza di recidive di malattia nel gruppo trattato con AT, che ha determinato una sopravvivenza libera a 5 anni pari all'81%, inferiore a quella degli altri due bracci (entrambi intorno all'86%). Questo fenomeno potrebbe essere dovuto al fatto che i prodotti derivati dal plasma possono contenere asparagina e, di conseguenza, compromettere l'efficacia della L-Asp utilizzata nei protocolli chemioterapici. Ulteriore preoccupazione riguarda l'onere finanziario che comporta la sostituzione di AT come profilassi. Tuttavia, vi sono una serie di preoccupazioni anche riguardo l'uso di LMWH in questo contesto. Le iniezioni cutanee giornaliere per somministrare questo tipo di tromboprolifassi, infatti, non sono facilmente accettate dai pazienti, soprattutto da quelli pediatrici e ciò è dimostrato dal fatto che sul 39% dei pazienti che hanno rifiutato il trattamento profilattico, il 33% apparteneva al braccio dell'enoxaparina (107). L'uso prolungato di LMWH è inoltre associato alla riduzione della densità minerale ossea. Considerando che i pazienti affetti da LLA sono a maggior rischio di osteopenia/osteoporosi sia a causa della malattia stessa, che della prolungata somministrazione di corticosteroidi, qualsiasi ulteriore agente che vada a impattare negativamente sulla densità minerale ossea dovrebbe essere evitato (108). In aggiunta, prima di iniziare la profilassi con LMWH, dovrebbe essere preso in considerazione il rischio di complicanze emorragiche maggiori. La trombocitopenia caratteristica della LLA rappresenta una sfida per la tromboprolifassi, soprattutto nelle prime fasi di trattamento, in cui è più marcata la coagulopatia. Nello studio THROMBOTECT la profilassi antitrombotica è stata somministrata soprattutto durante la fase di induzione e la percentuale di eventi emorragici è stata del 0.9%, senza alcuna differenza tra i bracci di trattamento (106).

Nel 2019 è stata condotta una revisione sistematica della letteratura ed una metanalisi sull'efficacia e sicurezza della tromboprolifassi primaria nei bambini e adolescenti affetti da cancro. Sono stati inclusi sei studi con un totale di 1318

pazienti, nei quali si è studiato il ruolo di trattamenti profilattici quali LMWH, AT e antagonisti della vitamina K (VKA) rispetto allo standard of care (SOC). La LMWH è stata l'unico agente associato a tassi inferiore di TE rispetto al SOC. Non sono state riscontrate invece differenze statisticamente significative tra supplementazione di AT, VKA e SOC o tra le diverse modalità di prevenzione. Inoltre, non è stata rilevata alcuna differenza nelle probabilità di sanguinamento maggiore tra le diverse opzioni di trattamento (100).

L'utilizzo di VKA come il warfarin nella popolazione pediatrica è particolarmente complesso per via delle patologie concomitanti, delle variazioni di peso e dieta e dei livelli fisiologicamente bassi di fattori vitamina K dipendenti. Sono poi gravati da una difficoltà di monitoraggio non solo perché necessitano di un accesso venoso, ma anche per la presenza di interferenze farmacologiche. Infine, la lunga emivita del warfarin aumenta il rischio di sanguinamento nei bambini predisposti ad andare incontro a trombocitopenia (100,109).

Risulta evidente che sia necessario un approccio alternativo alla profilassi e alla gestione del TEV pediatrico. Gli anticoagulanti orali diretti (DOAC), in particolare gli inibitori del fattore X, rappresentano potenzialmente un'alternativa valida grazie alla loro via di somministrazione più agevole, alla breve emivita e al fatto che la loro modalità d'azione non è compromessa dalla riduzione dei livelli di AT dovuta alla L-Asp (107,109). Gli studi più recenti sui DOAC hanno dimostrato la non inferiorità per quanto riguarda efficacia e sicurezza rispetto all'anticoagulazione standard (LMWH) nella trombosi pediatrica (53).

Lo studio PREVAPIX-ALL è il primo studio multicentrico e randomizzato a valutare efficacia e sicurezza della tromboprofilassi utilizzando un DOAC (in particolare apixaban) rispetto al SOC (nessuna anticoagulazione) durante la somministrazione di L-Asp in bambini affetti da LLA o linfoma linfoblastico. Diversamente dallo studio THROMBOTECT, il PREVAPIX-ALL ha incluso anche gli episodi di trombosi asintomatica. Lo studio ha recentemente completato l'arruolamento e l'analisi dei dati è in corso (109). I risultati di quest'ultimo studio faranno luce sul vantaggio della prevenzione della trombosi con l'uso di DOAC e studi futuri saranno necessari per fornire ulteriori prove dell'efficacia e sicurezza dell'uso di questi agenti in pazienti oncologici pediatrici ad alto rischio di TEV (53).

Nella tabella VI si riassume il panorama dei principali studi che hanno esplorato il ruolo della profilassi nella prevenzione di complicanze tromboemboliche in pazienti pediatriche affetti da LLA (53).

Studio	Popolazione	Intervento profilattico	Outcome
Hongo et al. (2002)	JACLS ALL-97 (n=127) Studio retrospettivo multicentrico	38% ha ricevuto concentrato di AT III, una percentuale dei quali ha ricevuto PFC	Complicanze: 1 ICH, 1 ictus Nessuna differenza tra AT e PFC nella prevenzione del TEV
Mitchell et al. (2003)	studio randomizzato e multicentrico di fase II	Supplementazione di AT se <30 U/L	TEV in 7/25 pazienti trattati con AT vs. 22/60 senza AT
Ruud et al. (2006)	Studio randomizzato e controllato per la prevenzione del TEV associato a CVC	Warfarin a basso dosaggio con un obiettivo INR di 1.3-1.9 in 31 pazienti vs. standard di cura in 42	TEV-CVC non è risultato diverso tra braccio warfarin (48%) e braccio di controllo (36%)
Meister et al. (2008)	Studio prospettico che combina LMWH e AT vs. sola AT (controllo non contemporaneo) BFM 95/2000(n=112)	AT > 50% con terapia sostitutiva durante la terapia di induzione	TEV nel 12,7% dei bambini con profilassi AT (n = 71) vs. nessun TEV con profilassi LMWH/AT (n = 41, p < 0,05).
Sibai et al. (2020)	Studio retrospettivo di coorte in un unico centro. 125 bambini (2011-2017) rispetto a un controllo storico (n = 99)	Profilassi farmacologica con LMWH	17 TEV (13.6%) nel gruppo di profilassi LMWH vs. 27 TEV (27.3%) nel braccio di controllo (OR 0.42)
Greiner et al. (2019)	THROMBOTECT Studio prospettico randomizzato AIEOP-BFM ALL 2000 e 2009 (n=949)	Randomizzazione a UFH a basso dosaggio, LMWH (enoxaparina) o AT durante induzione	TEV in 42 pz (4.4%) Rischio più alto con UFH (8%) rispetto a LMWH (3.5%) e AT (1.9%)
O'Brien et al. (2019)	PREVAPIX-ALL Studio randomizzato e controllato in aperto che utilizza un DOAC (apixaban) durante la terapia di induzione	Apixaban a dosi profilattiche rispetto allo standard di cura	Randomizzazione completata, in attesa della pubblicazione dei risultati

Tabella VI. Sintesi della prevenzione del TEV nell'ALL pediatrico e in altre diagnosi oncologiche. PFC: plasma fresco congelato, ICH: emorragia intracranica. (modificato da Rodriguez et al. 2022).

Trombofilia e profilassi

Di notevole rilevanza nell'ambito della profilassi anticoagulante nei pazienti pediatrici affetti da LLA e portatori di trombofilia ereditaria è stato lo studio di Mitchell et al. pubblicato nel 2010. Essi hanno sviluppato un modello predittivo per l'identificazione del rischio di TE nei bambini con LLA in modo tale da valutare l'uso di enoxaparina per la profilassi (Tabella VII).

I fattori di rischio considerati erano: il trattamento con L-Asp in combinazione a steroidi, la presenza di un catetere venoso e la presenza di difetti genetici trombofilici. I risultati dello studio multicentrico hanno evidenziato che i bambini classificati ad alto rischio (HR), ovvero con un punteggio superiore a 2.5, senza profilassi con enoxaparina mostravano una sopravvivenza libera da trombosi molto minore rispetto ai bambini trattati preventivamente con enoxaparina. Il numero necessario di pazienti da trattare (NNT) per prevenire un singolo TEV sintomatico nei bambini con punteggio HR è stato di 2, valore che suggerisce un significativo beneficio della tromboprofilassi in tutti i pazienti ad alto rischio (110).

	BFM	COALL	FRALLE
Sistema di punteggio A			
Induzione a partire dal giorno +8			
DEXA o PDN 40 mg/m ²	+ (0.5 punti)	-	+ (0.5 punti)
PDN 60 mg/m ² e ASP 5-6000 UI/m ²	++ (1 punto)		
Punteggio massimo	1.0	0	0.5
Sistema di punteggio B			
CVC, Broviac/Port	+ (1 punto)	+ (1 punto)	+ (1 punto)
Genetica			
Trombofilia (n = 1)	+ (1 punto)	+ (1 punto)	+ (1 punto)
Trombofilia (> 1)	+ (2 punti)	+ (2 punti)	+ (2 punti)
Punteggio massimo	3	3	3
Punteggio totale, minimo	0.5	0	0.5
Sistemi di punteggio A e B, punteggio massimo	4.0	3.0	3.5

BFM: Berlin-Frankfurt-Munster, COALL: Cooperative Acute Lymphoblastic Leukemia, FRALLE: French Acute Lymphoblastic Leukemia, ASP: Escherichia coli asparaginasi, CVC: catetere venoso centrale, DEXA: desametasone, PDN: prednisone

Tabella VII. Sistema di punteggio per bambini affetti da LLA in base ai diversi protocolli di trattamento (110).

Uno studio più recente condotto in una coorte di bambini affetti da LLA in Israele ha confermato che il trattamento profilattico con LMWH riduce l'incidenza di TEV sintomatico e previene il TEV grave nei bambini portatori del fattore V Leiden o della mutazione del gene della protrombina G20210A (89).

Anche il protocollo spagnolo SEHOP-PETHEMA ALL-2013 ha studiato la profilassi primaria con LMWH nei pazienti con trombofilia ereditaria durante trattamento con L-Asp, evidenziando che in questi pazienti il rischio di TEV non viene eliminato, ma ridotto sensibilmente.

Una migliore comprensione dei fattori di rischio di trombosi nella popolazione pediatrica affetta da cancro è utile per determinare il ruolo della tromboprofilassi e ulteriori studi sono necessari in questo contesto (111).

Trattamento

Nonostante non esistano studi evidence-based sul trattamento della trombosi nei bambini con neoplasie ematologiche, l'eparina a basso peso molecolare (LMWH) è l'anticoagulante di scelta più comunemente usato. Negli adulti, invece, l'efficacia della LMWH nel tromboembolismo associato a cancro è stata ampiamente dimostrata (112).

Nel 2012 l'American College of Chest Physicians ha pubblicato le linee guida sul trattamento della trombosi nei bambini e ha raccomandato tre mesi di terapia anticoagulante per la TVP associata a cancro, seguiti da una terapia prolungata per altri sei mesi nel caso in cui il coagulo non sia risolto. La profilassi va continuata finché sussiste uno dei seguenti fattori di rischio: cancro attivo, CVC e chemioterapia. Nel caso di una trombosi CVC-correlata, è raccomandato mantenere il catetere in situ, se ancora funzionante, per continuare la chemioterapia (113). La dose di LMWH dovrebbe essere somministrata inizialmente due volte al giorno e i livelli raccomandati di anti-fattore Xa quattro ore dopo la somministrazione dovrebbero essere pari a 0.5-1 UI/ml; in seguito, sono necessarie dosi profilattiche per mantenere bassi i livelli di fattore Xa, soprattutto durante riesposizione ad L-Asp (45).

I pazienti affetti da leucemia sono soggetti a trombocitopenia a causa della neoplasia stessa e della chemioterapia, fattori che li rendono più suscettibili al sanguinamento. Per questo motivo, oltre alla trasfusione di piastrine, l'interruzione

dell'anticoagulazione deve essere presa in considerazione quando la conta piastrinica risulta inferiore alle 20.000 unità. In aggiunta, se è necessario effettuare interventi o procedure invasive come la rachicentesi, è raccomandato interrompere la terapia con LMWH 12-24 ore prima (64).

Esistono diversi trattamenti anticoagulanti alternativi. Un esempio è l'eparina non frazionata (UFH), i cui limiti sono la somministrazione continua e la maggior tendenza al sanguinamento. Un altro è il warfarin, antagonista della vitamina K (VKA) a somministrazione orale con indice terapeutico ristretto e soggetto a interazioni farmacologiche e fluttuazioni dietetiche che ne rendono difficile l'uso e il monitoraggio nei pazienti oncologici pediatrici (112).

I precedenti interventi terapeutici citati (LMWH, UFH e VKA) rappresentano lo standard di cura del trattamento del TEV nei bambini. Questi anticoagulanti, tuttavia, presentano diversi svantaggi: necessità di ricorrere alla somministrazione parenterale (LMWH e UFH), farmacocinetica variabile (UFH e VKA), dipendenza dai livelli di antitrombina (UFH e VKA), necessità di frequente monitoraggio di laboratorio (LMWH, UFH e VKA), rischio di trombocitopenia indotta da eparina (UFH e LMWH) e interazioni alimentari e farmacologiche (VKA) (114).

Recentemente sono stati pubblicati diversi studi clinici che hanno esaminato l'efficacia e sicurezza degli anticoagulanti orali diretti (DOAC) nel contesto del tromboembolismo venoso nei pazienti pediatrici, dimostrando la loro non inferiorità rispetto alle LMWH (53).

Lo studio EINSTEIN-Jr di fase III è il primo studio completato che prevede l'uso di un DOAC nel trattamento della trombosi pediatrica. I risultati mostrano come il rivaroxaban, la cui dose viene aggiustata al peso corporeo, ha comportato un basso rischio di TE ricorrente e di sanguinamento, simile a quello della terapia anticoagulante standard (115).

Il dabigatran etexilato, inibitore diretto della trombina, è risultato efficace per il trattamento e la prevenzione secondaria del tromboembolismo venoso negli adulti, per i quali è approvato. Questo farmaco potrebbe rappresentare un'alternativa valida anche nei bambini perché supera le limitazioni degli anticoagulanti standard, in quanto è indipendente dalla concentrazione di antitrombina, ha un effetto immediato e interazioni minime con farmaci o alimenti. Lo studio DIVERSITY di fase 2b/3 sul dabigatran nei bambini ha dimostrato una sicurezza, farmacocinetica e farmacodinamica simili a quelle osservate negli adulti. L'algoritmo di dosaggio

del dabigatran, aggiustato per età e peso, si è dimostrato adeguato e il farmaco è risultato non inferiore allo standard di cura nei bambini che hanno completato i tre mesi di trattamento. I tassi di incidenza di eventi emorragici, così come di eventi avversi, sono stati analoghi allo standard di cura e simili a quelli riportati nei pazienti adulti (114).

L'introduzione dei DOAC ha aperto opportunità di ricerca per lo studio di questi agenti nel trattamento e nella prevenzione secondaria del tromboembolismo nella popolazione pediatrica oncologica.

Outcome

Il tromboembolismo può portare a complicazioni come la sindrome post-trombotica, sequele neurologiche, ipertensione polmonare cronica e sospensione o ritardo della somministrazione della chemioterapia.

Esistono dati contrastanti riguardo all'eventualità che lo sviluppo di trombosi abbia un impatto negativo sulla sopravvivenza nei bambini. La tromboembolia potrebbe influenzare la sopravvivenza sia direttamente, nel caso in cui essa stessa risulti fatale oppure a causa di complicanze emorragiche dovute all'anticoagulazione, sia indirettamente, in seguito a modifiche alla chemioterapia programmata (116). Uno studio di coorte retrospettivo basato sul "Cancer in Young People Canada Registry" ha osservato una sopravvivenza globale (OS) e una sopravvivenza libera da eventi (EFS) peggiori nei pazienti che hanno sviluppato trombosi rispetto ai pazienti senza TE. OS e EFS sono poi risultate significativamente inferiori nei bambini con LLA ad alto rischio (53,116).

Come detto precedentemente, l'omissione della somministrazione di L-Asp può impattare negativamente sulla sopravvivenza nei bambini affetti da leucemia. Sia i risultati del DFCI che quelli del gruppo Children's Oncology hanno riportato una sopravvivenza libera da eventi inferiore per i pazienti con LLA che non avevano ricevuto le dosi di L-Asparaginasi prescritte (23,53).

La sindrome post-trombotica (PTS) è una complicanza cronica conseguente a trombosi venosa profonda caratterizzata da segni e sintomi di insufficienza venosa, quali edema degli arti, dolore, discromie e ulcerazioni cutanee nei casi più gravi. Uno studio ha rilevato lo sviluppo di PTS nel 30-35% dei bambini con una storia di cancro dopo interruzione o rimozione del CVC. Sebbene il significato clinico delle

trombosi asintomatiche sia dibattuto in letteratura, questi eventi potrebbero portare a sequele a lungo termine (53). Khule et al. hanno condotto uno studio trasversale in due gruppi di popolazione: il primo comprendeva bambini a cui era stata diagnosticata una TVP asintomatica nell'ambito della partecipazione allo studio PARKAA, il secondo era composto da bambini non selezionati sopravvissuti a LLA. L'incidenza della sindrome post-trombotica nel gruppo della TVP asintomatica è risultata del 54%, paragonabile a quella riscontrata precedentemente nella TVP sintomatica infantile (63%). Questi risultati sono stati avvalorati dal fatto che nel gruppo dei sopravvissuti non selezionati la PTS si è dimostrata relativamente comune (24%) (117).

La ricorrenza di tromboembolismo non è rara: Klaassen et al. hanno riportato un tasso di recidiva di trombosi nei bambini affetti da cancro del 15.4%, valore elevato rispetto al tasso di recidiva nella popolazione pediatrica generale. Più dell'80% dei pazienti era sottoposto a terapia oncologica al momento della recidiva, il che sottolinea l'ipotesi secondo cui la recidiva sia correlata ad uno stato di ipercoagulabilità dato dal trattamento oncologico insieme alla presenza di una serie di altri fattori di rischio. Ciò ribadisce l'importanza di passare all'anticoagulazione profilattica dopo aver completato il periodo di anticoagulazione terapeutica durante il trattamento oncologico nei bambini (51).

