

Protocollo di studio multicentrico prospettico per valutare l'efficacia del plasma virus-inattivato con solvente-detergente o con blu di metilene rispetto al PFC o al plasma decriato come liquido sostituyente nel trattamento aferetico nella Porpora Trombotica Trombocitopenica

RAZIONALE DEL PROTOCOLLO

Il Plasma fresco congelato (PFC) ed il plasma privo di crioprecipitato (Plasma decriato) sono l'attuale "standard di riferimento" come liquidi sostituyenti nella terapia aferetica della PTT (studi randomizzati hanno di recente evidenziato come il plasma decriato sia equivalente come efficacia al PFC) con l'unico punto interrogativo del possibile rischio infettivo che va al di là del miglioramento delle tecniche sierologiche e di biologia molecolare per HIV-HBV-HCV e della prassi della quarantena.

La pubblicazione sulla Gazzetta Ufficiale della nuova legge trasfusionale e del decreto legge che recepisce le normative europee a perseguire la maggior sicurezza possibile nell'utilizzo degli emocomponenti spinge inoltre il sistema trasfusionale verso l'utilizzo di PFC sottoposto a inattivazione virale per cui si rende necessaria una valutazione clinica dell'efficacia di questo tipo di emocomponente prima di introdurlo nel trattamento aferetico della PTT.

Il protocollo multicentrico si propone pertanto di confrontare mediante uno studio di equivalenza l'utilizzo del plasma virus-inattivato con solvente-detergente o con blu di metilene rispetto al PFC o al plasma decriato come liquido sostituyente nel trattamento aferetico della Porpora Trombotica Trombocitopenica.

Gli studi di equivalenza si utilizzano quando esistendo per una data malattia una terapia ragionevolmente efficace (come nel caso del PFC o del plasma decriato), piuttosto che intraprendere uno studio teso a valutare se il nuovo trattamento (plasma virus-inattivato) sia significativamente superiore a quello standard, risulta essere più appropriato testare l'equivalenza dei due trattamenti.

Qualora un nuovo trattamento che si presume abbia vantaggi economici e/o clinici (nel nostro caso una maggiore sicurezza infettivologica) evidenzi un'efficacia equivalente rispetto alla terapia standard questo lo rende sufficiente per utilizzarlo .

DISEGNO DEL PROTOCOLLO DI STUDIO:

OBIETTIVO DELLO STUDIO

L'obiettivo è quello di verificare se i plasmi virus-inattivati abbiano un'efficacia equivalente o superiore all'attuale terapia standard (PFC o plasma decriato) nella terapia aferetica della PTT/HUS.

Si confronterà quindi per ogni braccio quanti pazienti raggiungeranno una Remissione Clinica Completa secondo i criteri stabiliti dal protocollo di studio.

Si considererà come equivalente per i plasmi virus-inattivati il raggiungimento di almeno il 90% di esiti positivi rispetto al gruppo trattato con la terapia standard

L'obiettivo dello studio verrà considerato raggiunto quando si verificano le seguenti condizioni:

1. Risposta clinico-laboratoristica positiva al trattamento aferetico entro i primi 21 giorni (3 settimane) dalla diagnosi.
2. Se i valori laboratoristici e la clinica restano costanti durante la fase di consolidamento aferetica (tapering) e nei 30 giorni successivi all'ultimo PEX

Va considerato come mancato raggiungimento dell'obiettivo:

1. La mancata risposta clinico-laboratoristica entro i primi 21 giorni (3 settimane) dalla diagnosi
2. Eventuali ricadute successive ad una risposta clinico-laboratoristica positiva durante la Fase di consolidamento aferetica (tapering) e nei 30 giorni successivi all'ultimo PEX.
3. Sostituzioni durante i primi 21 giorni della terapia con plasma virus-inattivato con la terapia tradizionale e viceversa (*switch* terapeutico) in quanto determina un'uscita dal protocollo.
(L'unico *switch* terapeutico concesso in quanto già dimostrato equivalente è quello tra PFC e plasma decriato)

Visto che lo scopo è quello di valutare l'efficacia della terapia aferetica nei primi 21 giorni dalla diagnosi le variazioni di terapia farmacologica non diventano un fattore di uscita dal protocollo poiché quest'ultimo non pone vincoli di terapia farmacologica.

