

# Passato, presente e futuro dell'emofilia: una revisione narrativa

Massimo Franchini<sup>1</sup>

Email: [mfranchini@ao.pr.it](mailto:mfranchini@ao.pr.it)

Pier Mannuccio Mannucci<sup>2\*</sup>

\* Corresponding author

Email: [pmmannucci@libero.it](mailto:pmmannucci@libero.it)

<sup>1</sup> Immunohematology and Transfusion Center, Department of Pathology and Laboratory Medicine, University Hospital of Parma, Milan, Italy

<sup>2</sup> Scientific Direction, IRCCS Cà Granda Foundation Maggiore Policlinico Hospital, Via Pace, 9, 20122 Milan, Italy

## Abstract

Negli ultimi 40 anni la cura delle persone affette da emofilia è migliorata molto grazie alla disponibilità di terapie di sostituzione dei fattori di coagulazione. In seguito alle infezioni virali, trasmesse per via ematica tra la fine degli anni '70 e l'inizio degli anni '80, causate da concentrati plasmatici prodotti senza l'inattivazione virale, la necessità di trattamenti sicuri è diventata cruciale per i pazienti emofiliaci. L'introduzione di fattori di coagulazione derivati da plasma sottoposto a inattivazione di virus e, successivamente, di prodotti ricombinanti, ha rivoluzionato le cure di queste persone. Questi strumenti terapeutici hanno migliorato la qualità della vita dei pazienti e delle loro famiglie e hanno permesso trattamenti a domicilio; un esempio è la somministrazione a intervalli regolari dei fattori sostitutivi, come prevenzione di emorragie e di danni alle articolazioni (profilassi primaria). Grazie a questi progressi i pazienti emofiliaci hanno raggiunto qualità e aspettativa di vita quasi normali. Attualmente il problema principale è la comparsa di alloanticorpi in grado di inattivare il fattore di coagulazione infuso, anche se i regimi di immunotolleranza, basati su iniezioni giornaliere a lungo termine di grandi quantità di fattori di coagulazione, sono in grado di eliminare gli inibitori in circa due terzi dei pazienti affetti. La gestione di queste complicazioni è migliorata notevolmente grazie alla disponibilità di prodotti in grado di evitare i difetti di coagulazione intrinseci. Le sfide principali dei regimi terapeutici attuali, come l'emivita corta dei farmaci e la conseguente necessità di iniezioni endovenose frequenti, portano alla ricerca di fattori di coagulazione con biodisponibilità più prolungata. Infine, grande impegno è dedicato alla ricerca nel campo delle terapie di trasferimento genico, l'unica via per ottenere una cura definitiva dell'emofilia.

## Parole chiave

FVIII, FIX, concentrati di fattori derivati dal plasma, concentrati di fattori ricombinanti, terapia genica

## Introduzione

L'emofilia, nelle due varianti A e B, è una malattia della coagulazione legata al cromosoma X. È annoverata tra le malattie rare ed è causata da mutazioni nei geni che codificano per i fattori VIII (FVIII) e IX (FIX) [1]. Entrambi i fattori fanno parte della via intrinseca di coagulazione del sangue e

gli individui affetti possono presentare forme gravi, medie e lievi, definite rispettivamente da livelli di fattore nel plasma  $\leq 1\%$ , 2-5% e 6-40%. La incidenza dell'emofilia di tipo A è 1/5000 maschi nati vivi e quella dell'emofilia B di 1/30000 [1,2]. L'emofilia è stata individuata in tempi antichi. Il Talmud, una raccolta di scritti rabbinici ebraici del secondo secolo d.C., vietava la circoncisione di bambini maschi in caso che due fratelli fossero morti a causa di eccessivo sanguinamento durante la procedura. Il medico arabo Albucasis, vissuto nel XII secolo, descrisse il caso di una famiglia in cui i maschi morirono a causa di emorragie in seguito a ferite comuni [3]. La prima descrizione moderna dell'emofilia è da attribuire a John Conrad Otto, un medico di Philadelphia, che, nel 1803, pubblicò "Rapporto di una predisposizione all'emorragia in alcune famiglie" [4]. Egli capì la principale caratteristica dell'emofilia, cioè la tendenza dei maschi ad ereditare la condizione. Nel 1828 venne usata per la prima volta la parola emofilia, in un saggio scritto da Hopff dell'Università di Zurigo. Oltre alla forma più comune A, nel 1952 venne scoperta l'emofilia B, chiamata spesso "Morbo di Christmas", dal cognome del primo bambino in cui venne descritta [3]. L'emofilia è talvolta chiamata "Malattia Reale", infatti afflisse numerosi membri di famiglie reali europee, poiché Vittoria, Regina di Inghilterra dal 1837 al 1901, era portatrice del gene mutato dell'emofilia B [5]. Il suo ottavo figlio Leopoldo, affetto da emofilia B, soffrì di frequenti sanguinamenti e morì di emorragia cerebrale all'età di 31 anni. Alice e Beatrice, figlie della regina Vittoria, erano portatrici e diffusero l'emofilia B nelle famiglie reali di Spagna, Germania e Russia [1,6]. La tendenza al sanguinamento tipica dell'emofilia fu inizialmente attribuita a fragilità dei vasi sanguigni. Negli anni '30 si pensò che la causa fosse un'anomalia delle piastrine, successivamente, nel 1937, Patek e Taylor di Harvard riuscirono a correggere la coagulazione con l'aggiunta di una sostanza estratta dal plasma, che venne chiamata globulina antiemofilica. Nel 1944 Pavlosky di Buenos Aires dimostrò che il sangue di un individuo emofiliaco era in grado di correggere il difetto di coagulazione di un altro emofiliaco e viceversa. Il medico aveva infatti incontrato due pazienti con difetti in proteine diverse, il fattore VIII e il fattore IX [7]. Le sue scoperte permisero una diagnosi accurata e gettarono le basi per le moderne terapie di questa malattia emorragica ereditaria. Questo articolo riassumerà la storia recente, le conoscenze attuali, i progressi più importanti e le aspettative future nella cura dell'emofilia.