Le sequele neurologiche a lungo termine nella popolazione pediatrica con trombosi dei seni venosi cerebrali (CSVT) includono tendenzialmente disturbi motori, disturbi cognitivi, ritardo nello sviluppo, disturbi del linguaggio, disturbi visivi, problemi di attenzione e percezione. Le crisi epilettiche possono inoltre essere predittive di esiti neurologici avversi (94). Ross et al. hanno riportato le sequele neurologiche a lungo termine nei bambini con LLA o linfoma linfoblastico che hanno sviluppato CSVT trattati in un unico istituto. Tra queste emergono problemi di integrazione visuo-motoria, difficoltà nella destrezza finomotoria e nella memoria non verbale (118).

Comprendere l'impatto del tromboembolismo sugli esiti del cancro è importante per ridurre l'incidenza di morte e ricaduta e aumentare sopravvivenza globale e sopravvivenza libera da eventi, sia attraverso interventi prevenzione con la profilassi, sia grazie a terapie anticoagulanti aggressive una volta che la tromboembolia si è verificata (116).

SCOPO DELLA TESI

Lo scopo della tesi è descrivere l'esperienza della Clinica di Oncoematologia Pediatrica di Padova riguardo lo sviluppo di trombosi nei bambini affetti da neoplasie ematologiche (leucemie, linfomi) nell'arco degli ultimi venti anni, con particolare attenzione alla LLA.

L'obiettivo dello studio è di identificare quali possano essere gli ambiti di intervento per ridurre l'incidenza di questi eventi. Quest'ultima è infatti riferita in aumento negli ultimi anni e il suo impatto sulla prognosi dei bambini con neoplasia ematologica può essere significativo.

Gli eventi tromboembolici sono stati inseriti all'interno del Registro Italiano Trombosi Infantili (R.I.T.I.) e l'analisi si è concentrata sulle caratteristiche epidemiologiche, le condizioni predisponenti, la clinica, la diagnosi, il trattamento, l'outcome alla dimissione e all'ultima visita di follow-up.

Data la maggiore incidenza di questa complicanza descritta nei pazienti affetti da LLA, lo studio si propone di analizzare in particolare questa popolazione per delineare le maggiori condizioni predisponenti lo sviluppo di TE e porre un confronto tra le trombosi venose cerebrali e quelle sistemiche.

MATERIALI E METODI

Caratteristiche generali e struttura del Registro

Il Registro Italiano Trombosi Infantili (R.I.T.I.) è stato istituito nel gennaio 2007 da un'equipe multidisciplinare. A partire dal maggio 2010 l'iscrizione è stata aperta a tutti i medici in Italia.

Il Registro è stato creato con l'obiettivo di promuovere studi e ricerche riguardo gli eventi tromboembolici che si verificano nella popolazione neonatale e pediatrica. È organizzato in quattro rami paralleli in base alla fascia d'età (neonatale o pediatrica) e alla sede della trombosi (sistemica o cerebrale).

Il Registro è disponibile online attraverso il sito <https://www.trombosiinfantili.info>. Il reclutamento dei casi di trombosi è basato sul paziente e non più sull'evento come in passato.

Dopo aver compilato alcuni campi obbligatori (nome, cognome, data di nascita, sesso, etnia, residenza e codice fiscale), viene creato un codice di identificazione alfanumerico unico per ogni paziente. Questo codice consente di accedere al record del paziente nella piattaforma online REDCap.

L'interfaccia della piattaforma REDCap mostra le seguenti schede da compilare:

- “Scheda anamnesi”: da compilare aggiornata ad ogni episodio, indaga anamnesi familiare, fisiologica, patologica remota e farmacologica.
- “Scheda episodio”: viene richiesto il tipo di trombosi (cerebrale o sistemica con successiva specificazione se si tratta di una trombosi venosa o arteriosa), i dati riguardanti la diagnosi strumentale, l'età del paziente al momento della diagnosi per distinguere eventi neonatali o pediatrici. Infine, bisogna dichiarare se l'evento ha richiesto il ricovero in Terapia Intensiva.
- “Scheda supplemento anamnestico” (per pazienti con eventi trombotici occorsi in epoca neonatale).
- “Possibili fattori di rischio ed eziologici” (precedenti o concomitanti all'esordio dell'evento trombotico): è costituita da voci correlate a possibili fattori di rischio con possibilità di scelta multipla e di specificazione per ogni scelta effettuata (es. cardiopatia, vasculite, infezioni, neoplasia, trombofilia, catetere, farmaci, etc.).

- “Esami ematochimici e microbiologici” (più prossimi all'esordio dei sintomi): va compilata inserendo i valori dei prelievi effettuati temporalmente più vicino all'esordio dei sintomi.
- “Esami ematochimici e microbiologici” (i più prossimi alla nascita): è obbligatoria solo se si dichiara che l'evento è occorso in epoca neonatale.
- A questo punto si sceglie la tipologia di episodio tromboembolico da inserire (“Tromboembolismo Arterioso Cerebrale (TAC)”, “Tromboembolismo Venoso Cerebrale (TVC)”, “Trombosi Arteriosa Sistemica (TAV)”, “Trombosi Venosa Sistemica (TVS)”) e si procede alla compilazione della relativa scheda nella maniera più dettagliata possibile.
- “Terapia”: viene richiesto il tipo di trattamento antitrombotico utilizzato, il dosaggio, la durata ed eventuali complicanze.
- “Outcome alla dimissione”: vanno inserite informazioni riguardo l'eventuale ricovero (esiti dal punto di vista clinico e ulteriori esami radiologici durante la degenza).
- Il “Follow up” è costituito da varie schede: ne andrebbe compilata una a 3 mesi (intervallo 1.5 - 4.5 mesi), 6 mesi (intervallo 4.5 - 9 mesi), 12 mesi (intervallo 9 - 18 mesi), 24 mesi (intervallo 18 - 30 mesi), 36 mesi (intervallo 30 - 42 mesi), 48 mesi (intervallo 42 - 54 mesi), 60 mesi (intervallo 54 - 66 mesi), considerando l'ultimo episodio inserito nel registro come riferimento temporale per il calcolo di questo intervallo.

Per ogni paziente possono corrispondere diversi episodi tromboembolici che possono essere inseriti in successione (Episodio 1, Episodio 2...).

Periodo e popolazione oggetto di studio

Sono stati inseriti nel Registro R.I.T.I. i pazienti pediatrici (1-18 anni) con diagnosi di trombosi seguiti presso la Clinica di Oncoematologia Pediatrica di Padova a partire dal 2000 sino ad oggi. Complessivamente sono stati registrati 44 pazienti che hanno sviluppato 52 eventi trombotici.

Lo studio è stato condotto secondo la dichiarazione di Helsinki e i genitori hanno dato il consenso informato all'arruolamento. I dati clinici di ciascun paziente sono stati ottenuti analizzando le cartelle cliniche, in particolare visionando i risultati

laboratoristici e radiologici, le consultazioni specialistiche, i diari di ricovero e le lettere di dimissione.

Sono stati presi in considerazione esclusivamente i bambini affetti da neoplasie ematologiche, quali leucemia linfoblastica acuta (LLA), leucemia mieloide acuta (LMA), Linfoma di Hodgkin (LH) e Linfoma non-Hodgkin (LNH). Più nel dettaglio i pazienti affetti da LLA inclusi nell'analisi sono 36 ed appartengono ai protocolli AIEOP-BFM ALL 2000, 2009, 2017 (Osservazionale) e 2017. I pazienti affetti da LMA che hanno sviluppato trombosi nel periodo di studio sono stati 2, entrambi facenti parte il protocollo LAM 2002 (nessun evento trombotico è insorto tra i pazienti del protocollo LAM 2013). I pazienti con LH e trombosi arruolati nello studio sono 5 e appartengono ai protocolli AIEOP LH 2004 (in corso dal 2004 al 2017) e EuroNet-PHL-C2 (in corso dal 2017 ad oggi), mentre solo un paziente inserito era affetto da LNH e più precisamente da linfoma linfoblastico tipo T.

Diagnosi di TE e definizione

Sono stati inclusi in questo studio i casi di TE sintomatici/asintomatici venosi/arteriosi identificati attraverso la valutazione clinica e confermati dalla diagnostica per immagini. Il TE asintomatico è stato definito come TE rilevato da immagini radiologiche eseguite di routine durante il trattamento di una neoplasia in assenza di sintomi suggestivi di trombosi. Lo screening per il TE asintomatico non è stato eseguito. Le trombosi sintomatiche e asintomatiche sono state configurate oggettivamente con metodi di imaging standard basati sulle linee guida istituzionali.

Variabili analizzate nella coorte

Per ognuno dei pazienti inseriti nel registro sono state analizzate le seguenti variabili:

- Caratteristiche demografiche: sesso, età alla diagnosi, distribuzione dell'età in base al sesso, etnia.
- Eziologia e fattori di rischio: analisi dei fattori di rischio iatrogeni (come la chemioterapia o la presenza di catetere venoso), fattori correlati all'ospite (ad esempio trombofilia ereditaria ed obesità), fattori presenti alla diagnosi

di neoplasia ed eventuali fattori al momento di insorgenza della trombosi (come la presenza di infezioni),

- Presentazione clinica: sintomi e segni al momento di insorgenza.
- Diagnosi: ritardo diagnostico, esami strumentali utilizzati per ottenere la conferma diagnostica (TC, RM, angio-RM, ecodoppler venoso, ecocardiografia), localizzazione specifica della trombosi ed eventuali anomalie parenchimali nel caso di TVC.
- Terapia antitrombotica: terapia fibrinolitica, terapia anticoagulante, dosaggio e durata.
- Outcome alla dimissione e follow-up: caratteristiche cliniche e radiologiche alla dimissione e all'ultimo follow-up, recidive di trombosi.

Trombosi venose cerebrali e sistemiche nei pazienti affetti da LLA

Questa analisi si è focalizzata sugli eventi tromboembolici sviluppatosi nei bambini affetti da LLA appartenenti ai protocolli AIEOP-BFM 2000, 2009, 2017 (Osservazionale) e 2017. Nel dettaglio:

- Il protocollo AIEOP-BFM ALL 2000 è stato utilizzato dal 2000 al dicembre 2011, arco temporale in cui 5 bambini su 325 hanno sviluppato trombosi.
- Il protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 è stato utilizzato dal gennaio 2012 al febbraio 2017, arco temporale in cui 11 bambini su 164 hanno sviluppato trombosi.
- Il protocollo AIEOP-BFM ALL 2017 (Osservazionale) è stato utilizzato dal marzo 2017 al luglio 2021, arco temporale in cui 18 bambini su 112 hanno sviluppato trombosi.
- Il protocollo AIEOP-BFM ALL 2017 è in corso dall'agosto 2021 e fino ad oggi 2 bambini su 28 hanno sviluppato trombosi.

In questa popolazione si è studiato l'aumento di incidenza di TE nei diversi protocolli, escludendo il AIEOP-BFM ALL 2017 perché in corso da ancora troppo poco tempo.

Neil totale dei 36 pazienti inclusi nello studio sono stati studiati complessivamente 41 eventi (22 TVC e 19 TVS), per i quali si sono indagate le seguenti variabili:

- Immunofenotipo (B o T).

- Braccio di rischio di malattia (SR/MR o HR).
- Fase di terapia al momento d'insorgenza della trombosi (esordio, induzione, consolidamento, reinduzione, mantenimento).
- Presenza di difetto trombofilico ereditario (mutazione fattore V Leiden, mutazione protrombina G20210A, carenza di proteina S e proteina C).
- Stato coagulativo all'esordio dei sintomi (conta piastrinica (PLT), tempo di protrombina (PT), antitrombina (AT) e fibrinogeno). Per rendere questa variabile dicotomica si sono stabiliti dei valori cutoff: 100000/ μ L per le PLT, 40% per il PT, 50% per l'AT e 0.5 g/L per il fibrinogeno.
- Eventuali trasfusioni (piastrine, plasma, AT e fibrinogeno) nei sette giorni antecedenti l'evento.
- Presenza di infezione in concomitanza della trombosi.
- Ipertrigliceridemia (trigliceridi $>$ 1.7mmol/L) in concomitanza della trombosi.

È stata effettuata una comparazione tra TVC e TVS nei pazienti affetti da LLA arruolati al fine di individuare quali condizioni fossero maggiormente associate all'una o all'altra tipologia di trombosi.

Analisi dei fattori di rischio in bambini affetti da LLA (protocolli 2009 e 2017)

Questo studio si propone di analizzare le condizioni predisponenti eventualmente responsabili di un aumento del rischio di trombosi nella popolazione generale affetta da LLA. Sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti appartenenti ai protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017 (Osservazionale). Si tratta di una popolazione conosciuta in dettaglio e trattata in modo omogeneo dal gennaio 2012 al luglio 2021. Complessivamente sono stati analizzati 276 pazienti, di cui 164 trattati con il protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 e 112 con il ALL 2017 (Osservazionale). Per ogni paziente si sono valutate le seguenti variabili:

- Età all'esordio di LLA
- Sesso
- Iperleucocitosi all'esordio di LLA
- Immunofenotipo (B o T)
- Braccio di rischio di malattia (SR/MR o HR)

- Obesità all'esordio di LLA
- Trombofilia ereditaria (presenza di mutazione fattore V Leiden, mutazione protrombina G20210A, carenza di proteina S e proteina C)

Analisi statistiche

Per lo studio dell'associazione tra protocolli e incidenza di trombosi è stato eseguito il test Chi-quadrato, così come per il confronto tra le due tipologie di trombosi (TVS e TVC) e lo studio dei fattori di rischio che possono aver influito sullo sviluppo di TE nella popolazione generale affetta da LLA. Un p-value inferiore a 0.05 indica la presenza di associazione tra il fattore e l'outcome considerato, dove per associazione si intende che la distribuzione del fattore di rischio è significativamente diversa nelle varie modalità e diversa da quella marginale (cioè quella ottenuta considerando l'intero campione).

Per confrontare la distribuzione dell'età nei due sessi all'interno della popolazione che ha sviluppato trombosi e la distribuzione dell'età tra i bambini affetti da LLA con diagnosi di TE e quelli senza, si è utilizzato il test di Wilcoxon della somma dei ranghi. Un p-value inferiore a 0.05, in questo caso, dimostra una differenza statisticamente significativa tra le mediane delle due popolazioni prese in esame.

Le analisi sono state eseguite con il software R.

RISULTATI

Epidemiologia

Sono stati inclusi nello studio un totale di 44 pazienti nei quali sono insorti 52 eventi trombotici. 36 erano affetti da LLA, 2 da LMA, 5 da LH e 1 da LNH (LNH-T linfoblastico). 31 (70%) erano maschi e 13 (30%) femmine. 42 pazienti erano di etnia caucasica, 1 di etnia asiatica e 1 africana.

Dei pazienti affetti da LLA, 5 su 325 (1.5%) hanno sviluppato trombosi all'interno del protocollo AIEOP-BFM ALL 2000, 11 su 164 (6.7%) all'interno del ALL 2009, 18 su 112 (16.1%) nel ALL 2017 (Osservazionale) e 2 su 28 (7.1%) all'interno del ALL 2017 attualmente in corso. L'analisi ha dimostrato un aumento statisticamente significativo dell'incidenza degli eventi tromboembolici nei protocolli di terapia per LLA impiegati progressivamente nel tempo ($p < 0.001$). La suddetta analisi ha escluso il protocollo AIEOP-BFM ALL 2017, in corso da ancora troppo poco tempo per poter essere confrontato con i precedenti.

Due dei 72 (2.8%) pazienti affetti da LMA diagnosticati a partire dal protocollo LAM2002 hanno sviluppato TE.

Cinque pazienti affetti da LH sono stati arruolati nel registro (1 appartenente al protocollo AIEOP LH 2004 e 4 al protocollo EuroNet-PHL-C2). Considerando entrambi i protocolli, 5 su 210 pazienti affetti da LH hanno sviluppato TE, determinando un'incidenza del 2.4%; 4 su 55 (7.3%) solo all'interno del protocollo EuroNet-PHL-C2.

La mediana dell'età al momento di insorgenza della trombosi era di 8 anni, mentre la media di 8.9 anni. La distribuzione dell'età di insorgenza di TE è illustrata nel Grafico 1. 20 pazienti (45%) avevano più di 10 anni, mentre 24 (55%) avevano meno di 10 anni. Nove bambini (20%) avevano un'età compresa tra 1 e 3 anni, dieci (23%) tra 4 e 6 anni, cinque (11%) tra 7 e 9 anni, cinque (11%) tra 10 e 12 anni, nove (20%) tra 13 e 15 anni, sei (14%) tra 16 e 18 anni. Nonostante il numero di pazienti sia limitato, si osserva un andamento bimodale nella distribuzione dell'età alla diagnosi di TE. L'analisi statistica non ha dimostrato una differenza significativa nella distribuzione dell'età in base al sesso (vedi Tabella VIII), nonostante la mediana d'età sia risultata maggiore nelle pazienti di sesso femminile.

Questo dato è verosimilmente dovuto al fatto che 4 su 13 pazienti femmine (38%) erano affette da linfoma, neoplasia che colpisce più frequentemente gli adolescenti.

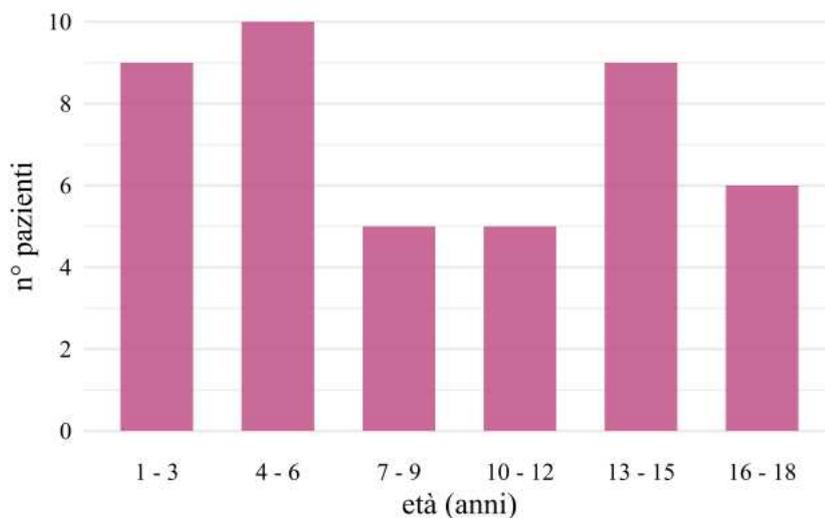


Grafico 1. Distribuzione dell'età alla diagnosi di TE.

