

EMOSTASI



Cattedra di Ematologia



Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

Corso di Malattie del Sangue

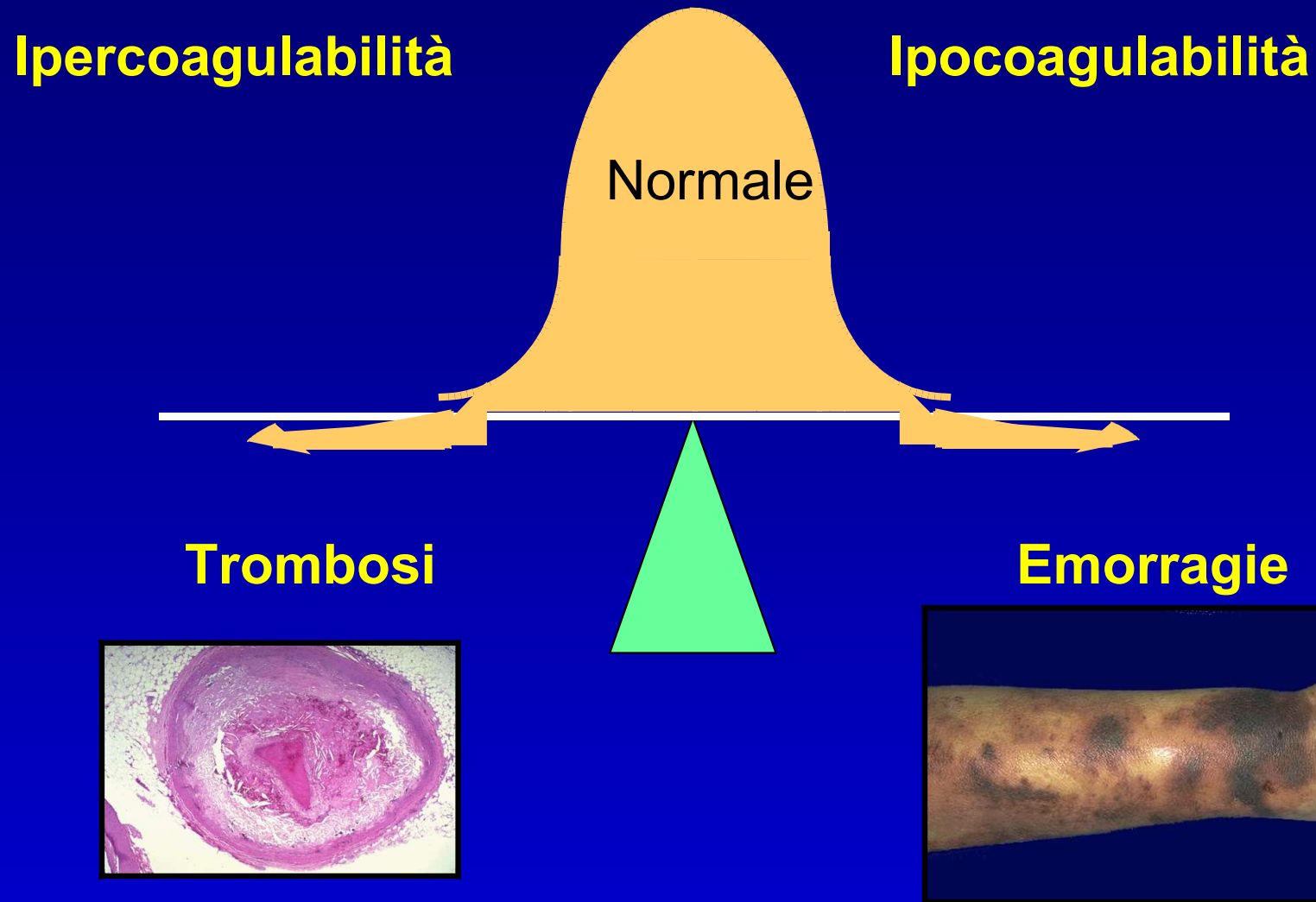
Definizione di emostasi

L'emostasi è il processo che blocca lo stravasamento di sangue a seguito di un danno vascolare

Emostasi normale

-  L'emostasi normale è il risultato di una serie di processi controllati con precisione e svolge tre funzioni:
- mantenere **attivamente** il sangue in uno stato fluido senza coaguli nei vasi normali
 - riparare le continue fisiologiche microlesioni alla parete endoteliale dei vasi dovute allo scorrimento stesso del sangue senza provocare una coagulazione massiva con blocco della circolazione
 - indurre la formazione rapida di un tappo emostatico (coagulazione) localizzato nel sito di una rottura del vaso, bloccando la fuoriuscita del sangue (emorragia)
-  In caso di alterazione dell'omeostasi vasculo-ematica tre sono i fenomeni principali che avvengono nei vasi:
- la vasocostrizione reattiva
 - la formazione del coagulo (coagulazione)
 - l'attivazione del sistema di riparazione

Bilancia emostatica



Processo emostatico: descrizione

Inizia quando il sangue viene a contatto con sostanze diverse da quelle presenti sulla superficie endoteliale delle pareti dei vasi.

Emostasi primaria

- *rapida formazione di un **tappo piastrinico** a livello della lesione*
- *avviene in pochi secondi*
- *fondamentale per arrestare la fuoriuscita di sangue dai vasi capillari e dalle venule*

Emostasi secondaria

- *attivazione del sistema della coagulazione → **formazione della fibrina** → rafforza il trombo emostatico primario*
- *richiede alcuni minuti*
- *importante soprattutto per bloccare la fuoriuscita del sangue dai vasi di calibro maggiore*

Fattori coinvolti nell'emostasi



1: fase vascolare

**Lesione vasale → vasocostrizione reattiva
(riduzione il flusso ematico) → fenomeno
transitorio**

riflesso nervoso;

**secrezione da parte delle cellule endoteliali di fattori →
endotelina;**

**favorisce il contatto del sangue con la matrice
sottoendoteliale esposta dalla perdita di cellule
endoteliali**

**danno vascolare con esposizione del subendotelio (TF,
fattore vonWillebrand)**

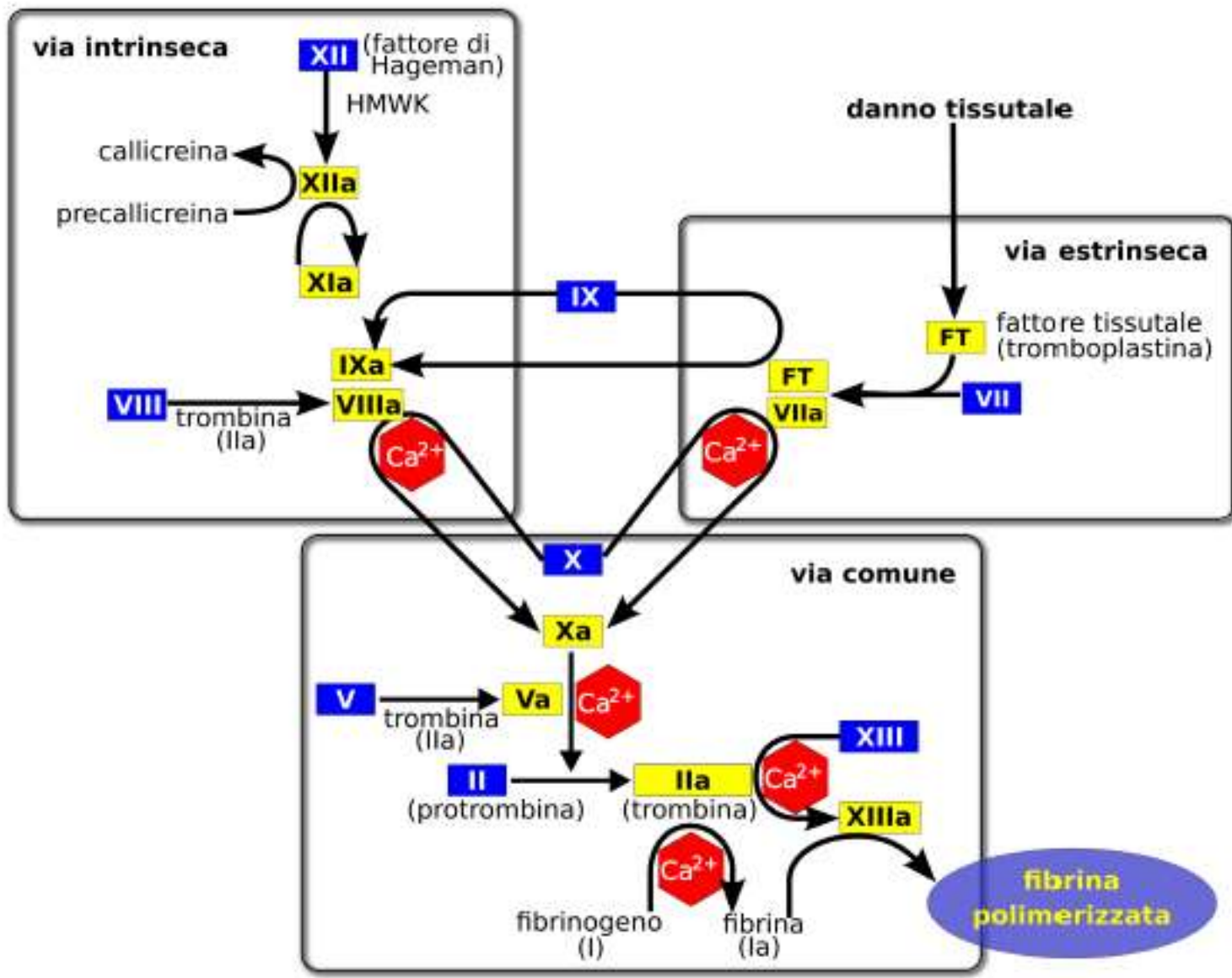
**la matrice contiene proteine (in particolare collagene,
proteoglicani e fibronectina) capaci di fare aderire le
piastrine ed attivare la cascata della coagulazione
la fase vascolare non viene valutata in laboratorio**

2: fase piastrinica

- **Contatto del sangue con sostanze non endoteliali → attivazione piastrinica**
 - **adesione delle piastrine alla matrice extracellulare esposta (collagene) mediante recettori specifici e passaggio da una forma discoidale (discociti) ad una forma sferica (sferociti) con protrusione di pseudopodi (“shape change”)**
 - **secrezione con liberazione di molecole ad attività vasocostrittrice e/o pro-aggregante (serotonina, tromboxano TXA2, adenosindifosfato ADP e ioni calcio)**
 - **aggregazione:**
 - mediata principalmente dall’ADP e dal TXA2
 - porta alla formazione di un aggregato piastrinico di crescenti dimensioni (**tappo emostatico piastrinico o primario**)
 - in seguito alla produzione della trombina e della fibrina il tappo emostatico primario si trasformerà in una massa di piastrine saldate irreversibilmente → *tappo emostatico secondario o definitivo*

