

MeB – Pagine Elettroniche

Volume VII

Dicembre 2004

numero 11

PEDIATRIA PER L'OSPEDALE

Emofilia A e B

G. Bartolozzi

Haemophilia A and B – Part 1

Key words: Haemophilia A, Haemophilia B, Factor VIII, Factor IX, Von Willebrand disease, Coagulation disorders, Molecular genetics, Diagnosis

Abstract Haemophilia A and B are X-linked hereditary coagulation disorders caused by deficiency of factor VIII and factor IX respectively. This first part of the review covers the classification, pathophysiology, molecular genetics and diagnosis of haemophilia, based on the seminar by Bolton-Maggs and Pasi (Lancet 2003). The role of factors VIII and IX in haemostasis, the spectrum of genetic mutations and the correlation between genotype and inhibitor development are discussed, along with the differential diagnosis from von Willebrand disease and carrier detection.

Le emofilie sono malattie ereditarie nelle quali viene a mancare uno dei fattori della coagulazione: le più conosciute sono la emofilia e la emofilia B, anche se la malattia di Willebrand è la più frequente. I notevoli miglioramenti nella diagnosi e soprattutto lo sviluppo di trattamenti sicuri ed efficaci, hanno permesso che i soggetti che ne siano affetti, possano condurre una vita normale. Rimangono da risolvere ancora problemi di grande importanza, come la comparsa di complicazioni, particolarmente lo sviluppo di anticorpi verso il fattore impiegato, che pertanto diviene inefficace, o la comparsa di infezioni, trasmesse dal sangue o dai suoi derivati. Il seminario di Bolton-Maggs PHB e Pasi KJ ci offre un aggiornamento interessante e completo (Haemophilias A and B, Lancet 2003, 361:1801-09).

Le emofilie sono malattie ereditarie della coagulazione caratterizzate dalla bassa concentrazione di specifici fattori della coagulazione. Le forme più conosciute sono quelle dovute a mancanza del fattore VIII (**emofilia A**) e del fattore

IX (**emofilia B**), ambedue dovute ad alterazioni geniche X-legate. La mancanza del fattore XI (originariamente chiamata emofilia C) è meno comune e in molti casi si accompagna ad alterazioni lievi della coagulazione, ereditate come carattere autosomico recessivo, particolarmente comune negli ebrei Ashkenazi.

Tuttavia la più comune malattia ereditaria è la malattia di von Willebrand, dovuta a un'alterazione quantitativa e qualitativa del fattore di **von Willebrand**, presente in quasi l'1% della popolazione in generale. Questa malattia è generalmente lieve, ma può rappresentare un'importante causa di menorragia nelle famiglie colpite. Va sottolineato il fatto che la diagnosi di questa affezione non è affatto esclusa dal reperto di normali esami della coagulazione.

Deficienze congenite di altri fattori della coagulazione sono molto rare: si tratta di condizioni autosomiche recessive, più frequenti nelle comunità nelle quali sia comune la consanguineità.

L'emofilia A e B sono clinicamente indistinguibili l'una dall'altra. La diagnosi e quindi il riconoscimento dell'una o dell'altra vanno confermati con la ricerca del fattore specifico. La tendenza al sanguinamento è in relazione alla concentrazione del fattore ed è classificata come lieve, moderata e grave (vedi *Tabella 1*). Questa classificazione valuta il rischio di sanguinamento, indica il trattamento migliore e predice l'evoluzione. Mentre la maggioranza dei pazienti con le forme gravi di emofilia necessita di un trattamento regolare di sostituzione, pochi di loro sanguinano spontaneamente e necessitano quindi di un trattamento occasionale. Va ricordato che l'eredità anche di geni trombofilici può modificare l'espressione clinica dell'affezione.

I difetti congeniti dei fattori della coagulazione che richiedano un trattamento specialistico sono rari (vedi *Tabella 2*). Nel Regno Unito vi sono circa 5.000 soggetti con emofilia A; la prevalenza dell'emofilia B è circa un quinto di quella dell'emofilia A. A livello mondiale viene calcolato che vi siano mezzo milione di persone con emofilia A, con una prevalenza fra 105 e 160 per milione di popolazione maschile.