## La cura dell'emofilia: il passato

Negli anni '50 fino ai primi anni '60 gli emofiliaci potevano essere curati solo con sangue o plasma fresco. Purtroppo i fattori FVIII e FIX presenti in queste sostanze non sono sufficienti a fermare gravi sanguinamenti. Di conseguenza, la maggior parte delle persone affette da emofilia grave morivano durante l'infanzia o la giovinezza, soprattutto a causa di emorragie durante operazioni chirurgiche e traumi in organi vitali (in particolare il cervello) [8]. Nel 1964 Judith Pool scoprì grandi quantità di FVIII nei crioprecipitati di plasma e fece un altro grande passo avanti nella cura dell'emofilia. Per la prima volta infatti, infondendo grandi quantità di FVIII in piccoli volumi, si riuscì a controllare il sanguinamento, rendendo possibili operazioni chirurgiche importanti [9]. La moderna cura dell'emofilia cominciò negli anni '70, quando la disponibilità sempre maggiore di concentrati plasmatici liofilizzati e la diffusa pratica di terapia sostitutiva a domicilio permisero il controllo repentino delle emorragie e la riduzione dei danni scheletro-muscolari tipici dei pazienti non curati correttamente. La profilassi primaria fu attuata per la prima volta in Svezia e successivamente adottata in altri stati, raggiungendo l'obiettivo di prevenire la maggior parte degli episodi emorragici e riducendo ulteriormente la gravità delle artropatie [10]. I centri specializzati in emofilia si alleggerirono dall'onere dei trattamenti di emergenza e furono in grado di sviluppare programmi di cura su larga scala, includendo specialisti come chirurghi ortopedici, fisioterapisti, dentisti e assistenti sociali. Operazioni chirurgiche programmate, in particolare di ortopedia, aiutarono a correggere o minimizzare le anomalie scheletro-muscolari derivanti da emorragie ai

muscoli e alle articolazioni non curate adeguatamente. Nel 1977, la scoperta della desmopressina, un farmaco sintetico che aumenta i livelli plasmatici di FVIII e del fattore von Willebrand, fornì una nuova terapia, non costosa e sicura, per i pazienti affetti da emofilia lieve di tipo A (e malattia di von Willebrand di tipo 1), che permise di evitare o ridurre notevolmente l'uso di prodotti derivati dal plasma, costosi e a rischio di infezioni a trasmissione ematica [1,11]. Questa situazione ottimistica cambiò drammaticamente nei primi anni '80, quando il 60-70% delle persone affette dalla forma grave risultò infetta dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV), che aveva contaminato i concentrati di fattori di coagulazione. Inoltre, quasi tutti gli emofiliaci curati risultarono infetti dal virus dell'epatite C (HCV, a quel tempo chiamato "virus dell'epatite non A non B"), trasmesso attraverso concentrati di fattori prodotti con il plasma raccolto da migliaia di donatori [12]. In seguito alle devastanti conseguenze delle epidemie di sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) e epatite, la necessità di terapie sicure risultò cruciale per la popolazione emofiliaca. Lo sviluppo e la realizzazione delle tecniche di inattivazione virale dei concentrati di fattori derivati dal plasma, insieme all'adozione di nuovi metodi per individuare virus nelle donazioni di sangue (per esempio il test NAT), hanno migliorato la sicurezza dei prodotti derivati dal plasma, al punto che da 25 anni non si registrano episodi di trasmissione per via ematica di virus dell'epatite o HIV [8]. Tuttavia, il progresso più importante è rappresentato dal rapido avanzamento della tecnologia del DNA (in seguito al clonaggio del gene del FVIII nel 1982 e del FIX nel 1984), che ha permesso la produzione industriale di FVIII ricombinante (e successivamente di FIX), fino alla pubblicazione, nel 1989, del primo rapporto di efficacia clinica del prodotto su due pazienti affetti da emofilia A [13]. Nonostante la sicurezza dei derivati plasmatici sia aumentata notevolmente negli ultimi 25 anni, la paura di una possibile trasmissione di patogeni nuovi o sconosciuti attraverso il sangue e i suoi derivati ha spinto i paesi occidentali verso la scelta dei prodotti ricombinanti per la terapia di bambini emofiliaci non curati in precedenza [14]. Parallelamente negli ultimi anni, avendo sempre come priorità la sicurezza, il processo di produzione dei fattori ricombinanti è evoluto, allo scopo di minimizzare ulteriormente il rischio di trasmissione di patogeni, attraverso il miglioramento delle tecniche di purificazione di proteine, l'introduzione di passaggi di inattivazione virale e l'eliminazione dell'uso di proteine umane o animali in tutte le fasi del processo [15,16]. La disponibilità della terapia di sostituzione con concentrati di fattori di alta qualità è stata importante non solo per ridurre la probabilità di morte da emorragia ma anche perché permette l'uso su larga scala di regimi di profilassi, allo scopo di prevenire sanguinamenti e conseguenti danni alle articolazioni, permettendo ai pazienti di mantenere uno stile di vita quasi normale [17]. Questo, insieme al miglioramento delle cure delle infezioni virali trasmesse per via ematica, ottenuto attraverso il monitoraggio dei pazienti affetti da epatite cronica (con particolare attenzione a carcinoma epatico cellulare e insufficienza epatica) e la disponibilità di nuove terapie, come il trattamento antivirale contro l'HIV (Highly Active Anti Retroviral Therapy [HAART]) e l'HCV (combinata con interferone- $\alpha$  e ribavirina), ha contribuito al miglioramento della qualità di vita e ha ridotto la morbilità nella popolazione emofiliaca [18]. Pertanto gli ultimi 15 anni rappresentano una nuova "età d'oro" nella cura dell'emofilia (dopo la prima "età d'oro" degli anni '70) e l'aspettativa di vita di questi pazienti ha progressivamente raggiunto quella della popolazione sana maschile, almeno nei paesi con redditi medio-alti [19]. La tabella 1 mostra i principali successi ottenuti e gli obiettivi futuri nella cura dell'emofilia.