3: fase plasmatica o dell'emocoagulazione


- *Consiste in una serie di conversioni di proenzimi inattivi in enzimi attivi*
- *Culmina con la trasformazione di una proteina plasmatica solubile, il fibrinogeno, in un polimero insolubile, la fibrina*
- *Ogni reazione segue questo schema: enzima (il fattore attivato) → agisce su un substrato (il fattore successivo nella forma non attiva) in presenza di un cofattore che accelera la reazione*
- *La formazione di fibrina ha un ruolo fondamentale consolidando il tappo emostatico piastrinico e per i processi di riparazione dei tessuti*



FATTORI DELLA COAGULAZIONE


Nomenclatura	Sintesi	Vit. K dip	P.M. (Dalton)	Emivita (ore)	Concentrazione plasmatica (µg/ml)
<i>Fattore I</i> (Fibrinogeno)	fegato		340000	90	1500-4000
<i>Fattore II</i> (Protrombina)	fegato	+	70000	60	100
<i>Fattore III</i> (TF)	tessuti		46000	/	/
<i>Fattore IV</i> (ioni Ca)	/	/	/	/	/
<i>Fattore V</i>	fegato		330000	18-25	10
<i>Fattore VI</i> (F V attivato)	/	/	/	/	/
<i>Fattore VII</i>	fegato	+	48000	5-6	0.13-1.00
<i>Fattore VIII</i> (fattore antiemofilico A)	fegato RES		300000	10-14	0.05-0.15
<i>Fattore IX</i> (fattore antiemofilico B)	fegato	+	57000	20-25	5
<i>Fattore X</i>	fegato	+	59000	40-60	12
<i>Fattore XI</i>	fegato		160000	50-65	3-6
<i>Fattore XII</i>	fegato		80000	55-60	30
<i>Fattore XIII</i>	MKC		320000	90-150	10-20
Precallicreina (PK)	fegato		86000	58	50

36.2.2. VIA INTRINSECA

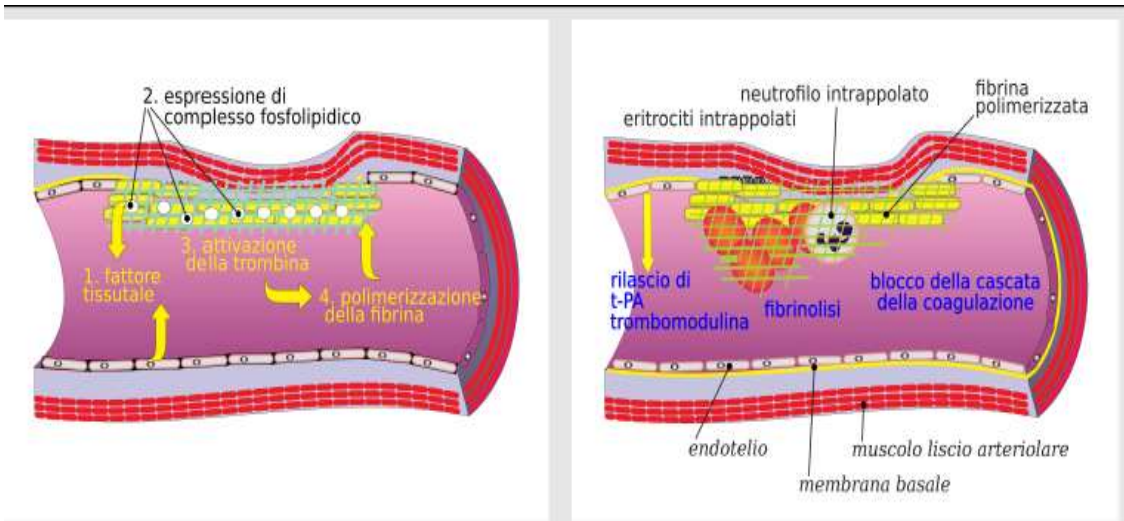
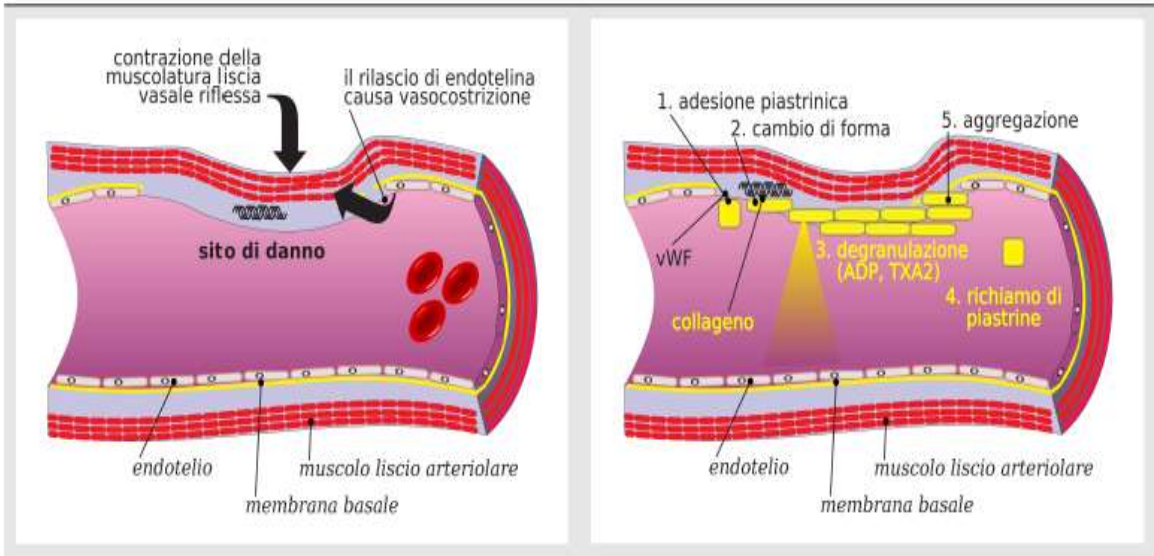
 La via intrinseca della coagulazione

- è chiamata così perché i fattori che la compongono sono sempre circolanti nel sangue
 - viene attivata quando il sangue incontra una superficie anomala diversa dalla membrana della cellula endoteliale (fanno eccezione alcuni distretti capillari fenestrati in cui cellule non epiteliali si affacciano direttamente sulla corrente ematica, come quello epatico, splenico, midollare osseo, ed anche distretti derivati dalla neo-angiogenesi nell'ambito di neoplasie maligne, particolarmente di origine connettivale, che hanno strutture anomale)
 - la formazione del coagulo attraverso questa via richiede alcuni minuti
 - questa via inizia con l'attivazione del fattore XII di Hageman
-

36.2.3. VIA ESTRINSECA

 La via estrinseca della coagulazione

- viene attivata dal danno tissutale con la liberazione di un **fattore tissutale** (componente strutturale dei tessuti, normalmente non in contatto con il plasma) che forma un complesso con il fattore VIIa attivando così il fattore X di Stuart
 - questa via conduce alla formazione del coagulo in un tempo valutabile in pochi secondi
-



Meccanismi di controllo della cascata coagulativa

Equilibrio tra arresto della emorragia e rischio di formazione di trombo con occlusione del vaso



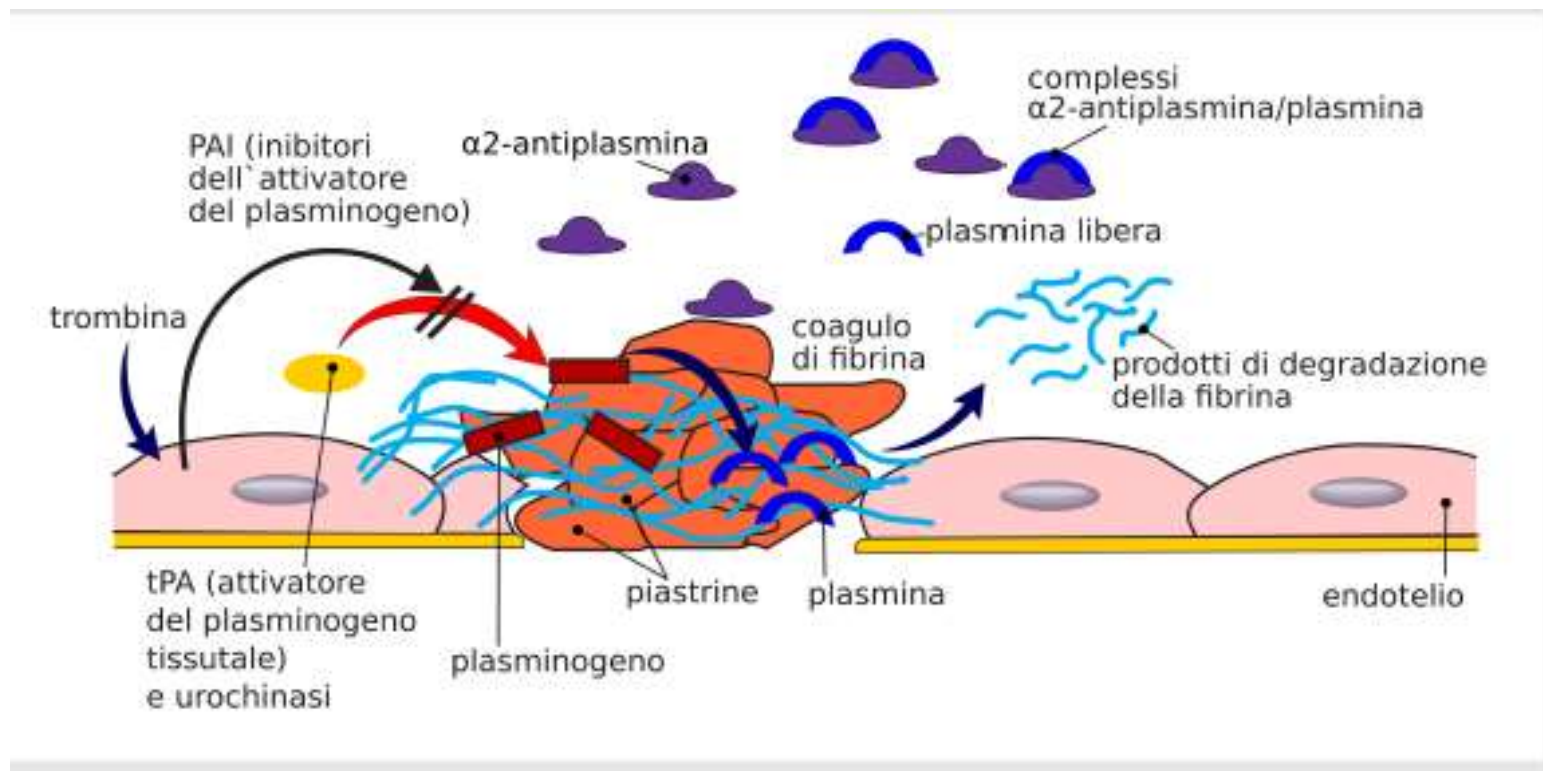
- 1) Flusso ematico: allontana e diluisce i fattori attivati**
- 1) Sistema reticolo-endoteliale che rimuove gli attivatori della coagulazione, fattori attivati e fibrina**
- 1) Fibrina : affinità per la trombina, sottraendola dal circolo e ne impedisce la diffusione**
- 1) Inibitori fisiologici della coagulazione: ATIII, Proteina C, Proteina S, Trombomodulina, Cofattore eparinico II**

