

C.L. Balduini
P. Noris

Clinica Medica III, IRCCS
Fondazione Policlinico San
Matteo-Università degli Studi,
Pavia

Piastrinopenie costituzionali



Un tempo ritenute eccezionalmente rare, le piastrinopenie ereditarie sono diventate di riscontro relativamente frequente grazie all'ampia diffusione dei contaglobuli automatici. Infatti, se le forme gravi sono sintomatiche dalla nascita e richiamano da subito l'attenzione del medico, quelle più sfumate vengono in genere scoperte casualmente durante *esami di controllo*.

Nelle pagine che seguono descriviamo le caratteristiche essenziali delle principali forme di piastrinopenia ereditaria (Tabella 1), riportando in qualche dettaglio le acquisizioni più recenti e rimandando a rassegne esaustive per una trattazione più approfondita.¹

La Figura 1 riassume l'attuale visione della megacariocitopoiesi e della piastrinoformazione, le cui alterazioni sono responsabili delle piastrinopenie ereditarie.

Piastrinopenie ereditarie da difetto di differenziazione dei megacariociti

Piastrinopenia amegacariocitica congenita (CAMT, Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia)

Malattia autosomica recessiva, deriva da mutazioni del gene *c-*

MPL per il recettore della TPO (26 differenti mutazioni nelle 32 famiglie descritte). Il difetto del recettore impedisce sin dalla nascita la differenziazione in megacariociti delle cellule staminali emopoietiche e causa piastrinopenia molto grave. Negli anni successivi anche la linea granuloblastica e quella eritroide vanno incontro ad involuzione e l'aplasia trilineare che ne deriva porta a morte il paziente prima dell'età adulta. La patogenesi dell'aplasia non è conosciuta, anche se è stato recentemente ipotizzato che un aumento delle citochine inibitorie intracellulari possa essere coinvolto nel processo.² Lo studio delle correlazioni genotipo/fenotipo in 23 pazienti ha portato all'ipotesi che le mutazioni *non-sense* o *frame shift* causino forme ad evoluzione precoce in aplasia (CAMT I), quelle *missense* forme ad evoluzione meno rapida (CAMT II).³ Il dato non è stato però confermato in una casistica più recente.² Sono evocativi di CAMT l'assenza dei megacariociti midollari, la ridotta crescita di colonie megacariocitiche *in vitro* e livelli molto elevati di TPO sierica in soggetti con trombocitopenia congenita severa e piastrine di volume normale. La conferma definitiva richiede però l'identificazione di mutazioni di *c-MPL*.

Trombocitopenia amegacariocitica congenita con sinostosi radio-ulnare (CTRUS, Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia with Radio-Ulnar Synostosis)

È una sindrome molto rara (8 pazienti descritti in 5 famiglie), a trasmissione autosomica dominante e caratterizzata da piastrinopenia amegacariocitica congenita, sinostosi radio-ulnare, clinodattilia, sindattilia, displasia dell'anca e/o sordità neurosensoriale.⁴ Come per la CAMT, il difetto di differenziazione che alla nascita coinvolge i soli megacariociti può evolvere rapidamente in un quadro di aplasia midollare grave. I soggetti affetti sono eterozigoti per la delezione di un paio di basi nel gene *HOXA11* responsabile di frameshift con conseguente sintesi di una proteina incompleta. Il gene *HOXA11* appartiene alla famiglia dei geni *omeobox*, codificanti per proteine di regolazione fondamentali nel determinismo della morfologia ossea, ma anche nella differenziazione e proliferazione delle cellule emopoietiche. Recenti acquisizioni suggeriscono che il difetto di differenziazione in senso megacariocitico sia riconducibile ad una difettosa interazione fra DNA e proteina *HOXA11* mutata oppure al sequestro del suo cofattore, *Meis1b*, in un complesso funzionalmente inattivo. Il riscontro di piccole quantità di mRNA codificante per *HOXA11* in progenitori emopoietici precoci ricavati da sangue cordonale umano suggerisce infine un suo ruolo nelle fasi iniziali dello sviluppo delle cellule emopoietiche e/o stromali midollari.⁵ La segnalazione di bambini affetti da CTRUS ma senza anomalie di *HOXA11* rende verosimile l'eterogeneità genetica di questa malattia.⁶

Trombocitopenia con assenza del radio (TAR, Thrombocytopenia with Absent Radii)

È caratterizzata da piastrinopenia ipomegacariocitica ed aplasia bilaterale del radio, spesso associata a malformazioni aggiuntive sia

scheletriche che non scheletriche. Sono stati descritti 131 pazienti da 123 famiglie. La piastrinopenia, di entità assai variabile alla nascita (10-100x10⁹ piastrine/L), migliora nel corso dei primi anni di vita raggiungendo valori pressochè normali nella vita adulta. È considerata una sindrome a trasmissione autosomica recessiva pur essendo state descritte famiglie con trasmissione dominante ma penetranza variabile.⁶ Una microdelezione interstiziale sul cromosoma 1q21.1 è stata recentemente individuata in una casistica di 30 pazienti. L'alterazione era però presente anche in alcuni dei familiari sani, suggerendo così che difetti aggiuntivi sono necessari per l'insorgenza della malattia.⁷ Anche la patogenesi della TAR è solo in parte nota, in quanto coinvolge una non meglio identificata alterazione delle fasi iniziali della trasduzione del segnale generato dal legame della TPO al proprio recettore, pur essendo entrambe le molecole normali.