**Table 1 Past, present and future of hemophilia treatment**

Year	Main events
<b>1970s: a golden era</b>	
1970s	Lyophilized factors, home treatment, pioneer prophylaxis programs, comprehensive treatment centers
1977	Desmopressin
<b>1980s: many shadows, a few lights</b>	
1982	Factor IX gene cloned, AIDS
1983	Early virucidal methods (dry-heating)
1984	Factor VIII gene cloned, HIV isolated
1985	Anti-HIV testing
1987	Safe virus-inactivated plasma factors
1989	Recombinant FVIII
<b>1990s: a new golden era</b>	
1994	Immune tolerance
1996	HAART for HIV
1996	Recombinant FVIIa
1997	Recombinant FIX
<b>2000s: current hemophilia therapy</b>	
2000-2006	First gene therapy trials
2002	HCV eradication by IFN-RBV
<b>The next 10 years</b>	
2011-2021	More factor concentrate available worldwide Longer-acting recombinant coagulation factors Fusion coagulation factors Cure of hemophilia: gene transfer

## La cura dell'emofilia: il presente

In questo contesto promettente, la complicazione più critica è la comparsa di alloanticorpi inibitori contro FVIII e FIX. Questi inibitori, che si sviluppano nel 25-30% dei casi di emofilia A grave e nel 3-5% dei casi di emofilia B, rendono inefficaci le terapie di sostituzione, limitano l'accesso dei pazienti a cure sicure e aumentano il rischio di morbilità e mortalità [20]. La cura delle emorragie nei pazienti che presentano inibitori è progredita notevolmente grazie all'introduzione di agenti in grado di evitare la situazione, come i concentrati di complessi di protrombina attivati (APCC - Factor Eight Inhibitor Bypassing Activity – FEIBA) e il fattore VII ricombinante attivato (rFVIIa, NovoSeven), che hanno permesso la terapia a domicilio e migliorato la qualità della vita. Negli ultimi dieci anni si è discusso molto della superiorità di uno o dell'altro prodotto [21]. Infatti, se l'efficacia e la sicurezza di FEIBA e rFVIIa appaiono molto simili nel contesto di uno studio randomizzato [22], un'analisi sistematica recente ha mostrato la maggiore efficacia di rFVIIa nel controllo delle emorragie rispetto a APCC (rispettivamente 81–91 % e 64–80 %)[23]. Un altro studio recente, che ha usato un modello di regressione Bayesiana per valutare il risultato di più di 2000 emorragie articolari, ha mostrato che il tasso cumulativo di controllo dei sanguinamenti a 12, 24 e 36 ore è stato del 66%, 88% e 95% con un regime standard rFVIIa, mentre con una terapia standard APCC è stato relativamente minore (39 %, 62 % and 76 %) [24]. Al contrario, uno studio Cochrane pubblicato nel 2010 sull'efficacia del concentrato di rFVIIIa nei pazienti emofiliaci con inibitori, rispetto alla terapia dei plasma-derivati, ha concluso che rFVIII e APCC hanno effetto emostatico simile, senza aumentare il rischio di tromboembolismo [25]. Il dibattito sulla superiorità di uno o dell'altro prodotto è ancora aperto ma è ormai generalmente accettato che entrambi siano sufficientemente efficaci nel controllo degli episodi emorragici in pazienti con inibitori. Nonostante l'intensa ricerca sullo sviluppo di inibitori, il meccanismo di questa

complicazione è conosciuto solo in parte. Sono invece stati identificati i fattori di rischio dipendenti dal paziente e non modificabili, oltre ai fattori ambientali modificabili [26,27]. Il dibattito sull'importanza della provenienza dei fattori usati per la terapia sostitutiva è cominciato in seguito a studi che hanno dimostrato una maggiore incidenza di comparsa di inibitori nei pazienti non trattati in precedenza (PUPs) curati con FVIII ricombinante rispetto a quelli curati con fattori derivati dal plasma [28]. Studi in vitro hanno suggerito che la presenza del fattore von Willebrand (VWF) nei concentrati di FVIII derivati dal plasma giochi un ruolo importante nel diminuire l'immunogenicità del fattore FVIII, attraverso il mascheramento dell'epitopo e la protezione delle molecole FVIII dall'endocitosi da parte delle cellule presentanti l'antigene [29-31]. Nel tentativo di fare chiarezza tra i dati contrastanti presenti in letteratura [32-34], grazie ad una revisione sistematica e una meta analisi, sono stati valutati 2094 PUPs (1167 su plasma-derivati e 927 su concentrati di FVIII ricombinante), coinvolti in 24 studi prospettici e retrospettivi. In questa analisi il 14,3% dei pazienti curati con FVIII derivato dal plasma e il 27,4% di quelli curati con FVIII ricombinante hanno sviluppato inibitori e i livelli di inibitori ad alto titolo si sono rivelati più alti nei pazienti curati con FVIII ricombinante (17.4 % contro 9.3 %). Tuttavia, la maggiore immunogenicità del FVIII ricombinante è scomparsa con l'inclusione nell'analisi di possibili fattori confondenti [35]. Purtroppo non è tuttora disponibile uno studio che provi l'effettiva presenza o meno di una differenza di immunogenicità tra FVIII derivato dal plasma e ricombinante. Per questo motivo è partito recentemente un nuovo studio, chiamato Survey of Inhibitors in Plasma-Product Exposed Toddlers (SIPPET) (<http://www.clinicaltrials.gov>, study NCT 01064284; EUDRACT n. 2009-011186-88). SIPPET è uno studio prospettico, guidato, randomizzato e aperto che confronta la frequenza di inibitori in PUPs o in pazienti sottoposti a poche terapie, che sono esposti per la prima volta a concentrati di FVIII/VWF derivati dal plasma o di FVIII ricombinante [36]. Al momento della redazione di questo articolo almeno due terzi dei casi previsti sono stati coinvolti in SIPPET dall'inizio dello studio. Altri studi prospettici di coorte che includono PUPs affetti da emofilia grave, come il Registro Europeo PedNet [37] e la Coorte Francese (FranceCoag Network) [38], possono dare importanti contributi al raggiungimento di questi obiettivi. Un altro punto ancora controverso è il confronto tra l'efficacia del FVIII derivato dal plasma e quello ricombinante nell'induzione di immunotolleranza antigene-specifica (ITI), un metodo volto alla soppressione degli inibitori attraverso la somministrazione giornaliera a lungo termine di massicce dosi di fattori di coagulazione. L'ITI è l'unica terapia provata contro gli inibitori ma comporta numerosi problemi ai pazienti e alla comunità, in termini di accessibilità venosa e costi elevati (fino ad un milione di Euro) ed è quindi proibitiva per molti paesi. In seguito a numerosi studi in vitro che hanno dimostrato una diminuzione dell'attività degli inibitori contro FVIII combinato con VWF (VWF/FVIII) rispetto a quella osservata contro FVIII ricombinante [39,40], alcuni studi si sono concentrati sul ruolo della provenienza del FVIII nell'ITI e alcuni rapporti in Europa e negli USA suggeriscono che i prodotti di FVIII derivati dal plasma ricchi di VWF aumentino la probabilità di successo dell'ITI [41]. In questo contesto, due ampi studi randomizzati prospettici attualmente in corso potranno chiarire l'importanza della provenienza del FVIII nell'ITI: il Rescue Immune Tolerance Study (RESIST)-naive (pazienti mai sottoposti a ITI sono assegnati casualmente a VWF/FVIII o FVIII ricombinante alla dose di 200 IU/kg/giorno) e il RESIST-experienced (pazienti in cui l'ITI mediante FVIII monoclonale o ricombinante ha precedentemente fallito si sottopongono a ITI con l'uso di concentrati derivati dal plasma contenenti VWF/FVIII, alla dose di 200 IU/kg/giorno). Con l'adozione diffusa di programmi di profilassi primaria e di regimi ITI che necessitano di infusioni di concentrati di fattori frequenti e regolari, la via di somministrazione della terapia sostitutiva è diventata un problema cruciale. Nonostante l'accesso venoso periferico resti la prima scelta, i dispositivi di accesso venoso centrale (CVAD) sono spesso necessari in bambini molto piccoli, in cui il periferico risulta difficoltoso. I cateteri totalmente interni (port)