4.fase fibrinolitica

Il sistema fibrinolitico è fisiologicamente preposto alla dissoluzione dei trombi e dei coaguli di fibrina

Tale compito è svolto dalla **plasmina**, un potente enzima (proteasi) che viene generata da un precursore ematico inattivo, il plasminogeno, attivato dal t-PA (attivatore tissutale del plasminogeno), prodotto dalle cellule endoteliali

IL SISTEMA FIBRINOLITICO



Anticoagulanti endogeni

Antitrombina III:

- ***proteina prodotta dal fegato***
- ***inibisce l'attività di IXa, Xa, XIa XIIa e della trombina***
- ***attivata dall'eparina***

Eparina:

- ***Polisaccaride solforilato prodotto dai mastociti***
- ***attiva l'antitrombina III mediante modifiche conformazionali***
- ***Usato in terapia → inibitore del coagulazione rapido e potente***

Trombomodulina:

- ***Glicoproteina esposta sulla superficie delle cellule endoteliali***
- ***Lega la trombina alla proteina C***

Protein C:

- ***Serina proteasi contenente Gla***
- ***Degrada i fattori Va e VIIIa***
- ***Stabilizzata dalla proteina S***

Proteina S:

- ***Cofattore che stabilizza la proteina C attivata***

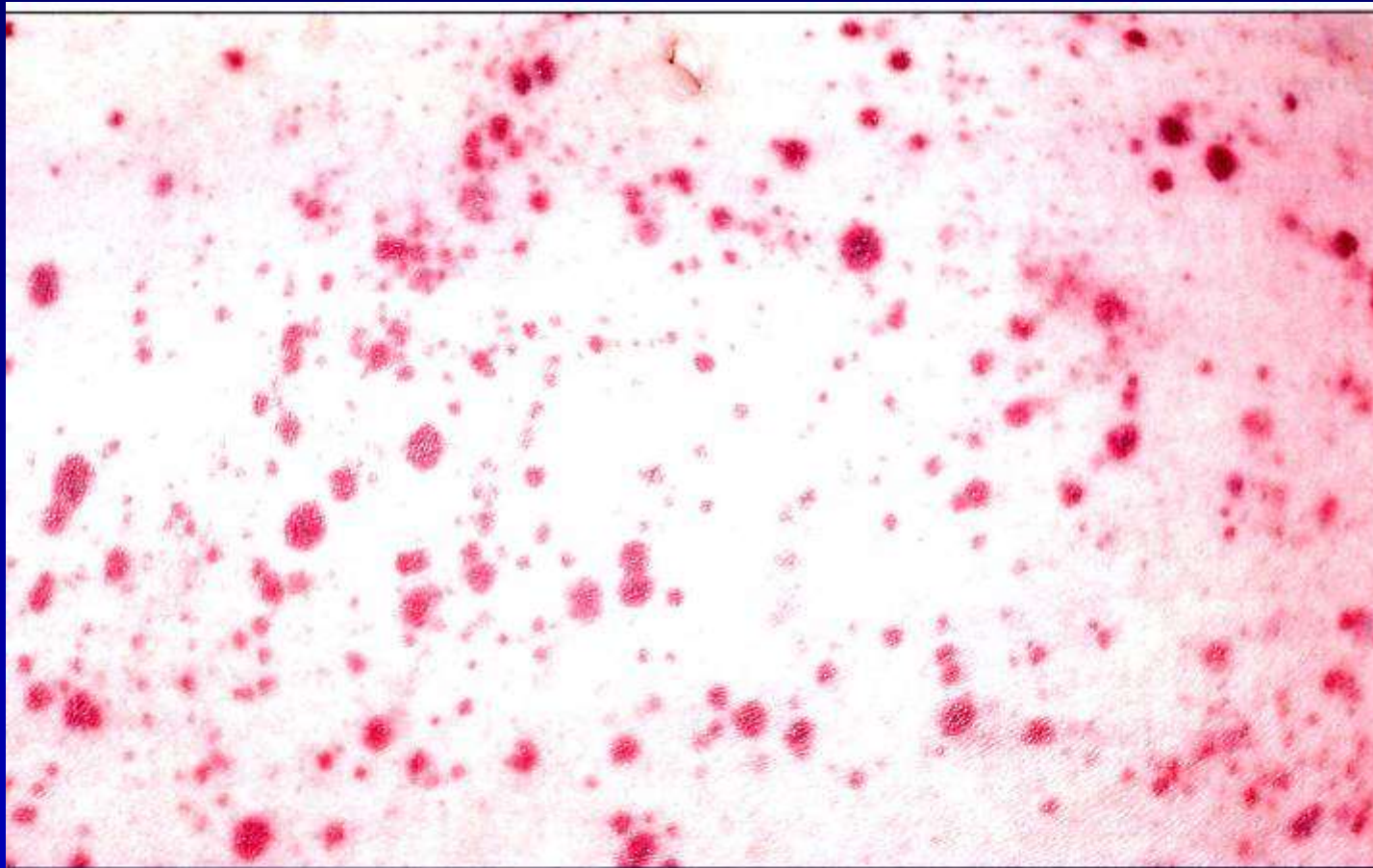
Inibitore del fattore tissutale

- ***Inibisce l'attivazione dei fattori IX e X da parte del fattore VIIa***

Manifestazioni cliniche associate a deficit dell'emostasi

- **petecchie**: piccole emorragie capillari con diametro di circa 1-2 mm di colorito rosso violaceo, frequenti nelle zone dove maggiore è la pressione idrostatica o dove c'è pressione o frizione esterna
- **porpore**: emorragie con diametro ≥ 3 mm costituite da un insieme di petecchie
- **ecchimosi**: versamenti emorragici sottocutanei di diametro tra 1 e 2 cm, inizialmente di colore rosso-blu, poi verde-blu e quindi giallo-oro
- **ematomi**: versamenti emorragici profondi che spesso dissecano le fasce muscolari; possono avere esiti clinicamente insignificanti (lividi) così come gravissimi, finanche mortali (versamento retroperitoneale da dissecazione di un aneurisma dell'aorta)
- **versamenti ematici in cavità dell'organismo**: emotorace, emopericardio, emoperitoneo, emartro
- **sanguinamenti da determinati distretti dell'organismo**: gengivorragia, epistassi, ematemesi, melena, ematuria, menorragia e metrorragia, emorragia SNC

Alterazione dell'emostasi primaria: porpora



g. 15.24 Thrombocytopenia: abdominal skin purpura in myelodysplastic syndrome. The platelets are often functionally abnormal as well as reduced number.

Alterazione dell'emostasi primaria: ecchimosi



Fig. 15.25 Thrombocytopenia: large ecchymosis following performance of the Ivy bleeding-time test. The puncture marks of the stylet cutter are clearly visible.

Alterazione dell'emostasi secondaria: emorragie

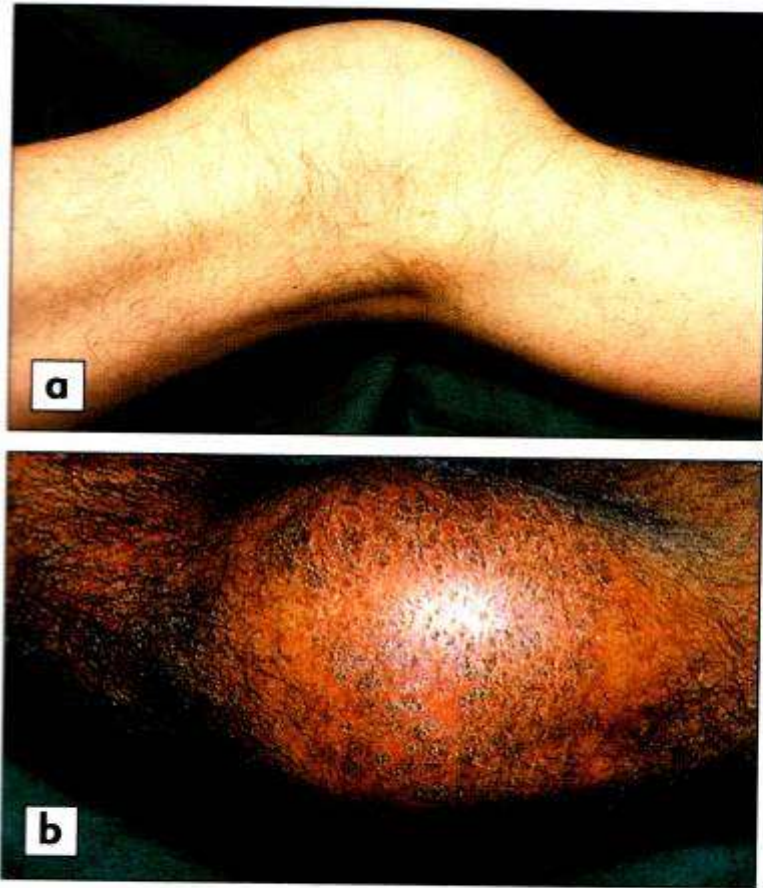


Fig. 16.6a and b Haemophilia A: (a, b) gross swelling from acute haemarthroses of the knee joints.



Fig. 16.7 Haemophilia A: acute haemarthrosis of the left knee joint, with swelling of the suprapatellar area. The quadriceps muscles are wasted, particularly that on the patient's right thigh.

Alterazione dell'emostasi secondaria acquisite



Fig. 16.37 Liver failure: subcutaneous haemorrhage of the upper arm following minor trauma. Laboratory tests revealed deficiencies of factors II, VII, IX and X as well as dysfibrinogenaemia.

Alterazione dell'emostasi secondaria acquisite



Fig. 16.48 Acquired coagulation factor inhibitor: extensive subcutaneous and deep soft-tissue haemorrhage in the arm because of circulating autoantibody to factor VIII.