Concentrazioni del fattore VIII e IX	Classificazione	Clinica
<0,01 UI/mL (<1% del normale)	Grave	Sanguinamenti spontanei delle articolazioni e dei muscoli; sanguinamenti dopo traumi, incidenti e interventi chirurgici.
0,01-0,05 UI/mL (1-5% del normale)	Moderata	Sanguinamenti nelle articolazioni e nei muscoli in seguito a minimi traumi; eccessivi sanguinamenti dopo interventi chirurgici ed estrazioni dentarie
>0,05-0,4 UI/mL (5-40% del normale)	Lieve	Non avvengono sanguinamenti spontanei, sanguinamenti dopo interventi chirurgici, estrazioni dentarie e incidenti.

Mancanza del fattore	Prevalenza stimata della deficienza grave (x 10 ⁶)*	Gene sui cromosomi
Fattore VIII o fattore IX	133 nel 10 ⁶ maschi**	X
Fibrinogeno	1	4
Protrombina	0,5	11
Fattore V	1	1
Combinato V e VIII	1	18
Fattore VII	2	13
Fattore X	10	13
Fattore XI	1***	4
Fattore XIII	0,5	6 (subunità A) 1 (subunità B)

*Concentrazione del fattore <10% del normale.

**Dati combinati dei fattori VIII e IX con tutte le gravità.

***Particolarmente negli Ebrei Ashkenazi, fra i quali la stima della prevalenza della mancanza grave è di 1 su 190 e l'8,1% della popolazione è eterozigote.

L'EMOSTASI E IL RUOLO DEI FATTORI VIII E IX

Il sanguinamento avviene nell'emofilia a causa dell'insufficienza dell'emostasi secondaria. L'emostasi primaria, la formazione del tappo piastrinico avvengono normalmente, ma la stabilizzazione del tappo di fibrina è difettoso per l'inadeguata quantità di trombina prodotta.

Sebbene la classica ipotesi della cascata della coagulazione proponga due vie separate, i fattori VIII e IX rappresentano il punto centrale del processo di coagulazione e per l'adeguata produzione della trombina (vedi *Figura 1*).

Dopo la lesione, l'attivazione del complesso del fattore tissutale e del fattore VII media la produzione del fattore Xa. Questa produzione deve essere amplificata dal fattore VIII e IX che permettono alla coagulazione di progredire verso il completamento. È evidente che in assenza del fattore VIII e IX, l'amplificazione e la generazione consolidata del fattore Xa è insufficiente per mantenere l'emostasi.

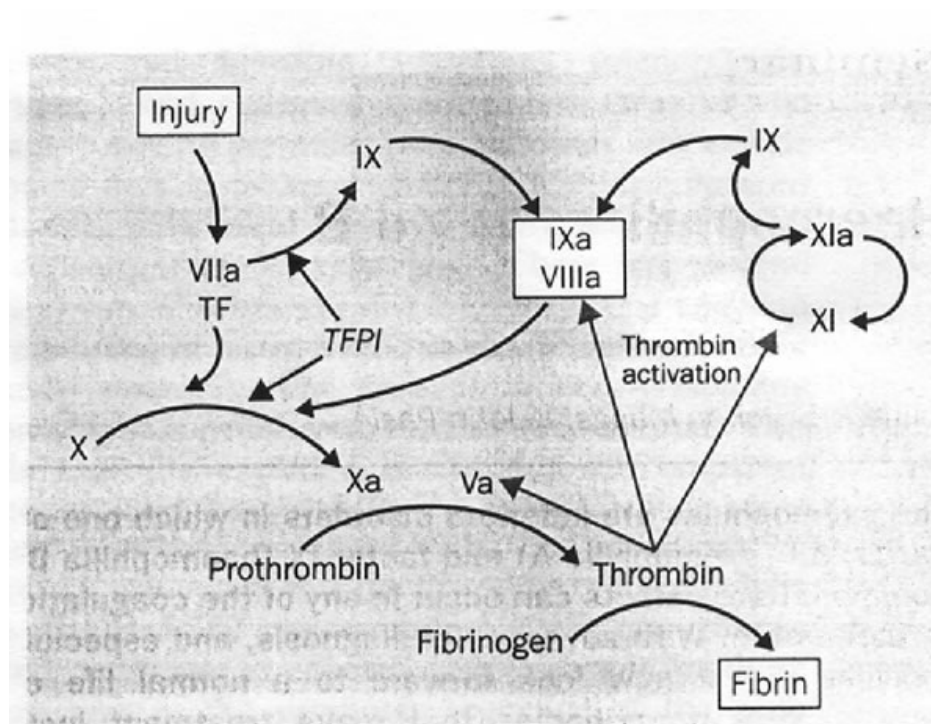


Figura 1. Schema della coagulazione in vivo

La coagulazione inizia quando il danno del tessuto espone il fattore tissutale (TF). Il fattore VII si lega al fattore cellulare; il complesso attiva direttamente il fattore X a Xa e parte del fattore IX a fattore IXa. In presenza del fattore Xa, l'inibitore del fattore tissutale (TFPI) inibisce l'ulteriore produzione del