RANDOMIZZAZIONE DELLO STUDIO

Non esiste attualmente in letteratura un dato epidemiologico preciso che ci dia un riferimento sull'incidenza della PTT (idiopatiche e secondarie).

Principali dati in letteratura:

1. Contea di Sacramento-California (1,2 milioni di abitanti)
120 casi in 20 anni \Rightarrow 6 casi/anno \Rightarrow 1 caso ogni 200000 abitanti
Estrapolando il dato in Italia (56 milioni di abitanti) avremmo 280 casi/anno
2. Dati DRG USA \Rightarrow 1 caso di PTT ogni 50000 ricoveri ospedalieri
In Italia nel 2003 (Ultimi dati ISTAT) vi sono stati 8.500000 ricoveri ospedalieri per cui avremmo 170 casi anno
3. Analisi dei certificati di morte USA dal 68 al 91
3.7 casi/anno/milione \Rightarrow 215 casi/anno in Italia
4. Analisi dei rimborsi assicurativi in 18 stati USA
3.8 casi/anno/milione \Rightarrow 220 casi/anno in Italia
5. Analisi sui dati dell'OKLAHOMA TTP/HUS REGISTRY (1.6 milioni di abitanti)
4.46 casi/anno/milione \Rightarrow 259 casi/anno in Italia
1.74 casi/anno/milione con deficit di ADAMTS13 \Rightarrow 101 casi/anno in Italia

Questa estrema variabilità dei dati epidemiologici (si va da 280 a 170 possibili pazienti/anno in Italia) ed il fatto che al momento l'utilizzo dei plasmi virus-inattivati non è uniforme sul territorio nazionale anche in attesa di specifiche direttive nazionali e regionali rende di fatto difficile procedere in una fase iniziale dello studio ad una randomizzazione dei pazienti.

Sarà possibile attivare la randomizzazione dei pazienti solo nel caso che la metodica di virus-inattivazione del plasma venga resa obbligatoria da specifiche direttive di legge su tutto il territorio nazionale.

Si deve prevedere quindi che ogni centro che partecipi allo studio utilizzi il tipo di plasma di cui dispone (ad esempio Reggio Emilia \Rightarrow PFC o Plasma decriato; Padova \Rightarrow Plasma SD; Vicenza \Rightarrow Plasma BM) con l'unico vincolo che per ogni braccio vi siano almeno 3 centri con sedi in regioni diverse in modo da ottenere una randomizzazione surrettizia e che il plasma utilizzato sia stato sottoposto a screening NAT per HIV, HBV, HCV.

Iniziare il protocollo di studio senza la randomizzazione (l'alternativa sarebbe stata quella di prevedere una fornitura a livello nazionale di plasma virus-inattivato da parte dei centri che lo utilizzano verso gli altri centri) permette tuttavia di iniziare a raccogliere i dati oggetto dello studio che verranno valutati con gli strumenti statistici adeguati.

CRITERI DI AMMISSIONE ALLO STUDIO

Uno degli scopi dello studio è far sì che tutti i centri che eseguono aferesi terapeutica sul territorio nazionale e che si trovano anche a trattare un singolo caso di PTT/HUS possano partecipare.

Si è deciso di ammettere allo studio tutti casi di PTT/HUS perché questo permetterà di valutare l'efficacia dei plasmi virus-inattivati anche nei casi di PTT secondarie

➤ PAZIENTI CON DIAGNOSI DI PTT/HUS

Vanno escluse le PTT secondarie a trapianto di Midollo/Cellule Staminali e le HUS D+.