Test di uso comune per valutare la coagulazione

Valutazione fase piastrinica

- *Emocromo → conta piastrinica*
- *tempo di emorragia*
 - *Tempo necessario per la formazione del tappo piastrinico in seguito a puntura standardizzata*
- *aggregazione piastrinica*
 - *Ristocetina → Antibiotico che induce l'aggregazione piastrinica in presenza di vWf*

Valutazione fase fibrinica

- *PT*
- *aPTT*
- *dosaggio fibrinogeno*
- *dosaggio At-III*
- *dosaggio D-dimero*
- *dosaggio fattori coagulazione*

Test di screening dell'emostasi

Test di primo filtro sono test che permettono con buona probabilità di evidenziare la maggiore e più importante parte dei difetti emostatici

Test di secondo filtro vanno ad indagare dei difetti più rari, ma non per questo meno importanti

Test di screening dell'emostasi

Test di primo filtro: tempo di emorragia e conta piastrinica (esplorano la fase vasopiastrinica), il tempo di protrombina (PT), il tempo di tromboplastina parziale attivato (aPTT) (esplorano la fase della coagulazione)

Test di secondo filtro: dosaggio fattori coagulazione, dell' α 2 antiplasmina, del tPA e del PAI, del fattore piastrinico 3, del tempo di trombina, il tempo di Reptilase

Test di primo filtro: fase vasopiastrinica

1. Tempo di emorragia: E' il tempo necessario all'arresto del sanguinamento da un piccolo taglio, di dimensioni standardizzate, provocato sulla superficie cutanea (varia da 1 a 9 minuti)

Cosa valuta? L'interazione delle piastrine con la parete vascolare, e la successiva formazione del tappo emostatico primario

Quando è prolungato? In tutti i casi di piastrinopenia e piastrinopatie, in caso di carenza di alcuni fattori plasmatici (quali il fibrinogeno e il vWF),

Come si esegue? Esistono diversi metodi. Tutti sono modifiche di due tecniche: quella di Duke, che prevede l'incisione del lobo di un orecchio, e quella di Ivy, in cui si esegue un'incisione della cute dell'avambraccio, mantenendo costante la pressione ematica (40 mm Hg) mediante un manicotto

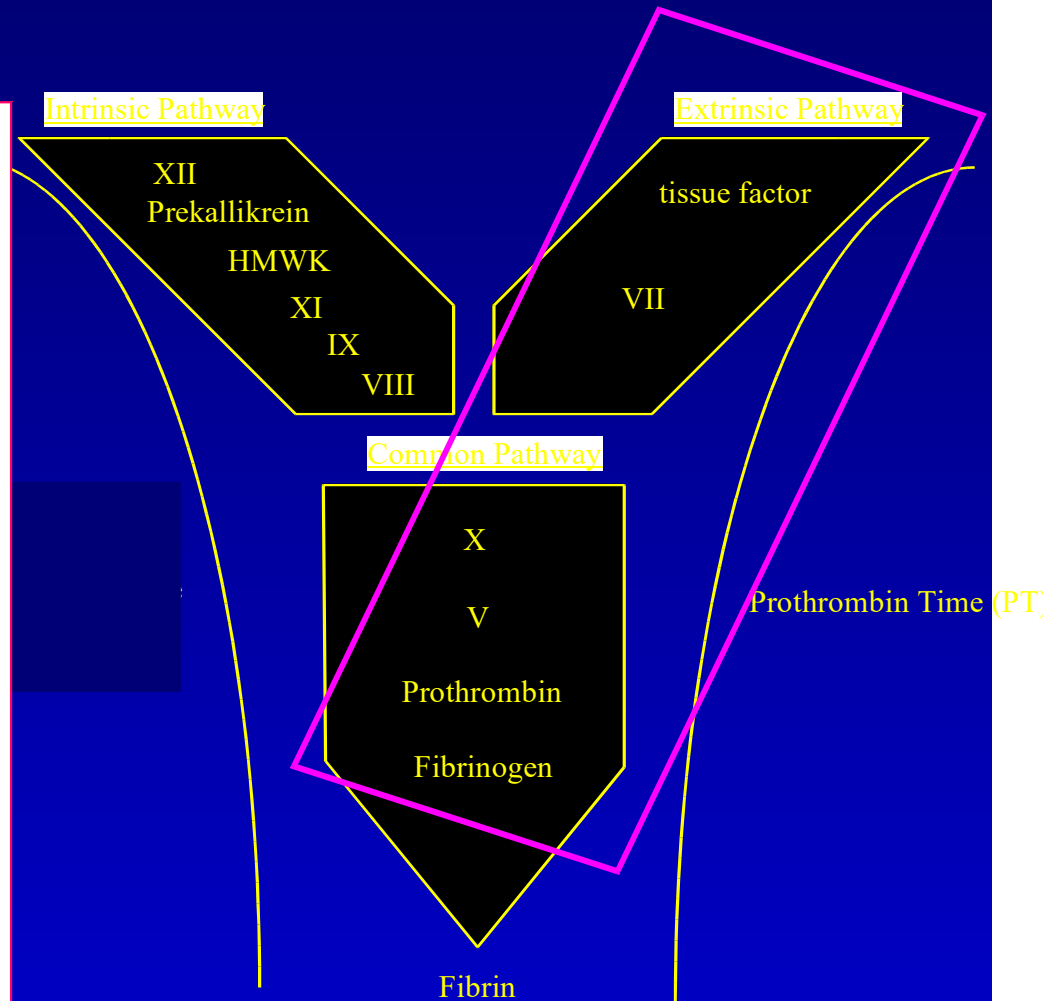
Test di primo filtro: fase vasopiastrinica

2: Conta piastrinica

- **150.000 - 400.000 / μ L: valori normali**
- **> 100.000 / μ L: i pazienti sono asintomatici e il tempo di sanguinamento rimane nella norma**
- **50.000 - 100.000 / μ L: il tempo di sanguinamento è lievemente allungato, ma senza alcuna sintomatologia emorragica**
- **< 50.000 / μ L: si osservano porpore cutanee dopo traumi minimi e sanguinamenti a livello mucoso in seguito a piccoli interventi chirurgici**
- **< 20.000 / μ L: notevole rischio di sanguinamenti spontanei intracranici e in altri sedi interne**

Tempo di protrombina (PT)

- **Identifica i deficit acquisiti o congeniti dei fattori VII, X, V, protrombina (II) e fibrinogeno (I).**
- **Monitoraggio della terapia anticoagulante orale con dicumarolici (INR) →**
 - **inibiscono l'attività dei fattori VII, IX, X e della protrombina.**
- **PT corto → privo di significato patologico**
- **PT lungo →**
 - **epatopatia.**
 - **deficit vitamina K**
 - **CID**
 - **sindrome nefrosica**
 - **Farmaci → dicumarolici**



tempo di protrombina (PT) o tempo di Quick

Questo test valuta l'efficacia della via estrinseca e comune della coagulazione (fattori I, II, V, VII e X)

Si esegue aggiungendo al plasma-citrato del paziente tromboplastina tissutale e ioni calcio, e cronometrando il tempo necessario alla formazione del coagulo

I valori sono normalmente espressi in secondi (v.n. tra 11 e 13 secondi) o come rapporto (ratio) tra il tempo del plasma in esame e quello di un campione di plasma normale di controllo



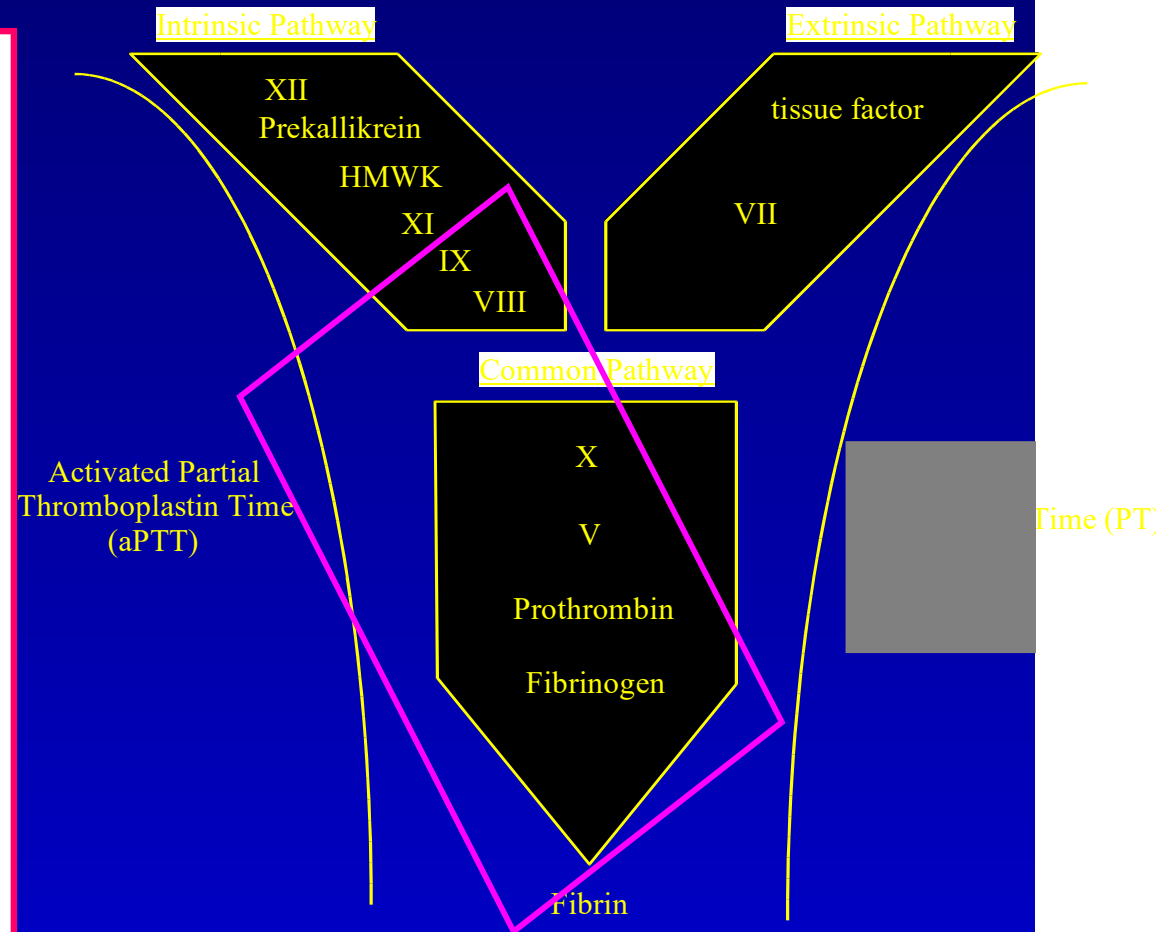
INR = PT Standardisation

$$\text{INR} = \frac{\text{Patient's PT in Seconds}}{\text{Mean Normal PT in Seconds}}^{\text{ISI}}$$

INR = International Normalized Ratio
ISI = International Sensitivity Index

Tempo di tromboplastina parziale attivato (aPTT)

- **Identifica i deficit acquisiti o congeniti dei fattori IX, VIII, e XI**
- **Monitoraggio della terapia con eparina**
- **Test di screening per LAC**
- **Identifica con minor sensibilita' del PT deficit dei fattori X, V, protrombina (II) e fibrinogeno (I)**
- **aPTT corto →privo di significato patologico**
- **aPTT lungo →**
 - **deficit di fattori**
 - **presenza di inibitori (anti-fattore VIII, LAC)**
 - **terapia con eparina**



tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT)

Questo test valuta l'efficacia della via intrinseca e comune della coagulazione (fattori I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII)

Si esegue aggiungendo al plasma-citrato del paziente agenti attivanti (caolino), una emulsione di fosfolipidi (sostituti piastrinici) e ioni calcio, e cronometrando il tempo necessario alla formazione del coagulo

I valori sono normalmente espressi in secondi (v.n. tra 28 e 40 secondi) o come rapporto (ratio) tra il tempo del plasma in esame e quello di un campione di plasma normale di controllo

Classificazione delle alterazioni della coagulazione



Le alterazioni della coagulazione si distinguono essenzialmente in:

● *condizioni con diatesi emorragica*

- alterazioni dell'attività piastrinica (numero e/o funzionalità)
- alterazioni della cascata dei fattori della coagulazione
- alterazioni delle cellule endoteliali (porpore vascolari)

● *condizioni con diatesi trombotica*

- danno all'endotelio (aterosclerosi in primis)
- stasi o turbolenza del flusso ematico
- iper-coagulabilità del sangue

