



**DEFICIT CONGENITO DI FATTORE VII:
ANALISI MOLECOLARE DI UNA PATOLOGIA CAMALEONTE E LE
SUE IMPLICAZIONI CLINICO-TERAPEUTICHE**

**CONGENITAL FACTOR VII DEFICIENCY: MOLECULAR ANALYSIS OF
A CHAMELEON DISEASE AND ITS CLINICAL AND THERAPEUTIC
IMPLICATIONS**

Laureando:
MODUGNO MARCO

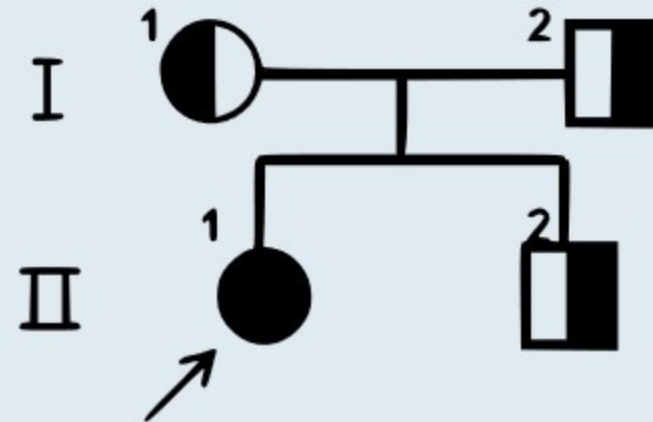
Docente Referente:
Chiar.mo. Prof
BARUCCA MARCO

Corso di Laurea in Scienze Biologiche

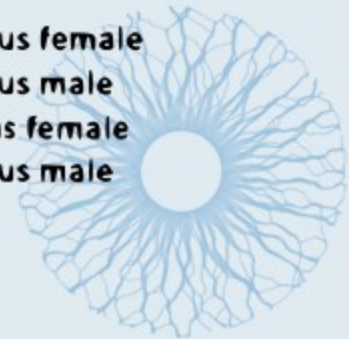
Anno accademico 2025/2026

INQUADRAMENTO CLINICO ED EREDITARIETA'

- **MALATTIA RARA:** Incidenza stimata 1:300.000-1:500.000.
- **SINTOMI LIEVI:** Epistassi (60%), sanguinamenti gengivali (34%).
- **SINTOMI GRAVI:** Emorragia del SNC (2.5%), ematuro (19%).
- **MODELLO DI TRASMISSIONE:** Ereditarietà autosomiale recessiva per omozigosi o eterozigosi composta.
Nuovi studi ipotizzano possibili modelli dominanti atipici.



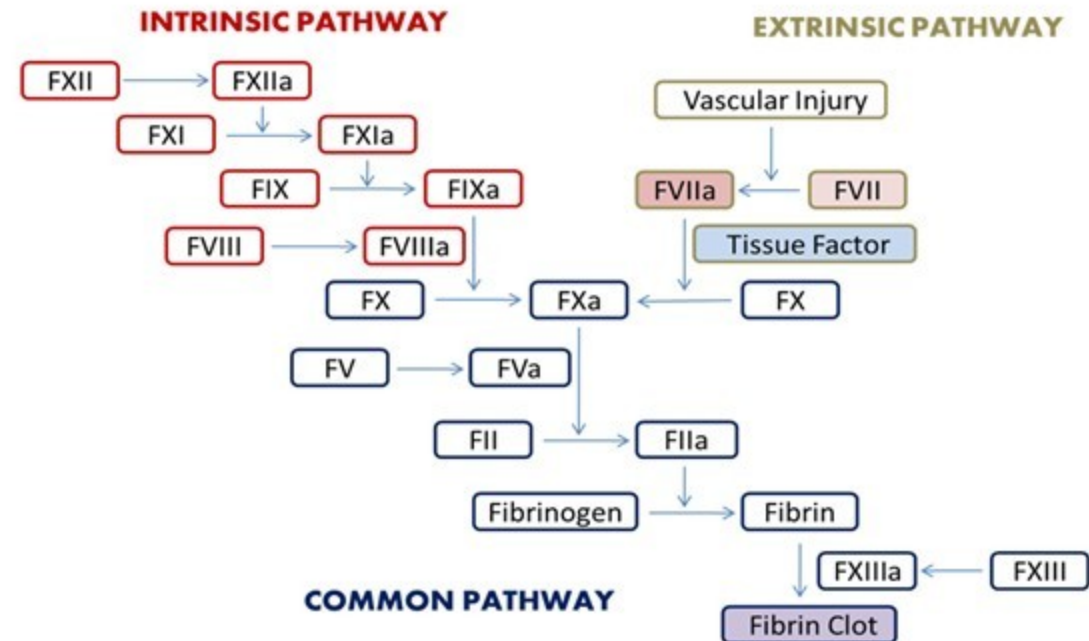
I 1: Gly156Cys heterozygous female
I 2: Gly156Cys heterozygous male
II 1: Gly156Cys homozygous female
II 2: Gly156Cys heterozygous male