Ogni centro deve specificare i criteri clinici alla base della diagnosi, per ciascun paziente, di PTT idiopatica /secondaria/HUS. Nel caso della HUS devono essere definiti con chiarezza i criteri dell'insufficienza renale (valori della creatinina e/o necessità di trattamento dialitico).

Entro 3 giorni dall'inizio della terapia aferetica va confermata la correttezza della diagnosi di PTT/HUS per validare l'arruolamento al protocollo

➤ CRITERI LABORATORISTICI DI INCLUSIONE:

Piastrinopenia, anemia emolitica microangiopatica senza apparente altra etiologia (assenza di CID, Sepsis) con TCI/TCD negativo

CRITERI DI VALUTAZIONE

VALUTAZIONE CLINICO-LABORATORISTICA

L'End-point primario è raggiunto quando si verificano i seguenti criteri:

1. Conta piastrinica $> 100.000/\mu\text{l}$ per almeno 3 gg consecutivi
2. Normalizzazione dell'LDH
3. Assenza di nuovi sintomi neurologici o renali con miglioramento della sintomatologia precedente

Ai fini del raggiungimento dell'obiettivo del protocollo di studio è necessario che i criteri dell'end-point primario vengano raggiunti nei primi 21 giorni dall'inizio della terapia aferetica.

Se l'end-point primario viene raggiunto entro i 21 giorni vengono valutati come end-points secondari:

- I giorni necessari per raggiungere l'end-point primario
- Il numero di PEX necessari per raggiungere l'end-point primario

REMISSIONE CLINICA COMPLETA:

- Risposta clinica/laboratoristica mantenuta per 30 giorni dalla sospensione del trattamento aferetico di consolidamento (tapering)

REMISSIONE CLINICA PARZIALE o ESACERBAZIONE:

- Necessità di riprendere la terapia aferetica nei 30 giorni successivi alla sospensione del trattamento aferetico di consolidamento (tapering)
Va considerata come esito negativo per il protocollo

RICADUTA:

- Ripresa della sintomatologia dopo i 30 giorni successivi alla sospensione del trattamento aferetico di consolidamento (tapering).
In questo caso va considerata come nuovo episodio e l'episodio precedente va considerato come esito positivo del trattamento.

SCHEMA DI TRATTAMENTO AFERETICO:

➤ **Fase di induzione** (primi 10 giorni successivi alla diagnosi)

⇒ **1 Plasma-exchange/die** con scambio di 1 volume plasmatico (in base a Hct e PC) (comunque non meno di 8 PEX in 10 giorni).

Qualora non sia possibile eseguire PEX d'urgenza (es: ricovero e diagnosi in un giorno festivo in un centro privo di reperibilità aferetica) può essere infuso PFC alla dose di 30 ml/Kg ; il PEX dovrà essere comunque iniziato entro 12, massimo 24 ore dalla diagnosi.

Al termine della fase di induzione (10° giornata) viene fatta una prima valutazione clinico laboratoristica:

➤ Se è positiva si passa alla **Fase di consolidamento (tapering)**

⇒ 3-5 PEX a giorni alterni in due settimane

➤ Se è negativa si prosegue con 1 PEX/die sino alla risposta terapeutica (se la risposta si ha entro il 21° giorno si prosegue con lo schema di tapering descritto sopra e si considera raggiunto l'obiettivo del protocollo; in caso contrario è evidente che l'obiettivo del protocollo non è stato raggiunto e vi è libertà di terapia aferetica)

➤ **Trattamento con metilprednisolone a dosaggio standard da associare alla terapia aferetica:**

1 mg/Kg/die ev di metilprednisolone dal giorno della 1° procedura fino all'ottenimento della risposta clinico-laboratoristica.