● *alterazioni complesse (si hanno manifestazioni miste)*

- coagulazione intra-vascolare disseminata
-

Classificazione delle alterazioni della coagulazione



Le alterazioni della coagulazione si distinguono essenzialmente in:

● *condizioni con diatesi emorragica*

- alterazioni dell'attività piastrinica (numero e/o funzionalità)
- alterazioni della cascata dei fattori della coagulazione
- alterazioni delle cellule endoteliali (porpore vascolari)

● *condizioni con diatesi trombotica*

- danno all'endotelio (aterosclerosi in primis)
- stasi o turbolenza del flusso ematico
- iper-coagulabilità del sangue

● *alterazioni complesse (si hanno manifestazioni miste)*

- coagulazione intra-vascolare disseminata
-

Ipercoagulabilità

cause genetiche

fattore V mutato (10-15% della popolazione bianca caucasica)

deficienza di anti-trombina III

cause acquisite ad alto rischio

immobilizzazione prolungata a letto

infarto del miocardio

danno tissutale grave (fratture, ustioni, chirurgia)

neoplasie maligne

valvole cardiache artificiali

Cause acquisite a basso rischio

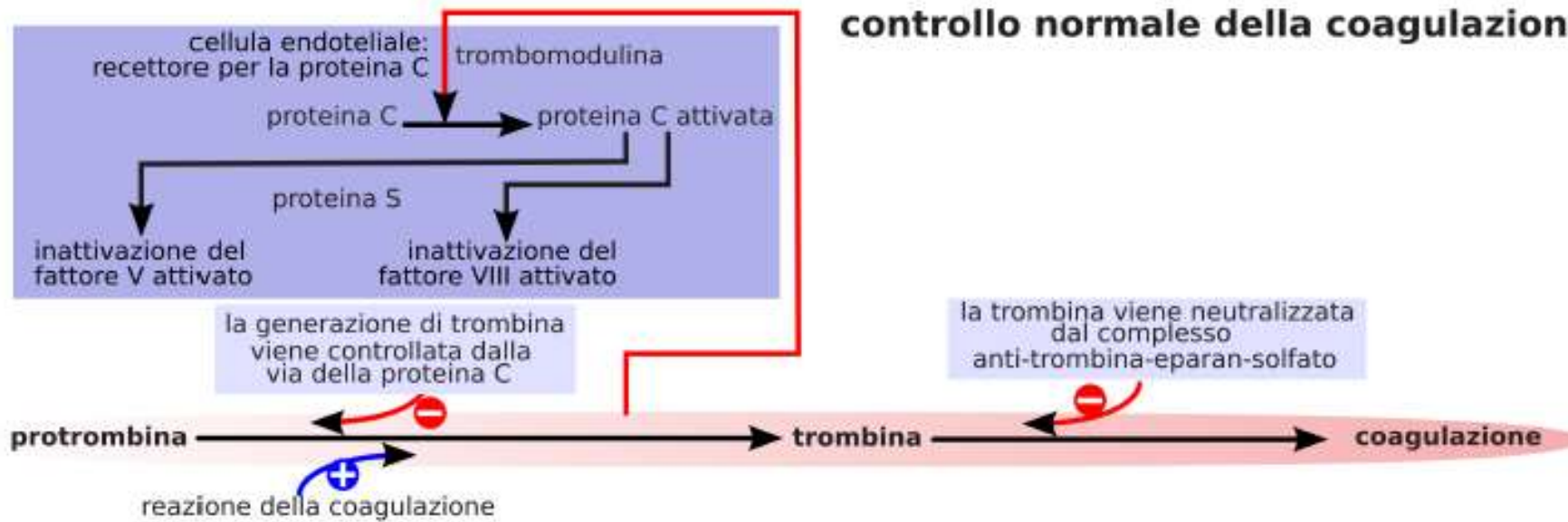
sindrome nefrosica

contraccettivi orali

fumo

Trombofilie ereditarie

controllo normale della coagulazione



trombofilie ereditarie

protrombina G20210A,
fattore V Leiden,
deficienze di proteina C o proteina S:
diminuito controllo dell'aggregazione di trombina

deficienza di antitrombina:
diminuita inattivazione della trombina



Classificazione delle alterazioni della coagulazione



Le alterazioni della coagulazione si distinguono essenzialmente in:

● *condizioni con diatesi emorragica*

- alterazioni dell'attività piastrinica (numero e/o funzionalità)
- alterazioni della cascata dei fattori della coagulazione
- alterazioni delle cellule endoteliali (porpore vascolari)

● *condizioni con diatesi trombotica*

- danno all'endotelio (aterosclerosi in primis)
- stasi o turbolenza del flusso ematico
- iper-coagulabilità del sangue

● *alterazioni complesse (si hanno manifestazioni miste)*

- coagulazione intra-vascolare disseminata
-

Sindromi Emofiliche

(deficit fattori VIII, IX, XI)

Definizione

Sindromi emorragiche congenite caratterizzate da totale o parziale carenza di attività di uno dei fattori plasmatici della coagulazione

- **Forme gravi**

Emorragie spontanee o per traumi minimi a carico dell'apparato locomotore

- **Forme lievi o moderate**

Sanguinamento in caso di traumi maggiori o di interventi chirurgici

Indice medio di frequenza 1: 10.000

Patologia Genetica dei fattori della coagulazione

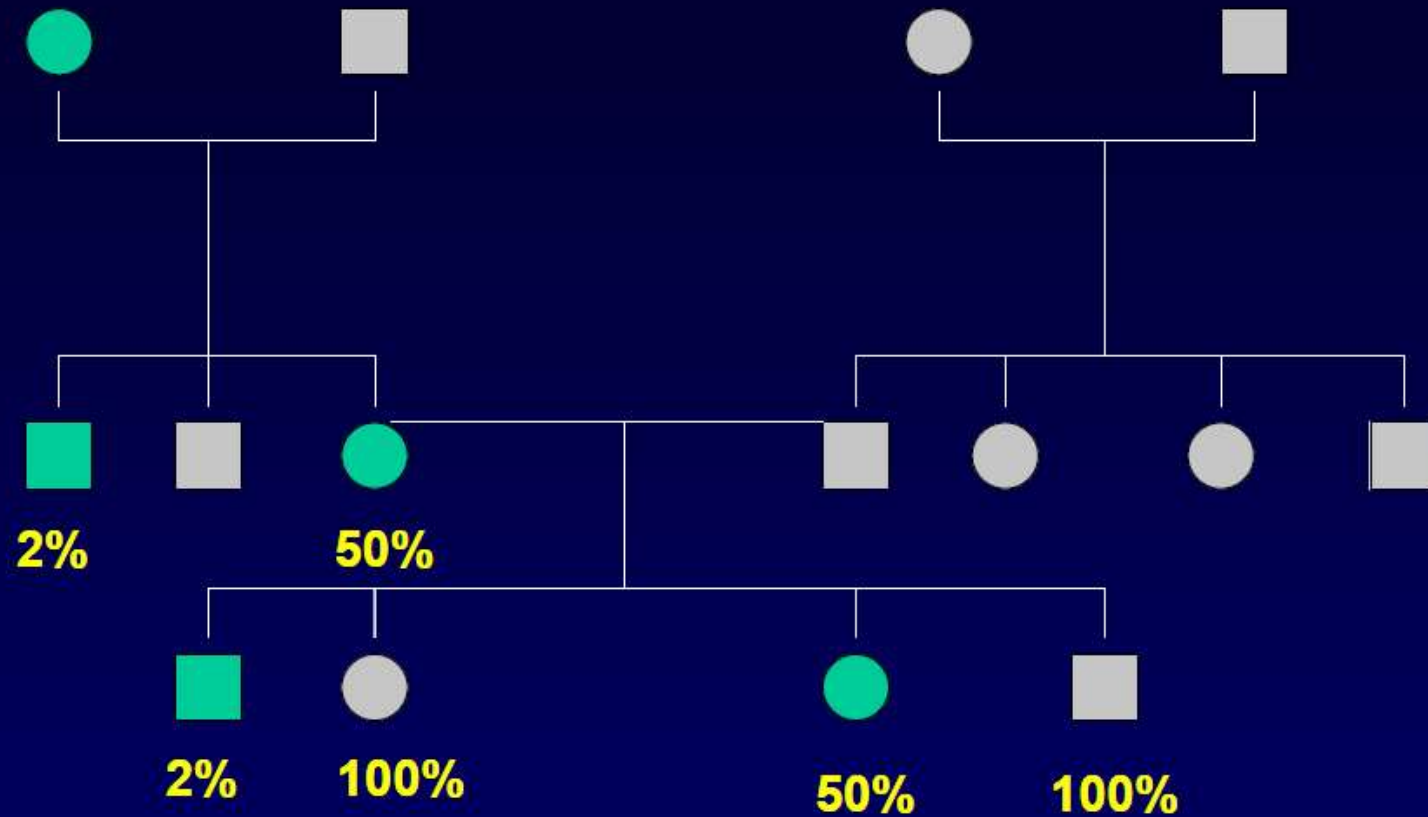
Tabella 36.1: principali difetti genetici nei fattori della coagulazione con diatesi emorragica

Fattore deficiente	Incidenza	Cromosoma	Eredità
fibrinogeno	1:1 milione	4	autosomica recessiva
protrombina	1:2 milione	11	autosomica recessiva
fattore V	1:1 milione	1	autosomica recessiva
fattore VII	1:500,000	13	autosomica recessiva
fattore VIII	1:10,000	X	legata all'X recessiva
fattore IX	1:60,000	X	legata all'X recessiva
fattore X	1:1 milione	13	legata all'X recessiva
fattore XI	1:1 milione	4	legata all'X recessiva
fattore XIII	1:1 milione	6 (subunità A) 1 (subunità B)	autosomica recessiva

Classificazione generale

- **Emofilia classica o emofilia A (deficit fattore VIII)**
85% dei difetti ereditari della coagulazione
- **Emofilia B (deficit fattore IX)**
13% dei difetti ereditari della coagulazione
- **Emofilia C (deficit fattore XI)**
1% dei difetti ereditari della coagulazione
- **Altre forme**
1% dei difetti ereditari della coagulazione

Emofilia: modello di ereditarietà



% di livello di Fattore VIII



sana



portatrice



sano



malato



Correlazione tra sintomatologia e gravità della malattia

Difetto	Laboratorio	Clinica
XII	PTT alterato	Nessun sintomo
XI	PTT alterato	Sintomi scarsi
IX	} PTT alterato	} Grave in proporzione al difetto
VIII Emofilia		
VIII M. di v.W.		
VII	PT alterato	Sintomatologia molto scarsa
X	} PTT e PT alterati	} Grave in proporzione al difetto
V		
II (protrombina)		
I (fibrinogeno)	PTT, PT e TCT alterati	Grave in proporzione al difetto
XIII	PTT, PT e TCT alterati	Sproporzionatamente molto grave

Manifestazioni cliniche in rapporto all'attività dei fattori della coagulazione nei pazienti emofilici

Laboratorio	Clinica	Laboratorio	Clinica	Sintomi emorragici
< 1%	Grave	< 1%	Grave	Nell'infanzia spontanei
1 - 5 %	Moderato	1 - 5 %	Moderata	Di solito dopo traumi Possono essere spontanei
5 - 20 %	Lieve	5 - 20 %	Lieve	Dopo traumi o lesioni locali

Emofilia

Manifestazioni cliniche

• *Emorragie cutanee*

Se superficiali guariscono rapidamente.