sono tendenzialmente da preferire rispetto a CVAD esterni, poiché presentano meno rischi di complicazioni, in particolare di infezioni o trombosi [43]. Fistole arterovenose temporanee sono un'opzione interessante per bambini di un anno o più grandi (soprattutto quelli che hanno avuto esperienze negative ripetute con CVAD) [44]; due studi condotti in Italia e negli USA hanno infatti riportato risultati positivi [45-47]. Questo metodo tuttavia necessita di chirurghi esperti e follow-up continui e dovrebbe essere applicato solo in centri specializzati. Mentre la profilassi primaria resta il punto di riferimento nella prevenzione delle funzionalità articolari nei bambini affetti da emofilia grave [48], è in atto un dibattito sugli effetti della profilassi secondaria sulla condizione articolare in bambini più grandi, adolescenti e adulti, rispetto alla terapia "al bisogno" [49]. Considerando che tutti i dati pubblicati derivano da piccoli studi retrospettivi, la comunità scientifica attende i risultati di due studi prospettici: SPINART (studio per valutare l'effetto della profilassi secondaria con FVIII ricombinante su soggetti adulti affetti da emofilia A grave a confronto con la cura al bisogno) e POTTER (profilassi vs. terapia al bisogno, con un prospetto economico) [50]. Con l'avanzare dell'età, i pazienti emofiliaci sviluppano condizioni mediche e chirurgiche che prima non erano comuni, come malattie cardiovascolari e cancro [17,18,51-53]. Queste patologie rappresentano una nuova causa di morbilità e mortalità e una sfida per chi si prende cura dei pazienti [54,55]. La terapia ottimale richiede una stretta collaborazione tra specialisti in diversi campi, tra cui ematologia, oncologia, cardiologia, nefrologia, chirurgia e medicina interna. Sfortunatamente i dati disponibili sulla questione delle cure dei pazienti emofiliaci anziani sono molto scarsi e le raccomandazioni sulle terapie sono poco precise, basate soprattutto sull'esperienza personale di gruppi di esperti [56,57]. Sono attesi studi clinici ben organizzati per ottimizzare la cura delle patologie concomitanti, specialmente le malattie cardiovascolari e il cancro, nei pazienti anziani. Nell'ultimo decennio ci si è concentrati sulla ricerca di una cura definitiva per l'emofilia, per esempio attraverso la correzione alla radice del difetto nel DNA mediante il trasferimento genico [58]. In seguito agli ottimi risultati ottenuti nei modelli animali di emofilia [59,60], all'inizio del terzo millennio sembrava che alcuni studi di fase I/II sulla terapia genica con cellule somatiche in pazienti con insufficienza di FVIII o FIX supportassero le grandi aspettative. Nella maggior parte di essi, usando tecniche in vivo o ex vivo per trasferire il gene sano, sono stati ottenuti livelli misurabili di FVIII o FIX nel plasma [61-64]. Sebbene i primi, incoraggianti risultati abbiano generato un notevole ottimismo, ulteriori studi non hanno confermato le aspettative e hanno smorzato l'eccessivo entusiasmo. I problemi relativi ai livelli non sufficienti e transitori di fattori ottenuti nel plasma attraverso il trasferimento genico e soprattutto i gravi effetti collaterali, come le reazioni del sistema immunitario dell'ospite contro i vettori virali e il rischio di mutagenesi inserzionale, hanno diminuito l'entusiasmo verso ulteriori studi nell'uomo [65]. Tuttavia, dato che gli studi sugli animali hanno portato a risultati sempre migliori, sono recentemente partiti due studi clinici che coinvolgono pazienti affetti da emofilia B e sono basati sul trasferimento genico mediato da vettori virali adeno-associati (AAV) [8]. Un'altra tecnica attualmente in fase di sviluppo è l'induzione genetica dell'espressione di FVIII e FIX in megacariociti/piastrine o in cellule endoteliali [66,67]; questo approccio ha la capacità di ristabilire l'emostasi locale nei siti con danno vascolare e potrebbe essere efficace anche nei pazienti che presentano inibitori.