	N	Totale ¹ , N = 44	F ¹ , N = 13	M ¹ , N = 31	p-value ²
Età (anni)	44	8 (4, 13)	13 (6,13)	7 (4, 12.5)	0.2

¹Mediana (scarto interquartile) ²Wilcoxon rank sum test
F: femmina, M: maschio

Tabella VIII. Analisi statistica della distribuzione dell'età in base al sesso.

Per quanto riguarda la sede in cui si è sviluppata la trombosi, il nostro studio ha osservato 51 trombosi venose ed un'unica trombosi arteriosa (2%). Tra le trombosi venose, 24 (46% sul totale degli eventi) erano cerebrali e 27 (52%) sistemiche.

Delle 27 trombosi sistemiche, 16 (59%) erano correlate alla presenza del catetere venoso. Per quanto riguarda il distretto corporeo interessato dalle TVS, 10 (37%) si sono sviluppate esclusivamente a livello del collo, 2 (7%) hanno coinvolto anche la vena cava superiore (VCS) oltre al collo, 1 (4%) l'arto superiore (AS) oltre al collo, 8 (30%) esclusivamente a livello dell'arto superiore, 3 (11%) a livello dell'arto inferiore e infine 3 (11%) sono insorte a livello dell'atrio destro. Il Grafico 2 mostra la distribuzione delle localizzazioni delle TVS illustrando, per ogni distretto corporeo considerato, quante trombosi erano correlate al catetere.

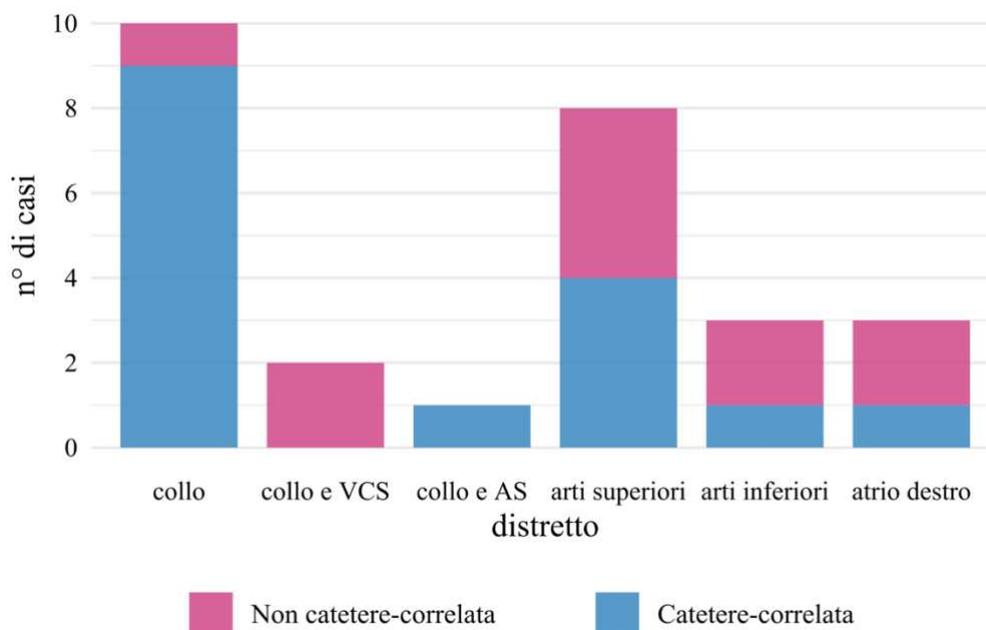


Grafico 2. Distribuzione delle TVS in base al distretto corporeo (VCS=vena cava superiore, AS=arto superiore).

8 eventi tromboembolici sul totale di 52 (15%) hanno richiesto un ricovero in Terapia Intensiva.

Fattori di rischio

Alcuni dei farmaci utilizzati in questa categoria di pazienti costituiscono uno dei fattori di rischio principali di trombosi. In 43 casi (83%) sono stati somministrati steroidi in prossimità dell'evento trombotico, 34 dei quali (65% sul totale degli eventi) in combinazione con la L-Asp. La media dell'intervallo di tempo calcolato in giorni tra la somministrazione di steroidi e l'insorgenza di trombosi era di 8.2 giorni, mentre la mediana di 1 giorno (min: 1 giorno, max: 50 giorni): nella maggior parte dei casi il paziente ha assunto steroidi in corrispondenza dell'evento. La L-Asp è invece stata somministrata con una media di giorni all'evento pari a 18.7 e una mediana di 9 (min: 2 giorni, max: 75 giorni); in 12 casi su 34 (35%) il paziente aveva ricevuto due dosi di L-Asp prima dell'insorgenza di TE.

Tutti i pazienti presi in esame erano portatori di catetere venoso, singolo fattore di rischio più frequente di trombosi pediatrica. Si sono sviluppate 16 trombosi catetere-correlate su 52 trombosi totali (31%) in 15 pazienti su 44 (34%). La sede più frequentemente coinvolta è stata il collo (56% dei casi) e più precisamente la

vena giugulare interna, seguita dall'arto superiore destro (25% dei casi), in particolare la vena basilica destra. Cinque tipologie di catetere venoso sono state riscontrate tra i casi di questo studio (vedi tabella IX): 7 trombosi catetere-correlate su 16 (44%) si sono sviluppate in prossimità di un CVC di tipo Broviac, 4 (25%) in un PICC, 2 (12.5%) in un Midline, 2 (12.5%) in un catetere per dialisi di tipo Quinton e 1 (6%) in un CVC di tipo Power.

Catetere	N (%)
Broviac	7 (44)
PICC	4 (25)
Midline	2 (12.5)
Quinton	2 (12.5)
Power	1 (6)

Tabella IX. Tipologie di catetere coinvolte nelle trombosi.

In tutti i pazienti dello studio è stato eseguito lo screening per trombofilia ereditaria. Si sono riscontrati difetti genetici trombofilici in 9 pazienti (20%), 2 dei quali erano sottoposti a profilassi anticoagulante secondo le indicazioni di Mitchell et al. (110). I pazienti con trombofilia ereditaria che non sono stati sottoposti a profilassi appartenevano ad un protocollo di terapia antecedente le raccomandazioni di Mitchell et al., oppure erano portatori di un difetto protrombotico minore (mutazione in omozigosi del gene MTHFR). La mutazione trombofilica più frequentemente riscontrata è stata quella del gene del fattore II o protrombina G20210A presente in eterozigosi, osservata in quattro pazienti su 44 totali (9%). Due pazienti (5%) sono risultati portatori di fattore V Leiden, uno (2%) di deficit di proteina C e due (5%) della mutazione del gene MTHFR in omozigosi.

È stata registrata la presenza di infezione concomitante in 15 eventi su 52 (29%). Nel 60% dei casi le analisi microbiologiche hanno rilevato la presenza di agenti infettivi nel siero. A risultare positivo più frequentemente all'emocoltura è stato il CMV (quattro casi), seguito dall'EBV (tre casi). Due sono stati i casi di infezioni disseminate da VZV. Il 27% delle infezioni (4 casi su 15) era rappresentato da infezioni fungine: tre sono risultate le micosi sistemiche, una la micosi epatica. Altri

agenti patogeni riscontrati sono stati: HHV-6, Stafilocco aureo, Stafilococco epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, Norovirus e Clostridium difficile.

Tra i fattori di rischio intrinseci al paziente è stata presa in considerazione anche l'obesità, condizione riscontrata in un unico paziente (2%) all'interno dello studio. Nella tabella X si riassumono i principali fattori di rischio riscontrati considerando al denominatore i 52 episodi di trombotici.

Fattore di rischio	N (%)
Neoplasia (Totale casi)	52 (100)
Leucemia	44 (85)
Linfoma	8 (15)
Farmaci	43 (83)
L-Asp e steroidi	34 (65)
Steroidi da soli	9 (17)
Catetere	16 (31)
Trombofilia ereditaria	13 (25)
Infezione	15 (29)
Obesità	1 (2)

Tabella X. Fattori di rischio nei 52 eventi trombotici.

Presentazione clinica e diagnosi

Trombosi venosa cerebrale (TVC)

Due delle 24 TVC (8%) erano asintomatiche, le rimanenti si sono presentate con almeno un sintomo (vedi Grafico 3). La cefalea ha rappresentato il sintomo d'esordio più comune contando il 50% delle TVC, seguita da crisi epilettiche (33%) e vomito (29%); altri sintomi ricorrenti sono stati letargia/sopore (25%) e febbre (21%). Tra i segni rilevabili si è osservato il papilledema nel 17% dei casi. Nel 68% dei casi la trombosi si è manifestata con almeno un sintomo o segno suggestivo di ipertensione endocranica (cefalea, nausea, vomito e papilledema). Sono stati riportati anche deficit neurologici focali quali: disfasia (12.5%), ipotonia (8%), ipertonica (8%), emisindrome motoria (8%), sintomi oculari (8%) e paralisi del VII nervo cranico (4%). Una TVC su quattro (6/24) ha richiesto ricovero in Terapia Intensiva.

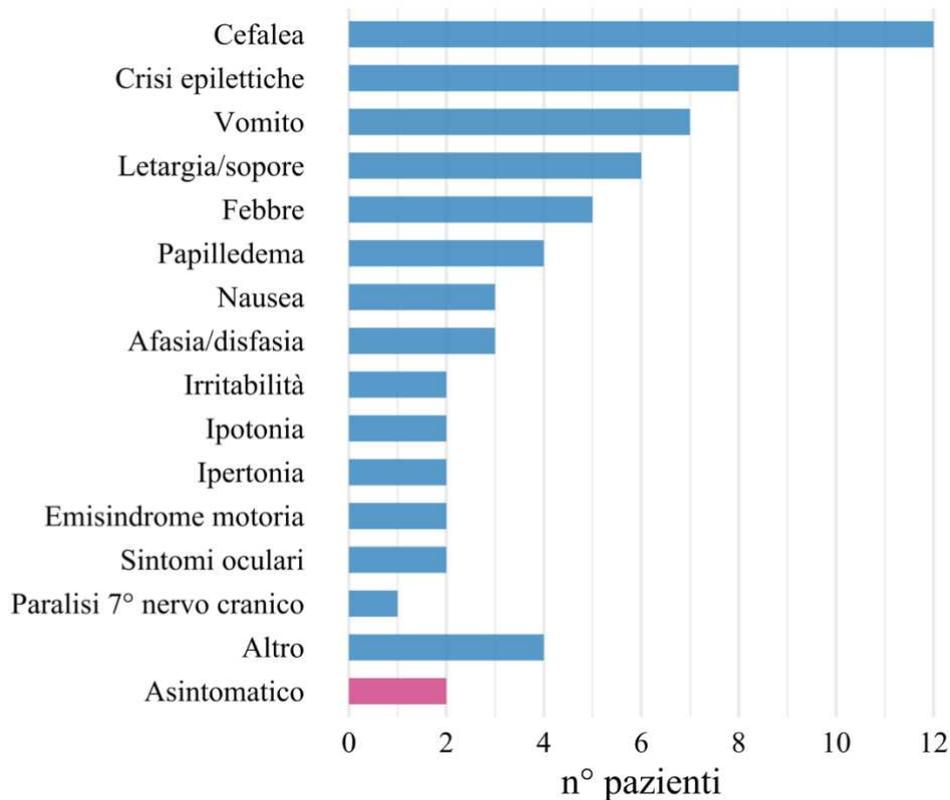


Grafico 3. Presentazione clinica all'esordio di TVC.

La media di intervallo di tempo misurato tra l'esordio dei primi sintomi e la diagnosi strumentale è risultata di 5.3 giorni, la mediana di 2.5 giorni (min: 1 giorno, max: 33 giorni). Il ritardo diagnostico più prolungato equivaleva a 32 giorni.

Nella metà dei casi (12/24) i pazienti sono stati sottoposti alla TC come primo esame strumentale, che è risultata diagnostica nel 50% dei casi (6/12). La RM con e senza mezzo di contrasto è stata eseguita in 21 casi su 24, mentre l'angio-RM venosa in 23. In tutti gli eventi la combinazione RM e angio-RM venosa è risultata diagnostica.

Per quanto riguarda la specifica localizzazione delle TVC (Tabella XI), la totalità dei casi ha coinvolto il sistema venoso cerebrale e in 3 casi la trombosi si è estesa a vene extracraniche (vene giugulari interne). I seni trasversi sono stati interessati in 15 casi (62.5%, 8 a destra, 5 a sinistra e 2 in entrambi); in ugual numero di casi è stato colpito il seno sagittale superiore (62.5%). I seni sigmoidei sono stati coinvolti in 6 casi (25%, 4 a destra e 2 a sinistra) e le vene corticali in 5 (21%, 1 a destra, 1 a sinistra e 3 in entrambe). La trombosi si è estesa alle vene giugulari in 3 casi (12.5%, 1 a destra e 2 a sinistra) e al seno retto in 2 (8%).

Localizzazione di TVC	N (%)
Seni trasversi	15 (62.5)
Seno sagittale superiore	15 (62.5)
Seni sigmoidei	6 (25)
Seno retto	2 (8)
Vene corticali	5 (21)
Vene giugulari interne	3 (12.5)

Tabella XI. Localizzazioni specifiche delle 24 TVC.

Anomalie parenchimali sono state riscontrate in un terzo degli episodi (8/24). Esse consistevano principalmente in: aree di edema vasogenico (5 casi), infarto venoso (4 casi) e infarto emorragico (3 casi). I lobi più frequentemente coinvolti sono stati: il parietale in 5 eventi, il frontale in 4 e il temporale in 3. Il lobo occipitale è stato interessato in 2 episodi, mentre la regione nucleo capsulare, il talamo e il cervelletto sono stati colpiti ciascuno in un solo caso.

Trombosi venosa sistemica (TVS)

La TVS è risultata totalmente asintomatica in 3 casi su 27 (11%), mentre i restanti casi hanno presentato almeno un sintomo (vedi Grafico 4). All'esordio 16 eventi (59%) si sono manifestati con segni e sintomi di trombosi venosa e 2 (7%) con segni e sintomi di embolia polmonare. La modalità di presentazione più frequentemente osservata è risultata il malfunzionamento del catetere (33%), seguito da dolore/irritabilità e discromia cutanea, entrambi riportati in 7 eventi (26%). Altrettanto comune è stata l'insorgenza di edema, riscontrato in 5 casi (19%). Sono stati rilevati inoltre la sindrome della vena cava superiore in 2 casi e la presenza di una massa in altri 2. I due eventi manifestatisi con embolia polmonare sono stati caratterizzati dall'insorgenza di dispnea e dolore toracico; in un caso la condizione ha portato a insufficienza respiratoria, che ha richiesto il ricovero in Terapia Intensiva.

Nel Grafico 4 vengono illustrati in blu i sintomi e segni di trombosi venosa, in giallo quelli di embolia polmonare, in rosa i casi asintomatici.

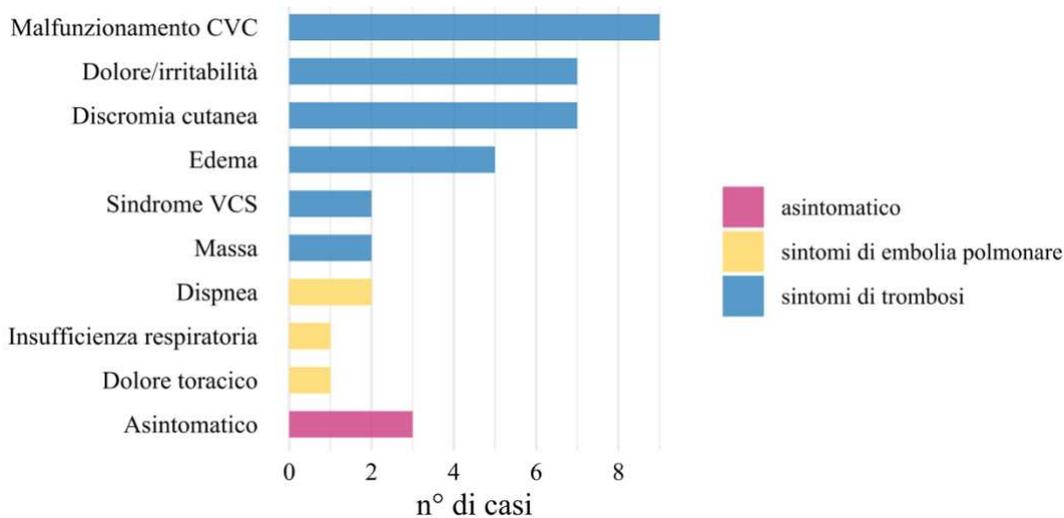


Grafico 4. Presentazione clinica all'esordio di TVS.

La media di intervallo di tempo tra l'esordio dei primi sintomi e la diagnosi strumentale è risultata di 1.7 giorni e la mediana di 1 giorno (min: 1 giorno, max: 5 giorni): nella maggior parte dei casi la diagnosi è avvenuta lo stesso giorno dell'insorgenza dei sintomi. Il ritardo diagnostico più prolungato equivaleva a 4 giorni. La quasi totalità delle TVS è stata diagnosticata tramite Ecodoppler venoso (CUS), ad eccezione delle tre trombosi intracardiache, diagnosticate attraverso ecocardiografia, e di una trombosi causata dalla presenza di una massa, diagnosticata esclusivamente tramite TC. L'ecodoppler venoso è stato accompagnato dall'esecuzione di TC come esame di secondo livello in due casi e di angio-TC in tre casi.