Lesioni profonde possono richiedere terapia sostitutiva.

Ematomi sottocutanei non necessitano solitamente di trattamento.

• *Ematomi muscolari*

Uno dei sintomi più frequenti.

Muscoli più colpiti: polpaccio, coscia, braccio, avambraccio, ileo-psoas, parete addominale.

Quadro clinico: viva dolorabilità (spontanea ed alla palpazione) impotenza funzionale, segmenti ossei in atteggiamento antalgico, ipo-anestesia cutanea.

Obbiettività: impotenza funzionale, massa di consistenza dura, vivo dolore alla minima pressione, cute calda e arrossata, talvolta con stravaso emorragico.

Emofilia

Manifestazioni cliniche

• *Emartri*

Le più frequenti manifestazioni emorragiche, spesso spontanei.

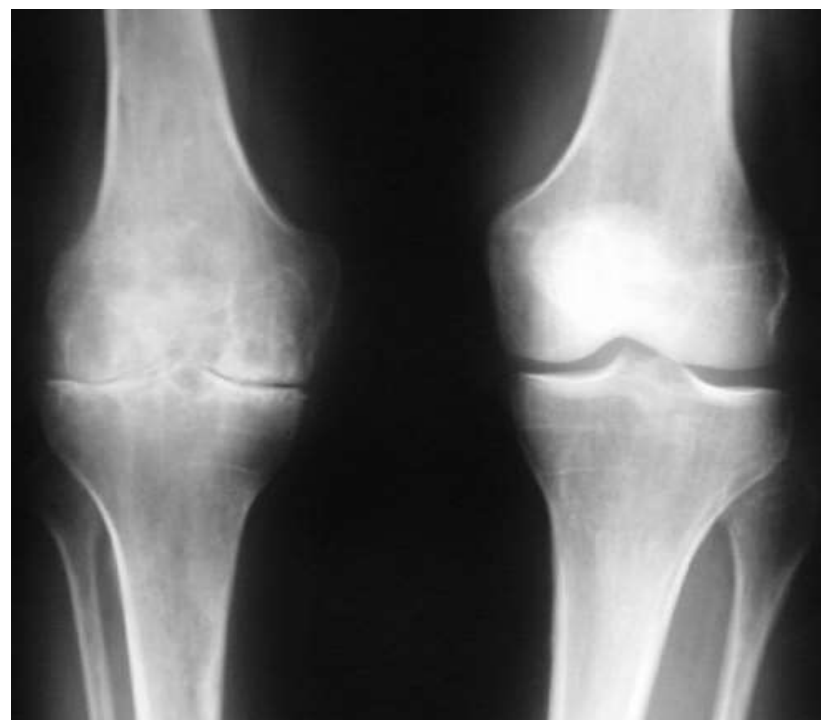
Articolazioni più colpite: ginocchio, gomito, caviglia, anca, spalla, polso.

Quadro clinico: limitazione funzionale ingravescente con dolore.

Obbiettività: tumefazione di tutta l'articolazione o limitata ai recessi sinoviali, ipertemia cutanea locale, impotenza funzionale.

Sequela: artropatia emofilica cronica (motilità articolare compromessa anche negli intervalli tra gli episodi acuti) → anchilosi.

Se la terapia di ogni singolo episodio è corretta, si evita l'evoluzione verso l'artropatia cronica.



Emofilia

Manifestazioni cliniche

• *Ematuria*

Relativamente frequente.

Solitamente macroscopica, può associarsi a dolori in sede lombare, irradiati lungo l'uretere verso la pelvi, dovuti a spasmi ureterali (passaggio di coaguli).

L'insorgenza è per lo più spontanea, la durata può essere di giorni o settimane, la conclusione è pressochè sempre favorevole senza particolari misure diagnostiche e terapeutiche.

Le urine possono assumere un colore lavatura di carne intenso, ma raramente si verifica anemizzazione.

Emofilia

Manifestazioni cliniche

• *Emorragie del cavo orale*

Frequenti soprattutto nei bambini, quasi sempre conseguenti a traumatismi. Sovente l'emorragia da un frenulo linguale ipertrofico, da una morsicatura della lingua, o di una guancia svela l'esistenza di una anomalia della coagulazione.

• *Epistassi*

Relativamente frequenti, spesso controllabili con il solo tamponamento locale.

N.B. Le procedure di causticazione delle mucose nasali sono *assolutamente sconsigliabili* negli emofilici, in quanto causa di aggravamento delle manifestazioni emorragiche.

Emofilia

Manifestazioni cliniche

• Emorragie gastroenteriche

Non rare.

Quadro clinico: grave anemia acuta, ematemesi e/o melena.

Se possibile va sempre effettuato un esame endoscopico entro breve tempo dall'insorgenza dell'episodio acuto (lesioni organiche?). Spesso non si rileva alcuna alterazione organica → sanguinamento da estese zone di mucosa congesta.

• Emorragie del sistema nervoso centrale

Relativamente rare, prevalentemente conseguenti a traumi.

Quadro clinico: sintomatologia iniziale modesta, con cefalea, malessere, agitazione, a volte nausea e vomito (ipertensione endocranica). In caso di emorragia intraparenchimale, inizio con sintomi di focolaio (deficit motorio o sensitivo localizzato) e tendenza all'estensione progressiva.

Importante *instaurare prontamente la terapia sostitutiva*, in quanto il quadro può rapidamente aggravarsi fino al coma.

Emofilia

Manifestazioni cliniche

• Emorragie post-operatorie

Dovute a esecuzione di interventi chirurgici senza adeguata terapia preventiva.

Tipico il sanguinamento tardivo dopo intervento chirurgico o estrazione dentaria (la normale funzione vaso-piastrinica arresta il sanguinamento iniziale; la ridotta fibrino-formazione, con mancato consolidamento del “tappo piastrinico”, determina la successiva comparsa di emorragie) .

Tali emorragie sono controllabili solo con adeguata terapia sostitutiva.

• Emorragie post-traumatiche

Il sanguinamento esterno può essere inizialmente normale e ripresentarsi a distanza di tempo, soprattutto da ferite profonde, associato ad estesi ematomi sottocutanei e muscolari.

Anche le emorragie interne compaiono tipicamente dopo un certo intervallo di tempo dall'evento traumatico.

Emofilia

Manifestazioni cliniche

• Ematomi muscolari

Ematoma dell'ileo-psoas: frequente insorgenza senza relazione con trauma pregresso.

N.B. Se si manifestano a destra possibile diagnosi errata di *appendicite acuta!*

Manifestazioni cliniche: flessione della coscia sull'addome, massa dolente in fossa iliaca dx, spesso estesa al fianco e al dorso, possibili disturbi sensitivi su faccia volare e mediale della coscia, anemia.

Sequela: lesioni ossee secondarie a carico dell'ala iliaca, masse addominali o gravi lesioni ossee (pseudocisti o pseudotumore osseo).

Principi di terapia

Principi generali

1. Interventi di tipo sociale o psicologico
2. Evitare ogni trauma
3. Terapia dell'emorragia e prevenzione prima di interventi chirurgici

Trattamento locale

Riposo e protezione da nuovi traumi

Fattore

**Emivita
(ore)**

VII	V VIII	IX	X XI XII	II Protrom- bina	I Fibrino- geno	Piastrine
4 - 5	10 - 15	25	40	60	90	100-120

Livelli emostatici efficaci

- Traumi lievi
- Tempo di guarigione dopo interventi

15 - 20%

- Traumi gravi
- Interventi di grave entità
- Emorragie in sedi pericolose

50 - 60%

Emofilia A e B

Terapia

Fattore VIII e IX ricombinanti: sono i farmaci tecnologicamente più avanzati, anche se più costosi ed insufficienti per il fabbisogno di tutti gli emofilici.

Concentrati plasma-derivati: non rappresentano un trattamento inadeguato, in quanto sono efficaci al pari dei prodotti ricombinanti e la sicurezza virale è di grado elevato.

Il trattamento sostitutivo al bisogno prevede la somministrazione del fattore ad un dosaggio dipendente dal tipo e dalla severità dell'episodio emorragico. L'infusione va ripetuta ogni 12-24 ore sino a completa risoluzione dell'emorragia.

Emofilia

Profilassi primaria

E' raccomandata nei bambini con emofilia grave, sin dai primi anni di vita e con durata indefinita, allo scopo di *prevenire le emorragie e le loro sequele permanenti*.

Il prodotto di scelta è rappresentato dal **fattore ricombinante**.

Emofilia A grave:

fattore VIII 20-30 U/Kg x 3/settimana

Emofilia B grave:

fattore IX 30-40 U/Kg x 2/settimana

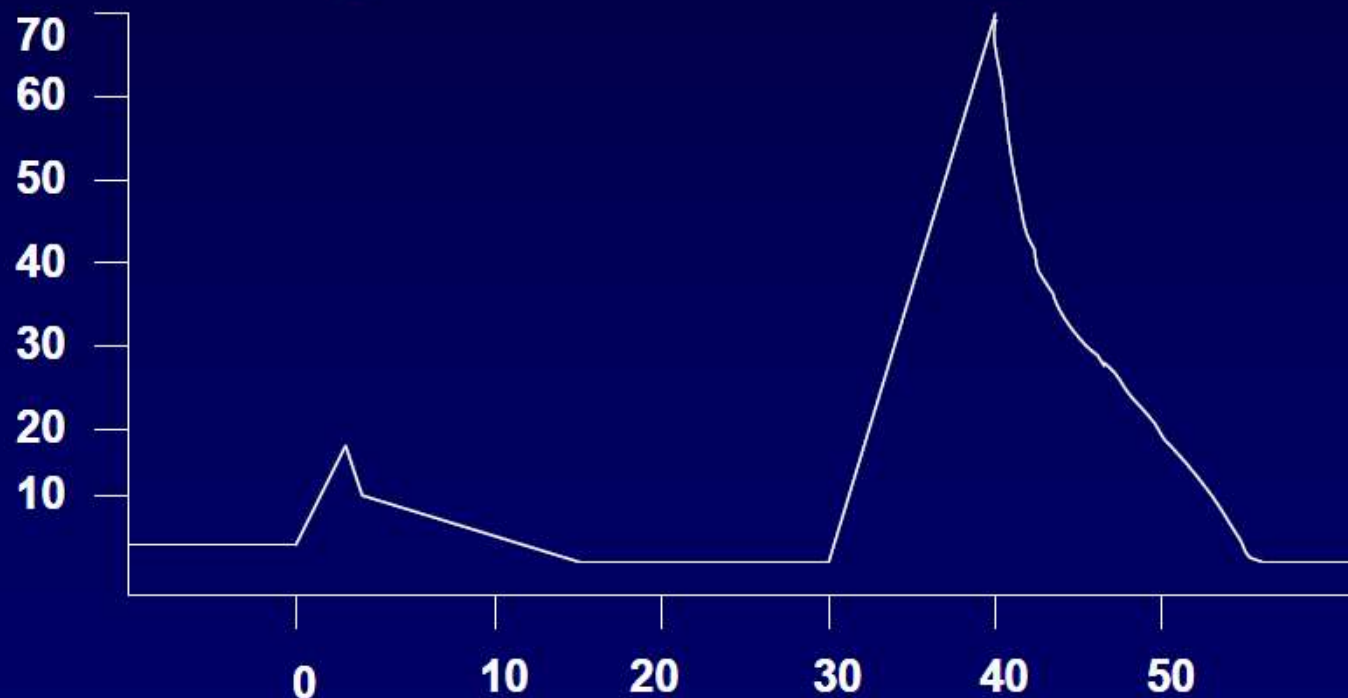
Risposta terapeutica

Emofilia grave (adulti)