## **La cura dell'emofilia: il futuro**

Negli ultimi 20 anni i progressi fatti nell'efficacia e nella sicurezza della cura dei pazienti emofiliaci citati in precedenza sono stati ottenuti e resi effettivi quasi esclusivamente nei paesi occidentali. Il primo obiettivo per il futuro è pertanto una più ampia disponibilità delle cure. Ci sono numerosi

paesi emergenti densamente popolati, come l'India o la Cina, nei quali il livello delle cure per gli emofiliaci è lontano dall'essere soddisfacente. In questi paesi, che stanno sviluppando rapidamente competenze tecnologiche di alto livello, è probabilmente più appropriato promuovere la tecnologia del DNA, allo scopo di produrre fattori ricombinanti e sviluppare il trasferimento genico, piuttosto che incoraggiare i programmi basati sul frazionamento del plasma. D'altra parte, la produzione industriale dei fattori derivati dal plasma dovrebbe continuare a espandersi, allo scopo di venire incontro alle crescenti richieste di quei paesi (specialmente in Sud America e in Europa orientale) che stanno rapidamente migliorando i programmi di cura dei pazienti emofiliaci ma che non possono affrontare i costi elevati dei fattori ricombinanti. Nonostante il principale traguardo da raggiungere nell'immediato futuro sia l'estensione dei programmi di cura dell'emofilia ai paesi in via di sviluppo, molti sono gli obiettivi per i paesi industrializzati. Prima di tutto il mantenimento degli ottimi standard di cura attuali, che sono messi a rischio dalla crisi economica globale. E' da sottolineare che i costi dell'emofilia sono un'esigua parte del costo totale della sanità in tutti i paesi e l'efficacia delle cure è ampiamente dimostrata. Inoltre, i paesi più ricchi dovrebbero soddisfare le richieste di fattori di sostituzione dei paesi poveri dell'Africa, nei quali non è prevista un'adeguata produzione di fattori derivati dal plasma o ricombinanti nel prossimo futuro. Dal punto di vista della ricerca quali sono i progressi possibili da realizzare nei prossimi 10 anni? Il traguardo più vicino è la disponibilità di molecole di FVIII e FIX con emivite più lunghe. Questo sarebbe un significativo passo avanti, considerando che, nei paesi che possono sostenere profilassi primarie, i principali problemi che ne impediscono l'adozione su larga scala sono relativi all'accesso venoso. Diverse aziende farmaceutiche stanno attualmente sviluppando fattori caratterizzati da emivite più lunghe, allo scopo di diminuire la frequenza delle somministrazioni e da antigenicità/immunogenicità ridotte, per minimizzare la formazione di inibitori [68-70]. Le principali strategie applicate a FVIII includono modificazioni della molecola, come l'aggiunta di polimeri di glicole polietilenico (PEG) o di acidi polisialici e la formulazione alternativa con liposomi PEG-modificati (PEGLip) [71]. L'ultima tecnica è stata usata per produrre BAY79-4980 (Bayer Schering Pharma AG, Germany), che ha ottenuto il risultato di prolungare il periodo privo di emorragie, nel contesto di studi di fase I [72]. Tuttavia, nel gennaio 2010, uno studio clinico di fase II (lo studio LIPLONG, che ha confrontato la formulazione PEGLip con Kogenate FS standard), eseguito in 62 centri di 14 paesi diversi, è stato interrotto in anticipo perché non è stato raggiunto l'endpoint di efficacia prestabilito (non-inferiorità). Ricerche sul fattore VIIa ricombinante (rFVIIa) PEG-modificato ad azione prolungata hanno mostrato la capacità di questo nuovo prodotto di attivare il fattore X su cellule che esprimono il fattore tissutale [73]. Inoltre, uno studio di fase I/II recentemente pubblicato, che ha messo a confronto la sicurezza e l'efficacia del rFVIIa PEGLip (Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) con l'rFVIIa standard in pazienti affetti da emofilia A grave con inibitori, ha concluso che la formulazione PEG-modificata ha portato ad una migliore efficacia emostatica, senza aumentare il rischio di trombosi [74]. Fattori di coagulazione caratterizzati da migliori proprietà farmacocinetiche sono stati ottenuti anche con modificazioni molecolari, attraverso la fusione genetica con albumina e frammenti Fc di IgG [75,76]. Infine il FVIII suino, originariamente derivato da plasma animale e arricchito con la proprietà di bassa reattività crociata (cross-reactivity) con inibitori di FVIII umano, è stato recentemente prodotto, grazie alla tecnologia del DNA ricombinante, sotto forma di molecola priva di dominio B (OBI-1), testata in uno studio di fase II in pazienti che presentano inibitori [77]. Il prodotto si è dimostrato efficace nel controllare l'emorragia ed è stato tollerato bene [77]. Sono tuttavia necessari ulteriori studi per valutare l'immunogenicità di OBI-1.

## Conclusioni

Negli ultimi 30 anni, l'emofilia è passata dallo status di malattia emorragica ereditaria di scarso interesse e spesso letale a quello di gruppo definito di entità molecolari ben conosciute. Non ci sono dubbi che al momento, tra le malattie monogeniche principali (fibrosi cistica, talassemia, distrofia muscolare), l'emofilia abbia a disposizione le cure più efficaci e sicure. In seguito ai drammatici episodi di trasmissione virale per via ematica negli anni '70-'80, c'è stata una forte tendenza verso il miglioramento continuo dell'efficacia e della sicurezza della terapia sostitutiva e verso la cura della malattia con terapia genica. Allo scopo di mantenere l'alto livello di cure mediche e di ricerca due elementi sono essenziali. Per prima cosa c'è la necessità di collaborazione internazionale nella ricerca clinica sull'emofilia. Infatti pochi dei problemi ancora irrisolti menzionati possono essere affrontati in studi condotti in singoli, seppur grandi, centri di emofilia. La grandezza adeguata del campione è essenziale anche per una malattia rara quale l'emofilia e può essere raggiunta solo grazie alla collaborazione tra diversi centri. In secondo luogo, è indispensabile mantenere un alto livello di interesse e di competenze nel campo dell'emofilia, soprattutto tra le nuove generazioni di medici, che, per quanto riguarda l'emostasi, sembrano interessate ai più promettenti lati della trombosi [78].