Disordine piastrinico familiare con predisposizione alla leucemia mieloide acuta (FPD/AML)

Disordine autosomico dominante caratterizzato da trombocitopenia moderata, difetto funzionale piastrinico simile a quello indotto dall'assunzione di aspirina e predisposizione alla leucemia mieloide acuta. Dei 127 pazienti descritti (da 15 famiglie), 44 hanno sviluppato leucemia o sindrome mielodisplastica con evoluzione leucemica in età compresa tra 5 e 61 anni. Le piastrine circolanti presentano dimensioni e morfologia normali; i megacariociti midollari sono ridotti. Mutazioni *nonsense*, *missense*, ampie delezioni intrageniche o microdelezioni di *CBFA2* sono alla base della malattia.⁸ *CBFA2* rappresenta la subunità alfa, interagente con il DNA, del fattore di trascrizione core *binding factor* (CBF); il legame con la subunità beta, *CBFB*, incapace di per sé di legare il DNA, aumenta notevolmente l'affinità per il DNA di *CBFA2* che risulta altresì pro-

Table 1. Caratteristiche delle principali piastrinopie costituzionali

Malattia (abbreviazione, OMIM)	Ereditarietà	Gene (localizzazione)	Caratteristiche cliniche e laboratoristiche
Piastrinopie da difetto della differenziazione dei megacariociti			
Trombocitopenia amegacariocitica (CAMT, 604498)	AR	c-MPL (1p34)	Piastrinopenia ipomegacariocitica con evoluzione congenita verso l'aplasia midollare; volumi piastrinici nella norma
Trombocitopenia amegacariocitica con sinostosi radio-ulnare (CTRUS, 605432)	AD	HOXA11 (7p15-14)	Piastrinopenia ipomegacariocitica con possibile evoluzione verso l'aplasia midollare; sinostosi radio-ulnare ed eventuali malformazioni aggiuntive; possibile sordità neurosensoriale; volumi piastrinici nella norma
Piastrinopenia con assenza del radio (TAR, 274000)	AD	nd	Piastrinopenia severa nei primi anni di vita che poi si attenua; aplasia bilaterale del radio; riduzione del numero dei megacariociti; volumi piastrinici nella norma
Disordine piastrinico familiare con predisposizione a leucemia (FPD/AML, 601399)	AD	CBFA2 (21q22)	Tendenza a sviluppare leucemia acuta non linfatica e sindromi mielodisplastiche; volumi piastrinici mieloide acuta nella norma
Piastrinopie da difetto di maturazione dei megacariociti			
Anemia diseritropoietica con anemia (nd, 300367)	XL	GATA-1 (Xp11)	Anemia con anisocitosi eritrocitaria; volumi piastrinici aumentati; ridotta espressione della GPIb nelle piastrine di volume aumentato; dismegacariocitopoiesi
Piastrinopenia X-linkede con talassemia (314050)	XL	GATA-1 (Xp11)	Anemia con anisocitosi eritrocitaria; sbilanciamento della (XLTT, sintesi delle catene globiniche, emolisi; volumi piastrinici aumentati; dismegacariocitopoiesi; splenomegalia
Piastrinopenia tipo Paris-Trousseau 188025/600588) - Sindrome di Jacobsen (JBS, 147791)	AD	Fli-1, Ets-1 (11q23)	Malformazioni cardiache ed al volto; ritardo psico-moto- (TCPT, rior; volumi piastrinici aumentati, granuli alfa di dimensioni aumentate; dismegacariocitopoiesi
Macrotrombocitopenia mediterranea (nd, 153670)	AD	nd (nd)	Dismegacariocitopoiesi; volumi piastrinici aumentati
Trombocitopenia 2 (THC2, 313900)	AD	nd (10p12)	Dismegacariocitopoiesi; volumi piastrinici nella norma
Piastrinopie da difetto della piastriniformazione			
Sindrome di Bernard-Soulier (BSS, 231200)	AR	GPIBA (17p13), GPIBB (22q11), GP9 (3q21)	Difetto di GPIb-IX-V; negli omozigoti difetto di agglutinazione piastrinica da ristocetina e piastrine giganti; negli eterozigoti frequente piastrinopenia di modesta entità ed aumento dei volumi piastrinici
Malattia MYH9-correlata (MYH9-RD: MHA, 155100; SBS, EPS, 153650; FTNS, 153640)	AR	MYH9 (22q12-13)	Inclusioni basofile leucocitarie, ±sordità neurosensoriale, ±catarratta, ±difetto funzionale renale, volumi piastrinici 605249, aumentati con piastrine giganti
Piastrinopie da ridotta sopravvivenza piastrinica			
Sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS, 301000)	X-L	WAS (Xp11)	Immunodeficienza severa; grave difetto della proteina WAS; volumi piastrinici ridotti
Piastrinopenia X-linked (XLT, 313900)	X-L	WAS (Xp11)	Possibile immunodeficienza lieve-moderata; lieve difetto della proteina WAS; volumi piastrinici ridotti
Malattia di von Willebrand tipo 2B (vWD2B, 193400)	AD	VWF (12p13)	Riduzione dei multimeri ad elevato peso molecolare; incostante aumento dei volumi piastrinici; aumento dell'agglutinazione piastrinica indotta da ristocetina
Malattia di von Willebrand di tipo piastrinico (PTvWD, 177820)	AR	GPIBA (17p12)	Riduzione dei multimeri ad elevato peso molecolare; aumento dell'agglutinazione piastrinica indotta da ristocetina; volumi piastrinici aumentati
Piastrinopie a patogenesi sconosciuta			
Sindrome delle piastrine grigie (GPS, 139090)	nd	nd	Volumi piastrinici aumentati e grave difetto di granuli alfa

OMIM: On line Mendelian Inheritance In Man. AD: autosomica dominante. AR: autosomica recessiva. X-L: X-linked. Nd: non determinato.