1000 ml plasma
fresco congelato

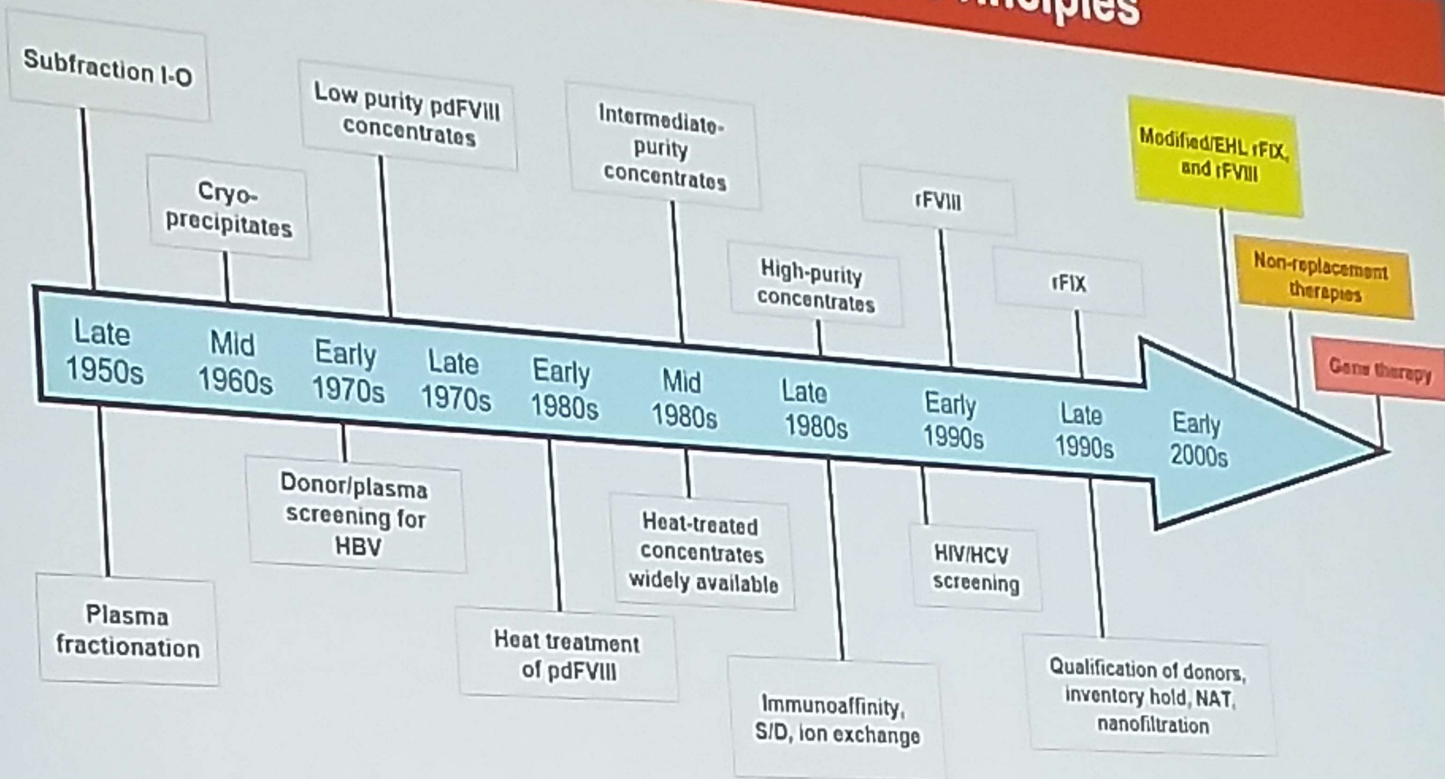
300 ml crioprecipitato o
10 ml di concentrato

Fattore VIII (%)



Tempo (ore)

Evolution of Therapeutic Principles



HBV: Hepatitis B virus; pdFVIII: Plasma-derived FVIII; S/D: Solvent detergent; rFVIII: Recombinant FVIII; HIV: Human immunodeficiency virus; HCV: Hepatitis C virus; rFIX: Recombinant FIX; NAT: Nucleic acid testing; EHL: Extended half-life.

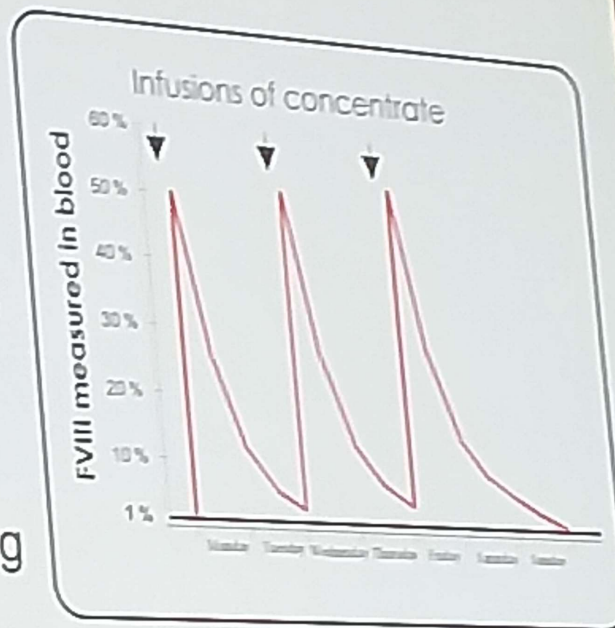
Key NS, Negrier C. *Lancet*. 2007;370:439-448.

Arruda VR, et al. *Blood*. 2017;130:2251-2256.

47° CONGRESSO NAZIONALE SIE
Società Italiana di Ematologia SIE

Prophylactic Treatment of Haemophilia A

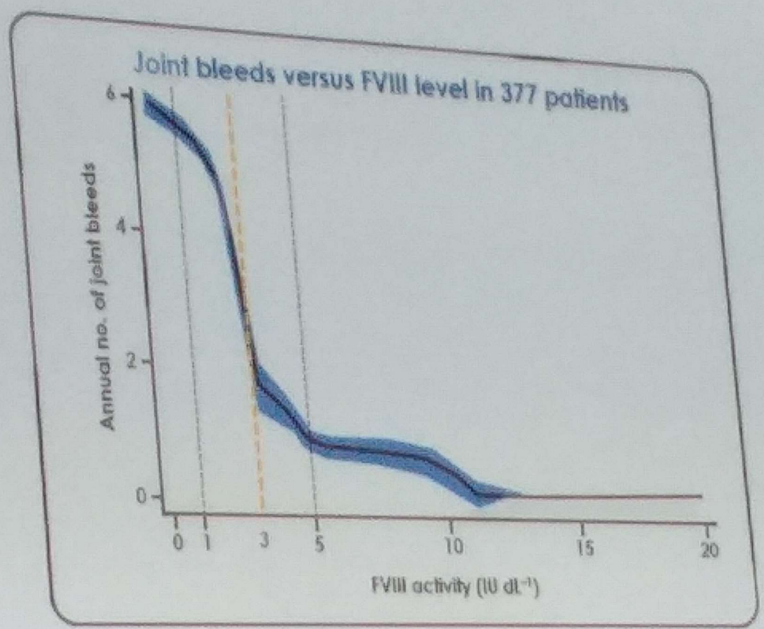
- Regular infusions of FVIII concentrates aim to convert severe into moderate
- Having trough levels of 1-2% is protective against bleeding in some patients but not others
- Optimising factor replacement to achieve levels that prevent bleeding



Adapted from: Collins, PW. Haemophilia. 2012;18(Suppl 4):131-135.

Factor VIII/IX Levels and Bleeding rates

- Joint bleed events can occur in patients with endogenous FVIII levels above 3%, 5%, and 10%



Adapted from: Den Uijl, et al., Haemophilia. 2011;17(6):849-853.

Emofilia A con inibitore

Terapia

La dose iniziale di fattore VIII deve essere comprensiva della quota necessaria per neutralizzare il titolo anticorpale e di quella richiesta per ottenere l'incremento desiderato del fattore circolante.

Dose iniziale	dose neutralizzante + dose incrementante
Dose neutralizzante	volume plasmatico x titolo inibitore volume plasmatico = 40 (ml) x peso corporeo (Kg)
Dose incrementante	in base a sede e gravità dell'emorragia

Le dosi seguenti andranno somministrate ogni 4-12 ore allo scopo di mantenere adeguati livelli plasmatici del fattore.

Gene therapy

Gene therapy is to replace the dysfunctional gene with an exogenous functional gene to cure the disease