## Competing interests

PMM ha ricevuto contributi come relatore da Baxter, Bayer, Biotest, Grifols, Kedrion, Novo Nordisk, Pfizer e contributi come consulente da Bayer. MF dichiara l'assenza di conflitto di interessi.

## Contributi degli autori

MF ha scritto la prima bozza del manoscritto, in seguito a pianificazione dettagliata con PMM, il quale ha rivisto sostanzialmente tutte le bozze. Entrambi gli autori hanno letto e approvato il manoscritto finale.

## Riferimenti

1. Mannucci PM, Tuddenham EGD: **The hemophiliac – from royal genes to gene therapy.** *N Engl J Med* 2001, **344**:1773–1779.
2. Bolton-Maggs PH, Pasi KJ: **Hemophilias A and B.** *Lancet* 2003, **361**:1801–1809.
3. Hoyer LH: **Hemophilia A.** *N Engl J Med* 1994, **330**:38–47.
4. Otto JC: **An account of an hemorrhagic disposition existing in certain families.** *Med Repos* 1803, **6**:1–4.
5. Rogaev EI, Grigorenko AP, Faskhutdinova G, Kittler EL, Moliaka YK: **Genotype analysis identifies the cause of the "royal disease".** *Science* 2009, **326**:817.
6. Stevens RF: **The history of haemophilia in the royal families of Europe.** *Br J Haematol* 1999, **105**:25–32.
7. Biggs R, Douglas AS, Macfarlane RG, Dacie JV, Pitney WR, Merskey C, O'Brien JR: **Christmas disease: a condition previously mistaken for haemophilia.** *Br Med J* 1952, **ii**:1378–1382.
8. Mannucci PM: **Back to the future: a recent history of haemophilia treatment.** *Haemophilia* 2008, **14**(Suppl. 3):10–18.
9. Mannucci PM: **Hemophilia and related bleeding disorders: a story of dismay and success.** *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2002, 1–9.
10. Nilsson IM: **Experience with prophylaxis in Sweden.** *Semin Hematol* 1993, **30**(3 Suppl

2):16–19.

11. Mannucci PM: **Desmopressin (DDAVP) in the treatment of bleeding disorders: the first twenty years.** *Haemophilia* 2000, **6**(Suppl 1):60–67.
12. Mannucci PM: **Hemophilia: treatment options on the twenty-first century.** *J Thromb Haemost* 2005, **1**:1349–1355.
13. White GC, McMillan CW, Kingdon HS, Shoemaker CB: **Use of recombinant antihemophilic factor in the treatment of two patients with classic hemophilia.** *N Engl J Med* 1989, **320**:166–170.
14. Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RS, *et al*: **Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion.** *Lancet* 2004, **363**(9407):417–421.
15. Pipe SW: **Recombinant clotting factors.** *Thromb Haemost* 2008, **99**:840–850.
16. Franchini M, Lippi G: **Recombinant factor VIII concentrates.** *Semin Thromb Hemost* 2010, **36**:493–497.
17. Franchini M, Tagliaferri A, Mannucci PM: **The management of hemophilia in elderly patients.** *Clin Interv Aging* 2007, **2**:361–368.
18. Franchini M, Mannucci PM: **Co-morbidities and quality of life in elderly persons with haemophilia.** *Br J Haematol* 2010, **148**:522–533.
19. Tagliaferri A, Rivolta GF, Iorio A, Olivoecchio E, Mancuso ME, Morfini M, Rocino A, Mazzucconi MG, Franchini M: **Italian Association of Hemophilia Centers: Mortality and causes of death in Italian persons with haemophilia, 1990–2007.** *Haemophilia* 2010, **16**:437–446.
20. Franchini M, Mannucci PM: **Inhibitors of propagation of coagulation (factors VIII, IX and XI): a review of current therapeutic practice.** *Br J Clin Pharmacol* 2011, (in press).
21. Astermark J, Santagostino E, Keith Hoots W: **Clinical issues in inhibitors.** *Haemophilia* 2010, **16**(Suppl 5):54–60.
22. Astermark J, Donfield SM, DiMichele DM, Gringeri A, Gilbert SA, Waters J, Berntorp E, FENOC Study Group: **A randomized comparison of bypassing agents in hemophilia complicated by an inhibitor: the FEIBA NovoSeven Comparative (FENOC) Study.** *Blood* 2007, **109**:546–551.
23. Knight C, Danø AM, Kennedy-Martin T: **Systematic review of efficacy of rFVIIa and aPCC treatment for hemophilia patients with inhibitors.** *Adv Ther* 2009, **26**:68–88.
24. Treur MJ, McCracken F, Heeg B, Joshi AV, Botteman MF, De Charro F, Van Hout B: **Efficacy of recombinant activated factor VII vs. activated prothrombin complex concentrate for patients suffering from haemophilia complicated with inhibitors: a Bayesian meta-regression.** *Haemophilia* 2009, **15**:420–436.
25. Iorio A, Martino D, D'Amico R, Makris M: **Recombinant factor VIIa concentrate versus plasma derived concentrates for the treatment of acute bleeding episodes in people with hemophilia and inhibitors.** *Cochrane Database Syst Rev* 2010, **8**:CD004449.
26. Astermark J: **Inhibitor development: patient-determined risk factors.** *Haemophilia* 2009, **5**:263–265.
27. Chambost H: **Assessing risk factors: prevention of inhibitors in haemophilia.** *Haemophilia* 2010, **16**(Suppl 2):10–15.
28. Aledort LM: **Is the incidence and prevalence of inhibitor greater with recombinant products? Yes.** *J Thromb Haemost* 2004, **2**:861–862.
29. Ettingshausen CE, Kreuz W: **Recombinant vs. plasma-derived products, especially those with intact VWF, regarding inhibitor development.** *Haemophilia* 2006, **12**(suppl 6):102–106.