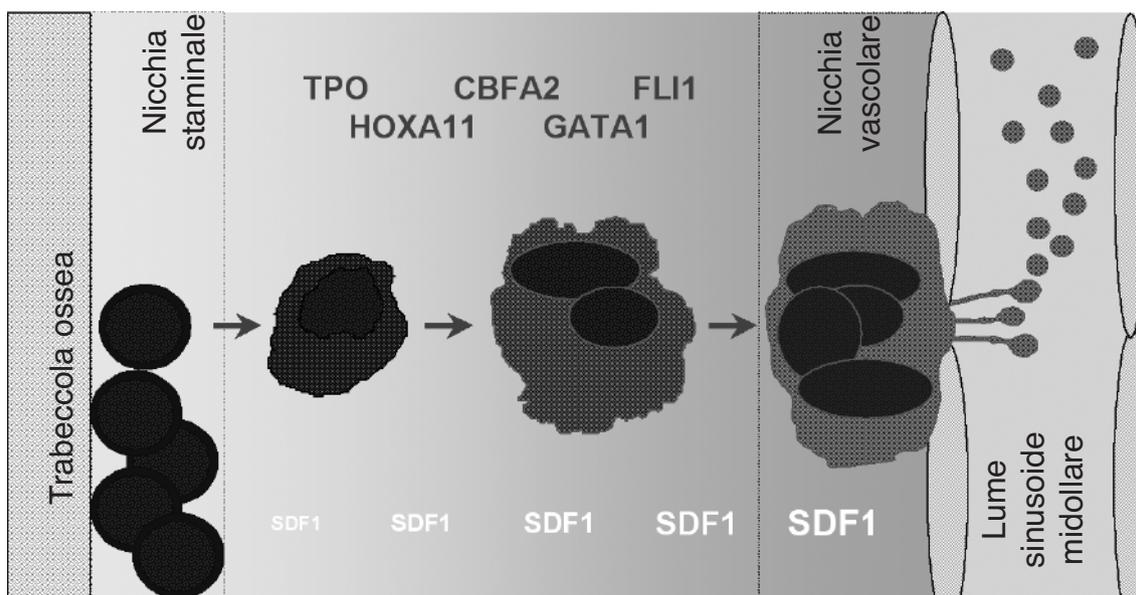


Figura 1. Megacariocitopoiesi e piastrinoformazione. La trombopoietina (TPO) si lega al recettore c-Mpl delle cellule staminali e stimola la loro differenziazione in megacariociti. Una serie di fattori di trascrizione regola poi la produzione delle proteine necessarie per loro maturazione. Sia il difetto ereditario del recettore per la TPO che difetti dei fattori di trascrizione HOXA11, CBFA2, GATA1, FLI1 sono responsabili di piastrinopenie ereditarie da difetto di differenziazione-maturazione dei megacariociti. Durante la maturazione, la cellula, guidata da un gradiente di *stem cell factor* (SDF1), migra dalla nicchia staminale alla nicchia vascolare e prende contatto con l'endotelio dei sinusoidi midollari. Qui il megacariocito emette lunghi filamenti (*proplatelets*) che si insinuano nel lume dei sinusoidi ed originano dalle loro estremità le piastrine. Anche se non sono disponibili prove certe, evidenze iniziali suggeriscono come alterazioni della piastrinoformazione siano alla base di alcune piastrinopenie genetiche.

tetto dalla degradazione proteolitica. Al complesso CBFA2/CBFB viene attribuito un ruolo fondamentale nella regolazione dell'espressione di numerosi geni codificanti sia per citochine che per i recettori delle stesse coinvolti nel processo emopoietico, come confermato dai topi *CBFA2*^{-/-} che muoiono durante la vita fetale a causa della totale assenza di emopoiesi epatica. Particolare importanza funzionale potrebbe avere la carenza di recettore per la trombopoietina identificata recentemente nelle piastrine dei pazienti.⁸ Sebbene non sia chiaro come le mutazioni in questione predispongano alla comparsa di leucemia, è noto come *CBFA2* sia spesso implicato nella genesi della leucemia mieloide acuta *de novo*, essendo o coinvolto in traslocazioni cromosomiche acquisite, la più frequente delle quali è la t(8;21), o colpito da mutazioni puntiformi. La recente

segnalazione di assenza di mutazioni a carico di *CBFA2* in una famiglia in cui tre pazienti piastrinopenici hanno sviluppato sindrome mielodisplastica, in un caso evoluta in leucemia acuta mieloide, suggerisce l'eterogeneità genetica di questo disordine.⁹