Nei pazienti in cui si è ottenuto un esito positivo il trattamento sarà:

- **Metilprednisolone 1 mg/Kg/die ev per una ulteriore settimana**
- **Nelle settimane successive il metilprednisolone (o dose equivalente di prednisone-prednisolone) viene somministrato per os e la sua posologia ridotta del 50% ogni settimana sino alla sospensione da ottenersi nell'arco di un mese.**

NB: i dosaggi di cortisonico devono essere intesi come dose giornaliera globale (incluse le quantità di farmaco somministrate durante le sedute di plasmaexchange). Per tale motivo è preferibile che la somministrazione del farmaco in reparto sia programmata nelle ore successive alla PEX.

DATI DA RACCOGLIERE:

Vista la finalità dello studio (valutazione solo dell'efficacia del liquido sostituyente non di terapie farmacologiche o di aspetti clinico-laboratoristici e ricerca della più ampia partecipazione dei centri di aferesi) la tipologia dei dati da raccogliere è volutamente la meno complessa possibile.

In allegato al protocollo sono disponibili:

1. **Scheda Adesione** al protocollo (da scaricare dal sito)
Da compilare e inviare da parte del centro che aderisce allo studio
2. **Scheda Arruolamento Paziente** (da scaricare dal sito)
Da compilare e inviare per ciascun paziente alla diagnosi
3. **Scheda Raccolta Dati** (da scaricare dal sito)
da compilare al termine del trattamento (in caso di esito positivo a un mese dall'ottenimento della risposta
4. **Modalità di invio campioni per dosaggio ADAMTS 13** (allegato A)
5. **Elenco esami consigliati** (allegato B)

Dati amministrativi

- Dati struttura che effettua l'aferesi
(Ospedale-Reparto-Medico di Riferimento.....)
- Dati paziente (Codice Data di nascita Sesso)
(verranno codificati i dati sensibili dei pazienti nel rispetto della legge sulla privacy)

Dati anamnestici

- Tipologia dell'episodio (1° episodio - recidiva)
- Data di esordio
- Data risposta
- Remissione (Si-No)
- Esito negativo (specificare quale)
- Mortalità
 - TTP correlata
 - Non TTP correlata
- Anamnesi prossima del paziente
- Anamnesi familiare per PTT o malattie sistemiche implicate in casi di PTT
- Giudizio clinico: TTP familiare, idiopatica, secondaria associata a.....farmaci, neoplasia interventi , malattie autoimmuni..)

Dati clinici

- Diarrea (Sì-No)
- Vomito (Sì-No)
- Dolori addominali (Sì-No)
- Febbre (Sì-No)
- Porpora (Sì-No)
- Funzione renale
 - Creatinina > 3.5 mg/dl e/o dialisi
 - Creatinina >1 < 3.5 mg/dl
 - Normale
- Segni neurologici
 - Maggiori
 - Minori
 - Nessuno
 - Complicazioni

Dati laboratoristici

(vanno registrati i dati raccolti all'esordio, alla valutazione della risposta, alla dimissione e al controllo)

- Hb Hct RBC WBC PLT Reticolociti Schistociti
- Aptoglobina
- Proteine totali Albumina Creatinina Bilirubina ALT LDH
- TP TTP Fibrinogeno
- Proteina S per gli utilizzatori del plasma trattato con solvente-detergente
- Coombs Diretto Coombs Indiretto
- Es. Urine
- HIV HCV HBV

Va previsto, previa acquisizione del consenso informato, il controllo dell'assetto virale con metodica NAT (HBV, HCV, HIV) all'inizio del trattamento aferetico e dopo 6 mesi.

- ADAMTS 13

Il dosaggio verrà centralizzato presso l'Ospedale di Padova (Prof. Fabris):

i campioni potranno essere raccolti e conservati/inviati secondo le modalità allegate.

Dati relativi al trattamento aferetico.