LA VIA ESTRINSECA

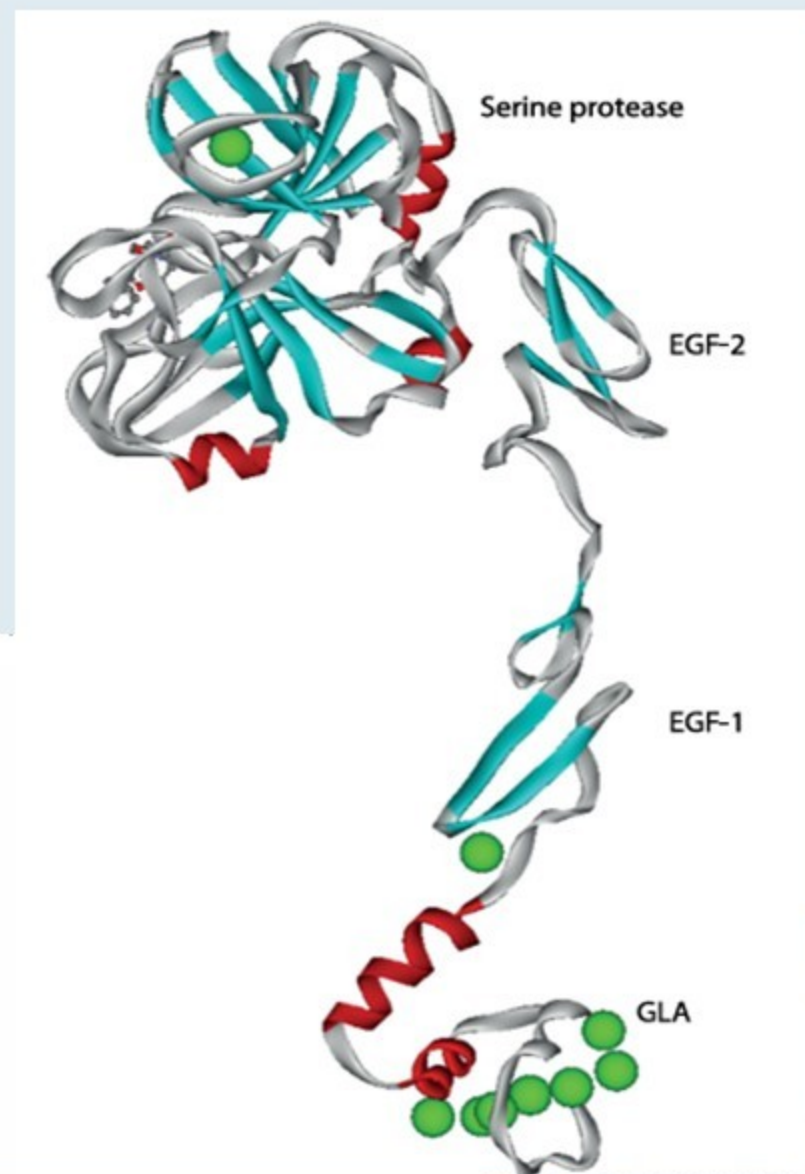
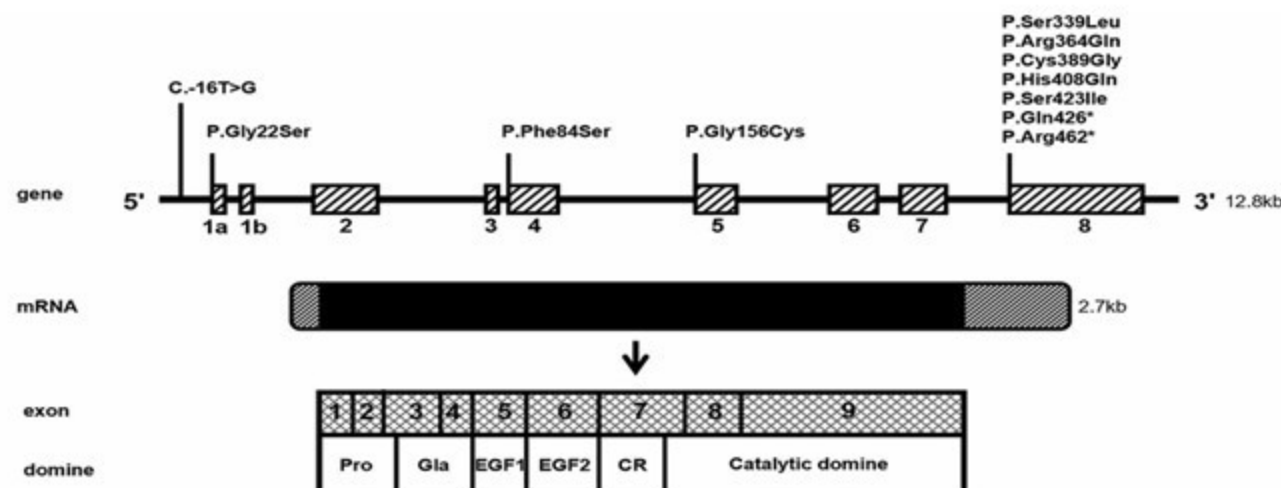
Il fattore VII è una serina proteasi vitamina k-dipendente essenziale per l'innesco emostatico.