Piastrinopenie ereditarie da difetto di maturazione dei megacariociti

Piastrinopenie da mutazioni di GATA-1

Il fattore di trascrizione GATA-1 (codificato da un gene del cromosoma X), assieme al cofattore FOG-1, regola la produzione di proteine indispensabili per la corretta maturazione di megacariociti ed eritroblasti. Mutazioni di GATA-1 causano forme X-linked di piastrinopenia associata a diseritropoiesi con compo-

nente emolitica. È costantemente presente una quota variabile di piastrine con diametro superiore a quello delle emazie (piastrine *giganti*) ed una carenza di alfa-granuli simile a quella della Sindrome delle piastrine grigie (vedi più avanti). Negli 11 casi (5 famiglie) con mutazioni di GATA-1 che ostacolano il legame di FOG-1 (D218G, D218Y, G208S, G208R, V205M), la piastrinopenia era severa (media: 23×10^9 piastrine/L - range: 11-52) e l'anemia modesta (media: 11,7 gr/dL - range: 8-14). Nei 18 pazienti (4 famiglie) con mutazioni che interferiscono con il legame di GATA-1 al DNA (D216Q e R216W), la piastrinopenia era da moderata ad assente (media: 88×10^9 piastrine/L - range: 58-177) e l'emolisi compensata, mentre era presente un difetto emoglobinico simile a quello della beta-talassemia eterozigote. L'unico caso descritto con mutazione R216W presentava una sintomatologia aggiuntiva sovrapponibile a quella della Porfiria eritropoietica congenita.¹⁰

Il quadro clinico è evocativo, ma la certezza diagnostica deriva dallo screening di mutazioni.

Trombocitopenia tipo Paris-Trousseau e Sindrome di Jacobsen (TCPT, thrombocytopenia Paris-Trousseau e JBS, Jacobsen syndrome)

Sono entrambe varianti fenotipiche autosomiche dominanti derivanti dalla delezione terminale 11q23: la sindrome di Jacobsen è caratterizzata da piastrinopenia, ritardo psico-motorio e tipiche malformazioni cardiache e del volto, mentre la piastrinopenia tipo Paris-Trousseau non si associa a difetti somatici maggiori.¹¹ Sono stati descritti 160 casi in più di 100 famiglie. Il fenotipo ematologico è verosimilmente riconducibile alla delezione del gene *Fli-1* codificante per un fattore di trascrizione implicato nella maturazione dei megacariociti e nell'espressione di alcuni geni specifici della linea megacariocitaria, quali quelli per il fattore piastrinico 4, la glicoprotei-

na IIb e c-MPL. Lo studio del midollo osseo evidenzia un aumento del numero dei megacariociti, spesso piccoli, distrofici e con arresto maturativo. All'analisi morfologica dello striscio di sangue periferico, il 10% delle piastrine è di volume aumentato e circa il 15% contiene granuli giganti derivanti dalla fusione di alfa-granuli, incapaci di rilasciare il loro contenuto dopo stimolazione con trombina. Il fenotipo clinico della sindrome di Jacobsen evoca la diagnosi, che nella piastrinopenia tipo Paris-Trousseau deve essere confortata dall'analisi morfologica dello striscio di sangue periferico e dell'agoaspirato midollare, oltre che dall'evidenza della delezione 11p. Va segnalata la recente descrizione del primo caso di sindrome di Jacobsen insorta in seguito a delezione interstiziale di 11q, comunque associata a coinvolgimento del gene *Fli-1*.¹²

Piastrinopenie da difetto della piastrinofornazione

Sindrome di Bernard-Soulier (BSS, Bernard-Soulier syndrome)

La BSS è una malattia emorragica ereditaria (frequenza stimata inferiore a 1:1.000.000) classicamente definita come autosomica recessiva e caratterizzata da macrotrombocitopenia con numerose piastrine giganti, allungamento del tempo di stillicidio, grave difetto di agglutinazione alla ristocetina e di adesione delle piastrine al subendotelio, oltre a compromissione dell'aggregazione da trombina. La diatesi emorragica è grave sin dall'infanzia e può essere causa di morte, anche se col passare degli anni a volte si attenua. È sostenuta da un difetto quantitativo e/o qualitativo del complesso glicoproteico Ib alfa-Ib beta-IX-V che nella porzione extracellulare della GPIb alfa contiene il sito di legame per il fattore di von Willebrand (vWF) e trombina, mentre nella porzione intracitoplasmatica contiene quello

per proteine coinvolte nei processi di attivazione cellulare (calmodulina, 14-3-3zeta, Srd), nonché il sito di ancoraggio per il citoscheletro piastrinico mediato dalla filamina A. Le alterazioni funzionali della porzione extracellulare della GPIb alfa renderebbero ragione della diatesi emorragica, a volte non proporzionata all'entità della piastrinopenia; i difetti della porzione intracellulare sarebbero invece responsabili della macrocitosi e della piastrinopenia, verosimilmente a seguito di un'alterata interazione fra citoscheletro e glicoproteine di membrana.