Per quanto riguarda la localizzazione specifica delle TVS, la maggior parte dei casi ha coinvolto il distretto superiore (21 su 27, 78%). Il distretto inferiore è stato interessato in 3 casi (11%), mentre le trombosi intracardiache sono state 3 (11%) ed hanno coinvolto esclusivamente l'atrio destro. Degli eventi verificatisi nel distretto superiore, 13 hanno interessato il sistema venoso profondo e 8 quello superficiale. Due sul totale delle TVS hanno visto la partecipazione della vena cava superiore. Complessivamente, la vena colpita più frequentemente è stata la vena giugulare interna destra, coinvolta in un terzo dei casi (9/27), quasi tutti correlati a catetere. Seguono per frequenza la vena giugulare interna sinistra e la vena succlavia sinistra, entrambe interessate in 4 casi (15%). La metà delle TVS interessanti in sistema venoso superficiale del distretto superiore (vene cefalica e basilica) erano correlate

a catetere. Tra quelle insorte nel distretto inferiore, invece, in 1 caso su 3 era implicato il catetere. La tabella XII descrive più nel dettaglio la distribuzione delle localizzazioni delle TVS rilevate nel nostro studio.

Localizzazione TVS	N (%)
Cuore	3 (11)
Atrio destro	3 (11)
Distretto superiore	21 (78)
Sistema venoso profondo	13 (48)
Vena anonima destra	1 (4)
Vena anonima sinistra	2 (7)
Vena giugulare interna destra	9 (33)
Vena giugulare interna sinistra	4 (15)
Vena giugulare esterna destra	1 (4)
Vena giugulare esterna sinistra	1 (4)
Vena succlavia destra	2 (7)
Vena succlavia sinistra	4 (15)
Vena ascellare destra	1 (4)
Vena ascellare sinistra	2 (7)
Sistema venoso superficiale	8 (30)
Vena cefalica destra	2 (7)
Vena cefalica sinistra	3 (11)
Vena basilica destra	3 (11)
Vena cava superiore	2 (7)
Distretto inferiore	3 (11)
Sistema venoso profondo	3 (11)
Vena femorale destra	1 (4)
Vena poplitea destra	1 (4)
Vena peroneale sinistra	1 (4)
Vena tibiale posteriore sinistra	1 (4)

Tabella XII. Localizzazioni specifiche delle 27 TVS.

Le immagini ecocardiografiche in Figura 9 mostrano una trombosi intra-atriale in un paziente di 13 anni arruolato nel nostro studio, affetto da LMA e portatore di deficit ereditario di proteina C. Il presente trombo non è correlato a CVC, ha una larghezza di circa 2 cm e una superficie irregolare; la sua localizzazione specifica corrisponde alla giunzione tra la vena cava inferiore e il pavimento atriale destro.



Figura 9. Immagini ecocardiografiche di trombosi intra-atriale in paziente affetto da LMA.

Tromboembolismo arterioso cerebrale (TAC)

L'unico caso di TAC osservato nella nostra analisi si è manifestato con letargia, crisi epilettiche, ipertonia, pausa respiratoria, scialorrea e trisma ed ha richiesto il ricovero in Terapia Intensiva.

La TC eseguita in prima istanza era negativa, ma la RM con angio-RM eseguita il giorno successivo ha mostrato la presenza di multiple lesioni ischemiche corticali e sottocorticali in sede frontale bilateralmente e parietale sinistra.

Trattamento

La terapia antitrombotica è stata somministrata in tutti i pazienti tranne due, per i quali la terapia anticoagulante era stata prescritta ma mai somministrata a causa di una condizione di persistente piastrinopenia (conta piastrinica <math>< 50.000/\mu\text{L}</math>). In 22 casi (42%) è stata somministrata l'eparina non frazionata (UFH) seguita dall'eparina a basso peso molecolare (LMWH), in 26 (50%) solo la LMWH, in 1 (2%) solo il fondaparinux. In un caso (2%) la combinazione UFH e LMWH è stata preceduta dalla somministrazione di warfarin. La LMWH più frequentemente utilizzata è stata l'enoxaparina (42/49); in 2 casi è stata impiegata la dalteparina e in 5 la nadroparina. Oltre alla terapia anticoagulante, in due casi (4%) (entrambe trombosi intra-atriali) è stata somministrata anche la terapia fibrinolitica, in particolare l'urokinasi. Inoltre, in 11 eventi (21%) è stata supplementata l'antitrombina come ulteriore trattamento antitrombotico. Altri presidi antitrombotici impiegati sono stati la calza compressiva e Hirudoid pomata.

La Tabella XII e il Grafico 5 mostrano la distribuzione del dosaggio in unità su kg di peso corporeo all'ora (U/kg/h) con cui è stata somministrata l'UFH, la quale è stata modulata utilizzando i valori del PTT, con target minimo pari al valore basale moltiplicato per due. La media dei valori del dosaggio è risultata di 18.2 U/kg/h, mentre la mediana di 18 U/kg/h (min: 10 U/kg/h, max: 28 U/kg/h).

La Tabella XIV e il Grafico 6 mostrano invece la durata in giorni della terapia con UFH e la sua distribuzione. La media è risultata pari a 10.6 giorni, la mediana pari a 7 giorni (min: 1 giorno, max: 54 giorni).

Min.	1° Qu.	Mediana	Media	3° Qu.	Max.
10	16,7	18	18,15	20	28

Tabella XIII. Dosaggio di UFH (U/kg/h).

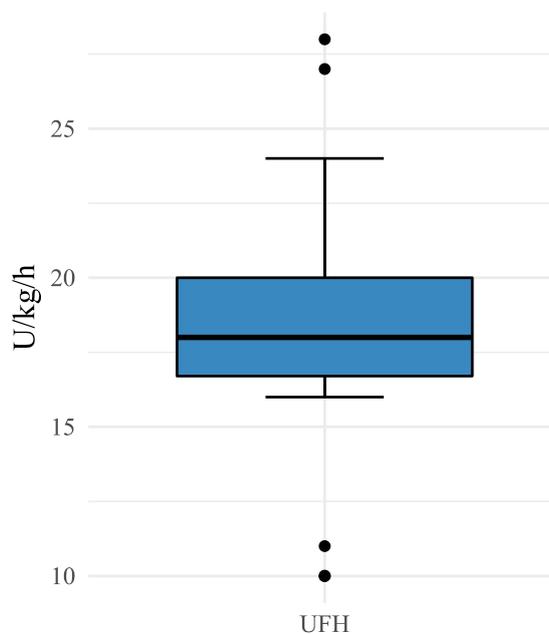


Grafico 5. Distribuzione del dosaggio di UFH (U/kg/h).

Min.	1° Qu.	Mediana	Media	3° Qu.	Max.
1	5	7	10,61	12,5	54

Tabella XIV. Durata della terapia con UFH (giorni).

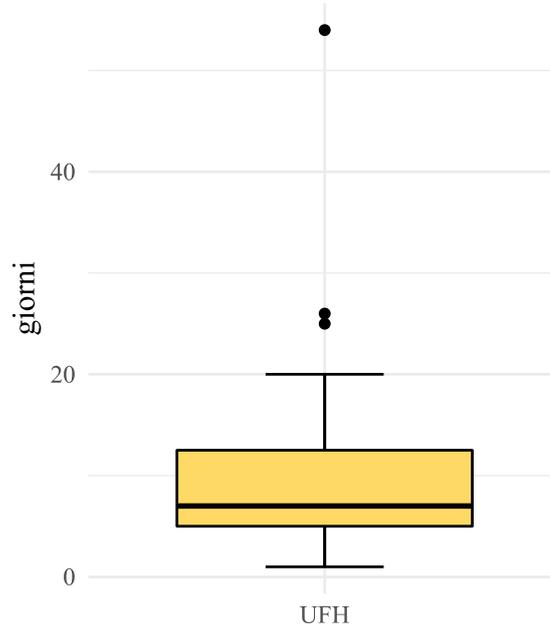


Grafico 6. Distribuzione della durata della terapia con UFH (giorni).

La Tabella XV e il Grafico 7 mostrano la distribuzione del dosaggio in unità su kg di peso corporeo al giorno (U/kg/die) con cui è stata somministrata la LMWH. La media dei valori del dosaggio è risultata di 197.2 U/kg/die, mentre la mediana di 190 U/kg/die (min: 70 U/kg/die, max: 435 U/kg/die).

La Tabella XVI e il Grafico 8 mostrano invece la durata in giorni della terapia con LMWH e la sua distribuzione. La media è risultata pari a 496.7 giorni, la mediana pari a 520.5 giorni (min: 18 giorni, max: 1282 giorni).

Min.	1° Qu.	Mediana	Media	3° Qu.	Max.
70	167	190	197,21	200	435

Tabella XV. Dosaggio di LMWH (U/kg/die)

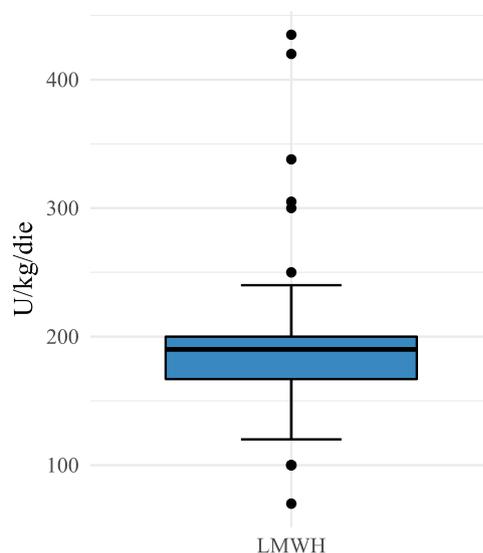


Grafico 7. Distribuzione del dosaggio di LMWH (U/kg/die).

Min.	1°Qu.	Mediana	Media	3° Qu.	Max.
18	174,75	520,5	496,69	731,5	1282

Tabella XVI. Durata della terapia con LMWH (giorni).

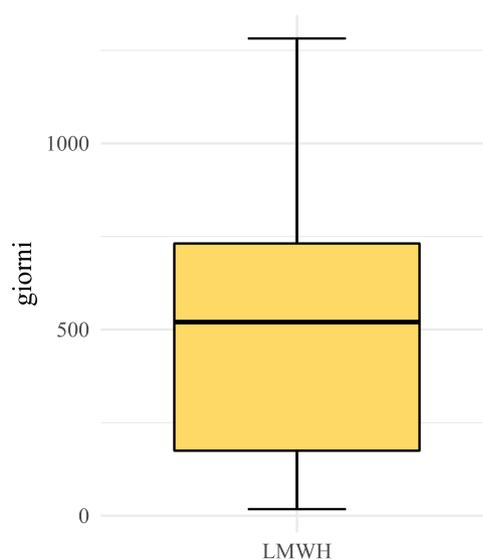


Grafico 8. Distribuzione della durata della terapia con LMWH (U/kg al giorno).

In quattro casi sul totale (8%) si sono verificate complicanze in seguito alla somministrazione di terapia anticoagulante, quali: piastrinopenia da eparina in tre casi e sanguinamento (melena) in un caso.

Outcome alla dimissione e follow-up

Nel corso del ricovero un paziente è deceduto per complicanze dovute alla patologia di base. 8 su 22 pazienti che hanno sviluppato trombosi centrale (36%) hanno manifestato crisi epilettiche e 5 (23%) hanno riportato alcuni deficit neurologici. 7 su 22 pazienti che hanno sviluppato trombosi sistemica (32%) hanno richiesto la rimozione dell'accesso vascolare con necessità di riposizionamento.

Più della metà dei pazienti (23 su 44) ha eseguito un esame radiologico di controllo durante la degenza o in pre-dimissione. Una completa ricanalizzazione della struttura venosa è stata documentata in sei pazienti (26%), una ricanalizzazione parziale in dieci (43%) e un imaging invariato in sette (30%).

In 30 pazienti è stato possibile analizzare se l'evento avesse comportato alterazioni nella somministrazione del protocollo terapeutico della malattia di base. In 18 pazienti (60%) la chemioterapia è stata alterata: in 10 (33%) la L-Asp è stata interrotta, in 4 (13%) la successiva chemioterapia intratecale è stata cancellata, in 4 (13%) il dosaggio degli steroidi è stato ridotto e complessivamente in 11 pazienti (37%) la chemioterapia è stata ritardata.

Due pazienti sono deceduti durante il follow-up a causa della progressione della patologia di base. Sette pazienti (16%) hanno presentato almeno un altro evento tromboembolico (tre TVC e cinque TVS).

All'ultima visita di follow-up, quattro (18%) tra pazienti che avevano sviluppato trombosi centrale hanno riportato ancora crisi epilettiche e uno (5%) ha manifestato deficit neurologici a causa degli esiti correlati all'evento tali per cui ha richiesto necessità di supporto per compiere normali attività.

Trombosi venose cerebrali e sistemiche nei pazienti affetti da LLA

Questa analisi si è focalizzata sugli eventi tromboembolici sviluppatosi nei bambini affetti da LLA appartenenti ai protocolli AIEOP-BFM ALL 2000, 2009, 2017 (Osservazionale) e 2017. Complessivamente, considerando l'arco temporale dal 2000 ad oggi, 36 pazienti su 629 totali affetti da LLA hanno sviluppato trombosi, determinando un'incidenza percentuale pari al 5.7%. Rispettivamente, nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2000 sono insorti eventi tromboembolici in 5 bambini su 325 (incidenza del 1.5%), nel AIEOP-BFM ALL 2009 in 11 bambini su 164 (6.7%), nel ALL 2017 (Osservazionale) in 18 bambini su 112 (16.1%) e nel ALL 2017 in 2 su 28 (7.1%). Escludendo il protocollo attualmente in corso, l'analisi ha dimostrato un aumento statisticamente significativo ($p < 0.001$) dell'incidenza di TE nei diversi protocolli progressivamente utilizzati. Il Grafico 9 illustra il suddetto aumento di incidenza.

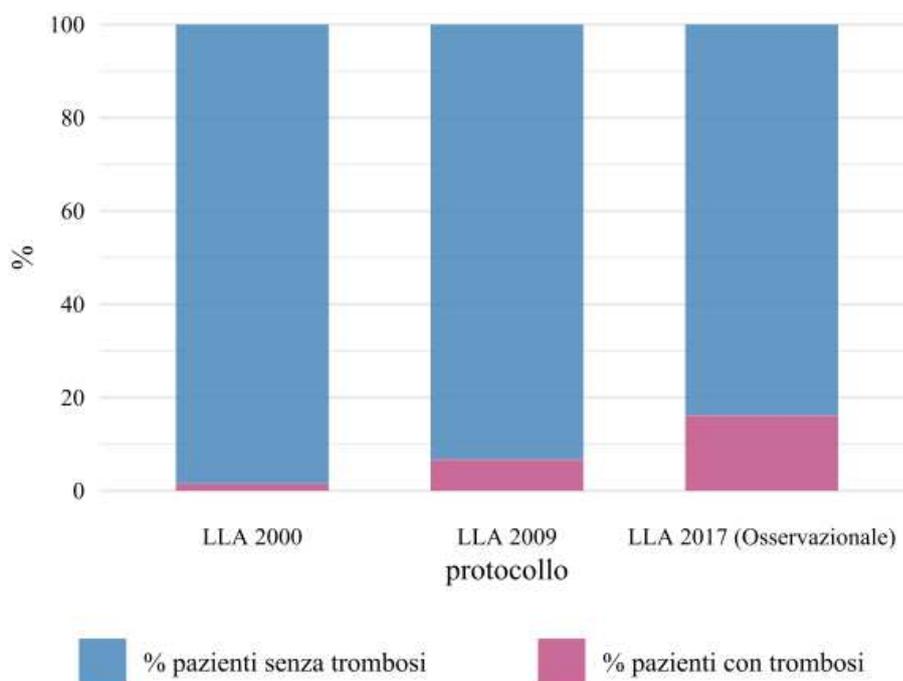


Grafico 9. Incidenza di TE nei pazienti affetti da LLA dal 2000 al 2021.

In totale sono stati studiati 41 TEV (22 TVC e 19 TVS) insorti in 36 pazienti. Considerando separatamente i protocolli, sono insorte 7 TVC e 2 TVS nel AIEOP-BFM ALL 2000, 7 TVC e 5 TVS nel ALL 2009, 7 TVC e 11 TVS nel ALL 2017 (Osservazionale) e finora 1 TVC e 1 TVS nel ALL 2017 (vedi Tabella XVII).

Protocollo AIEOP-BFM	Totale¹, N = 41	TVC¹, N = 22	TVS¹, N = 19
ALL 2000	9	7	2
ALL 2009	12	7	5
ALL 2017 (Osservazionale)	18	7	11
ALL 2017	2	1	1

¹n casi

Tabella XVII. Distribuzione delle TVC e TVS nei protocolli per LLA.

Nell'83% dei casi il TEV è insorto in una pB-LLA, mentre nel 17% dei casi in una T-LLA. L'analisi statistica ha riscontrato l'immunofenotipo come unica variabile statisticamente significativa nel confronto tra TVC e TVS ($p=0.036$): l'incidenza delle TVC è risultata significativamente maggiore nelle pB-LLA (95% dei casi), mentre le T-LLA sono state colpite per la quasi totalità (6 casi su 7) da TVS.

Informazioni riguardo il braccio di rischio terapeutico erano disponibili in 32 casi: il 75% degli eventi si è sviluppato in un paziente appartenente al rischio standard (SR) o intermedio (MR), mentre il 25% al rischio alto (HR).

È stato possibile rilevare la fase di terapia al momento di esordio della trombosi in 37 casi. La fase più frequentemente soggetta all'insorgenza di complicanze tromboemboliche è risultata l'induzione (65%), in particolare 17 episodi sono stati riscontrati durante l'induzione IA e 7 durante l'induzione IB. A seguire per frequenza la reinduzione con 8 casi (22%), l'esordio con 4 casi (11%) e infine il mantenimento con un caso (2.7%). Non sono state riscontrate differenze significative nella distribuzione per fase di terapia tra le TVC e le TVS.

Difetti genetici protrombotici erano presenti alla base in 9 episodi di trombosi (22%), in particolare 6 TVC e 3 TVS. Dei 9 casi di trombofilia ereditaria, 6 erano rappresentati dalla mutazione del fattore II o protrombina G20210A in eterozigosi e 3 dalla mutazione del fattore V Leiden in eterozigosi.

La presenza di infezione si è dimostrata rilevante in questo studio, contando circa un terzo degli eventi (13 su 41). Il riscontro di infezione si è inoltre distribuito uniformemente tra le TVC e le TVS.

La trigliceridemia era disponibile in 34 casi. L'ipertrigliceridemia (valore di trigliceridi > 1.7 mmol/L) è stata riportata nel 32% degli eventi (11 su 34). È stata riscontrata una differenza nella presenza di ipertrigliceridemia tra TVC e TVS, anche se non statisticamente significativa ($p=0.11$): il 44% delle TVC era caratterizzato da un valore di trigliceridi superiore al cutoff.