- **COMPLESSO TF/VIIa:** Il legame con il fattore tissutale (TF) potenzia l'attività di 10^6 volte.
- **ATTIVAZIONE:** Taglio proteolitico tra Arg152 e Ile 153.
- **OBIETTIVO:** Conversione del fattore X in FXa per la generazione di trombina

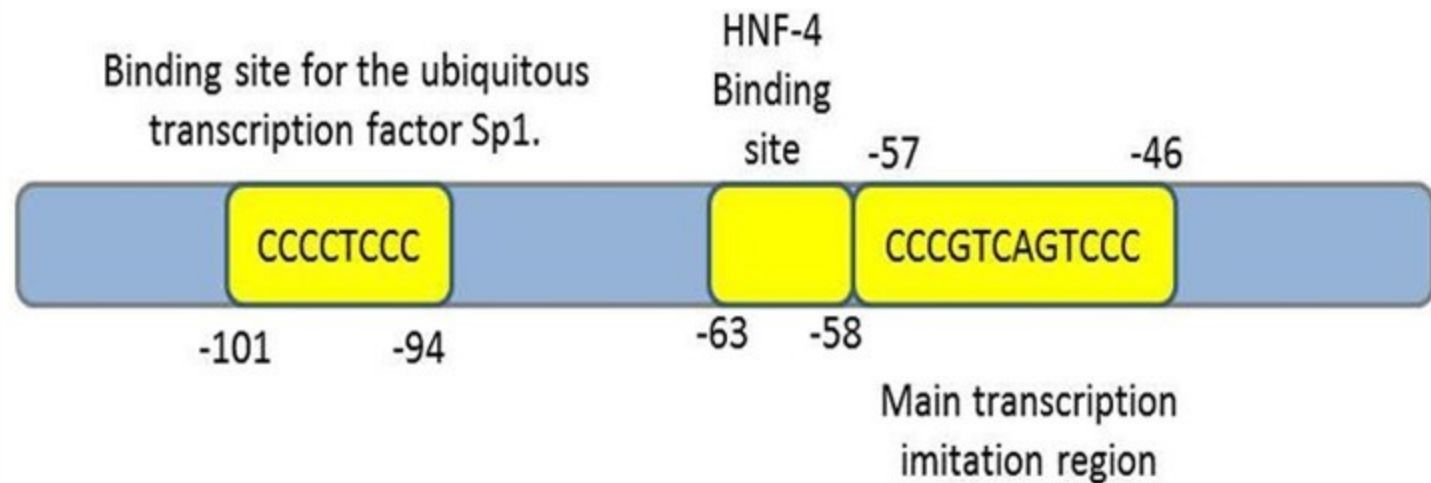


ARCHITETTURA DEL GENE F7

- LOCUS: Cromosoma 13q34 (circa 12.8 kb).
- STRUTTURA: 9 esoni e 8 introni.
- DOMINI FUNZIONALI:
 - Esone 1a/1b*: Sequenza leader;
 - Esone 2*: Dominio GLA (carbossilazione);
 - Esone 3*: Aromatic stack helix;
 - Esone 4 e 5*: Domini EGF-like (interazione TF);
 - Esone 6-8*: Dominio catalitico (serina proteasi);
 - Esone 9*: Stabilità e riconoscimento del substrato.



REGOLAZIONE E SINTESI



PROMOTORE:

Regolato dai siti Sp1 e HFN-4.

Mutazioni in queste regioni riducono l'mRNA anche con esoni integri.



SINTESI EPATICA:

Processo K-dipendente di gamma-carbossilazione nel RE, fondamentale per l'ancoraggio alle membrane fosfolipidiche.