Nei 114 pazienti con BSS sin qui caratterizzati a livello molecolare sono state identificate 32 mutazioni nel gene per la GPIb alfa, 23 nel gene per la GPIb beta e 19 in quello codificante per la GPIX (<http://www.bernardsoulier.org>); nessuna mutazione è stata osservata nel gene GPV. Sono mutazioni *missense* o *nonsense*, inserzioni e delezioni geniche che nella maggior parte dei casi inducono alterazioni quantitative del complesso GPIb-IX-V (BSS classica); sono tuttavia note famiglie in cui le mutazioni di *GPIBA* e *GP9* impediscono la funzione recettoriale del complesso piuttosto che la sua espressione (BSS variante). La più frequente di queste ultime mutazioni è quella denominata Bolzano.¹³

La grave piastrinopenia con forme giganti ed il difetto di risposta piastrinica alla ristocetina suggeriscono la diagnosi. Il difetto di espressione del complesso Ib-IX-V, evidenziabile mediante citofluorimetria o *Western blotting*, fornisce la conferma. Nelle forme varianti, l'identificazione del difetto qualitativo del complesso Ib-IX-V richiede l'uso di anticorpi monoclonali sensibili alle sue variazioni di conformazione. Il riconoscimento di omozigosi o doppia eterozigosi per mutazioni nei geni candidati costituisce un'ulteriore controprova, utile soprattutto nelle forme varianti.

Anche se la BSS è stata sin qui ritenuta una malattia recessiva, evidenze recenti mettono in

dubbio questa definizione. È nota infatti una famiglia in cui la patologia era ereditata con meccanismo autosomico dominante, e crescente è il numero dei soggetti eterozigoti nei quali vengono descritti sia macrotrombocitopenia che diatesi emorragica lievi o moderate. In particolare, nella nostra casistica già parzialmente pubblicata,¹⁴ il 75 ed il 38% dei soggetti eterozigoti per mutazioni di *GP9* presentavano, rispettivamente, piastrinopenia e diatesi emorragica; dei 48 soggetti eterozigoti per mutazioni di *GPIBA*, che in 47 casi era rappresentata dalla mutazione Bolzano, il 95 ed il 55% sviluppava, rispettivamente, trombocitopenia e tendenza al sanguinamento. Queste osservazioni suggeriscono perciò una più corretta collocazione della BSS tra le forme a trasmissione autosomica dominante con penetranza variabile.

Malattia MYH9-correlata (MYH9-RD, MYH9-related disease)

La denominazione MYH9-RD è stata adottata per comprendere l'Anomalia di May-Hegglin, la Sindrome di Sebastian, la Sindrome di Fechtner e la Sindrome di Epstein una volta che, dimostrata la loro derivazione da mutazioni del gene MYH9 per la catena pesante della miosina non muscolare IIA (NMMHC-IIA), è risultata evidente la necessità di identificare una nuova entità nosografica.

Tutti i pazienti (242 da 132 famiglie descritti sino ad oggi) presentano alla nascita piastrinopenia di entità variabile da molto severa a molto lieve con numerosissime piastrine grandi e giganti. Costante è anche la presenza nel citoplasma dei neutrofili di aggregati di NMMHC-IIA che, quando di grandi dimensioni, sono riconoscibili come inclusi fusiformi di colore azzurro pallido sugli strisci di sangue periferico colorati con May-Grünwald-Giemsa (inclusi Döhle-like). Alcuni pazienti sono destinati a sviluppare durante l'infanzia o l'età adulta cataratta e/o difetto uditivo neurosenso-

riale e/o una nefropatia che spesso evolve in insufficienza renale terminale. Un recente studio del Registro Italiano per la Malattia MYH9-correlata (<http://www.registromyh9.org>) su 108 casi ha dimostrato come la posizione della mutazione determini la gravità della malattia.¹⁵ Le mutazioni nel dominio motore della NMMHC-IIA, deputato all'interazione con la miosina e dotato di attività ATPasica, determinano un quadro grave, con piastrinopenia severa ed insorgenza di nefropatia e difetto uditivo prima dei 40 anni. Le mutazioni nella *coda* della NMMHC-IIA, che regola l'assemblaggio dei filamenti di miosina, causano invece forme più lievi, spesso caratterizzate solamente da piastrinopenia isolata di modesta entità. Non sono noti i meccanismi molecolari responsabili del fenotipo clinico. Per quanto riguarda la piastrinopenia, alcune evidenze preliminari sembrano però indicare come il difetto di miosina interferisca con il corretto svolgimento delle fasi finali della megacariocitopoesi (piastrinogenesi).¹⁶

La diagnosi si basa sulla dimostrazione con tecniche immunomorfologiche degli aggregati di NMMHC-IIA nei polimorfonucleati,¹⁷ ma l'identificazione della mutazione è richiesta per definire la prognosi.

Piastrinopenie da ridotta sopravvivenza piastrinica

Sindrome di Wiskott-Aldrich e Trombocitopenia X-linked (WAS, Wiskott-Aldrich syndrome, e XLT, X-linked thrombocytopenia)

La WAS è un disordine recessivo legato al cromosoma X la cui incidenza è compresa tra 1 e 10/1.000.000 individui ed il cui fenotipo clinico è caratterizzato da piastrinopenia grave, eczema, infezioni ricorrenti ed aumentata tendenza a sviluppare malattie autoimmuni e neoplasie. La XLT rappresenta una forma

lieve della WAS nella quale la piastrinopenia è severa mentre gli altri difetti sono assenti o lievi. Entrambi i disordini derivano da mutazioni (più di 300 sino ad ora individuate) del gene per la proteina WAS (*Wiskott-Aldrich syndrome protein*, WASp) localizzato in posizione Xp11.22-p11.23. La sintomatologia si manifesta nei maschi emizigoti, ma sono state recentemente descritte femmine con WAS sintomatica per inattivazione preferenziale dell'X sano. WASp è coinvolta nella trasduzione del segnale di attivazione dai recettori cellulari di superficie all'actina del citoscheletro: in assenza o carenza di tale proteina risultano pertanto difettosi tutti i processi cellulari che prevedono una riorganizzazione del citoscheletro, in particolare la formazione della sinapsi immunologica tra linfociti T e cellule presentanti l'antigene nonché l'adesione, la locomozione e l'*homing* di linfociti B, monociti, macrofagi e cellule dendritiche.¹⁸ Recentemente, lo studio di un modello murino ha portato ad ipotizzare come anche la piastrinopenia derivi da un analogo difetto dei megacariociti, incapaci di migrare dalla nicchia delle cellule staminali verso i sinusoidi midollari.¹⁹