- Tipo plasma usato
- Data inizio e Data fine del trattamento aferetico
- Volumi trattati
- N° trattamenti
 - Complessivi
 - Eseguiti fino al raggiungimento dell'end-point primario
- Complicanze al trattamento
 - Reazioni da plasma (Sì - No; Tipo di reazione)
 - Tossicità da citrato
 - Altre Reazioni

Terapia farmacologica di prima linea e seconda linea

- Vanno registrate tutte le terapie farmacologiche utilizzate sia in caso di esito positivo che di esito negativo.

ALLEGATO A

Modalità raccolta campioni di sangue per dosaggio ADAMTS 13

1. CAMPIONI PER LA CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA

- 15 ml di sangue intero raccolto in Sodio Citrato (3.8 % o 3.2%)(1/9 V/V))
(Per il dosaggio dell'attività di ADAMTS-13 e dell'anticorpo)
- 5 ml di sangue intero raccolto in EDTA

Centrifugare i campioni per 15' a 1500 g (plasma povero in piastrine) a temperatura ambiente.

Prelevare il sovranatante e stoccare i plasmi nel seguente modo:

Campioni con anticoagulante Sodio Citrato: aliquote da 500 µl ciascuno.

Campioni con anticoagulante EDTA: aliquote da 250 µl ciascuno.

Distinguere le provette in EDTA da quelle in Citrato.

Congelare a -80 °C se possibile, in alternativa a -20 °C.

2. CAMPIONI PER LA CARATTERIZZAZIONE GENOTIPICA

Le cellule ottenute dalla centrifugazione delle provette nella prima sezione devono essere trasferite in un'apposita provetta di plastica e congelate a -80°C almeno in due aliquote.

La spedizione del materiale deve essere eseguita in ghiaccio secco al seguente indirizzo:

Dott.ssa Anna Maria Lombardi

Annamaria.Lombardi@unipd.it

UOC di Medicina Interna CLOPD

Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche

049 8211391 phone & fax

Ex Istituto di Semeiotica Medica

Via Ospedale 105

35128 Padova Italy

ALLEGATO B

INDAGINI CLINICO LABORATORISTICHE

A scopo operativo si riportano le indagini CONSIGLIATE per la valutazione del paziente :

1. alla diagnosi:

emocromo, reticolociti, esame morfologico della striscio del sangue periferico per la ricerca degli schistociti, LDH, aptoglobina, bilirubina tot. e frazionata, AST-ALT, fosfatasi alcalina, creatinina-azotemia, PT-INR, PTT, fibrinogeno, ATIII, D-Dimero, Test di Coombs diretto e indiretto, esame delle urine, β -HCG (nelle donne in età fertile), HBsAg, HCV, HIV.

2. durante la terapia di induzione:

- controllo giornaliero di Emocromo e LDH.
- controllo a die alterni creatinina, aptoglobina, transaminasi, bilirubina, coagulazione*, urine

*per i pazienti trattati con plasma trattato con solvente detergente si suggerisce dosaggio almeno settimanale della proteina S.

3. alla valutazione (10° - 21°gg e al 30° g dalla sospensione):

emocromo, reticolociti, esame morfologico della striscio del sangue periferico per la ricerca degli schistociti, LDH, aptoglobina, bilirubina tot. e frazionata, AST-ALT, fosfatasi alcalina, creatinina-azotemia, PT-INR, PTT, fibrinogeno, ATIII.

Al 30° giorno dalla sospensione terapia aferetica si suggerisce controllo sierologia per HBV, HCV, HIV.

4. esami di secondarietà:

Una volta posta la diagnosi di PTT, è necessario accertarsi che la microangiopatia non sia secondaria ad altra patologia. Per tale motivo, tenuto conto del giudizio clinico e dell' anamnesi del paziente , può essere utile eseguire:

- dosaggio C3 e C4
- screenig per autoimmunità
- Ab-antifosfolipidi, LAC
- Screening per malattie neoplastiche (esami laboratoristici e strumentali)
- Screening batteriologico (urocultura, emocultura, tamponi etc)
- Screening virologico (EBV, CMV, HV)