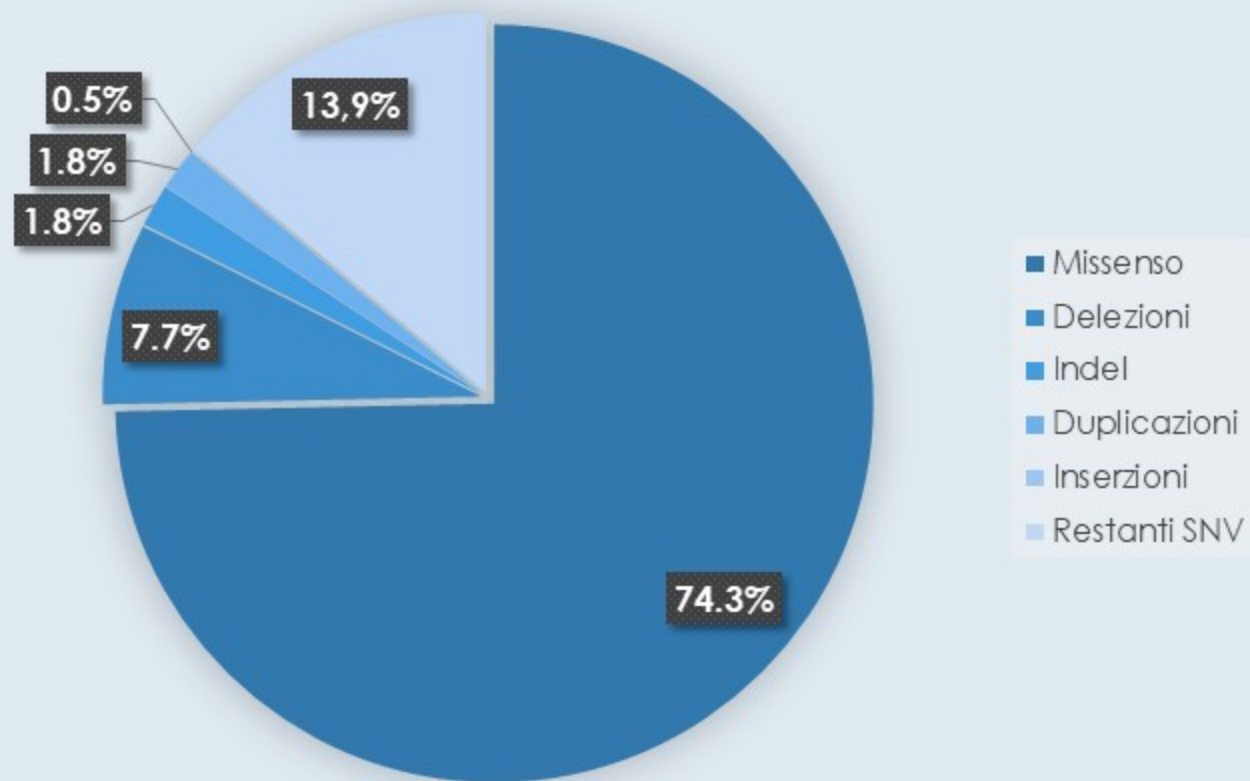


SPLICING:

L'esone 1b può determinare una sequenza leader di 38 o di 60 AA.