fattore Xa e IXa. Dopo questa inibizione la quantità di fattore Xa prodotta non basta a mantenere la coagulazione. L'ulteriore produzione di fattore Xa per permettere all'emostasi di completarsi, può derivare solo dal fattore VIII-IX. Viene così formata sufficiente trombina per attivare il fattore VIIIa e

insieme il fattore IXa, che attivano ulteriori quantità di fattore X. Un aumento dell'attivazione del fattore del IX avviene attraverso la via del fattore XI.

GENETICA MOLECOLARE DELL'EMOFILIA

I geni del fattore IX e VIII sono stati clonati rispettivamente nel 1982 e nel 1984. Questa clonazione è stata determinante per la produzione dei concentrati di fattori della coagulazione ricombinanti, per uso terapeutico, per la generazione di animali knockout da usare come modelli di emofilia e infine per la produzione di proteine di tipo normale e di mutanti per l'analisi del rapporto funzione/struttura delle proteine.

EMOFILIA B: MUTAZIONI DEL FATTORE IX

Il fattore IX contiene 8 esoni e misura 33,5 kb. Esso si trova sul braccio lungo del cromosoma X, all'Xq27. Il gene del fattore IX è molto più piccolo e meno complesso del gene del fattore VIII.

Sono state riscontrate più di 2.100 mutazioni del gene del fattore IX: esse sono state descritte in tutte le regioni del gene; nella maggioranza dei casi si tratta di mutazioni puntiformi, spesso (2/3) di tipo missense. Circa il 20-30% dei casi di emofilia B è dovuto a un piccolo numero di mutazioni "founder". Circa il 7% sono piccole aggiunte o delezioni e il 3% è rappresentato da mutazioni grossolane o da riarrangiamenti complessi. La sostituzione nella regione promotrice del fattore IX classicamente risulta nel raro fenotipo fattore IX Leiden.

EMOFILIA A: MUTAZIONI DEL GENE DEL FATTORE VIII

Il gene del fattore VIII è formato da 186 kb, consiste di 26 esoni e si ritrova sul braccio lungo del cromosoma X a Xq28. Esso ha all'interno dell'introne 22, due geni addizionali (F8A ed F8B). Due copie del gene F8A si ritrovano al di fuori del gene del fattore VIII (400 kb telomerica). La funzione di questi due geni addizionali non è conosciuta.

Il più comune difetto genetico nell'emofilia A, che colpisce il 45% dei soggetti con malattia grave, ha una larga inversione e traslocazione degli esoni 1-22 (insieme con gli introni). A parte questa mutazione le altre sono quasi sempre delle mutazioni puntiformi (circa 85% mis-sense e il 15% non-sense), di cui il 5% sono grandi o piccole delezioni o inserzioni.

RISCHIO DI COMPARSA DEGLI INIBITORI E DIFETTO MOLECOLARE

Il rischio di comparsa degli inibitori è associato al tipo di mutazione presente. Nella emofilia A i pazienti con mutazione che tronca in modo grave o previene la produzione del fattore VIII (inversione dell'introne 22, grandi delezioni, mutazioni non-sense) hanno una frequenza più elevata (circa il 35%) dello sviluppo di inibitori di quelli che hanno una mutazione mis-sense o piccole delezioni (circa il 5%), nelle quali una piccola quantità della proteina può essere prodotta.

Nella emofilia B i pazienti con delezione del gene o con riarrangiamenti hanno un rischio di sviluppare inibitori di circa il 50%, mentre per mutazioni "frameshift", stop prematuri o mutazioni "splice-site" il rischio è di circa il 20%. Per quelli che hanno mutazioni mis-sense il rischio è quasi uguale a zero.

DIAGNOSI

L'emofilia viene diagnosticata:

- In base alla storia familiare (che manca in un terzo degli emofilici)
- O in base alla presenza di un'emorragia.