Haemophilia and gene therapy

A GENE
FVIII/FIX



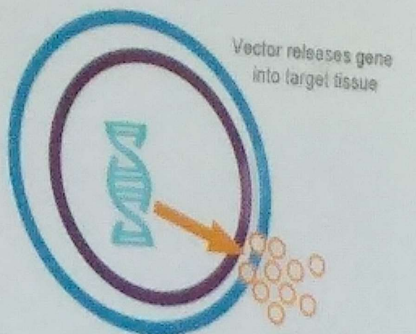
DNA

A VECTOR
AdV, AAV, retrovirus,
lentivirus, non-viral



Gene encapsulated
in a vector

A TARGETED TISSUE



Protein produced from
gene expression

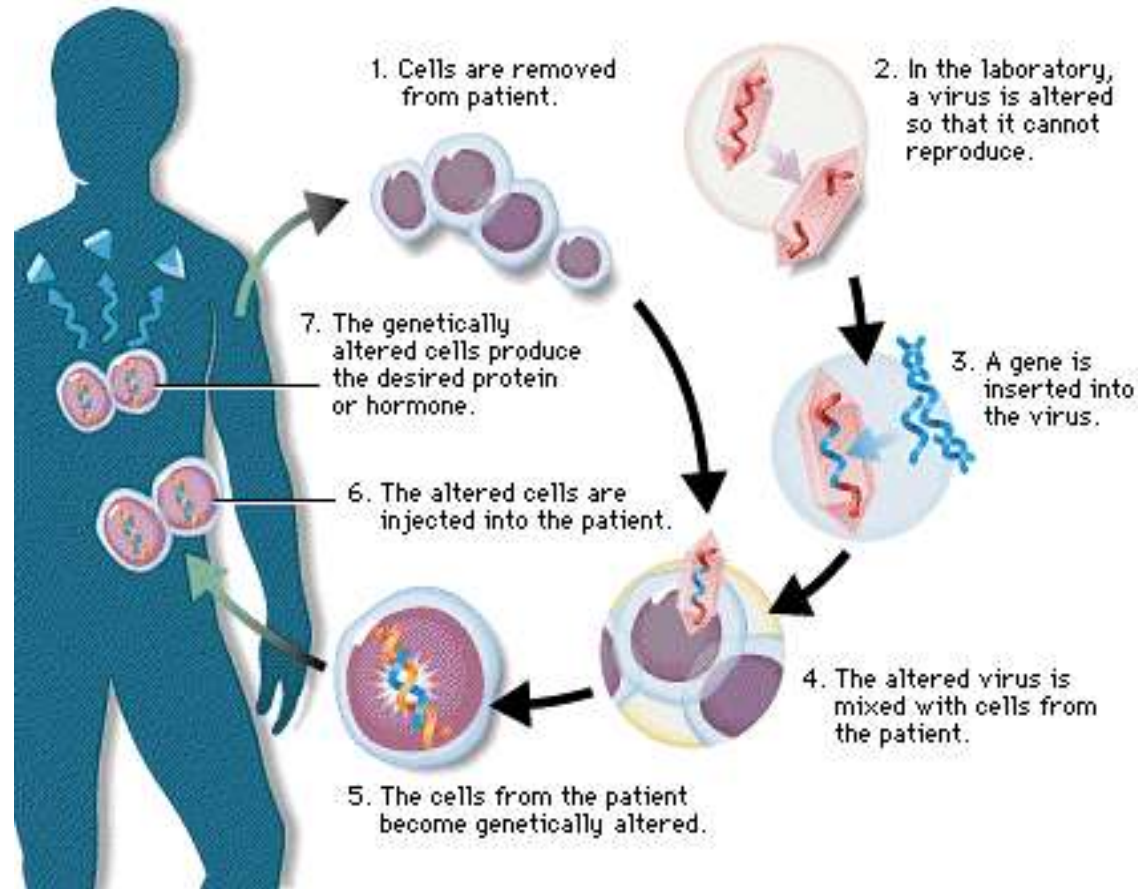
Secreted proteins

Several Choices

AdV: Adenovirus; AAV: Adeno-associated virus.

Adapted from: Ohmori T, et al. *J Thromb Haemost.* 2015;13 (Suppl 1):S133-S142.

TERAPIA GENICA DELL'EMOFILIA

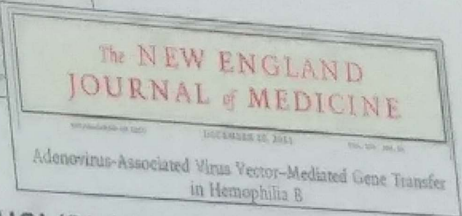


Clinical trial in haemophilia B

Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response

medicine

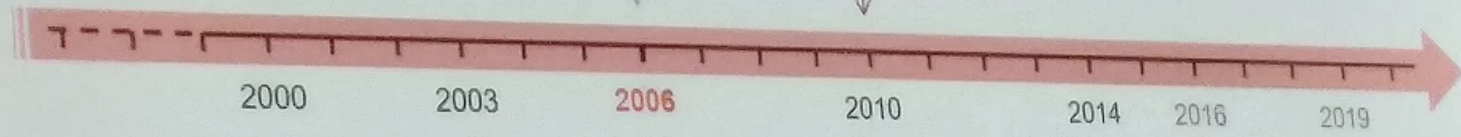
Calderone A, Manno CS, Olson F, Pergande G, Anderson DF, Arruda VR, Rivett DR, et al. (2011) Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response. *N Engl J Med* 364:1875-1882.



- Avigen
- AAV2 vector



- UCL/St Jude Children's Research Hospital
- AAV8 vector
- First patients enrolled and treated



Adverse events

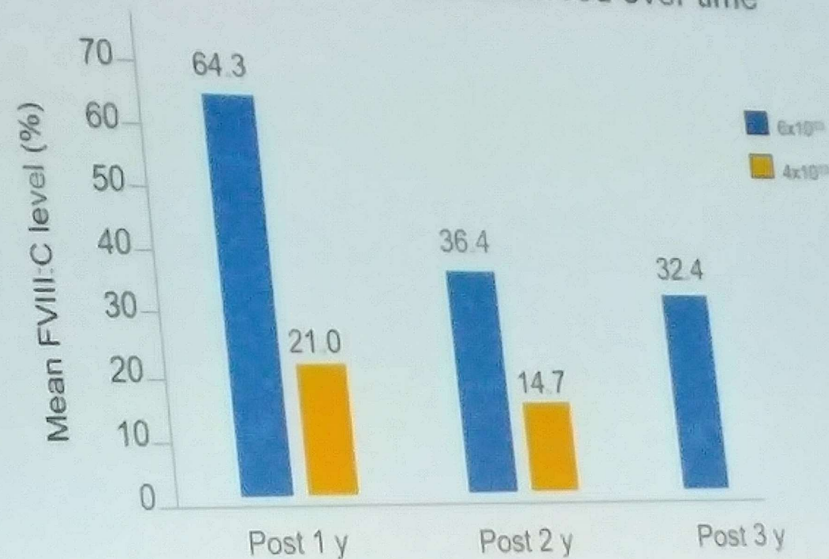
- Self-limiting, capsid induced, immune mediated, **asymptomatic transaminitis** occurred in 4/6 subjected treated at the high dose level but controlled with low dose steroids without loss of transgene expression



(Nathwani AC et al NEJM 2014;371:1994-2004)

3 years of clinical data from ongoing Phase I/II (BiomarinPharmaceutical)

- Phase I/II to assess durability of expression and efficacy (ABR)
- 7 patients infused with 6×10^{13} (vg/kg)
- 6 patients infused with 4×10^{13} (vg/kg)
- A reduction in FVIII activity level was observed over time



Pasi J et al. ISTH Meeting 2019.

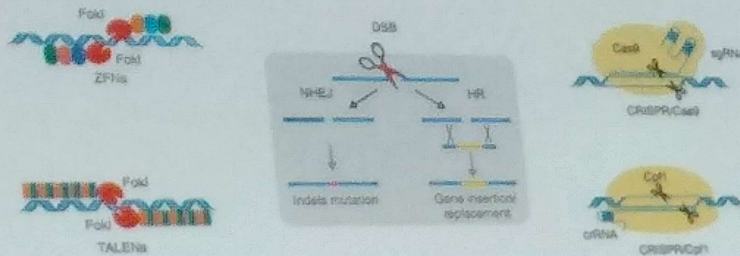
Adverse effects

- **Elevation in liver transaminase** is the main toxicity observed
- The majority of events have been managed with **corticosteroids**
- Some cases have been associated with partial or complete loss of transgene expression
- The pathophysiological mechanism for the liver toxicity remains unclear
- A capsid-specific cytotoxic T cell responses against the vector-transduced cells could be an explanation of this liver toxicity

Mingozzi F et al. Nat Med. 2007;13:419-422; Ertl HCJ et al. Hum Gene Ther. 2017;28:328-337

Alternative strategies in gene therapy

- Lentiviral vectors
- Genome editing
 - Zinc-finger nucleases (ZFN)
 - Clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)
 - CRISPR associated 9 (Cas9) nucleases



Malattia di von Willebrand

Definizione

Disordine emorragico ereditario autosomico dominante, ad espressione clinica variabile ma più frequentemente moderata, caratterizzato dalla triade fisiopatologica: allungamento del tempo di emorragia, alterata funzionalità piastrinica, deficit di fattore VIII.

Descritto per la prima volta nel 1926 da Erik von Willebrand (“Pseudoemofilia”).

Epidemiologia

Entrambi i sessi sono colpiti in egual misura.

La reale incidenza è difficilmente valutabile (sottostimata): probabilmente è la più comune coagulopatia congenita.

Malattia di von Willebrand

Fisiopatologia

Deficit o anomalia del fattore di von Willebrand (vWF) causato da mutazioni puntiformi e delezioni a carico del gene sul cromosoma 12.

Il vWF viene prodotto da cellule endoteliali e megacariociti come struttura dimerica → assemblaggio in molecole multimeriche.

I multimeri sono presenti, in parte, nel plasma, complessati con il FVIII:C, che preservano dalla precoce rimozione dal circolo.

In parte essi sono immagazzinati nei corpi di Weibel-Palade delle cellule endoteliali e negli α -granuli dei megacariociti.

In caso di necessità vengono liberati dai depositi per azione di trombina, fibrina, istamina.

Il vWF ha siti recettoriali per collagene, GPIb e GPIIb/IIIa della membrana piastrinica → determinante in **adesione e aggregazione piastrinica**

Malattia di von Willebrand

Classificazione delle principali varianti

	Tipo I	Tipo IIA	Tipo IIB	Tipo IIC	Tipo IID	Tipo III	Pseudo vW
Trasmissione genetica	AD	AD	AD	AR	AD	AR	AD
Tempo di emorragia	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
VIII:C	↓	=	=/↓	=	=	↓↓	=/↓
vWF:Ag	↓	=	=/↓	=	=	↓ o ass.	=/↓
RIPA	=/↓	↓ o ass.	↑ con basse conc. di ristocetina	↓	↓	ass.	↑ con basse conc. di ristocetina
Multimeri vWF	=	ass. elevato e intermedio PM	ass. elevato PM	ass. elevato e intermedio PM	ass. elevato PM	ass.	ass. elevato PM

Malattia di von Willebrand

Manifestazioni cliniche

Sintomatologia

Le manifestazioni cliniche vanno da *forme asintomatiche* (1/3 dei casi) fino a *forme gravi*. La maggiore incidenza è quella della *forme moderate* (→ emorragie cutaneo-mucose, o anche esclusivamente post-traumatiche).

Età di insorgenza

- **Forme gravi:** t. di emorragia > 30'; fattore VIII < 5%
→ *nell'infanzia o pubertà*
- **Forme moderate:** t. di emorragia poco o non allungato; fattore VIII 5-20%
→ *in età adulta*
- **Forme moderate:** t. di emorragia poco o non allungato; fattore VIII 20-60%
→ *in età adulta*

Malattia di von Willebrand

Diagnosi

Diagnosi clinica estramamente difficile, se non impossibile: solo l'anamnesi familiare ed il tipo prevalentemente "vascolare" ma raramente petecchiale, delle manifestazioni emorragiche possono far sospettare la malattia.

Diagnosi diretta abbastanza semplice nei casi "classici":

- *allungamento del tempo di emorragia* (variabile da caso a caso)
- *riduzione dell'adesività piastrinica*
- *riduzione del livello plasmatico di FVIII:C* frequentemente lieve (60-20%) o moderata (20-5%) raramente grave (<5%) con proporzionale riduzione del FVIII_{Ag}. Caratteristica

Malattia di von Willebrand

Terapia

La **desmopressina (DDAVP)** sarebbe preferibile rispetto ai prodotti plasma-derivati

In caso risultasse inefficace o controindicata, i **concentrati di fattore VIII/fattore di von Willebrand** rappresentano la terapia di scelta (dosaggi in rapporto alla sede ed alla gravità dell'emorragia, come nell'emofilia)