SPETTRO MUTAZIONALE



DISTRIBUZIONE DELLE MUTAZIONI

(B)

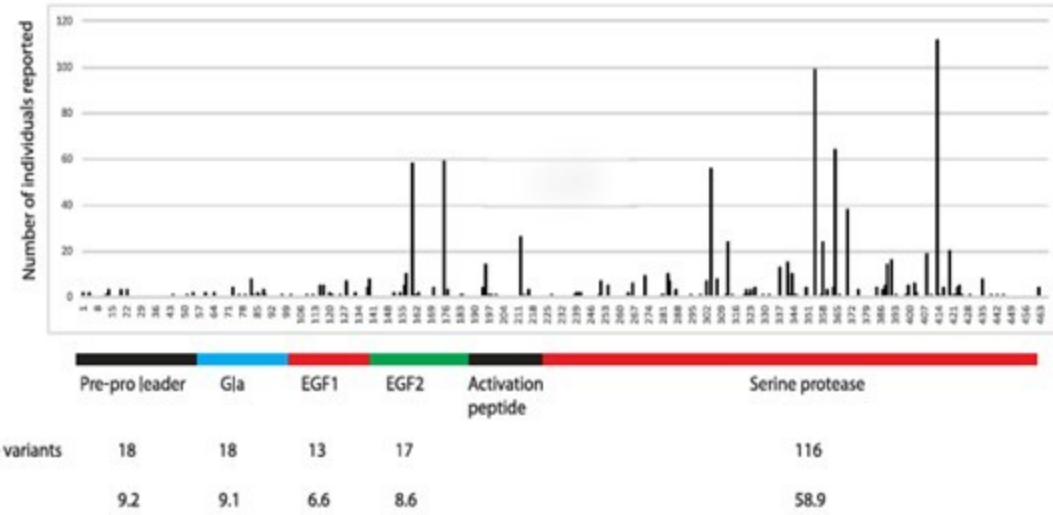
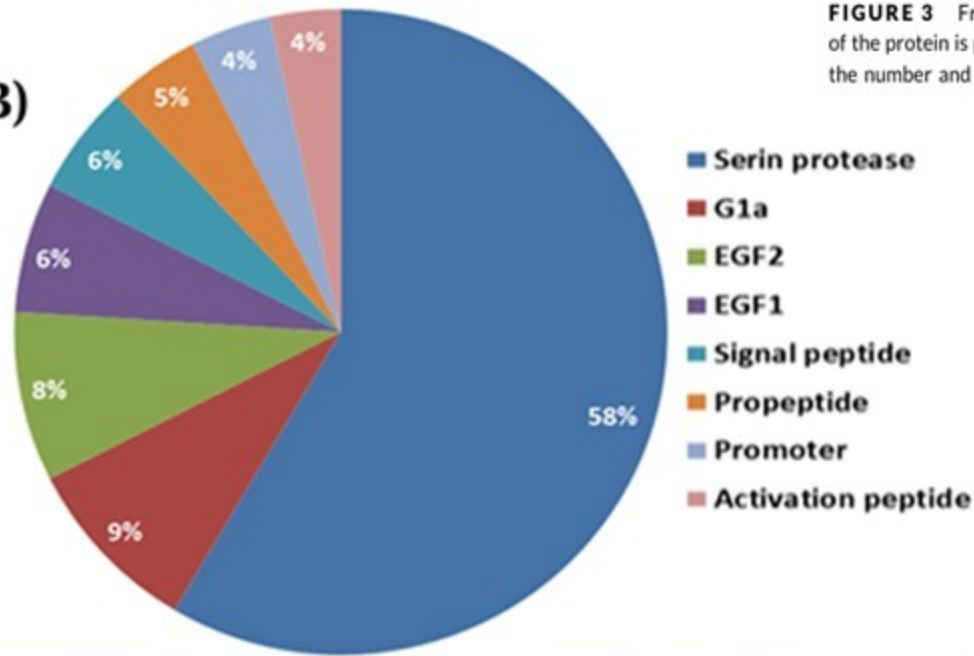