La maggior parte dei bambini nasce senza complicazioni in seguito a un parto vaginale. La stima dell'emorragia intracranica nel periodo neonatale è fra l'1 e il 4%: questa complicazione è più facile entro la prima settimana di vita. L'emorragia è particolarmente a rischio quando si usi il vacuum extractor. Quando la storia della famiglia fa prevedere la possibilità della nascita di un bambino ammalato di emofilia, è essenziale una buona comunicazione fra l'ostetrico, il pediatra e l'ematologo. La maggioranza dei bambini è senza sintomi finché non comincino a gattonare o a camminare.

Il punto essenziale dell'emofilia grave è la comparsa spontanea di sanguinamenti nelle articolazioni e nei muscoli, che portano alla comparsa di dolore e di lesioni distruttive se non adeguatamente trattati. La maggioranza dei bambini con grave emofilia presenta il suo primo sanguinamento in un'articolazione dall'età di 4 anni in poi, ma sanguinamenti in altre sedi sono già presenti prima di questa età. I lattanti colpiti sanguinano facilmente e il sospetto di una lesione non accidentale può sorgere nel trattare precocemente una lesione traumatica.

L'emofilia moderata viene diagnosticata nella maggioranza dei casi dopo l'età di 5 anni, anche se a volte questa emofilia viene diagnosticata più tardi nella vita dopo un trauma o un intervento chirurgico.

Va ricordato che la concentrazione di fattore VIII non cambia in modo significativo con l'età nella emofilia A.

La deficienza del fattore VIIIIC, dovuta all'emofilia A deve essere distinta dalla malattia di von Willebrand dosando il fattore von Willebrand. La storia familiare (con la trasmissione autosomica) e i sintomi della emorragia (menorragia, facile comparsa di ematomi ed epistassi) aiutano nella diagnosi differenziale. La maggior parte dei casi di malattia di von Willebrand sono lievi; ematomi e sanguinamenti muscolari insorgono soltanto nella forma grave tipo 3 (molto rara) nella quale il fattore di von Willebrand è assente e la concentrazione di fattore VIIIIC è molto bassa. Ci sono molti sottotipi di malattia di von Willebrand, incluso uno dovuto alla difettosa unione del fattore VIIIIC al fattore di von Willebrand (variante Normandy). La quantità di fattore di von Willebrand è normale in questi casi, ma è la combinazione con il fattore VIII che è anormale. Questa diagnosi deve essere esclusa nelle famiglie con apparente emofilia A lieve o moderata, specialmente se alcune donne della famiglia hanno una concentrazione bassa di fattore VIIIIC.

Il dosaggio del fattore IX conferma la diagnosi di emofilia B. La concentrazione del fattore IXC non cambia significativamente con l'età nei soggetti colpiti, eccetto per quelli con mutazione nella sequenza del gene (fattore IX Leiden), nella quale la concentrazione aumenta con le modificazioni ormonali alla pubertà. La grave emofilia B diviene lieve e i pazienti con emofilia B lieve possono sviluppare una normale concentrazione di fattore IXC. L'identificazione di queste famiglie è importante perché la prognosi è migliore.

Le emofilie A e B sono malattie legate al sesso; poiché la concentrazione media del fattore nei portatori è circa la metà del normale, una buona parte delle donne portatrici ha basse concentrazioni dei fattori VIII C e IXC, che possono predisporre a un eccesso di emorragie. La concentrazione dei fattori deve essere misurata nelle ragazze e nelle donne che sono delle sicure o delle possibili portatrici. La concentrazione del fattore VIII C deve essere misurata più di una volta, perché la concentrazione può aumentare sotto stress, essendo il fattore VIII una proteina della fase acuta. Anche concentrazioni normali, riscontrate più volte non escludono uno stato di portatore, che può essere determinato con sicurezza solo dall'identificazione della mutazione. Questa prova genetica può essere eseguita soltanto quando la ragazza abbia raggiunto l'età per consentirle (fra 12 e 16 anni).

Raramente le donne hanno una grave emofilia: questa può verificarsi quando:

- C'è un'estrema lyonizzazione
- Nella sindrome di Turner
- Quando ambedue i genitori siano portatore del gene patologico (padre con emofilia e madre portatrice)

Quando in una famiglia venga posta la diagnosi di emofilia, il clinico deve raccogliere un'accurata storia familiare e deve costruire un accurato pedigree.