Studi recenti hanno permesso di evidenziare una stretta correlazione tra genotipo e fenotipo clinico: soggetti con mutazioni *nonsense*, microdelezioni o microinserzioni che risultano nella mancata espressione di WASp o nell'espressione di una forma tronca della stessa sviluppano un fenotipo clinico grave, inquadrabile come WAS; soggetti con mutazioni *missense* ed espressione normale, o solo lievemente ridotta, della proteina mutata sviluppano invece il fenotipo clinico della XLT. Variabilità dell'espressione di WASp e del fenotipo clinico deriva da mutazioni *splice-site* in relazione alla sede delle stesse;^{20,21} mutazioni a carico della regione codificante per il sito di legame per la GTPasi sono invece alla base della cosiddetta neutropenia X-linked, conseguente ad arresto della mielopoiesi.

La piastrinopenia, di entità estremamente variabile nei singoli pazienti e nell'ambito della stessa famiglia ($5-50 \times 10^9/L$), ed il volume piastrinico costantemente ridotto (3.8-5.0 fL) riconoscono una genesi periferica, verosimilmente secondaria all'alterata organizzazione del citoscheletro. La piastrinopenia rende ragione della diatesi emorragica che è presente nella quasi totalità dei pazienti (84%), spesso sin dalla nascita; sanguinamenti potenzialmente fatali sono riportati nel 30% dei pazienti, con un'incidenza di emorragie intracraniche del 2%.

Malattia di von Willebrand tipo 2B (vWD2B, von Willebrand disease 2B) e Pseudo-von Willebrand (PTvWD, platelet-type von Willebrand disease)

La vWD2B (prevalenza inferiore a 1,5/1.000.000) è caratterizzata da aumentata affinità del vWF per la GPIb alfa per mutazioni nel gene del vWF. Il quadro clinico è dominato da diatesi emorragica riconducibile al difetto di vWF, quello laboratoristico da una aumentata agglutinazione piastrinica da ristocetina. Incostanti sono invece la trombocitopenia, l'aumento del volume piastrinico e la riduzione dei multimeri a maggior peso molecolare del vWF. Anche se la vWD2B è stata sin qui annoverata fra le piastrinopenie da distruzione periferica, recenti evidenze suggeriscono come possa coesistere anche difetto di produzione.²²

La vWD2B deve essere differenziata dalla ben più rara PTvWD (3 casi descritti), nella quale l'aumento dell'affinità piastrinica per il vWF deriva da mutazioni *missense* nella regione carbossiterminale o da una delezione nella regione del macroglicopeptide della GPIb alfa. Ciò permette al vWF plasmatico, soprattutto quello a maggior peso molecolare, di legarsi spontaneamente alle piastrine con conseguente rimozione di entrambi dal circolo.²³

La diagnosi differenziale tra vWD2B e PTvWD si avvale di prove di mixing con plasma e piastrine ottenuti dai pazienti e da soggetti sani: nella PTvWD l'aumento dell'aggregazione piastrinica indotta da ristocetina è osservabile solo in presenza delle piastrine del paziente ed indipendentemente dalla provenienza del plasma, mentre l'opposto accade nel vWD2B. L'identificazione delle mutazioni causative è oggi richiesta per confermare la diagnosi.

**Piastrinopenie a patogenesi sconosciuta
Sindrome delle piastrine grigie (GPS, gray platelet syndrome)**

La diagnosi di GPS è attualmente posta nei soggetti con trombocitopenia ereditaria, piastrine giganti ed una grave carenza di alfa-granuli che fa sì che le piastrine appaiano *pallide* e *vuote* alle colorazioni panottiche. Nei 48 pazienti (20 famiglie) descritti, la malattia era sporadica o trasmessa con meccanismo autosomico dominante o recessivo; la piastrinopenia e la diatesi emorragica erano lievi o moderate. I difetti associati alla piastrinopenia ed alla carenza di alfa-granuli sono numerosi: tra gli altri, mielofibrosi non progressiva, splenomegalia, emperipolesi, difetto di aggregazione piastrinica da trombina e collagene, ridotta espressione di GPVI e PAR1, difetto di attivazione della fosfolipasi C e dei flussi di calcio, difetto di produzione di trombossano B2. Nessuno di questi è però presente in tutti i pazienti ed i confini della malattia rimangono perciò indefiniti, così come l'eziologia e la patogenesi. Lo studio di una nuova famiglia ha portato recentemente ad ipotizzare che la malattia venga trasmessa con meccanismo dominante ma che, a causa della diversa penetranza, alcuni pazienti non siano piastrinopenici e, presentando un difetto di alfa-granuli sfumato, non vengano riconosciuti come affetti.²⁴