FIGURE 3 Frequency and location of the 221 unique variants. The number of individuals reported with variants in the amino acid sequence of the protein is plotted. The correspondence of the primary amino acid sequence with the domain structure of the protein is shown below with the number and percentage of unique variants reported in each domain

La maggior parte delle mutazioni (58.9%) si concentra nel dominio catalitico dell'esone 8

MECCANISMI MOLECOLARI DEL DEFICIT



DIFETTI QUANTITATIVI (Tipo I):

Crollo parallelo di attività (FVII:C) e antigene (FVII:Ag). Legati a errori di biosintesi o di misfolding proteico con ritenzione nel RE.

DIFETTI QUALITATIVI (Tipo II):

Proteina secreta normalmente ma inerte a causa di:

- Inibizione attività proteolitica
- Compromissione centro catalitico
- Ridotta affinità per il TF.

LA «MALATTIA CAMALEONTE»

PARADOSSO CLINICO: Molti pazienti con livelli minimi di FVII restano asintomatici, mentre deficit lievi possono manifestare emorragie severe.



FATTORI MODIFICATORI:

- Ambiente
- Varianti concomitanti (es. Fattore V Leiden compensatorio)
- Polimorfismi modulatori basali

Manca una correlazione lineare tra
genotipo e fenotipo



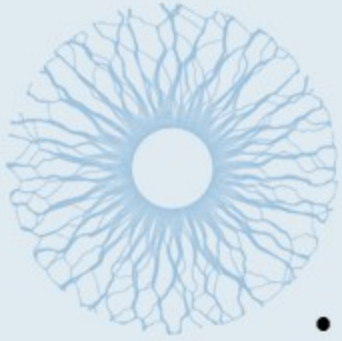
ANALISI IN SILICO



Modellazione tridimensionale della variante p.Pro324Leu.

La genetica moderna sfrutta algoritmi predittivi per validare la patogenicità:

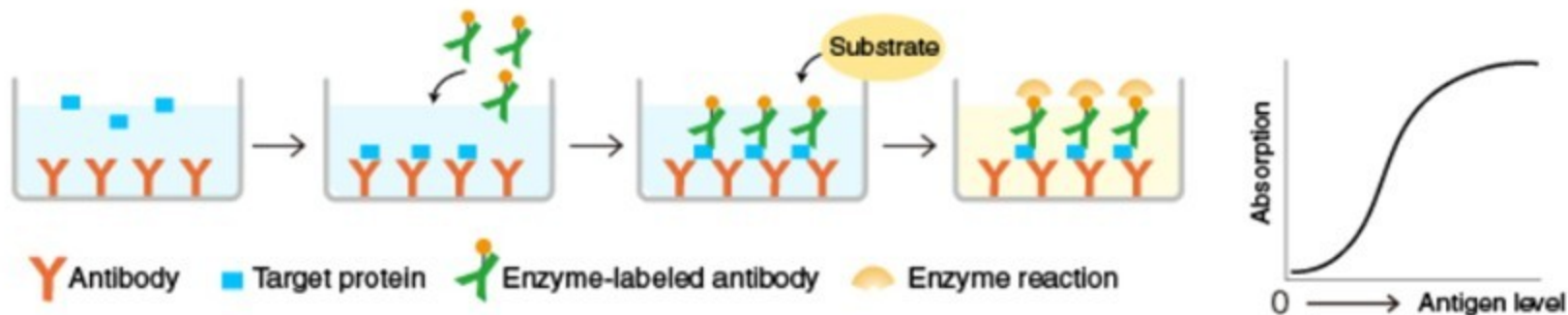
- **SIFT:** Conservazione filogenetica;
- **PolyPhen-2:** Impatto strutturale e spaziale;
- **PROVEAN:** Predizione per inserzioni.



