

CAPITOLO QUATTORDICI

Emofilia A

INTRODUZIONE

L'emofilia A, o emofilia classica, deriva dalla deficienza o assenza del fattore VIII (F VIII), un cofattore essenziale per l'attivazione del F X da parte del F IXa.

FUNZIONE DEL FATTORE VIII

Il F VIII nell'uomo ha un peso molecolare di circa 330 kD ed una concentrazione plasmatica di 200 ng/ml. L'attività specifica del F VIII del cane è circa quattro volte maggiore di quella del F VIII umano (Littlewood, 1988a). La proteina circola nel plasma legata in modo non covalente al fattore di von Willebrand (vWF) che conferisce stabilità alla molecola del F VIII. Questa associazione ha dato luogo a confusione nella prima letteratura sulla separata identità e funzioni di queste due proteine plasmatiche. Il F VIII è attivato per azione della trombina e l'ulteriore degradazione della trombina insieme alla proteina C attivata (tramite la proteina S), porta alla sua inattivazione per proteolisi. Il F VIII è sintetizzato in massima parte dal fegato, ma viene prodotto anche da altri tipi di cellule. L'attività del F VIII può essere valutata con esami biologici. La prova di base utilizza plasma carente di F VIII, come substrato, e paragona l'attività delle diluizioni del plasma del paziente con quelle di un plasma standard con attività nota del F VIII, per mezzo del tempo di tromboplastina parziale attivato (APTT) modificato. Per valutare l'attività del F VIII possono essere usati, in seconda battuta, anche metodi coagulativi ed esami cromogenici. Non esistono standard internazionali per il plasma animale ed il plasma del paziente è solitamente confrontato con un plasma derivante da una miscela di plasma raccolti da almeno 10 animali sani di varie età, sesso e razza. Molti laboratori calibrano ogni nuova miscela di plasma con la miscela di plasma usata in precedenza per standardizzare i risultati all'interno del laboratorio e, per via crociata, calibreranno con altri laboratori di riconosciuta esperienza e specializzazione negli esami della coagulazione. Per il F VIII umano esistono esami di ricerca dell'antigene che usano antisieri policlonali e monoclonali ed alcuni di questi reagenti presentano una reattività crociata con il F VIII di origine animale (Roblat *et al.*, 1983). Nei pazienti umani che hanno la malattia in forma lieve o moderata solitamente è identificabile l'antigene del F VIII (F VIII:Ag) e indica la presenza di una molecola di F VIII anormale con funzioni ridotte, mentre la maggior parte dei pazienti gravemente colpiti non hanno alcun F VIII:Ag misurabile a causa della totale mancanza di sintesi del F VIII.

PREVALENZA ED EREDITARIETA'

Nell'uomo l'emofilia A è conosciuta fin dagli antichi Egizi ed è chiaramente documentata nel Talmud. La malattia è trasmessa con modalità legata al sesso, con i maschi ammalati e le femmine portatrici. E' il più comune tra i disordini emostatici ereditari gravi, con una prevalenza nel Regno Unito dell'ordine di 16 per 100.000 nella popolazione maschile. Circa il 30% dei pazienti non ha un'anamnesi familiare della malattia e rappresenta una nuova mutazione. La natura del difetto genetico è stata studiata in molte famiglie umane con l'emofilia. Sono state identificate delezioni del gene e varie mutazioni puntiformi.

Non è nota la prevalenza nel cane e nel gatto ma l'emofilia A rappresenta la più comune delle coagulopatie ereditarie. E' stata riportata in molte razze canine compresi i meticci. E' probabile che la maggior parte dei casi rappresentino nuove mutazioni dal momento che le forme gravi sono condizioni autolimitanti, in cui i maschi colpiti raramente sopravvivono fino all'età adulta con la possibilità di riprodursi. Nel Pastore Tedesco, esiste comunque una forma della malattia abbastanza grave, in cui i maschi colpiti possono sopravvivere fino all'età adulta e quindi essere usati nella riproduzione. Questo ha provocato la diffusione mondiale della malattia in questa razza (Fogh *et al.*, 1984; Johnston e Norris, 1984; Fogh, 1988; Littlewood, 1988b; Parry *et al.*, 1988). Dovrebbe essere sottolineato che sono state identificate anche forme gravi della malattia in questa razza, ma non nelle stesse famiglie; tutti gli animali moderatamente colpiti sono discendenti dello stesso cane, Canto von der Wienerau. In diversi paesi sono stati messi in atto programmi di indagine di base ed hanno avuto successo nell'eliminare il problema in Australia (Mansell, 1991). L'analisi citogenetica in questi Pastori Tedeschi ha messo in evidenza che il difetto non è dovuto ad anomalie cromosomiche grossolane o ad ampie delezioni genetiche (Clarke e Parry, 1997), come potrebbe essere atteso quando non si verifica una completa mancanza della proteina funzionale.

La malattia è riportata anche nel gatto (Cotter *et al.*, 1978; Littlewood, 1986). Un'emofilia moderata è stata rilevata anche in un gatto che è sopravvissuto alla castrazione. Il gatto ha poi presentato un sanguinamento eccessivo dopo la rimozione chirurgica di una massa, che l'esame istologico ha rivelato essere un ematoma organizzato (Littlewood, 1999).

SINTOMATOLOGIA

Nell'uomo sono riconosciute forme di emofilia A gravi, moderate e lievi (Figura 14.20). Nel cane e nel gatto sono riconosciute la forma grave e quella moderata, probabilmente esiste anche quella lieve ma decorrono come forma non riconosciuta.

Malattia grave

Nella forma grave della malattia è spesso possibile identificare alla nascita in una figliata i cuccioli colpiti a causa del persistente sanguinamento dall'ombelico. Nei giovani cuccioli è frequente la comparsa di ematomi nel momento in cui cominciano ad interagire con gli altri soggetti della cucciolata. Sono spesso osservate emorragie gengivali quando cadono i denti decidui. Sia nella forma grave che in quella moderata sono comuni zoppie intermittenti e migranti nelle varie articolazioni con osteoartrosi degenerative che si formano come conseguenza degli ematomi. Anche gli ematomi muscolari sono comuni. I versamenti ematici sottocutanei possono essere estesi per la natura rilassata del sottocute del cane. Le emorragie mediastiniche, l'emotorace e la raccolta retroperitoneale sono comuni cause di morte nei cani colpiti.

Malattia moderata

Negli animali moderatamente colpiti spesso sono alcuni episodi traumatici a rendere identificabile la tendenza al sanguinamento anche se, quando il proprietario viene appropriatamente interrogato, si evidenzia un'anamnesi di zoppie ricorrenti o altri segni sospetti. E' anche possibile che avvenga un sanguinamento anormale durante l'ovarioisterectomia di femmine portatrici perché possono avere una concentrazione del F VIII inferiore al normale fino al 25-30% per una casuale soppressione del cromosoma X. Si tratterebbe di una manifestazione di emofilia lieve in un eterozigote. Le cagne colpite da emofilia, che sono omozigoti, possono derivare dall'incrocio di un maschio malato con una femmina portatrice. In una cagna è stato descritto un disordine emorragico acuto, insorto spontaneamente, dovuto alla ridotta attività anticoagulante del F VIII (Murtaugh e Dodds, 1988), ma non è stato stabilito se fosse un difetto in eterozigoti o in omozigosi.

La tendenza all'emorragia è molto meno grave nei gatti emofilici rispetto ai cani, forse per la taglia più piccola e per le differenze di comportamento tra le due specie (Cotter *et al.*, 1978; Littlewood, 1986).

TERAPIA

Crioprecipitati

Negli animali gravemente malati la gestione degli episodi emorragici è difficile ed i proprietari spesso chiedono l'eutanasia appena viene riferita loro la diagnosi della malattia. Lo scopo sarebbe di aumentare le concentrazioni plasmatiche di F VIII almeno al 25-30% del normale per avere un'emostasi efficace. (Giles *et al.*, 1982; Pijnappels *et al.*, 1986). La trasfusione di plasma di cane normale alla dose di 15 ml/kg potrebbe far raggiungere questo scopo, ma occorrerebbero quantità troppo elevate ed una trasfusione eccessiva potrebbe diventare un problema. Il crioprecipitato plasmatico contiene una concentrazione più elevata di F VIII ed alcuni centri producono crioprecipitato dal plasma fresco congelato. Un confronto tra plasma fresco congelato e crioprecipitato ha mostrato che gli aumenti dell'attività coagulante del F VIII sono simili ma gli effetti collaterali (lieve prurito, pallore, debolezza) sono inferiori con il crioprecipitato (Stokol e Parry, 1998). Le reazioni avverse di solito sono caratteristiche degli animali che sono stati sottoposti a trasfusioni ripetute e possono essere prevenute con un pretrattamento con un antistaminico come la clorfenamina (Littlewood, 1988a). I concentrati commerciali di F VIII umano o suino sono emostaticamente efficaci negli animali (Littlewood, 1988a; Lutze *et al.*, 1999), ma la somministrazione di proteine eterologhe induce la formazione di anticorpi ed il rischio di una reazione anafilattica alla trasfusione successiva (Littlewood e Barrowcliffe, 1987; Littlewood, 1988a). Le trasfusioni dovrebbero essere praticate due volte al giorno fino a che l'emorragia non sia arrestata e l'ematoma non sia risolto. E' indicato un antibiotico di copertura.

Acido tranexamico

Gli inibitori della fibrinolisi possono essere utili nella gestione degli episodi emorragici nei cani emofilici (AR Giles, osservazioni non pubblicate; Littlewood, 1988a). L'autore ha usato acido tranexamico (Tranex®) alla dose orale di 15-20 mg/kg 2-4 volte al giorno. Questo farmaco è usato per controllare le emorragie esterne (es. dentali, prostatiche) nei pazienti emofilici umani e non dovrebbe essere usato in caso di emorragie interne, per il rischio di complicazioni tromboemboliche. Sembra che questo rischio sia minimo nei pazienti veterinari forse per il sistema fibrinolitico molto sviluppato rispetto a quello dell'uomo. Dovrebbe essere tenuto conto che questo prodotto non è distribuito per uso veterinario.

Terapia genica

La terapia genica è stata usata con successo nei cani con una deficienza del F VIII (Connelly *et al.*, 1996). Il gene del F VIII umano, inserito in un vettore adenovirale, ha corretto il fenotipo emofilico, come dimostrato dal tempo di coagulazione e dal tempo di sanguinamento ungueale. L'espressione del prodotto genico si manifesta solo a breve termine, al massimo 1-2 settimane, a causa dello sviluppo di una risposta anticorpale e di un inibitore specifico per il F VIII umano.

INDIVIDUAZIONE DEI PORTATORI

Gli eterozigoti asintomatici costituiscono una riserva genetica della malattia. In medicina umana, l'analisi del DNA, con l'uso di sonde che individuano a scopo diagnostico utili polimorfismi della lunghezza dei frammenti di restrizione, sono capaci d'identificare le femmine portatrici in molte famiglie con l'emofilia A. D'altro canto, studi effettuati sul Pastore Tedesco con queste sonde non hanno mostrato differenze nella lunghezza dei frammenti di restrizione dei campioni tra i maschi normali e quelli malati per ciascuna delle combinazioni della sonda, sebbene tutte le sonde fossero con DNA del genoma di cane ibridizzate (Clark, *et al.*, 1997). Non è noto se le sonde potrebbero essere utili in altre famiglie di cani emofilici.

Stato di portatore

Lo stato di portatore è delineato considerando se il pedigree evidenzia antenati emofilici, la concentrazione plasmatica di F VIII e la generazione di prole colpita dalla malattia. Sulla base di questi criteri una femmina può essere classificata come eterozigote sospetta, probabile e obbligata (Figura 14.25). Mentre gli esami della coagulazione distinguono accuratamente i maschi normali da quelli malati, lo stesso non vale per le femmine. Questo accade perché esiste un'ampia variabilità nell'espressione del F VIII nelle femmine eterozigote dovuta alla casuale soppressione del cromosoma X nelle cellule somatiche. La misura dell'attività plasmatica del F VIII nelle femmine può solo fornire una probabilità statistica dello stato dell'animale. Sebbene alcuni studi abbiano trovato che le femmine portatrici esprimono solo la metà dell'attività plasmatica del F VIII (Fogh, 1988; Littlewood, 1988a), altre indagini hanno individuato esami funzionali meno diffusi per distinguere gli animali sani da quelli portatori (Littlewood, 1988a; Mansell e Parry, 1992). La Figura 14.26 mostra la possibilità di dedurre lo stato di portatore dagli esami del F VIII delle figlie di eterozigote obbligate e la Figura 14.27 mostra l'influenza sui dati della probabilità nel generare prole di maschi normali.

Se la femmina ha un'elevata probabilità di non essere nello stato di portatore, il proprietario dovrebbe essere avvisato che se questa viene impiegata nella riproduzione, tutti i maschi della prima cucciolata dovrebbero essere esaminati con l'APTT e/o per l'attività del F VIII. Una femmina con una concentrazione di F VIII maggiore del 60% che genera quattro maschi normali ha il 99% di probabilità di non essere nello stato di portatore. Le prove ematiche dei maschi prima del loro impiego nella riproduzione è un modo efficace di identificare gli animali malati e di prevenire un'ulteriore diffusione del difetto genetico alle successive generazioni nelle razze con manifestazioni della malattia da lievi a moderate.

	Fattore VIII plasmatico (% rispetto al normale)	Segni clinici di sanguinamento
Grave	<2	Grave sanguinamento prolungato dopo i traumi, ematridi spontanei ed emorragie muscolari, raccolte cavitari a rischio della vita
Moderata	2-15	Sanguinamento grave dopo interventi chirurgici o gravi traumi, sanguinamento contenuto dopo traumi minori, ematridi occasionali ed emorragie spontanee
Lieve	15-25	Sanguinamento solo dopo gravi traumi o interventi chirurgici.

Figura 14.20: Classificazione dell'emofilia (secondo Rizza, 1977).

Esame del pedigree o albero genealogico con presenza di	Dosaggio Fattore VIII nella femmina portatrice	Numero di cuccioli nati emofilici	Diagnosi
Padre emofilico	Basso	1, 2	Eterozigote obbligata
Ipotizzato	Basso	0, 1	Eterozigote probabile
Ipotizzato	ignoto	0, 1	Eterozigote sospetta

Figura 14.25: Identificazione delle femmine portatrici eterozigote

	Probabilità di non essere portatore
Probabilità immediata	50%
Attività plasmatica del F VIII 15-60%	11%
Un solo esame del F VIII plasmatico > 60%	82%
Due esami del F VIII plasmatico > 60%	98%
Un esame del F VIII plasmatico > 60% e un esame <60%	64%
Due esami del F VIII plasmatico > 60% e un solo esame <60%	93%

Figura 14.26: Concentrazioni di fattore VIII (F VIII) nelle figlie di portatori obbligati.

	Probabilità di essere non portatore
Probabilità immediata	50%
1 figlio non affetto	66%
2 figli non affetti	80%
3 figli non affetti	89%
4 figli non affetti	94%
5 figli non affetti	97%
6 figli non affetti	98%
Se la figlia ha il F VIII >60% e:	82%
1 figlio non affetto	90%
2 figli non affetti	95%
3 figli non affetti	97%
4 figli non affetti	98%
Se la figlia ha il F VIII 15-60% e:	11%
1 figlio non affetto	20%
2 figli non affetti	34%
3 figli non affetti	50%
4 figli non affetti	67%
5 figli non affetti	80%
6 figli non affetti	89%
7 figli non affetti	94%

Figura 14.27: Identificazione dello stato di portatore nelle figlie di portatori in base alla generazione di figli non affetti. F VIII, fattore VIII