Difficoltà diagnostiche

Non sempre la natura genetica di una piastrinopenia è facilmente riconoscibile, soprattutto quando il riscontro avviene casualmente in pazienti asintomatici. Ciò è confermato da studi recenti che dimostrano come il 6,5% dei casi diagnosticati come Porpora trombocitopenica idiopatica sia in realtà affetto da forme ereditarie e come il 15% dei pazienti con piastrinopenia genetica venga splenectomizzato nell'ipotesi di piastrinopenia autoimmune.²⁵ Per evitare questi errori è importante non escludere una forma genetica per l'assenza di altri familiari affetti, in quanto nelle malattie recessive ed in quelle X-linked, così come nei pazienti con mutazioni *de novo*, l'anamnesi familiare è negativa. Lo studio degli strisci di sangue periferico è l'esame più utile per suscitare il sospetto della natura genetica di una trombocitopenia, in quanto molte di queste forme presentano evidenti anomalie morfologiche delle piastrine, a volte con alterazioni caratteristiche anche di leucociti e/o emazie. A tal proposito è utile ricordare che per l'identificazione di macrocitosi piastrinica l'osservazione microscopica non può essere sostituita dall'uso dei contaglobuli automatici, in quanto questi non riconoscono gli elementi più grandi e sottostimano, a volte molto gravemente, sia il volume che il numero delle piastrine.

Una volta identificata o sospettata la natura genetica di una piastrinopenia è necessario formulare una diagnosi precisa sia per definire la prognosi che per identificare il miglior approccio terapeutico. La definizione diagnostica è inoltre necessaria per la consultazione genetica e per un'eventuale diagnosi prenatale. A questo scopo è disponibile un algoritmo che, partendo dal quadro clinico e dalle dimensioni delle piastrine, identifica gli esami necessari per arrivare alla diagnosi.²⁶ Va tuttavia sottolineato come spesso (nella nostra esperienza nel 40% dei

casi) non sia possibile classificare il paziente in quanto la sua malattia non è inquadrabile in alcuna delle forme note.

Terapia

Terapia degli eventi emorragici e preparazione agli interventi chirurgici

Le trasfusioni piastriniche rappresentano il provvedimento più efficace per l'arresto delle emorragie maggiori e la preparazione ad interventi chirurgici dei pazienti con rischio emorragico grave. Dal momento che espongono al rischio di alloimmunizzazione e refrattarietà alle trasfusioni successive, laddove possibile vanno utilizzati donatori HLA-compatibili. Quando i concentrati piastrinici risultano inefficaci o non sono disponibili piastrine compatibili per un paziente refrattario, le linee guida 2007 della Società Italiana per lo Studio dell'Emostasi e della Trombosi consigliano, pur in assenza di studi controllati, l'utilizzo di Fattore VII ricombinante attivato (<http://www.siset.org/lineeguida/LG4.pdf>).

Per le emorragie di minor conto, le stesse linee guida suggeriscono provvedimenti emostatici locali e/o l'uso di desmopressina acetato. Quest'ultima è infatti spesso in grado di ridurre per qualche ora la diatesi emorragica. Dal momento però che non è prevedibile quali pazienti trarranno beneficio dal farmaco, è consigliata una somministrazione di prova.

Provvedimenti per correggere stabilmente la piastrinopenia

Splenectomia. Trova indicazione solamente nella WAS e nella XLT, dove corregge la piastrinopenia nella quasi totalità dei casi. Nonostante nella WAS aumenti il rischio di infezioni, l'asportazione della milza porta la sopravvivenza media dei malati da 5 a 25 anni.²⁷

Trapianto di cellule staminali emopoietiche. Rappresenta l'unica opzione oggi disponibile

per ottenere la guarigione, ma presenta una significativa mortalità. Va quindi riservato ai casi più gravi con prognosi infausta. Nella WAS il trapianto corregge anche l'immunodeficienza, mentre nella CAMT previene l'insorgenza dell'aplasia trilineare. La maggior esperienza è stata ottenuta nella WAS, con più di 250 malati trapiantati. La sopravvivenza globale a 5 anni varia dal 70 al 78%²⁸ e nelle casistiche più recenti la percentuale di guarigione oscilla tra il 66 ed il 70%. I risultati migliori si ottengono nei malati con meno di 5 anni e utilizzando un donatore correlato HLA identico.

Ventisei trapianti sono stati effettuati in pazienti con CAMT, con esito positivo nel 76% dei casi.²⁹ Iniziali risultati incoraggianti sono stati ottenuti anche nel BSS (3/3 malati guariti)³⁰ e nella CTRUS (2/3 malati guariti).