CONVALIDA IN VITRO

Pilastro fondamentale per gli studi genetici

- SISTEMI: Cellule CHO o HEK293 per garantire modifiche post traduzionali corrette
- MUTAGENESI SITO-DIRETTA: Introduzione della variante nel cDNA wild-type
- SAGGIO ELISA: Quantificazione della quota secreta vs lisato cellulare.



IL REGISTRO EAHAD

Il registro EAHAD funge da archivio che centralizza i dati genetici frammentati.

Viene costantemente aggiornato e ad oggi documenta un totale di 221 varianti in 728 individui.

Rappresenta una guida bioinformatica per scegliere terapie adatte e evitare errori nei test di laboratorio



Factor VII Gene (F7)

Variant Database



Home

Advanced Search

Variant

Structure

AA Alignment

Resources

Support

Variant ID: 41

cDNA Change

Amino Acid Change

Type

Effect

Domain

Sequence Context

Location

Minor Allele Frequency (MAF)

c.416G>A

p.Arg139Gln (Legacy AA No. 79)

Point

Missense

EGF1

CGG > CAG

Exon(5)

0.0006048

The details of the cases reported with the above variant is as below

Case ID	Other Variants found in case	Genotype	FVII:C (%)			FVII:G (%)	Reported Clinical Severity	Reference	Comments
			TF-Unknown	TF-Human	TF-Rabbit				
4	-	Homozygous			20	75	asymptomatic	Takemitsu et al 1993	
5	-	Homozygous				115	unknown	Takemitsu et al 1995	FVII SHENO
6	1	Heterozygous			85	100	asymptomatic	Chang et al 1994	Both Variants in cis
82	1	Homozygous			<1	100	severe	Chang et al 1994	
469	1	Heterozygous			105	8	Asymptomatic	Wozniy et al 2014	
473	1	Heterozygous			80	4	Asymptomatic	Wozniy et al 2014	
812	1	Heterozygous			63	4	Asymptomatic	Bottom-Mogge et al 2007	

In Depth Variant Analysis: c.479A>G (p.Gln160Arg)

c.479A>G p.Gln160Arg (Legacy AA No. 100)

Variant Type: Point Domain: EGF2 Codon Change: CAG > CCG No of bases: 1

Variant Effect: Missense Location: Exon(5) No of bases: 1

No. of cases reported: 34 Allele Frequency (MAF): 0.01515

Case Information : Show

Residue Information :

	Name	Type	Cyclic	Size	Hydrophobicity	Charge
Wild Type	Gln	-	acyclic	large	hydrophilic	neutral
Variant	Arg	basic	acyclic	large	hydrophilic	positive

Substitution Analysis :

- Grantham Score : 43
- PolyPhen-2 Prediction : probably damaging (Probability: 0.99)
- SIFT Prediction : Damaging (SCORE: 0.010)
- PROVEAN (Protein Variation Effect Analyzer) Prediction : Deleterious (SCORE: -2.78)

Structural Implications :

- Gln160 is shown below as a red sphere.
- Gln160 is a buried residue (the surface accessibility from the FVII structure is 0).
- Gln160 is in a random coil area of the FVII structure (the DSSP assignment from the modelled FVII domains is S).

Hint: Left click mouse | To rotate the structure
Hint: Rotate mousewheel | To zoom in/out the structure
Hint: Right click mouse | To use applet control options



Structure details

Structure: ☒ FVII-TF Complex ☐ FVII only

Domain Colours: ☒ All ☐ Gln ☐ EGF1 ☐ EGF2 ☐ Serine Protease

Domain Labels: ☒ Hide ☐ Show

Display Options

Spin: ☒ OFF ☐ ON

Style: ☒ Cartoon

Color: ☐ Domains

Disulphides: ☒ OFF ☐ ON

Export:

Right Click on the molecule's screen for more options.