Per quanto riguarda lo stato coagulativo rilevato in prossimità dell'esordio dei sintomi, in 31 episodi (76%) la conta piastrinica è risultata superiore al cutoff considerato di $100.000/\mu\text{L}$. Dei 10 casi in cui la conta piastrinica era inferiore alle $100.000/\mu\text{L}$ in concomitanza dei sintomi, in 3 sono state trasfuse piastrine prima della diagnosi strumentale di trombosi.

Un PT superiore al 40% è stato osservato in una netta maggioranza di eventi (93%). L'attività di antitrombina è risultata inferiore al 50% in 9 episodi (22%), nella maggioranza TVC ($p=0.14$): tra le trombosi venose cerebrali, circa un terzo erano caratterizzate da una carenza di AT. 6 dei 9 casi con insufficiente attività di antitrombina all'esordio dei primi sintomi sono stati supplementati con AT.

Infine, è stato preso in considerazione il fibrinogeno, risultato superiore al valore di 0.5 g/L in 37 eventi (90%). In uno dei quattro casi in cui il livello era inferiore a 0.5 g/L è avvenuta la somministrazione di fibrinogeno prima della diagnosi strumentale di trombosi. Nessuna differenza significativa è stata rilevata nei parametri coagulativi considerati tra TVC e TVS.

In 10 casi (24%) è stata eseguita una trasfusione di plasma, piastrine, AT o fibrinogeno nei sette giorni antecedenti l'evento tromboembolico. La trasfusione di plasma era avvenuta in 3 casi su 10, quella di piastrine in 6 casi, l'antitrombina era stata supplementata in 3 casi e il fibrinogeno in 2.

La tabella XVIII descrive la percentuale delle variabili considerate (immunofenotipo, braccio di rischio, fase di terapia, trombofilia, infezione, ipertrigliceridemia, conta piastrinica, PT, AT e fibrinogeno) all'interno della popolazione pediatrica affetta da LLA inclusa nello studio, ponendo un confronto tra le TVC e le TVS. Come precedentemente affermato, l'unica variabile risultata statisticamente significativa nel rilevare una differenza tra TVC e TVS è stata l'immunofenotipo.

Variabili	N	Totale¹, N = 41	TVC¹, N = 22	TVS¹, N = 19	p-value²
Immunofenotipo	41				0.036
B		34 (83%)	21 (95%)	13 (68%)	
T		7 (17%)	1 (5%)	6 (32%)	
Braccio di rischio	32				0.2
HR		8 (25%)	2 (13%)	6 (35%)	
SR/MR		24 (75%)	13 (87%)	11 (65%)	
Fase di terapia	37				0.3
Esordio		4 (11%)	2 (10%)	2 (12%)	
Induzione		24 (65%)	11 (55%)	13 (76%)	
Mantenimento		1 (3%)	1 (5%)	0 (0%)	
Reinduzione		8 (22%)	6 (30%)	2 (12%)	
Trombofilia	41				0.5
Assente		32 (78%)	16 (73%)	16 (84%)	
Presente		9 (22%)	6 (27%)	3 (16%)	
Infezione	41				0.5
Assente		28 (68%)	16 (73%)	12 (63%)	
Presente		13 (32%)	6 (27%)	7 (37%)	
Ipertrigliceridemia	34				0.11
Assente		23 (68%)	10 (56%)	13 (81%)	
Presente		11 (32%)	8 (44%)	3 (19%)	
Piastrine	41				0.5
<100.000 µ/L		10 (24%)	4 (18%)	6 (32%)	
>100.000 µ/L		31 (76%)	18 (82%)	13 (68%)	
PT	41				>0.9
>40%		38 (93%)	20 (91%)	18 (95%)	
<40%		3 (7%)	2 (9%)	1 (5%)	
AT	41				0.14
>50%		32 (78%)	15 (68%)	17 (89%)	
<50%		9 (22%)	7 (32%)	2 (11%)	
Fibrinogeno	41				0.6
>0.5 g/L		37 (90%)	19 (86%)	18 (95%)	
<0.5 g/L		4 (10%)	3 (14%)	1 (5%)	

¹n (%) ²Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test.

Tabella XVIII. Confronto tra TVC e TVS nei pazienti affetti da LLA.

Analisi dei fattori di rischio in bambini affetti da LLA (protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017)

Questa analisi ha preso in considerazione un'ampia popolazione trattata in modo omogeneo nell'arco di 10 anni (2012-2022). Delle variabili prese in esame, soltanto due si sono dimostrate statisticamente significative ($p < 0.05$) nel determinare un aumento del rischio di trombosi nella popolazione generale affetta da LLA.

L'analisi riguardo l'età all'esordio di LLA (tabella XIX) non ha dimostrato una differenza statisticamente significativa tra la popolazione che ha sviluppato trombosi e quella senza, con una mediana di età rispettivamente di 6 anni e di 5 anni ($p = 0.4$).

Variabile	N	Totale¹, N = 276	Non TE¹, N = 247	TE¹, N = 29	p-value²
Età	276	5 (3, 10)	5 (3, 9.5)	6 (3, 11)	0.4

¹Mediana (scarto interquartile) ²Wilcoxon rank sum test

Tabella XIX. Confronto dell'età all'esordio di LLA tra la popolazione che ha sviluppato TE e quella senza (protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017).

Dell'intera popolazione diagnosticata con LLA dal gennaio 2012 al luglio 2021, hanno sviluppato trombosi 29 pazienti su 276, dato che corrisponde ad un'incidenza percentuale del 10.5%. Considerando invece separatamente i due protocolli, le incidenze risultano pari a 6.7% nel AIEOP-BFM ALL 2009 e 16.1% nel 2017 (Osservazionale). L'analisi statistica ha dimostrato una differenza statisticamente significativa ($p = 0.013$) tra i due protocolli, evidenziando un sostanziale aumento dell'incidenza di TE nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2017 (Osservazionale).

La popolazione oggetto di studio era caratterizzata da 117 femmine (42%) e 159 maschi (58%). Eventi tromboembolici sono insorti in 7 femmine (24%) e 22 maschi (76%), dati che hanno dimostrato un'associazione statisticamente significativa ($p = 0.035$) tra il sesso maschile e lo sviluppo di TE nella popolazione pediatrica affetta da LLA del nostro studio.

Per quanto riguarda la conta di globuli bianchi (WBC) all'esordio di leucemia, il 79% della popolazione studiata si è presentata con un valore inferiore a 50.000/ μ L, il 6.5% con un valore compreso tra 50.000 e 100.000/ μ L e il 14% con un valore superiore a 100.000/ μ L. Tra i bambini che hanno sviluppato successivamente trombosi, 22 (76%) hanno esordito con un valore < 50.000/ μ L, 4 (14%) con un valore compreso tra 50.000 e 100.000/ μ L e 3 (10%) con un valore > 100.000/ μ L.

Le pB-LLA rilevate erano pari all'84% sul totale dei pazienti, mentre le T-LLA pari al 16%. 23 pazienti (79%) hanno visto l'insorgenza di TE in una pB-LLA e 6 (21%) in una T-LLA. In questo caso non si è dunque individuata un'associazione significativa tra immunofenotipo e incidenza di TE ($p=0.6$).

Informazioni circa il braccio di rischio terapeutico di appartenenza erano disponibili in 269 pazienti. Della popolazione generale affetta da LLA, il 22% ha preso parte al braccio di rischio standard (SR), il 50% al rischio intermedio (MR) e il 29% al rischio alto (HR). I 29 pazienti con trombosi si sono distribuiti nei vari bracci parallelamente alla popolazione generale: rispettivamente 7 (24%) nel SR, 14 (48%) nel MR e 8 (28%) nell'HR. Per la variabile "braccio di rischio" l'analisi non ha dimostrato alcuna associazione con lo sviluppo di TE sia considerando separatamente i tre bracci, sia considerando come unica categoria il rischio standard e quello intermedio.

Per ogni paziente sono state poi studiate due condizioni predisponenti rilevate all'esordio di leucemia (presenza di difetti genetici protrombotici e obesità) che in questo studio non hanno dimostrato un'associazione con lo sviluppo di trombosi.

L'incidenza di trombofilia ereditaria nella popolazione generale affetta da LLA è risultata pari al 6.2%, contando 17 casi su 276. Nel dettaglio, 8 pazienti (47%) erano portatori di mutazione del fattore V Leiden in eterozigosi, 5 (29%) di mutazione del fattore II o protrombina G20210A in eterozigosi e 4 (24%) possedevano una carenza ereditaria della proteina S. Un unico paziente tra coloro che hanno sviluppato trombosi (3.4%) era portatore di difetto genetico trombofilico (mutazione del fattore V Leiden in eterozigosi).

È importante sottolineare che i pazienti affetti da trombofilia ereditaria della popolazione oggetto di studio (protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017) venivano sottoposti a profilassi anticoagulante secondo le indicazioni di Mitchell et al (110).

All'interno della popolazione generale affetta da LLA il 2.5% era obeso all'esordio, mentre nella popolazione caratterizzata dall'incidenza di trombosi la percentuale è risultata di 3.4%, contando un unico paziente su 29.

La tabella XX descrive la distribuzione delle variabili considerate e l'associazione con lo sviluppo di trombosi all'interno della popolazione generale affetta da LLA dei protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017.

Variabili	N	Totale¹, N = 276	Non TE¹, N = 247	TE¹, N = 29	p-value²
Protocollo	276				0.013
2009		164 (59%)	153 (62%)	11 (38%)	
2017 (Osservazionale)		112 (41%)	94 (38%)	18 (62%)	
Sesso	276				0.035
Femmina		117 (42%)	110 (45%)	7 (24%)	
Maschio		159 (58%)	137 (55%)	22 (76%)	
WBC all'esordio di LLA	276				0.2
< 50000 µ/L		218 (79%)	196 (79%)	22 (76%)	
50-100000 µ/L		18 (7%)	14 (6%)	4 (14%)	
> 100000 µ/L		40 (14%)	37 (15%)	3 (10%)	
Immunofenotipo	276				0.6
B		231 (84%)	208 (84%)	23 (79%)	
T		45 (16%)	39 (16%)	6 (21%)	
Braccio di rischio	269				>0.9
SR		58 (22%)	51 (21%)	7 (24%)	
MR		134 (50%)	120 (50%)	14 (48%)	
HR		77 (29%)	69 (29%)	8 (28%)	
Braccio di rischio cat2	269				0.9
SR/MR		192 (71%)	171 (71%)	21 (72%)	
HR		77 (29%)	69 (29%)	8 (28%)	
Trombofilia ereditaria	276				>0.9
Assente		259 (94%)	231 (94%)	28 (97%)	
Presente		17 (6%)	16 (6%)	1 (3%)	
Obesità	276				0.5
Assente		269 (97%)	241 (98%)	28 (97%)	
Presente		7 (3%)	6 (2%)	1 (3%)	

¹n (%) ²Pearson's Chi-squared test; Fisher's exact test

Tabella XX. Distribuzione delle variabili eventualmente associate a TE nella popolazione generale affetta da LLA tra gennaio 2021 e luglio 2021.

DISCUSSIONE

La diagnosi di tromboembolismo viene eseguita sempre più spesso nei reparti di pediatria. Con il miglioramento all'assistenza dei bambini malati critici, sembra essersi verificato un aumento dell'incidenza di trombosi come complicanza perlopiù secondaria. Il cancro è un'importante fattore di rischio di TE nei pazienti pediatrici. L'incidenza delle trombosi sintomatiche nella popolazione pediatrica oncologica varia da 2.1 a 16%, mentre quella delle trombosi asintomatiche è significativamente più alta (circa 40%). Le variazioni di incidenza riportate in letteratura sono dovute alla differenza nei metodi diagnostici, nel disegno dello studio, nella presenza di fattori di rischio e comorbidità e nell'uso di protocolli chemioterapici diversi. I bambini affetti da cancro che sviluppano TE hanno un rischio maggiore di morte, di recidiva di TE e di morbidità correlata al TE (47,51). Il Registro Italiano Trombosi Infantili (R.I.T.I.) è stato istituito con l'obiettivo di raggiungere una migliore consapevolezza riguardo i fenomeni trombotici nell'età pediatrica in Italia, al fine di promuovere futuri sviluppi nello studio del riconoscimento e della gestione di queste complicanze.

In accordo con gli obiettivi del R.I.T.I., abbiamo identificato e analizzato tutti gli episodi di trombosi segnalati nei bambini e adolescenti affetti da neoplasie ematologiche (leucemie e linfomi) nel nostro centro.

Questo studio descrive l'esperienza della Clinica di Oncoematologia Pediatrica di Padova a partire dal 2000 sino ad oggi. Sono stati identificati 44 pazienti affetti da leucemia acuta (LLA e LMA) o linfoma (LH e LNH) nei quali sono insorti 52 eventi trombotici. È stata eseguita un'analisi descrittiva dell'intero campione per quanto riguarda epidemiologia, fattori di rischio, presentazione clinica, diagnosi, terapia e outcome. Successivamente, data la sua prevalenza all'interno del campione (36 pazienti su 44), sono stati approfonditi i casi di TE in LLA. In particolare, è stato posto un confronto tra TVC e TVS e si è studiata l'influenza di determinate condizioni predisponenti sullo sviluppo di trombosi nella popolazione generale affetta da LLA.

L'incidenza di TE nella LMA e nei linfomi è, nella nostra esperienza, inferiore a quanto segnalato in letteratura (54,56).

Dei 72 pazienti diagnosticati con LMA a partire dal protocollo LAM2002, soltanto due (2.8%) hanno sviluppato TE, a dimostrazione del fatto che la trombosi sembra essere più frequente nella leucemia acuta linfoblastica rispetto alla mieloide. Non si tratta quindi di una complicanza importante nell'ambito del trattamento delle LMA, probabilmente per la assenza di farmaci quali steroidi e L-Asparaginasi e per la profonda e prolungata aplasia che caratterizza il trattamento chemioterapico e non permette ai fattori protrombinici eventualmente presenti di esercitare il loro ruolo in tempi adeguati.

In letteratura, l'incidenza di TE nei pazienti affetti da LH varia da 3.9% a 11.5% (56). Nel registro R.I.T.I. sono stati inseriti in totale 5 pazienti affetti da LH con diagnosi di TE (1 appartenente al protocollo AIEOP LH 2004 e 4 al protocollo EuroNet-PHL-C2). L'incidenza generale di trombosi nei LH è risultata di 2.4%, ma se si prende in considerazione solamente il protocollo EuroNet-PHL-C2, questa incrementa notevolmente raggiungendo un valore pari a 7.3% (4 su 55). L'incidenza complessiva più bassa rispetto a quella riscontrata in letteratura, così come l'aumento delle diagnosi di TE nell'ultimo protocollo, possono essere spiegati con il fatto che in Clinica si è iniziato a schedare l'evento trombosi nei linfomi soltanto a partire dal protocollo EuroNet-PHL-C2, in corso dal 2017, quindi è probabile che manchino dei casi relativi al periodo precedente. Le trombosi rilevate nell'ambito dei linfomi sono quasi esclusivamente sistemiche e dovute principalmente all'effetto del catetere. Un ruolo dato dalla presenza di massa mediastinica può essere sospettato nei casi di trombosi all'esordio (2 eventi).

Per quanto riguarda i bambini affetti da LLA dal 2000 ad oggi, invece, 36 su 629 hanno sviluppato trombosi, determinando un'incidenza percentuale pari al 5.7%, valore molto simile al 5.2% rilevato nella metanalisi di Caruso et al. tuttora preso come riferimento (52). Escludendo il protocollo attualmente in corso (AIEOP-BFM ALL 2017), la nostra analisi ha inoltre dimostrato un aumento statisticamente significativo ($p < 0.001$) dell'incidenza di TE nei protocolli introdotti in successione dal 2000 ad oggi: si passa da 1.5% nel corso del protocollo AIEOP-BFM ALL 2000, a 6.7% durante il protocollo 2009 e 16.1% durante la fase osservazionale del protocollo 2017. Questa osservazione conferma i risultati di studi precedenti che mostrano un aumento dell'incidenza di TE negli ultimi anni nei pazienti pediatrici oncologici, incremento di non chiara giustificazione. La maggiore consapevolezza

del TE come complicanza secondaria e la disponibilità di tecniche radiologiche sempre migliori possono avere determinato una più accurata diagnosi e segnalazione di questa complicanza (51). D'altra parte, i casi presi in esame sono tutti sintomatici e rispondono ai criteri di severità richiesti per la segnalazione di Trombosi secondo l'indicazione del Ponte di Legno Toxicity Working Group, ovvero almeno una severità di grado 2. Con queste premesse si può giustificare l'aumento di segnalazione dei casi negli ultimi 10 anni rispetto al periodo relativo al protocollo AIEOP-BFM ALL 2000, ma non si può fare altrettanto per le diverse incidenze del protocollo 2017 rispetto al 2009.

L'incidenza di TE osservata nel corso del protocollo AIEOP-BFM ALL 2000 (1.5%) è molto più bassa rispetto a quella dei protocolli successivi. A tal proposito, bisogna far presente che la richiesta di segnalazione dei casi di TE nell'ambito della sorveglianza prevista per i protocolli cooperativi è stata sottolineata in tempi più recenti: solo a partire dal protocollo 2009 è obbligatoria la segnalazione e la descrizione di ogni caso osservato. Inoltre, le trombosi cerebrali possono essere descritte anche in ambito di patologia vascolare neurologica e quindi sfuggire al controllo dei dati. Ciononostante, il registro delle complicanze nel nostro Centro è sempre stato accurato e quindi la mancata identificazione dei casi sembra poco probabile.

Successivamente, invece, osserviamo un netto aumento di incidenza dei casi di TE, con un picco a carico del periodo di tempo 2017-2021, che corrisponde al protocollo ALL 2017 (Osservazionale). Il trattamento previsto da questo protocollo è caratterizzato da alcune modifiche rispetto ai protocolli precedenti. Un elemento che invece è rimasto uguale nelle diverse generazioni è il tipo di steroide utilizzato. A partire dal protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 è stata introdotta una diversa L-Asparaginasi, pegilata e quindi ad attività prolungata. La sua somministrazione, eseguita a dosaggi elevati, differisce da quella del protocollo precedente soprattutto perché non modulabile, né per quanto riguarda il dosaggio, né per quanto riguarda la possibilità di omettere delle dosi. Per questo motivo, la comparsa di complicanze trombotiche nel primo periodo di applicazione del protocollo e l'osservazione di alterazioni significative dei parametri coagulativi, sia in senso pro-trombotico che emorragico, ha costretto ad un diverso approccio alla terapia di supporto. Per esempio, la supplementazione con plasma fresco concentrato (PFC) è stata molto ridotta, sia per il suo ruolo nell'aumentare il rischio trombotico, sia per la possibile

correzione della deplezione di asparagina. Di contro, è stata favorita la correzione dei deficit di antitrombina quando presenti.