30. Goudemand J: **Inhibitor development in haemophilia A: the role of von Willebrand factor/factor VIII concentrates.** *Haemophilia* 2007, **13**(Suppl 5):47–51.
31. Franchini M, Lippi G: **VWF-containing FVIII concentrates and inhibitors in hemophilia A: a critical literature review.** *Thromb Haemost* 2010, **104**:931–940.
32. Goudemand J, Rothschild C, Demiguel V, Vinciguerrat C, Lambert T, Chambost H, Borel-Derlon A, Claeysens S, Laurian Y, Calvez T: **FVIII-LFB and Recombinant FVIII study groups: Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe haemophilia A.** *Blood* 2006, **107**:46–51.
33. Chalmers EA, Brown SA, Keeling D, Liesner R, Richards M, Stirling D, Thomas A, Vidler V, Williams MD, Young D: **Paediatric Working Party of UKHCDO: Early factor VIII exposure and subsequent inhibitor development in children with severe haemophilia A.** *Haemophilia* 2007, **13**:149–155.
34. Gouw SC, van der Bom JG, Marijke Van Den Berg H: **Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study.** *Blood* 2007, **109**:4648–4654.
35. Iorio A, Halimeh S, Holzhauser S, Goldenberg N, Marchesini E, Marcucci M, Young G, Bidlingmaier C, Brandao LR, Ettingshausen CE, Gringeri A, Kenet G, Knöfler R, Kreuz W, Kurnik K, Manner D, Santagostino E, Mannucci PM, Nowak-Göttl U: **Rate of inhibitor development in previously-untreated hemophilia a patients treated with plasma-derived or recombinant factor VIII concentrates, A systematic review.** *J Thromb Haemost* 2010, **8**:1256–1265.
36. Mannucci PM, Gringeri A, Peyvandi F, Santagostino E: **Factor VIII products and inhibitor development: the SIPPET study (survey of inhibitors in plasma-product exposed toddlers).** *Haemophilia* 2007, **13**(Suppl 5):65–68.
37. Donadel-Claeysens S: **Current co-ordinated activities of the PEDNET (European Paediatric Network for Haemophilia Management).** *Haemophilia* 2006, **12**:124–127.
38. Chambost H, Meunier S: **Relevance of early paediatric care for boys with severe haemophilia.** *Arch Pediatr* 2006, **13**:1423–1430.
39. Tagariello G, Zanotto D, Radossi P, Sartori R, Belvini D, Salviato R: **In vitro reactivity of factor VIII inhibitors with von Willebrand factor in different commercial factor VIII concentrates.** *Am J Hematol* 2007, **82**:460–462.
40. Salvagno GL, Astermark J, Ekman M, Franchini M, Guidi GC, Lippi G, Poli G, Berntorp E: **Impact of different inhibitor reactivities with commercial factor VIII concentrates on thrombin generation.** *Haemophilia* 2007, **13**:51–56.
41. Kaveri S, Mannucci PM, Kurth MH, Ewing N, Kessler CM, Nugent DJ, Gomperts ED: **Von Willebrand factor: what is its role in the immune response in haemophilia?** *Haemophilia* 2010, [Epub ahead of print].
42. Mannucci PM: **Plasma-derived versus recombinant factor VIII concentrates for the treatment of haemophilia A: plasma-derived is better.** *Blood Transfus* 2010, **8**:288–291.
43. Santagostino E, Mancuso ME: **Venous access in haemophilic children: choice and management.** *Haemophilia* 2010, **16**(Suppl 1):20–24.
44. Mancuso ME, Berardinelli L: **Arteriovenous fistula as stable venous access in children with severe haemophilia.** *Haemophilia* 2010, **16**(Suppl 1):25–28.
45. Santagostino E, Gringeri A, Berardinelli L, Beretta C, Muc,a-Perja M, Mannucci PM: **Long-term safety and feasibility of arteriovenous fistulae as vascular accesses in children with haemophilia: a prospective study.** *Br J Haematol* 2003, **123**:502–506.
46. Mancuso ME, Berardinelli L, Beretta C, Raiteri M, Pozzoli E, Santagostino E: **Improved**

- treatment feasibility in children with hemophilia using arteriovenous fistulae: the results after seven years of follow-up.** *Haematologica* 2009, **94**:687–692.
47. McCarthy WJ, Valentino LA, Bonilla AS, Goncharova I, Taylor A, Pooley TA, Jacobs CE: **Arteriovenous fistula for long-term venous access for boys with hemophilia.** *J Vasc Surg* 2007, **45**:986–990.
48. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, Ingram JD, Manco-Johnson ML, Funk S, Jacobson L, Valentino LA, Hoots WK, Buchanan GR, DiMichele D, Recht M, Brown D, Leissinger C, Bleak S, Cohen A, Mathew P, Matsunaga A, Medeiros D, Nugent D, Thomas GA, Thompson AA, McRedmond K, Soucie JM, Austin H, Evatt BL: **Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia.** *N Engl J Med* 2007, **357**:535–544.
49. Valentino LA: **Secondary prophylaxis therapy: what are benefits, limitations and unknown?.** *Haemophilia* 2004, **10**:147–157.
50. Tagliaferri A: **Awaiting evidence-based recommendations on prophylaxis in adult patients.** *Haemophilia* 2010, **16**:955–956.
51. Valentino LA: **Controversies regarding the prophylactic management of adults with severe haemophilia A.** *Haemophilia* 2009, **15**(Suppl 2):5–18.
52. Coppola A, Tagliaferri A, Franchini M: **The management of cardiovascular diseases in patients with hemophilia.** *Semin Thromb Hemost* 2010, **36**:91–102.
53. Mannucci PM, Mauser-Bunschoten EP: **Cardiovascular disease in haemophilia patients: a contemporary issue.** *Haemophilia* 2010, **16**(Suppl 3):58–66.
54. Mannucci PM, Schutgens RE, Santagostino E, Mauser-Bunschoten EP: **How I treat age-related morbidities in elderly persons with hemophilia.** *Blood* 2009, **114**:5256–5263.
55. Franchini M, Lippi G, Montagnana M, Targher G, Zaffanello M, Salvagno GL, Rivolta GF, Perna CD, Tagliaferri A: **Hemophilia and cancer: a new challenge for hemophilia centers.** *Cancer Treat Rev* 2009, **35**:374–377.
56. Dolan G, Hermans C, Klamroth R, Madhok R, Schutgens RE, Spengler U: **Challenges and controversies in haemophilia care in adulthood.** *Haemophilia* 2009, **15**(Suppl 1):20–27.
57. Konkle BA, Kessler C, Aledort L, Andersen J, Fogarty P, Kouides P, Quon D, Ragni M, Zakarija A, Ewenstein B: **Emerging clinical concerns in the ageing haemophilia patient.** *Haemophilia* 2009, **15**:1197–1209.
58. Youjin S, Jun Y: **The treatment of hemophilia: from protein replacement to AAV-mediated gene therapy.** *Biotechnol Lett* 2009, **31**:321–328.
59. Pfeifer A, Verma IM: **Gene therapy: promises and problems.** *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001, **2**:177–211.
60. Kelley K, Verma I, Pierce GF: **Gene therapy: reality or myth for the global bleeding disorders community?.** *Haemophilia* 2002, **8**:261–267.
61. Kay MA, Manno CS, Ragni MV, Larson PJ, Couto LB, McClelland A, Glader B, Chew AJ, Tai SJ, Herzog RW, Arruda V, Johnson F, Scallan C, Skarsgard E, Flake AW, High KA: **Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector.** *Nat Genet* 2000, **24**:257–261.
62. Powell JS, Ragni MV, White GC 2nd, Lusher JM, Hillman-Wiseman C, Moon TE, Cole V, Ramanathan-Girish S, Roehl H, Sajjadi N, Jolly DJ, Hurst D: **Phase 1 trial of FVIII gene transfer for severe hemophilia A using a retroviral construct administered by peripheral intravenous infusion.** *Blood* 2003, **102**:2038–2045.
63. Roth DA, Tawa NE Jr, O'Brien JM, Treco DA, Selden RF: **Nonviral transfer of the gene encoding coagulation factor VIII in patients with severe hemophilia A.** *N Engl J*