Bibliografia

- Balduini CL, Savoia A. Inherited thrombocytopenias: molecular mechanisms. *Semin Thromb Hemost* 2004; 30:513–523.
- Savoia A, Dufour C, Locatelli F et al. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: clinical and biological consequences of five novel mutations. *Haematologica* 2007; 92: 1186–1193.
- Germeshausen M, Ballmaier M, Welte K. MPL mutations in 23 patients suffering from congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: the type of mutation predicts the course of the disease. *Hum Mutat* 2006; 27:296–301.
- Thompson AA, Woodruff K, Feig SA et al. Congenital thrombocytopenia and radio-ulnar synostosis: a new familial syndrome. *Br J Haematol* 2001; 113:866–870.
- Horvat-Switzer RD, Thompson AA. HOXA11 mutation in amegakaryocytic thrombocytopenia with radio-ulnar synostosis syndrome inhibits megakaryocytic differentiation in vitro. *Blood Cells Mol Rev* 2006; 37:55–63.
- Geddis AE. Inherited thrombocytopenia: congenital amegakaryocytic thrombocytopenia and thrombocytopenia with absent radii. *Semin Hematol* 2006; 43:196–203.
- Klopocki E, Schulze H, Strauss G et al. Complex inheritance pattern resembling autosomal recessive inheritance involving a microdeletion in thrombocytopenia-absent radius syndrome, 2007; 80:232–240.
- Sun L, Gorospe JR, Hoffman EP et al. Decreased platelet expression of myosin regulatory light chain polypeptide (MYL9) and other genes with platelet dysfunction and CBFA2/RUNX1 mutation: insight from platelet expression profiling. *J Thromb Haemost* 2006; 5:146–154.
- Minelli A, Maserati E, Rossi G et al. Familial platelet disorder with propensity to acute myelogenous leukemia: genetic heterogeneity and progression to leukemia via acquisition of clonal chromosomal anomalies. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 40:165–171.
- Phillips JD, Steensma DP, Pulsipher MA et al. Congenital erythropoietic porphyria due to a mutation in GATA1: the first trans-acting mutation causative for a human porphyria. *Blood* 2007; 109:2618–2621.
- Grossfeld PD, Mattina T, Lai Z et al. The 11q terminal deletion disorder: a prospective study of 110 cases. *Am J Med Genet* 2006; 129:51–61.
- Wenger SL, Grossfeld PD, Siu BL et al. Molecular characterization of an 11q interstitial deletion in a patient with the clinical features of Jacobsen syndrome. *Am J Med Genet* 2006; 140:704–708.
- Ware J, Russel SR, Marchese P et al. Point mutation in a leucine-rich repeat of platelet glycoprotein Ib alpha resulting in the Bernard-Soulier syndrome. *J Clin Invest* 1993; 92: 1213–1220.
- Savoia A, Balduini CL, Savino M et al. Autosomal dominant macrothrombocytopenia in Italy is most frequently a type of heterozygous Bernard-Soulier syndrome. *Blood* 2001; 97:1330–1335.
- Pecci A, Panza E, Pujol-Moix N et al. The position of NMMHC-IIA mutations predicts the risk of non-hematological complications of MYH9-related disease. *Human Mutat*, in press.
- Chen Z, Naveiras O, Balduini A et al. The May-Hegglin anomaly gene MYH9 is a negative regulator of platelet biogenesis modulated by the Rho-ROCK pathway. *Blood* 2007; 110:171–179.

17. Seri M, Pecci A, Di Bari F et al. MYH9-Related Disease: May-Hegglin anomaly, Sebastian syndrome, Fechtner syndrome, and Epstein syndrome are not distinct entities but represent a variable expression of a single illness. *Medicine* 2003; 82:203–215.
18. Ochs HD, Thrasher AJ. The Wiskott-Aldrich syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:725–738.
19. Sabri S, Foudi A, Boukour S et al. Deficiency in the Wiskott-Aldrich protein induces premature proplatelet formation and platelet production in the bone marrow compartment. *Blood* 2006; 108:134–140.
20. Imai K, Morio T, Zhu Y et al. Clinical course of patients with WASP gene mutations. *Blood* 2004; 103:456–464.
21. Jin Y, Mazza C, Christie JR et al. Mutations of the Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP): hotspots, effect on transcription, and translation and phenotype/genotype correlation. *Blood* 2004; 104:4010–4019.
22. Nurden P, Debili N, Vainchenker W et al. Impaired megakaryocytopoiesis in type 2B von Willebrand disease with severe thrombocytopenia. *Blood* 2006; 108:2587–2595.
23. Nurden AT. Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes. *J Thromb Haemost* 2005; 3:1773–782.
24. De Candia E, Pecci A, Ciabattini G et al. Defective platelet responsiveness to thrombin and protease-activated receptors agonists in a novel case of gray platelet syndrome: correlation between the platelet defect and the alpha-granule content in the patient and four relatives. *J Thromb Haemost* 2007; 5:551–559.
25. Geddis AE, Balduini CL. Diagnosis of immune thrombocytopenic purpura in children. *Current Opinion Hematol* 2007; 14:520–5.
26. Noris P, Pecci A, Di Bari F et al. Application of a diagnostic algorithm for inherited thrombocytopenias to 46 consecutive patients. *Haematologica* 2004; 89:1218–1225.
27. Mullen CA, Anderson KD, Blaese RM. Splenectomy and/or bone marrow transplantation in the management of the Wiskott-Aldrich syndrome: long-term follow-up of 62 cases. *Blood* 1993; 82:2961–2966.
28. Filipovich AH, Stone JV, Tomany SC et al. Impact of donor type on outcome of bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: collaborative study of the International Bone Marrow Transplant Registry and the National Marrow Donor Program. *Blood* 2001; 97:1598–1603.
29. King S, Germeshausen M, Strauss G et al. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: a retrospective clinical analysis of 20 patients. *Br J Haematol* 2005; 131:636–644.
30. Locatelli F, Rossi G, Balduini C. Hematopoietic stem-cell transplantation for the Bernard-Soulier syndrome. *Ann Intern Med* 2003; 138:79.