Inoltre, è stata introdotta la profilassi con LMWH per i pazienti che, secondo le indicazioni di Mitchell (110) avevano punteggi di rischio elevato. Questi ultimi sono rappresentati, nella nostra casistica, da tutti i bambini con presenza di fattore trombofilico familiare (mutazioni genetiche o forte familiarità).

La differenza così importante nell'incidenza di TE tra il protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 e il 2017 (6.7% vs 16.1%) potrebbe essere ricondotta alla diversa localizzazione di trombosi nei due protocolli (vedi oltre).

Diversi studi precedenti hanno dimostrato una maggiore incidenza di TE nei bambini di età maggiore, dovuta al declino fisiologico dei parametri anticoagulanti e fibrinolitici che avviene con l'aumentare degli anni (60) e all'influenza della pubertà e della produzione ormonale ad essa connessa, come suggerito dal picco bimodale in fase adolescenziale mostrato dagli studi epidemiologici (119). Nel nostro studio la mediana dell'età al momento di insorgenza di TE è risultata di 8 anni, la media di 8.9 anni. Nonostante il campione ristretto, la distribuzione dell'età ha mostrato un andamento bimodale, come descritto in letteratura. La mediana d'età, così come la media, è risultata maggiore nelle femmine rispetto ai maschi nell'intera popolazione, senza tuttavia rappresentare una differenza statisticamente significativa tra i due sessi. Prendendo in considerazione solo i pazienti affetti da linfoma, invece, la media d'età risulta pari a 14.5, considerevolmente più alta rispetto a quella dell'intero campione. Questa differenza è verosimilmente dovuta al fatto che la diagnosi di linfoma avviene con maggiore probabilità nella fascia adolescenziale. Abbiamo inoltre studiato l'età nella popolazione generale con LLA all'interno dei protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017 e, anche in questo caso, non si è riscontrata una differenza significativa nella popolazione che ha sviluppato TE. La mediana d'età in quest'ultima è risultata di 6 anni, valore molto minore rispetto alle età generalmente segnalate in letteratura.

Complessivamente, abbiamo osservato un tasso di TE significativamente più alto nei pazienti di sesso maschile rispetto a quelli di sesso femminile, che rappresentavano rispettivamente il 70% e il 30% della popolazione oggetto di studio. Un'analisi più approfondita ha dimostrato un'associazione statisticamente

significativa ($p=0.035$) tra il sesso maschile e lo sviluppo di TE nella popolazione pediatrica affetta da LLA appartenente ai protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017 (Osservazionale). Una predominanza maschile è stata riportata anche in diversi altri studi (52,57,59,60,67). La spiegazione a questo fenomeno non è suggerita in letteratura: il ruolo dello sviluppo puberale non è stato chiarito e merita una più approfondita analisi. Ricordiamo anche che in tutte le ragazze con menarca avvenuto, l'attività ciclica ormonale veniva soppressa farmacologicamente per evitare il rischio di emorragie uterine in primo luogo.

La trombosi di origine venosa è molto più diffusa della trombosi arteriosa nei pazienti pediatrici oncologici. A dimostrazione di ciò, il nostro studio ha rilevato un'unica trombosi arteriosa sul totale (2%). Tra le trombosi venose, il 46% si è localizzato a livello cerebrale e il 52% a livello sistemico, di cui tre casi a livello intra-atriale. Il 59% delle trombosi sistemiche era correlato alla presenza del catetere venoso. Negli altri casi è stata quasi sempre osservata una causa locale (ad esempio infezione o procedura invasiva).

Nell'analisi che ha incluso solamente gli eventi insorti nei pazienti affetti da LLA, fino al protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 erano predominanti le TVC (7 TVC vs 5 TVS) mentre nel protocollo ALL 2017 (Osservazionale) a prevalere sono risultate le TVS (7 TVC vs 11 TVS). È evidente che il numero assoluto di TVC è lo stesso, con diversa incidenza percentuale nei vari protocolli (4.3% nel ALL 2009 e 6.2% nel ALL 2017). Inoltre, le 19 TVS verificatesi nei bambini con LLA sono in gran parte correlate a un CVC (12/19, 63%), oppure secondarie a processi locali, quali infezioni (2/19, 11%) o procedure invasive come l'accesso venoso (3/19, 16%).

Una possibile spiegazione di questo andamento potrebbe essere legata forse all'uso più frequente di cateteri venosi anche non tunnellizzati (PICC o Midline).

Tutti i pazienti presi in esame erano portatori di catetere venoso, singolo fattore di rischio più frequente di trombosi pediatrica (67). Secondo diversi studi, la trombosi del distretto venoso superiore associata a catetere è particolarmente comune nei pazienti oncologici pediatrici (26). La nostra analisi è risultata essere in accordo con quanto evidenziato in precedenza: infatti, la trombosi catetere-correlata ha coinvolto nell'87% dei casi il sistema venoso del collo o dell'arto superiore destro. Per quanto riguarda la tipologia di catetere venoso, un CVC di tipo Broviac è stato

coinvolto nel 44% delle trombosi catetere-correlate, un PICC nel 25%, un Midline nel 13%, un catetere per dialisi di tipo Quinton nel 13% e un CVC di tipo Power nel 6%. L'ultimo studio del registro R.I.T.I. ha confermato come nonostante la relativa facilità d'uso, il PICC presenti un rischio sostanziale di trombosi, simile o superiore a quello dei cateteri centrali tunnellizzati (78).

Tra i pazienti che hanno sviluppato trombosi sistemica, solo il 32% ha richiesto la rimozione dell'accesso vascolare con necessità di riposizionamento. Nella coorte italiana di Giordano et al. questa proporzione è stata notevolmente inferiore (6%), tuttavia essa non comprendeva solamente bambini oncologici (99). Aver permesso di mantenere in sede il catetere in circa due terzi dei casi è comunque da considerarsi un buon risultato della terapia antitrombotica instaurata.

Nel nostro campione di eventi trombotici nei pazienti affetti da LLA, il 79% è insorto in una pB-LLA e il 21% in una T-LLA. L'analisi statistica non ha dimostrato un'associazione tra immunofenotipo ed incidenza di TE, contrariamente alla tesi di Giordano et al. poi confermata da diversi studi, secondo cui vi è una maggior prevalenza di fenomeni trombotici nell'immunofenotipo T (71). L'immunofenotipo si è però rilevato essere l'unica variabile statisticamente significativa nel confronto tra TVC e TVS ($p=0.036$): l'incidenza delle TVC è risultata considerevolmente maggiore nelle pB-LLA (95%), mentre le T-LLA sono state colpite per la quasi totalità da TVS.

Nella popolazione oggetto di studio affetta da LLA, il 75% degli eventi si è sviluppato in un braccio di rischio terapeutico standard (SR) o intermedio (MR), mentre il 25% in un rischio alto (HR). Secondo diversi studi la malattia ad alto rischio ha più probabilità di sviluppare trombosi (66,73,111). La nostra analisi, tuttavia, non ha dimostrato alcuna associazione tra braccio di rischio e incidenza di complicanze tromboemboliche.

La maggior parte degli eventi trombotici nei pazienti affetti da LLA si è verificata durante la fase terapeutica di Induzione (65% dei casi), osservazione in linea con gli studi presenti in letteratura. Una possibile spiegazione di tale predominanza si deve al fatto che la fase iniziale della terapia è caratterizzata dall'interazione di

molteplici fattori di rischio, come la chemioterapia (combinazione di L-Asp e steroidi) e la neoplasia attiva che contribuisce alla trombogenicità (45,52,53).

L-Asparaginasi e steroidi sono due importanti componenti della chemioterapia che, con meccanismi differenti, contribuiscono a creare una condizione protrombotica; se somministrati in combinazione il rischio di sviluppare trombosi incrementa notevolmente (45,46,52). Nel nostro studio gli steroidi sono stati somministrati in prossimità dell'evento trombotico nell'83% dei casi, sia in pazienti affetti da leucemia che da linfoma. Abbiamo inoltre rilevato che nella maggior parte di essi il paziente aveva assunto steroidi in corrispondenza della diagnosi di TE. Lo steroide utilizzato sia nelle induzioni di LLA che nei LH è il prednisolone. In letteratura, alcuni sostengono un maggior rischio trombotico in caso di utilizzo di desametasone (60), ma questo non è confermato dalla nostra esperienza, poiché la maggior parte dei casi è avvenuta in Induzione (con prednisone) e non in Reinduzione (con desametasone). Come detto in precedenza, è probabilmente la composizione di più fattori trombogenici, maggiormente presenti in fase di Induzione, ad essere determinante del definitivo sviluppo dell'evento trombotico.

La L-Asp era invece stata somministrata prima dell'evento trombotico nel 65% dei casi (tutti LLA), sempre in combinazione a steroidi, con una media di giorni all'evento pari a 18.7 e una mediana di 9. La maggior parte dei pazienti aveva ricevuto due dosi di L-Asp prima della comparsa di trombosi, in accordo con l'insorgenza in Induzione della maggior parte degli episodi.

Abbiamo studiato il ruolo dello stato coagulativo (misurato in prossimità dell'esordio dei sintomi) nei pazienti con LLA. In oltre tre quarti degli eventi trombotici la conta piastrinica era superiore alle 100.000/ μ L, mentre il PT era superiore al 40% nella quasi totalità dei casi. La sostanziale normalità della conta piastrinica si osserva soprattutto nella fase conclusiva dell'induzione nelle LLA, quando l'aplasia dovuta alla leucemia lascia spazio alle anomalie discoagulative dovute ai farmaci (steroidi e L-Asp). È rilevante il riscontro dell'AT inferiore al 50% in una percentuale non trascurabile di casi (22%), nella maggioranza trombosi venose cerebrali: quasi un terzo di esse presentava una carenza di AT. Infine, come era prevedibile, il fibrinogeno è risultato superiore al valore di 0.5 g/L in una netta maggioranza dei casi. Al fine di raccomandare un monitoraggio dello stato coagulativo ed eventuali interventi terapeutici, uno studio caso-controllo si era proposto in passato di dimostrare un'associazione tra squilibri della coagulazione e

incidenza di TE fallendo però in questo tentativo (60). La scarsità dei numeri ha impedito di ottenere risposte nella maggior parte degli studi con questo obiettivo, che richiede invece la collaborazione di gruppi numerosi ed omogenei, come nel recente studio tedesco del BFM (106).

Per quanto riguarda gli effetti collaterali metabolici della L-Asp (ma anche degli steroidi), è interessante lo studio di Bhojwani et al., che ha evidenziato come circa il 20% dei pazienti affetti da LLA con ipertrigliceridemia severa abbia sviluppato TEV (92). La nostra analisi ha voluto approfondire questo aspetto, osservando la presenza di ipertrigliceridemia (trigliceridi > 1.7 mmol/L) nel 32% degli eventi. Il 44% delle TVC era caratterizzato da un valore di trigliceridi superiore al cutoff, determinando una minima differenza ($p=0.11$) rispetto alle TVS. Sono necessari ulteriori studi per determinare se l'ipertrigliceridemia abbia un ruolo nell'incidenza di TE, specie nel distretto intracranico.

In tutti i pazienti inseriti nel registro è stato eseguito lo screening per trombofilia ereditaria ed è risultato positivo nel 20% (9 pazienti su 44). La mutazione trombofilica più frequentemente riscontrata è stata quella del gene del fattore II o protrombina G20210A in eterozigosi (9% dei pazienti), seguita dalla mutazione del fattore V Leiden in eterozigosi (4.5%). Altri difetti genetici protrombotici rilevati sono stati la carenza di proteina C (2%) e la mutazione in omozigosi del gene MTHFR (4.5%). Lo studio che abbiamo eseguito nei pazienti appartenenti ai protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017 (Osservazionale) ha rilevato un'incidenza di trombofilia ereditaria nella popolazione generale affetta da LLA pari al 6.2%; nella popolazione che ha sviluppato trombosi, invece, l'incidenza è risultata pari al 3.4%, contando un unico paziente portatore di mutazione del fattore V Leiden in eterozigosi. L'analisi statistica non ha rilevato alcuna associazione tra presenza di trombofilia ereditaria e sviluppo di trombosi in questa popolazione. Questo risultato è particolarmente rilevante perché, a partire dal protocollo AIEOP-BFM ALL 2009, i pazienti affetti da LLA con trombofilia ereditaria sono stati sottoposti a profilassi anticoagulante secondo le indicazioni di Mitchell et al. (110). Se consideriamo che la prevalenza di trombofilia ereditaria nello studio di Santoro et al., che faceva riferimento al protocollo AIEOP-BFM ALL 2000, era pari al 20% delle diagnosi di trombosi per quanto riguarda la mutazione del fattore V Leiden e

al 10.7% per la mutazione della protrombina G20210A, nei protocolli successivi osserviamo quasi un annullamento della presenza di tali mutazioni tra le diagnosi di TE. Questa evidenza dimostra il notevole beneficio della profilassi anticoagulante nei pazienti portatori di difetti genetici protrombotici. Quest'ultima, inoltre, si è rivelata scevra di complicanze emorragiche, grazie ad un attento monitoraggio e a una corretta modulazione del farmaco in base alla conta piastrinica.

Le infezioni e la sepsi sono una complicanza ben nota nei pazienti sottoposti a chemioterapia intensiva. Inoltre, la presenza di cateteri venosi aumenta il rischio di infezione (25). È stata registrata la presenza di infezione concomitante nel 29% degli eventi trombotici, percentuale che sembra confermare le evidenze secondo cui ci possa essere un legame tra sepsi e squilibrio della coagulazione. A risultare positivo più frequentemente all'emocoltura è stato il CMV, seguito dall'EBV; il 27% dei casi era invece rappresentato da infezioni fungine. Sorprendentemente, non è stata osservata alcuna differenza nel riscontro di infezione tra le TVC e le TVS.

Tra i fattori di rischio è stata presa in considerazione anche l'obesità, condizione riscontrata in un unico paziente all'interno del campione. Uno studio retrospettivo del 2018 ha riscontrato che l'obesità nei pazienti pediatrici affetti da LLA di nuova diagnosi è fortemente associata al TEV sintomatico (91). La nostra analisi, tuttavia, non ha osservata un'associazione significativa tra obesità e sviluppo di TE nella popolazione generale affetta da LLA. L'incidenza di obesità nella nostra popolazione generale pediatrica, in particolare fra i bambini trattati presso il nostro Centro, è probabilmente diversa rispetto a quella nordamericana di riferimento.

La trombosi cerebrale è un evento clinicamente grave, che provoca sintomi neurologici anche severi, rischio di complicanze neurologiche a lungo termine (5-18%) e prolungate interruzioni o riduzioni della chemioterapia (60%). A dimostrazione di ciò, un quarto dei casi studiati nella nostra casistica ha richiesto ricovero iniziale in Terapia Intensiva. Per quanto riguarda la presentazione clinica delle TVC, i sintomi predominanti sono stati cefalea (50%), crisi epilettiche (33%) e vomito (29%). Nel 68% dei casi la trombosi si è manifestata con almeno un sintomo o segno suggestivo di ipertensione endocranica. Il 33% degli eventi ha

presentato segni neurologici diffusi, tra cui letargia, sopore e irritabilità. Sintomi neurologici focali (compromissione del tono muscolare, emisindrome motoria, paralisi dei nervi cranici, disturbi del linguaggio) erano presenti nel 41% dei casi. Questo quadro clinico riflette quanto generalmente riportato in altri studi (93,94). Si raccomanda di non sottovalutare sintomi comuni come la cefalea isolata o in combinazione a nausea e vomito per non ritardare la diagnosi di trombosi cerebrale. La media del tempo richiesto per la diagnosi di TVC è risultata di 5.3 giorni, mentre la mediana di 2.5 giorni. Quasi l'88% dei casi è stato sottoposto a RM con e senza mezzo di contrasto e quasi il 96% ad angio-RM venosa; la combinazione dei due esami radiologici è risultata sempre diagnostica. Il ricorso all'angio-RM venosa è stato osservato più frequentemente nella nostra esperienza e nel registro italiano R.I.T.I. L'uso precoce dell'angio-RM venosa, riconosciuta come strumento diagnostico fondamentale in questo contesto (96), riflette una progressiva maggior consapevolezza del rischio e del significato che una trombosi presenta nell'ambito dell'emato-oncologia, migliorando la capacità diagnostica e la rapidità nel sospetto clinico. La TC è stata eseguita come primo approccio strumentale nella metà dei casi ed è risultata diagnostica a sua volta nella metà di essi. Le ragioni del suo ampio utilizzo, nonostante l'inferiorità rispetto alle strategie diagnostiche precedentemente illustrate, possono essere individuate nella più facile disponibilità di questo esame, anche nelle situazioni di emergenza in cui non c'è tempo per la sedazione.

Analogamente alla coorte di DeVeber et al., i seni venosi sono risultati ampiamente i più coinvolti (94) e in soli tre casi la trombosi si è estesa anche al sistema venoso extracranico (vene giugulari interne). In ordine di frequenza, la trombosi dei seni trasversi è stata osservata nel 63% dei casi, così come quella del seno sagittale superiore; i seni sigmoidei sono stati coinvolti nel 25% dei casi, il seno retto nell'8%, le vene corticali nel 21% e le vene giugulari nel 13%. Anomalie parenchimali sono state riscontrate in un terzo degli episodi, proporzione inferiore rispetto ad altri studi (93,94), forse grazie alla precocità del sospetto clinico e alla rapidità dell'approccio diagnostico.

Ciononostante, gli esiti a lungo termine delle TVC nella nostra esperienza, pur ridotti in confronto a quanto riportato da alcune casistiche, si osservano in 5-18% dei casi. Il 23% alla dimissione ha riportato sequele neurologiche, percentuale lievemente inferiore al 28% della coorte italiana di Suppiej et al. (96) e molto

inferiore rispetto a quello riportato da Ichord et al. (43%) (93) . Il tasso di deficit neurologici diminuisce al 5% all'ultima visita di follow-up. La stessa flessione subisce il dato che riporta la percentuale di crisi epilettiche: alla dimissione pari al 36% e all'ultima visita di follow-up al 18%. Si tratta quindi di una complicanza grave, che richiede trattamento neurologico intensivo anche a distanza per ridurre la compromissione neurologica del paziente e soprattutto per migliorare la sua qualità di vita.

Per quanto riguarda la presentazione clinica delle TVS, il 63% degli eventi si è manifestato con segni e sintomi di trombosi venosa o di embolia polmonare, il 26% con il solo malfunzionamento del catetere e l'11% è risultato asintomatico, percentuali simili a quelle riscontrate nello studio R.I.T.I. di Giordano et al. (99). Nella Clinica di Oncoematologia Pediatrica di Padova non viene eseguito lo screening per trombosi, di conseguenza i casi asintomatici sono stati diagnosticati grazie a esami strumentali eseguiti di routine per la patologia di base. La modalità di presentazione più frequentemente osservata è risultata il malfunzionamento del catetere, presente in un terzo dei casi, seguito da dolore/irritabilità (26%), discromia cutanea (26%) e edema (19%), maggiori sintomi riscontrati anche in letteratura (60,78,99). Se consideriamo esclusivamente le trombosi catetere-correlate, il 50% di esse si è manifestato con segni e sintomi di trombosi venosa, il 44% con malfunzionamento del catetere isolato e il 6% è risultato completamente asintomatico. Diversamente, nella più ampia coorte di Lasagni et al., il 69% ha esordito con i sintomi tipici, l'8% con malfunzionamento del catetere e il 23% è risultato completamente asintomatico (78). Nei due terzi dei casi l'intervallo di tempo tra la comparsa dei sintomi (sospetto clinico) e la diagnosi documentata di TVS è stato inferiore alle 24 ore.

La quasi totalità delle TVS è stata diagnosticata tramite Ecodoppler venoso, ad eccezione delle trombosi intracardiache, diagnosticate attraverso ecocardiografia e di una trombosi rilevata alla TC. Nonostante in letteratura la venografia rappresenti il gold standard, si tratta di un esame più rischioso in quanto prevede l'infusione di mezzo di contrasto ed espone a radiazioni; per questo motivo negli ultimi anni è stata ampiamente sostituita dall'ecodoppler (78).

Analogamente alla coorte di Santoro et al. (60), la maggior parte delle TVS ha coinvolto il distretto superiore, in particolare la vena giugulare interna. In altre

casistiche, come nello studio del registro R.I.T.I., a prevalere era invece l'arto inferiore e in particolare la vena femorale (78). Nel nostro campione l'arto inferiore è stato interessato nell'11% dei casi, così come l'atrio destro.

È evidente il ruolo del posizionamento di CVC tunnellizzati, che attualmente è eseguito tutti i pazienti con malattia linfoproliferativa; anche l'uso dei più recenti cateteri a media-lunga permanenza a posizionamento periferico non ha ovviato a questo problema e, anzi, giustifica l'aumento delle trombosi periferiche negli ultimi protocolli.

La terapia antitrombotica è stata somministrata in tutti i pazienti ad eccezione di due a causa di una condizione di persistente piastrinopenia. Nel 92% dei casi è stata somministrata eparina a basso peso molecolare (quasi esclusivamente enoxaparina), in buona parte di essi preceduta dall'eparina non frazionata, soprattutto nelle trombosi cerebrali. Nel 21% dei casi è stata supplementata l'antitrombina. In un unico caso è stato impiegato un antagonista della vitamina K (warfarin). Oltre alla terapia anticoagulante, in due casi di trombosi intra-atriale è stata somministrata la terapia fibrinolitica (urokinasi). La terapia anticoagulante si è dimostrata efficace e sicura, determinando solo in quattro casi complicanze gestibili quali piastrinopenia da eparina e melena. Come da linee guida dell'American College of Chest Physicians, la terapia anticoagulante a dosi profilattiche è stata continuata finché sussisteva la presenza di leucemia/linfoma attivo, CVC o chemioterapia (113).

In tempi recenti i DOAC hanno iniziato a dare buoni risultati di efficacia e sicurezza nel trattamento del tromboembolismo venoso anche in età pediatrica (115). A partire dal 2021 il dabigatran può essere somministrato nei pazienti pediatrici con indicazione al trattamento di TEV e prevenzione di TEV ricorrente (114). Tuttavia, la sicurezza e l'efficacia dei DOAC nei pazienti pediatrici oncologici devono ancora essere stabilite. Inoltre, essi mancano della maneggevolezza che l'eparina consente in pazienti con conte piastriniche molto variabili nel tempo.

Recidive di trombosi si sono presentate in 7 pazienti (16%) in un tempo medio di circa un anno, percentuale equiparabile a quella riportata da Klaassen et al. (51). Di cinque di essi sappiamo che erano ancora sottoposti a trattamento anticoagulante a dosi intere (4 casi) o profilattiche (1 caso).

Il tasso di mortalità all'interno del nostro campione è stato del 7% (3 pazienti), ma nessuno dei decessi era correlato all'evento tromboembolico. Anche in assenza di mortalità legata a TE, studi recenti hanno documentato un impatto negativo indipendente della TE associata alla LLA sulla sopravvivenza globale (OS) e libera da eventi (EFS) (116).

Nel 60% dei pazienti affetti da LLA l'insorgenza di TE ha alterato il trattamento chemioterapico successivamente programmato, interrompendo per esempio la somministrazione di L-Asp nel 33% dei casi, tasso comparabile a quello riportato nella casistica del NOPHO ALL2008 (120). È noto che l'omissione della somministrazione di L-Asp vada ad impattare negativamente sulla sopravvivenza nei bambini affetti da leucemia (23). Pertanto, la decisione se sospendere o meno la L-Asp è impegnativa e richiede: una precisa valutazione dei fattori di rischio presenti e della possibilità di mitigarli; l'introduzione o il perfezionamento della terapia/profilassi secondaria antitrombotica; un bilancio tra il rischio di recidiva leucemica (braccio di rischio, citogenetica, MRD, eccetera) e la riduzione della EFS dovuta alla mancanza di questo farmaco. Anche lunghi ritardi nella somministrazione della chemioterapia in caso di complicanze neurologiche o sistemiche dovute alla trombosi sono da considerare come un rischio di peggioramento della prognosi, specialmente in caso delle LLA, che richiedono trattamento il più possibile continuativo.

Per interpretare correttamente i dati del nostro studio è necessario considerare alcune limitazioni.

La natura retrospettiva dello studio comporta alcuni bias di selezione perché obbliga in alcuni casi all'esclusione dall'analisi dei pazienti per i quali i dati non erano disponibili.

Le dimensioni ridotte della nostra coorte, inoltre, non consentono un calcolo accurato dell'incidenza di TE e non permettono in alcune situazioni di identificare un'associazione significativa tra la variabile considerata e l'outcome.

Inoltre, dobbiamo segnalare che in protocolli di così lunga durata, il comportamento medico può variare anche per quanto riguarda l'approccio al paziente sotto diversi punti di vista, tutti importanti fattori che intervengono nello sviluppo di queste complicanze. Tra questi, le terapie di supporto trasfusionale e i criteri di loro uso, i diversi tipi di cateteri venosi, l'incidenza delle infezioni, specie fungine e il loro trattamento, l'approccio alla terapia ormonale estroprogestinica. Questi aspetti rappresentano variabili poco misurabili e in continua evoluzione, che possono confondere il risultato dell'analisi.

CONCLUSIONI

L'incidenza di complicanze trombotiche nelle diverse neoplasie ematologiche nei bambini trattati presso la Clinica di Oncoematologia Pediatrica di Padova dal 2000 ad oggi è risultata in linea con quella di altre coorti: più significativa nelle LLA (5.7%), pari a 2.8% nelle LMA e a 2.4% nei linfomi.

L'incidenza mostra in particolare un progressivo incremento nel tempo statisticamente significativo nelle diverse generazioni di bambini affetti da LLA trattati nei protocolli successivi AIEOP-BFM ALL 2000 (1.5%), 2009 (6.7%) e 2017 (16.1%). È da segnalare l'introduzione a partire dal protocollo ALL 2009 della L-Asp pegilata, che può giustificare l'aumento di complicanze trombotiche. Questo aumento sembra anche essere, almeno in parte, a carico delle TVS e riconducibile per lo più (89% dei casi) alla presenza di una causa locale quale CVC, ma anche accessi periferici, infezioni o procedure invasive.

È risultata significativamente maggiore l'incidenza di TE nel sesso maschile, mentre l'età non sembra associarsi ad un maggiore sviluppo di trombosi.

Nell'analisi della popolazione generale affetta da LLA non è stata evidenziata un'associazione con l'insorgenza di trombosi per quanto riguarda conta leucocitaria all'esordio, immunofenotipo, braccio di rischio e obesità.

Suggestivo è stato il riscontro di una percentuale non trascurabile di casi (32%) con ipertrigliceridemia in corrispondenza della diagnosi di TE.

Molto interessante è l'assenza di correlazione fra trombofilia ereditaria e sviluppo di trombosi osservata nei protocolli AIEOP-BFM ALL 2009 e 2017, durante i quali è stata introdotta la profilassi con LMWH per i pazienti portatori. Pur in assenza di un controllo storico adeguato, dati precedenti sulla esperienza padovana (55) e alcuni dati di letteratura (60), suggeriscono che sia stato possibile abolire l'influenza della trombofilia come maggiore fattore di rischio trombotico in questi pazienti.

Nonostante i numeri non elevati, l'importanza della complicanza trombotica è sottolineata dalla presenza di esiti a lungo termine in caso delle TVC e dalla possibilità di impatto sulla prognosi.

L'analisi della sopravvivenza dei nostri pazienti ci permetterà in futuro di valutare quanto l'interruzione della chemioterapia e la sospensione del trattamento con L-Asp abbia influito sull'outcome a lungo termine.

BIBLIOGRAFIA

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391–405.
2. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 60(5):277–300.
3. Basso G, Silvestrini R. *Basi Scientifiche per La Definizione Di Linee-Guida in Ambito Clinico per I Tumori dell'Età Pediatrica*. 2008;
4. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. 2017;7(6):e577.
5. Wiemels J, Cazzaniga G, Daniotti M, Eden O, Addison G, Masera G, et al. Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children. *The Lancet*. 1999 Oct;354(9189):1499–503.
6. PDQ Pediatric Treatment Editorial Board. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment (PDQ®): Health Professional Version. 2016.
7. Moriyama T, Relling M v, Yang JJ. Inherited genetic variation in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015 Jun 25;125(26):3988–95.
8. Castoldi G, Liso V. *Ematologia*. 2nd ed. Aversa F, Cuneo A, Liso A, editors. Milano; 2014.
9. Protocollo Di Diagnosi E Terapia Della Leucemia Linfoblastica Acuta in Età Pediatrica AIEOP-BFM ALL 2009. EudraCT Number: 2007-004270-43. 2010.
10. AIEOP-BFM study group. AIEOP-BFM ALL 2017 International collaborative treatment protocol for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia. EudraCT Number: 2016-001935-12. 2018.
11. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976 Aug;33(4):451–8.
12. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009 Jul 30;114(5):937–51.
13. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *European*

- Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*. 1995 Oct;9(10):1783–6.
14. Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, Behm FG, Raimondi SC, Pei D, et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol*. 2009 Feb;10(2):147–56.
 15. Conter V, Valsecchi MG, Buldini B, Parasole R, Locatelli F, Colombini A, et al. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia in children treated in AIEOP centres with AIEOP-BFM protocols: a retrospective analysis. *Lancet Haematol*. 2016 Feb;3(2):e80–6.
 16. Harrison Christine J. Cytogenetics of paediatric and adolescent acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2009 Jan;144(2):147–56.
 17. Pui CH, Relling M v, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2004 Apr 8;350(15):1535–48.
 18. Vrooman LM, Silverman LB. Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Prognostic Factors and Clinical Advances. *Curr Hematol Malig Rep*. 2016;11(5):385–94.
 19. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, Gadner H, Odenwald E, Harbott J, et al. Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86, 90, and 95. *Klin Padiatr*. 2005;217(6):310–20.
 20. Conter V, Aricò M, Valsecchi MG, Basso G, Biondi A, Madon E, et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) acute lymphoblastic leukemia studies, 1982-1995. *Leukemia*. 2000 Dec;14(12):2196–204.
 21. Inaba H, Mullighan CG. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2020;105(11):2524–39.
 22. Pieters R, de Groot-Kruseman H, van der Velden V, Fiocco M, van den Berg H, de Bont E, et al. Successful Therapy Reduction and Intensification for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Based on Minimal Residual Disease Monitoring: Study ALL10 From the Dutch Childhood Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2016;34(22):2591–601.
 23. Silverman LB, Gelber RD, Dalton VK, Asselin BL, Barr RD, Clavell LA, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01 [Internet]. 2001. Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/97/5/1211/1671315/1211.pdf>
 24. Stock W, Douer D, DeAngelo DJ, Arellano M, Advani A, Damon L, et al. Prevention and management of asparaginase/pegasparaginase-associated

- toxicities in adults and older adolescents: recommendations of an expert panel. *Leuk Lymphoma*. 2011 Dec;52(12):2237–53.
25. Wiernikowski JT, Athale UH. Thromboembolic complications in children with cancer. Vol. 118, *Thrombosis Research*. 2006. p. 137–52.
 26. Shivakumar SP, Anderson DR, Couban S. Catheter-associated thrombosis in patients with malignancy. *J Clin Oncol*. 2009 Oct 10;27(29):4858–64.
 27. Nowak-Göttl U, Heinecke A, Diger Von Kries R, Nü Rnberger W, Mü Nchow N, Junker R. Thrombotic Events Revisited in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia Impact of Concomitant Escherichia coli Asparaginase/ Prednisone Administration \$. Vol. 103, *Thrombosis Research*. 2001.
 28. Douer D, Yampolsky H, Cohen LJ, Watkins K, Levine AM, Periclou AP, et al. Pharmacodynamics and safety of intravenous pegaspargase during remission induction in adults aged 55 years or younger with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2007 Apr 1;109(7):2744–50.
 29. Astwood E, Vora A. Personal practice: how we manage the risk of bleeding and thrombosis in children and young adults with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2011 Mar;152(5):505–11.
 30. Grace RF, Dahlberg SE, Neuberg D, Sallan SE, Connors JM, Neufeld EJ, et al. The frequency and management of asparaginase-related thrombosis in paediatric and adult patients with acute lymphoblastic leukaemia treated on Dana-Farber Cancer Institute consortium protocols. *Br J Haematol*. 2011 Feb;152(4):452–9.
 31. Hunault-Berger M, Chevallier P, Delain M, Bulabois CE, Bologna S, Bernard M, et al. Changes in antithrombin and fibrinogen levels during induction chemotherapy with L-asparaginase in adult patients with acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma. Use of supportive coagulation therapy and clinical outcome: the CAPELAL study. *Haematologica*. 2008 Oct;93(10):1488–94.
 32. Mitchell L, Andrew M, Hanna K, Abshire T, Halton J, Wu J, et al. Trend to efficacy and safety using antithrombin concentrate in prevention of thrombosis in children receiving l-asparaginase for acute lymphoblastic leukemia: Results of the PARKAA study. *Thromb Haemost*. 2003 Aug 1;90(2):235–44.
 33. Mitchell LG, Andrew M, Abshire T, Halton J, Anderson R, Cherrick I, et al. A prospective cohort study determining the prevalence of thrombotic events in children with acute lymphoblastic leukemia and a central venous line who are treated with L-asparaginase: Results of the Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with Asparaginase (PARKAA) Study. *Cancer*. 2003 Jan 15;97(2):508–16.

34. Abbott LS, Deevska M, Fernandez C v, Dix D, Price VE, Wang H, et al. The impact of prophylactic fresh-frozen plasma and cryoprecipitate on the incidence of central nervous system thrombosis and hemorrhage in children with acute lymphoblastic leukemia receiving asparaginase. *Blood*. 2009 Dec 10;114(25):5146–51.
35. Steiner M, Attarbaschi A, Haas OA, Kastner U, Gadner H, Mann G. Fresh frozen plasma contains free asparagine and may replace the plasma asparagine pool during L-asparaginase therapy. *Leukemia*. 2008 Jun;22(6):1290.
36. Franchini M, Lippi G. Fibrinogen replacement therapy: a critical review of the literature. *Blood Transfus*. 2012 Jan;10(1):23–7.
37. Levy JH, Welsby I, Goodnough LT. Fibrinogen as a therapeutic target for bleeding: a review of critical levels and replacement therapy. *Transfusion (Paris)*. 2014 May;54(5):1389–405; quiz 1388.
38. Qureshi A, Mitchell C, Richards S, Vora A, Goulden N. Asparaginase-related venous thrombosis in UKALL 2003- re-exposure to asparaginase is feasible and safe. *Br J Haematol*. 2010 May;149(3):410–3.
39. Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LAG, Howe HL, Wingo PA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Sep 3;95(17):1276–99.
40. Pui CH, Carroll WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 10;29(5):551–65.
41. Taga T, Tomizawa D, Takahashi H, Adachi S. Acute myeloid leukemia in children: Current status and future directions. *Pediatr Int*. 2016 Feb;58(2):71–80.
42. Lister TA, Crowther SB, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos G, Young RC. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol*. 1989;1630–6.
43. Castellino SM, Geiger AM, Mertens AC, Leisenring WM, Tooze JA, Goodman P, et al. Morbidity and mortality in long-term survivors of Hodgkin lymphoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood*. 2011 Feb 10;117(6):1806–16.
44. Kenet G, Nowak-Göttl U. Venous thromboembolism in neonates and children. Vol. 25, *Best Practice and Research: Clinical Haematology*. Bailliere Tindall Ltd; 2012. p. 333–44.

45. Nowak-Göttl U, Kenet G, Mitchell LG. Thrombosis in childhood acute lymphoblastic leukaemia: epidemiology, aetiology, diagnosis, prevention and treatment. Vol. 22, Best Practice and Research: Clinical Haematology. 2009. p. 103–14.
46. Bajzar L, Chan AK, Massicotte MP, Mitchell LG. Thrombosis in children with malignancy.
47. Barg AA, Kenet G. Cancer-associated thrombosis in pediatric patients. *Thromb Res* [Internet]. 2020;191 Suppl 1:S22–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32736773>
48. Falanga A, Marchetti M. Venous thromboembolism in the hematologic malignancies. Vol. 27, *Journal of Clinical Oncology*. 2009. p. 4848–57.
49. Ko RH, Thornburg CD. Venous thromboembolism in children with cancer and blood disorders. Vol. 5, *Frontiers in Pediatrics*. Frontiers Media S.A.; 2017.
50. Piovesan D, Attard C, Monagle P, Ignjatovic V. Epidemiology of venous thrombosis in children with cancer. Vol. 111, *Thrombosis and Haemostasis*. Schattauer GmbH; 2014. p. 1015–21.
51. Klaassen ILM, van Els AL, van de Wetering MD, Heleen Van Ommen C. Increasing incidence and recurrence rate of venous thromboembolism in paediatric oncology patients in one single centre over 25 years. *Thromb Haemost*. 2017;117(11):2156–62.
52. Caruso V, Iacoviello L, di Castelnuovo A, Storti S, Mariani G, de Gaetano G, et al. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: A meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood*. 2006 Oct 1;108(7):2216–22.
53. Rodriguez V. Thrombosis Complications in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: Risk Factors, Management, and Prevention: Is There Any Role for Pharmacologic Prophylaxis? Vol. 10, *Frontiers in Pediatrics*. Frontiers Media S.A.; 2022.
54. Martella F, Cerrano M, di Cuonzo D, Secreto C, Olivi M, Apolito V, et al. Frequency and risk factors for thrombosis in acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes treated with intensive chemotherapy: a two centers observational study. *Ann Hematol*. 2022 Apr;101(4):855–67.
55. Putti MC, Randi ML. Thrombotic complications in children with haematologic malignancies. Vol. 125, *Thrombosis Research*. 2010.
56. Athale UH, Nagel K, Khan AA, Chan AKC. Thromboembolism in children with lymphoma. *Thromb Res*. 2008;122(4):459–65.

57. Athale U, Chan A. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: part I. Epidemiology of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Thromb Res.* 2003;111(3):125–31.
58. Nowak-Göttl U, Wermes C, Junker R, Koch HG, Schobess R, Fleischhack G, et al. Prospective evaluation of the thrombotic risk in children with acute lymphoblastic leukemia carrying the MTHFR TT 677 genotype, the prothrombin G20210A variant, and further prothrombotic risk factors. *Blood.* 1999 Mar 1;93(5):1595–9.
59. Santoro N, Giordano P, Carlo G, Vecchio D, Guido G, Rizzari C, et al. Ischemic Stroke in Children Treated for Acute Lymphoblastic Leukemia A Retrospective Study. 2005.
60. Santoro N, Colombini A, Silvestri D, Grassi M, Giordano P, Parasole R, et al. Screening for Coagulopathy and Identification of Children With Acute Lymphoblastic Leukemia at a Higher Risk of Symptomatic Venous Thrombosis: An AIEOP Experience [Internet]. 2013. Available from: www.jpho-online.com
61. Priest JR, Ramsay NK, Steinherz PG, Tubergen DG, Cairo MS, Sitarz AL, et al. A syndrome of thrombosis and hemorrhage complicating L-asparaginase therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr.* 1982 Jun;100(6):984–9.
62. Schönning A, Karlén J, Frisk T, Heyman M, Svahn JE, Øra I, et al. Venous thrombosis in children and adolescents with Hodgkin lymphoma in Sweden. *Thromb Res.* 2017 Apr 1;152:64–8.
63. Negaard HFS, Iversen PO, Østenstad B, Iversen N, Holme PA, Sandset PM. Hypercoagulability in patients with haematological neoplasia: No apparent initiation by tissue factor. *Thromb Haemost.* 2008;99(6):1040–8.
64. Payne JH, Vora AJ. Thrombosis and acute lymphoblastic leukaemia. Vol. 138, *British Journal of Haematology.* 2007. p. 430–45.
65. Athale UH, Chan AKC. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: Part III. Pathogenesis of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: Effects of host environment. Vol. 111, *Thrombosis Research.* Elsevier Ltd; 2003. p. 321–7.
66. Athale UH, Siciliano SA, Crowther M, Barr RD, Chan AKC. Thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukaemia treated on Dana-Farber Cancer Institute protocols: effect of age and risk stratification of disease. *Br J Haematol.* 2005 Jun;129(6):803–10.
67. Athale U, Siciliano S, Thabane L, Pai N, Cox S, Lathia A, et al. Epidemiology and clinical risk factors predisposing to thromboembolism in children with cancer. *Pediatr Blood Cancer.* 2008 Dec;51(6):792–7.

68. Giordano P, Molinari AC, del Vecchio GC, Saracco P, Russo G, Altomare M, et al. Prospective study of hemostatic alterations in children with acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol*. 2010 May;85(5):325–30.
69. Falanga A, Barbui T, Rickles FR. Hypercoagulability and tissue factor gene upregulation in hematologic malignancies. *Semin Thromb Hemost*. 2008 Mar;34(2):204–10.
70. Mitchell L, Hoogendoorn H, Giles AR, Vegh P, Andrew M. Increased endogenous thrombin generation in children with acute lymphoblastic leukemia: risk of thrombotic complications in L'Asparaginase-induced antithrombin III deficiency. *Blood*. 1994 Jan 15;83(2):386–91.
71. Giordano P, Santoro N, del Vecchio GC, Rizzari C, Masera G, de Mattia D. T-immunophenotype is associated with an increased prevalence of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. A retrospective study. *Haematologica*. 2003 Sep;88(9):1079–80.
72. Kashanian SM, Holtzman NG, Patzke CL, Cornu J, Duffy A, Koka M, et al. Venous thromboembolism incidence and risk factors in adults with acute lymphoblastic leukemia treated with and without pegylated E. coli asparaginase-containing regimens. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2021 Jun 1;87(6):817–26.
73. Athale UH, Flamand Y, Blonquist T, Stevenson KE, Spira M, Asselin BL, et al. Predictors of thrombosis in children receiving therapy for acute lymphoblastic leukemia: Results from Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium trial 05-001. *Pediatr Blood Cancer*. 2022 Aug 1;69(8).
74. Athale UH, Chan AKC. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: Part II. Pathogenesis of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: Effects of the disease and therapy. Vol. 111, *Thrombosis Research*. Elsevier Ltd; 2003. p. 199–212.
75. Bade NA, Lu C, Patzke CL, Baer MR, Duong VH, Law JY, et al. Optimizing pegylated asparaginase use: An institutional guideline for dosing, monitoring, and management. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2020 Jan 27;26(1):74–92.
76. Nowak-Göttl U, Ahlke E, Fleischhack G, Schwabe D, Schobess R, Schumann C, et al. Thromboembolic events in children with acute lymphoblastic leukemia (BFM protocols): Prednisone versus dexamethasone administration. *Blood*. 2003 Apr 1;101(7):2529–33.
77. Giordano P, Saracco P, Grassi M, Luciani M, Banov L, Carraro F, et al. Recommendations for the use of long-term central venous catheter (CVC) in children with hemato-oncological disorders: management of CVC-related occlusion and CVC-related thrombosis. On behalf of the coagulation defects working group and the supportive therapy working group of the Italian

- Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP). *Ann Hematol*. 2015 Nov 22;94(11):1765–76.
78. Lasagni D, Nosadini M, Molinari AC, Saracco P, Pelizza MF, Piersigilli F, et al. Systemic Catheter-Related Venous Thromboembolism in Children: Data From the Italian Registry of Pediatric Thrombosis. *Front Pediatr*. 2022 Mar 23;10.
 79. Revel-Vilk S, Yacobovich J, Tamary H, Goldstein G, Nemet S, Weintraub M, et al. Risk factors for central venous catheter thrombotic complications in children and adolescents with cancer. *Cancer*. 2010 Sep 1;116(17):4197–205.
 80. McLean TW, Fisher CJ, Snively BM, Chauvenet AR. Central venous lines in children with lesser risk acute lymphoblastic leukemia: optimal type and timing of placement. *J Clin Oncol*. 2005 May 1;23(13):3024–9.
 81. Baskin JL, Pui CH, Reiss U, Wilimas JA, Metzger ML, Ribeiro RC, et al. Management of occlusion and thrombosis associated with long-term indwelling central venous catheters. *Lancet*. 2009 Jul 11;374(9684):159–69.
 82. Manco-Johnson, Marilyn J. How I treat venous thrombosis in children. *Blood*. 2006 Jan 1;107(1):21–9.
 83. Glaser DW, Medeiros D, Rollins N, Buchanan GR. Catheter-related thrombosis in children with cancer. *Journal of Pediatrics*. 2001 Jan 1;138(2):255–9.
 84. Alexander H.R. Thrombotic and Occlusive Complications of Long-Term Venous Access:Diagnosis, Management, and Prophylaxis. *Vascular Access in the Cencer Patient: Devices, Insertion Techniques,Maintance, and Prevention and Management of Complications*. 1994;90–109.
 85. Harlev D, Zaidman I, Sarig G, Weyl Ben Arush M, Brenner B, Elhasid R. Prophylactic therapy with enoxaparin in children with acute lymphoblastic leukemia and inherited thrombophilia during L-asparaginase treatment. *Thromb Res*. 2010 Aug;126(2):93–7.
 86. Athale UH, Laverdiere C, Nayiager T, Delva YL, Foster G, Thabane L, et al. Evaluation for inherited and acquired prothrombotic defects predisposing to symptomatic thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukemia: a protocol for a prospective, observational, cohort study. *BMC Cancer*. 2017;17(1):313.
 87. Young G, Albisetti M, Bonduel M, Brandao L, Chan A, Friedrichs F, et al. Impact of inherited thrombophilia on venous thromboembolism in children: A systematic review and meta-analysis of observational studies. Vol. 118, *Circulation*. 2008. p. 1373–82.

88. Raffini L, Thornburg C. Testing children for inherited thrombophilia: More questions than answers. Vol. 147, *British Journal of Haematology*. 2009. p. 277–88.
89. Barzilai-Birenboim S, Arad-Cohen N, Nirel R, Avrahami G, Harlev D, Gilad G, et al. Thrombophilia screening and thromboprophylaxis may benefit specific ethnic subgroups with paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2019;184(6):994–8.
90. Stokes S, Breheny P, Radulescu A, Radulescu VC. Impact of obesity on the risk of venous thromboembolism in an inpatient pediatric population. *Pediatr Hematol Oncol*. 2014;31(5):475–80.
91. Prasca S, Carmona R, Ji L, Ko RH, Bhojwani D, Rawlins YA, et al. Obesity and risk for venous thromboembolism from contemporary therapy for pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Thromb Res*. 2018;165:44–50.
92. Bhojwani D, Darbandi R, Pei D, Ramsey LB, Chemaitilly W, Sandlund JT, et al. Severe hypertriglyceridaemia during therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Cancer*. 2014;50(15):2685–94.
93. Ichord RN, Benedict SL, Chan AK, Kirkham FJ, Nowak-Göttl U. Paediatric cerebral sinovenous thrombosis: findings of the International Paediatric Stroke Study. *Arch Dis Child*. 2015 Feb;100(2):174–9.
94. deVeber G, Andrew M, Adams C, Bjornson B, Booth F, Buckley DJ, et al. Cerebral sinovenous thrombosis in children. *N Engl J Med*. 2001 Aug 9;345(6):417–23.
95. Jackson BF, Porcher FK, Zapton DT, Losek JD. Cerebral sinovenous thrombosis in children: diagnosis and treatment. *Pediatr Emerg Care*. 2011 Sep;27(9):874–80; quiz 881–3.
96. Suppiej A, Gentilomo C, Saracco P, Sartori S, Agostini M, Bagna R, et al. Paediatric arterial ischaemic stroke and cerebral sinovenous thrombosis: First report from the Italian registry of pediatric thrombosis (R. I. T. I., Registro Italiano Trombosi Infantili). *Thromb Haemost*. 2015;113(6):1270–7.
97. Dlamini N, Billingham L, Kirkham FJ. Cerebral venous sinus (sinovenous) thrombosis in children. *Neurosurg Clin N Am*. 2010 Jul;21(3):511–27.
98. Carducci C, Colafati GS, Figà-Talamanca L, Longo D, Lunardi T, Randisi F, et al. Cerebral sinovenous thrombosis (CSVT) in children: what the pediatric radiologists need to know. Vol. 121, *Radiologia Medica*. Springer-Verlag Italia s.r.l.; 2016. p. 329–41.
99. Giordano P, Grassi M, Saracco P, Molinari AC, Gentilomo C, Suppiej A, et al. Paediatric venous thromboembolism: A report from the Italian Registry

- of Thrombosis in Children (RITI). *Blood Transfusion*. 2018 Jul 1;16(4):363–70.
100. Pelland-Marcotte MC, Tole S, Pechlivanoglou P, Brandão LR. Effectiveness and Safety of Primary Thromboprophylaxis in Children with Cancer: A Systematic Review of the Literature and Network Meta-Analysis. Vol. 119, *Thrombosis and Haemostasis*. Georg Thieme Verlag; 2019. p. 2034–42.
 101. Elhasid R, Lanir N, Sharon R, Weyl M, Arush B, Levin C, et al. Prophylactic therapy with enoxaparin during L-asparaginase treatment in children with acute lymphoblastic leukemia.
 102. Meister B, Kropshofer G, Klein-Franke A, Strasak AM, Hager J, Streif W. Comparison of low-molecular-weight heparin and antithrombin versus antithrombin alone for the prevention of symptomatic venous thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2008 Feb;50(2):298–303.
 103. Kuhle S, Lau A, Bajzar L, Vegh P, Halton J, Cherrick I, et al. Comparison of the anticoagulant effect of a direct thrombin inhibitor and a low molecular weight heparin in an acquired antithrombin deficiency in children with acute lymphoblastic leukaemia treated with L-asparaginase: an in vitro study. *Br J Haematol*. 2006 Sep;134(5):526–31.
 104. Massicotte P, Julian JA, Gent M, Shields K, Marzinotto V, Szechtman B, et al. An open-label randomized controlled trial of low molecular weight heparin for the prevention of central venous line-related thrombotic complications in children: the PROTEKT trial. *Thromb Res*. 2003 Jan 25;109(2–3):101–8.
 105. Ruud E, Holmstrøm H, de Lange C, Hogstad EM, Wesenberg F. Low-dose warfarin for the prevention of central line-associated thromboses in children with malignancies--a randomized, controlled study. *Acta Paediatr*. 2006 Sep;95(9):1053–9.
 106. Greiner J, Schrappe M, Claviez A, Zimmermann M, Niemeyer C, Kolb R, et al. THROMBOTECT – a randomized study comparing low molecular weight heparin, antithrombin and unfractionated heparin for thromboprophylaxis during induction therapy of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents. *Haematologica*. 2019 Mar 31;104(4):756–65.
 107. Fulcher J, Carrier M. Thromboembolism prophylaxis during L-asparaginase therapy in acute lymphoblastic leukemia – time to reconsider current approaches? Vol. 188, *Thrombosis Research*. Elsevier Ltd; 2020. p. 100–2.
 108. Haddy TB, Mosher RB, Reaman GH. Osteoporosis in Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Oncologist*. 2001 Jun 1;6(3):278–85.

109. O'Brien SH, Li D, Mitchell LG, Hess T, Zee P, Yee DL, et al. PREVAPIX-ALL: Apixaban Compared to Standard of Care for Prevention of Venous Thrombosis in Paediatric Acute Lymphoblastic Leukaemia (ALL)--Rationale and Design. *Thromb Haemost.* 2019;119(5):844–53.
110. Mitchell L, Lambers M, Flege S, Kenet G, Li-Thiao-Te V, Holzhauer S, et al. Validation of a predictive model for identifying an increased risk for thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukemia: Results of a multicenter cohort study. *Blood.* 2010 Jun 17;115(24):4999–5004.
111. Ruiz-Llobet A, Gassiot S, Sarrate E, Zubicaray J, Dapena JL, Rives S, et al. Venous thromboembolism in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia under chemotherapy treatment. Risk factors and usefulness of thromboprophylaxis. Results of LAL-SEHOP-PETHEMA-2013. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2022 Jun 1;20(6):1390–9.
112. Levy-Mendelovich S, Barg AA, Kenet G. Thrombosis in pediatric patients with leukemia. *Thromb Res.* 2018 Apr 1;164:S94–7.
113. Monagle P, Chan AKC, Goldenberg NA, Ichord RN, Journeycake JM, Nowak-Göttl U, et al. Antithrombotic therapy in neonates and children: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012 Feb;141(2 Suppl):e737S-e801S.
114. Halton J, Brandão LR, Luciani M, Bomgaars L, Chalmers E, Mitchell LG, et al. Dabigatran etexilate for the treatment of acute venous thromboembolism in children (DIVERSITY): a randomised, controlled, open-label, phase 2b/3, non-inferiority trial. *Lancet Haematol.* 2021 Jan 1;8(1):e22–33.
115. Male C, Lensing AWA, Palumbo JS, Kumar R, Nurmeev I, Hege K, et al. Rivaroxaban compared with standard anticoagulants for the treatment of acute venous thromboembolism in children: a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Haematol.* 2020 Jan 1;7(1):e18–27.
116. Pelland-Marcotte MC, Kulkarni K, Athale UH, Pole JD, Brandão LR, Sung L. Thrombosis is associated with worse survival in children with acute lymphoblastic leukemia: A report from CYP-C. *Am J Hematol.* 2021 Jul 1;96(7):796–804.
117. Kuhle S, Spavor M, Massicotte P, Halton J, Cherrick I, Dix D, et al. Prevalence of post-thrombotic syndrome following asymptomatic thrombosis in survivors of acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2008 Apr;6(4):589–94.
118. Ross CS, Brown TM, Kotagal S, Rodriguez V. Cerebral venous sinus thrombosis in pediatric cancer patients: long-term neurological outcomes. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2013 May;35(4):299–302.

119. Goldenberg NA, Bernard TJ. Venous thromboembolism in children. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2010 Feb;24(1):151–66.
120. Rank CU, Toft N, Tuckuviene R, Grell K, Nielsen OJ, Frandsen TL, et al. Thromboembolism in acute lymphoblastic leukemia: Results of nopho all2008 protocol treatment in patients aged 1 to 45 years. *Blood.* 2018 May 31;131(22):2475–84.