*Med* 2001, **344**:1735–1742.

64. Manno CS, Pierce GF, Arruda VR, Glader B, Ragni M, Rasko JJ, Ozelo MC, Hoots K, Blatt P, Konkle B, Dake M, Kaye R, Razavi M, Zajko A, Zehnder J, Rustagi PK, Nakai H, Chew A, Leonard D, Wright JF, Lessard RR, Sommer JM, Tigges M, Sabatino D, Luk A, Jiang H, Mingozzi F, Couto L, Ertl HC, High KA, Kay MA: **Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response.** *Nat Med* 2006, **12**:342–347.
65. High KA: **Update on progress and hurdles in novel genetic therapies for hemophilia.** *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007, 466–472.
66. Yarovoi HV, Kufrin D, Eslin DE, Thornton MA, Haberichter SL, Shi Q, Zhu H, Camire R, Fakharzadeh SS, Kowalska MA, Wilcox DA, Sachais BS, Montgomery RR, Poncz M: **Factor VIII ectopically expressed in platelets: efficacy in hemophilia A treatment.** *Blood* 2003, **102**:4006–4013.
67. Shi Q, Wilcox DA, Fahs SA, Weiler H, Wells CW, Cooley BC, Desai D, Morateck PA, Gorski J, Montgomery RR: **Factor VIII ectopically targeted to platelets is therapeutic in hemophilia A with high-titer inhibitory antibodies.** *J Clin Invest* 2006, **116**:1974–1982.
68. Saenko EL, Ananyeva NM, Shima M, Hauser CA, Pipe SW: **The future of recombinant coagulation factors.** *J Thromb Haemost* 2003, **1**:922–930.
69. Batorova A, High KA, Gringeri A: **Special lectures in hemophilia management.** *Haemophilia* 2010, **16**(Suppl. 5):22–28.
70. Saenko EL, Pipe SW: **Strategies towards a longer acting factor VIII.** *Haemophilia* 2006, **12**:42–51.
71. Di Minno G, Cerbone AM, Coppola A, Cimino E, Di Capua M, Pamparana F, Tufano A, Di Minno MN: **Longer-acting factor VIII to overcome limitations in haemophilia management: the PEGylated liposomes formulation issue.** *Haemophilia* 2010, **16**(Suppl 1):2–6.
72. Spira J, Plyusch OP, Andreeva TA, Andreev Y: **Prolonged bleeding free period following prophylactic infusion of recombinant factor VIII reconstituted with pegylated liposomes.** *Blood* 2006, **108**:3668–3673.
73. Sen P, Ghosh S, Ezban M, Pendurthi UR, Vijaya Mohan Rao L: **Effect of glycoPEGylation on factor VIIa binding and internationalization.** *Haemophilia* 2010, **16**:339–348.
74. Spira J, Plyushch O, Zozulya N, Yatuv R, Dayan I, Bleicher A, Robinson M, Baru M: **Safety, pharmacokinetics and efficacy of factor VIIa formulated with PEGylated liposomes in haemophilia A patients with inhibitors to factor VIII—an open label, exploratory, cross-over, phase I/II study.** *Haemophilia* 2010, **16**:910–918.
75. Metzner HJ, Weimer T, Kronthaler U, Lang W, Schulte S: **Genetic fusion to albumin improves the pharmacokinetic properties of factor IX.** *Thromb Haemost* 2009, **102**:634–644.
76. Schulte S, Weimer T, Wormsbaeche W, Kronthaler U, Groener A, Lang W, Liebing U: **Prolonged in-vivo half-life of FVIIa by fusion to albumin.** *Blood* 2007, **110**:924a (abstract).
77. Mahlangu J, Andreeva TA, Macfarlane D, Reding MT, Walsh C, Ritchie B, Ewing N, Kessler CM, Kempton C, Libby E, Zozulya N, Shapiro AD, St-Louis J, Warriar I, Keith Hoots W, Gruppo RA, Mueksch JN: **A phase II open-label study evaluating hemostatic activity, pharmacokinetics and safety of recombinant porcine factor VIII (OBI-1) in hemophilia A patients with alloantibody inhibitors directed against human FVIII.** *Blood* 2007, **110**:241a (abstract).

78. Mannucci PM, Roberts HR: **Uncertain times for research on hemophilia and allied disorders.** *J Thromb Haemost* 2005, **3**:423.