Multiple Sequence Alignment of Factor VII protein sequence across Primates.

Note: Clicking and Dragging the mouse over the sequences will take you across the sequence limits

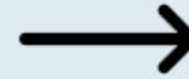
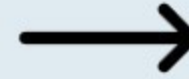
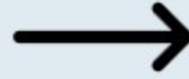
Note: All numbering is for human FVII and is HGVS

Ordering: Color scheme: Extras: Export



APPROCCI TERAPEUTICI

- **TERAPIA STORICA:** Rappresentate da infusioni di Plasma Fresco Congelato o Concentrati complessi protrombinici.
Grossi limiti
- **TERAPIA ATTUALE:** Rappresentato da il Fattore VIIa ricombinante → rVIIa
Diminuzione importante dei rischi agendo in modo mirato
- **TERAPIA GENICA:** Ancora in via di sviluppa rappresenta la possibilità di una cura definitiva senza rischi e limiti.
Si trasferisce una copia funzionale del cDNA del gene F7 dentro gli epatociti.



- *Shahbazi S, Mahdian R. Factor VII;23(3):165-174***Gene Defects: Review of Functional Studies and Their Clinical Implications.** *Iran Biomed J.* 2019 May.
- *Herrmann FH, Wulff K, Auerswald G, Schulman S, Astermark J, Batorova A, Kreuz W, Pollmann H, Ruiz-Saez A, de Bosch N, Salazar-Sanchez L; Greifswald***Factor FVII Deficiency Study Group. Factor VII deficiency: clinical manifestation of 717 subjects from Europe and Latin America with mutations in the factor 7 gene.** *Haemophilia.* 2009 Jan;15(1):267-280.
- *Giansily-Blaizot M, Rallapalli PM, Kembell-Cook G, Hampshire DJ, Perkins SJ, Gomez K, Ludlam CA, McVey JH. The EAHAD blood coagulation factor VII variant database.* *Hum Mutat.* 2018 Dec;39(12):1736-1741.
- *Liang K, Nikuze L, Zhang F, Lu Z, Wei M, Wei H. Identification of two novel mutations in three children with congenital factor VII deficiency.* *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2021;32(7):495-501.
- *Zhang X, Wang S, Leng S, Feng Q, Zhang Y, Xu S, Zhang L, Zhang X, Fang Y, Peng J, Sheng Z. Novel factor VII gene mutations in six families with hereditary coagulation factor VII deficiency.* *Int J Lab Hematol.* 2020;42(5):548-556.
- *Napolitano M, Siragusa S, Mariani G. Factor VII Deficiency: Clinical Phenotype, Genotype and Therapy.* *J Clin Med.* 2021;10(17):3802.
- *Russell PJ. Genetica: Un approccio molecolare. Quarta edizione. Milano: Pearson Italia; 2014.*

RIASSUNTO ESTESO

Il deficit congenito di Fattore VII è una coagulopatia rara a trasmissione autosomica recessiva nota per la sua natura camaleontica, a causa della mancanza di una correlazione lineare tra i livelli di attività del Fattore VII e la reale gravità delle emorragie nel paziente.

Per indagare i meccanismi molecolari di questa discrepanza è necessario indagare i database internazionali (come il registro EAHAD) e utilizzare modelli bioinformatici predittivi.

I risultati evidenziano un elevato polimorfismo genetico, con mutazioni concentrate soprattutto a livello dell'ultimo esone, che è essenziale per il dominio catalitico.

La discussione finale conferma che il fenotipo finale è governato da un network complesso composto e influenzato da polimorfismi basali, varianti compensatorie (come fattore V Leiden) età e sesso.

Tutto ciò impone un cambio di approccio, puntando ad una terapia personalizzata che superi i limiti tecnici dei trattamenti plasmatici storici a favore del Fattore VIIa ricombinante e delle future prospettive di una cura definitiva tramite la terapia genica.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE