

ISTITUTO DI EMATOLOGIA E ONCOLOGIA MEDICA “L. E A. SERÀGNOLI”

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA
Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia
Lezioni di EMATOLOGIA

TALASSEMIE ED EMOGLOBINOPATIE

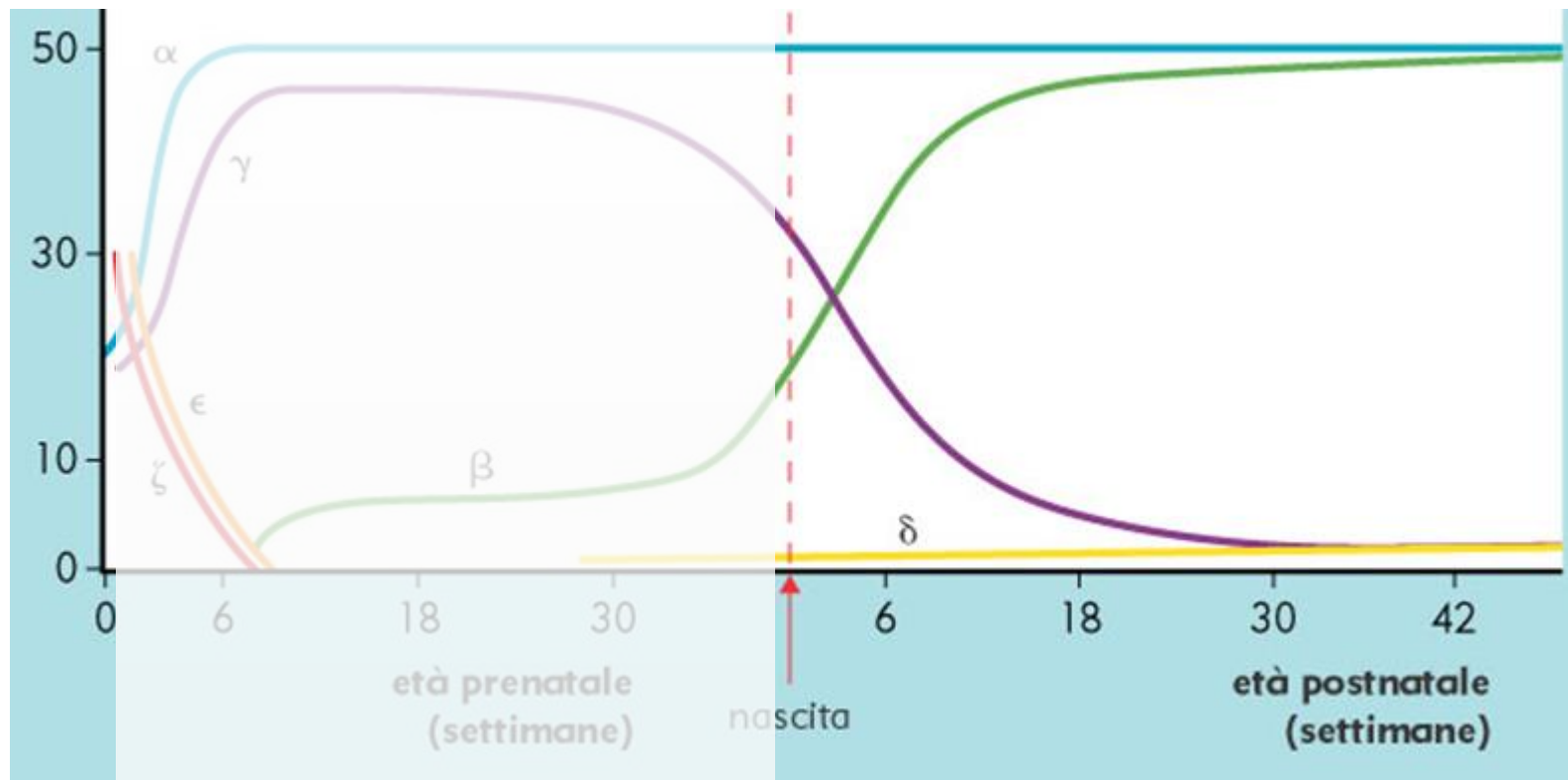
	I	II	III	IV
Emoglobina	↓	↓	↓	↓
Globuli rossi	↓	↓	= ↑	↓
Ematocrito	↓	↓	↓	↓
MCV	normale	> 100 fL	< 80 fL	normale o aumentato
MCH	=	=	↓	=
Reticolociti	0	↓↓	↓	↑↑
Eritroblasti	0	↑ E1-E2	↑ E4-E5	↑↑
Emolisi	0	±	± (talassemie)	++
EPO	↓	↑	normale	normale
Midollo	vuoto	displastico	pieno, talora iperplastico	pieno e iperplastico

CLASSIFICAZIONE

Talassemie	Varianti strutturali	Emoglobinopatie
α-talassemie - α-talassemie asintomatiche - α-talassemia sintomatica - malattia da HbH - idrope fetale β-talassemie - β-talassemia <i>maior</i> - β- talassemia <i>intermedia</i> - β-talassemia <i>minor</i> $\delta\beta$-talassemia	Da fusione genica - Hb Lepore -Hb Kenya Hb Constant Spring HbE Persistenza ereditaria di emoglobina fetale	Emoglobine con proprietà fisiche anormali - HbS Emoglobine instabili - Hb Terre Haute - Hb Quong Sze - Hb Köln - Hb Zurigo - Hb Ginevra - Hb Gun Hill Emoglobine con aumentata affinità per l'ossigeno - Hb Chesapeake Emoglobine con ridotta affinità per l'ossigeno - Hb Kansas

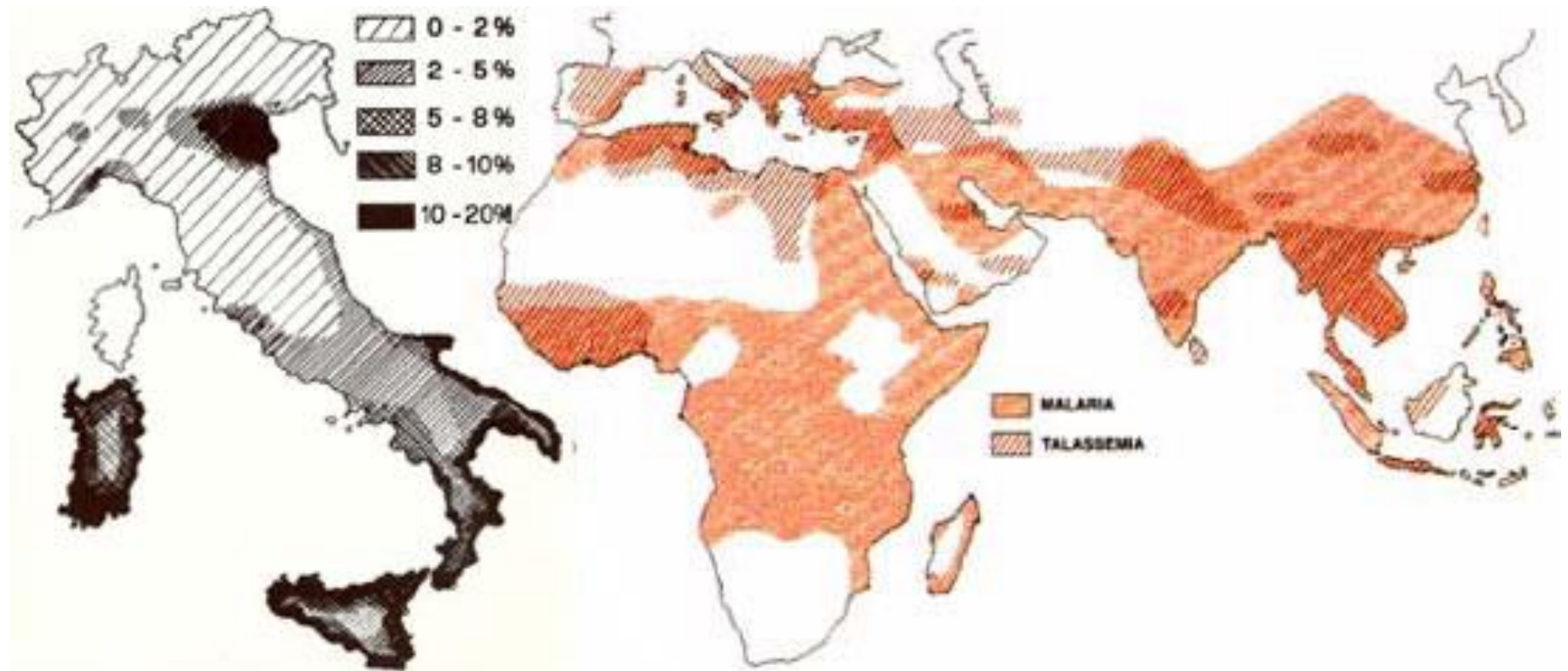
EMOGLOBINA DELL'ADULTO

Emoglobina	%	Composizione
HbA	96-97	$\alpha_2\beta_2$
HbA ₂	2-3	$\alpha_2\delta_2$
HbF	0-1	$\alpha_2\gamma_2$



β -TALASSEMIE

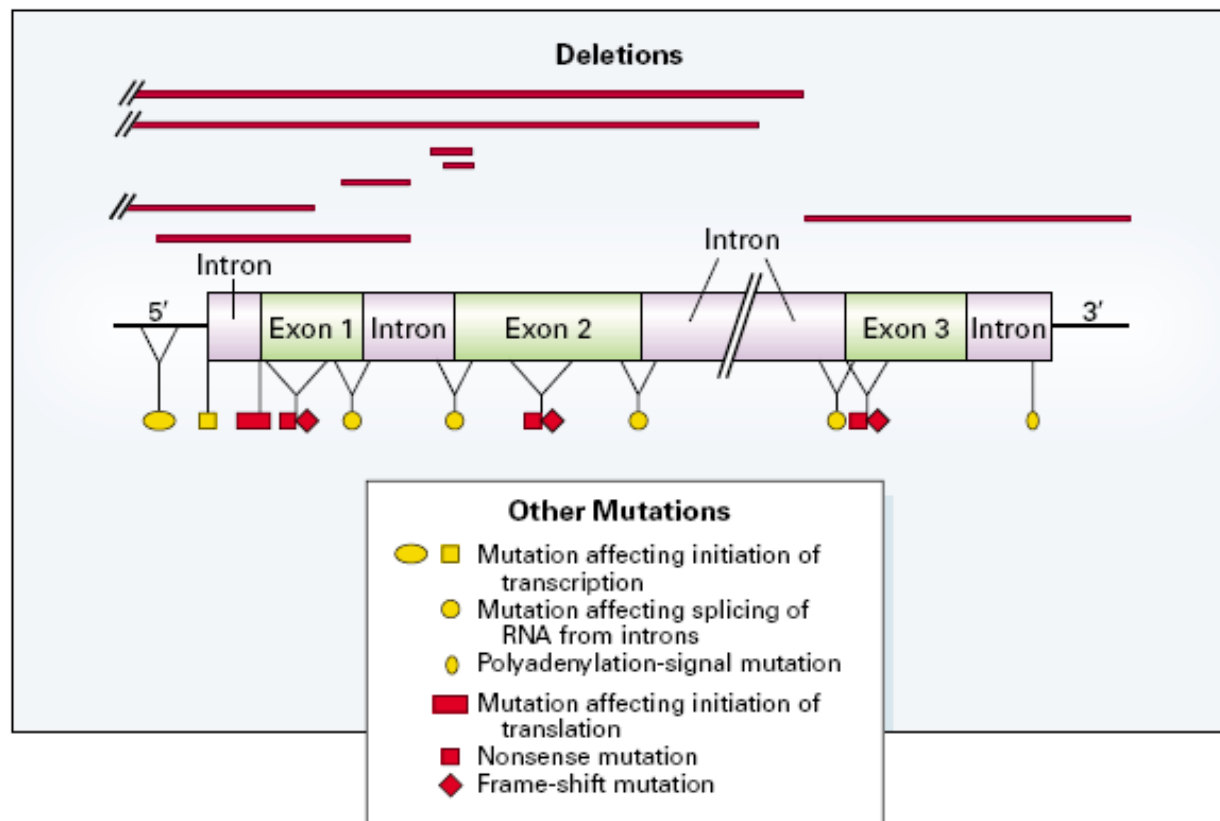
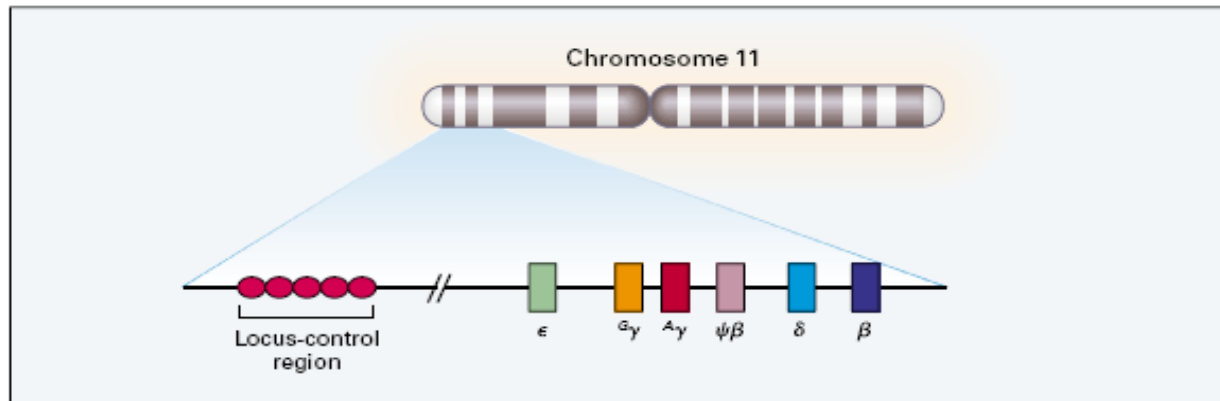
EPIDEMIOLOGIA (1)



GENETICA (1)

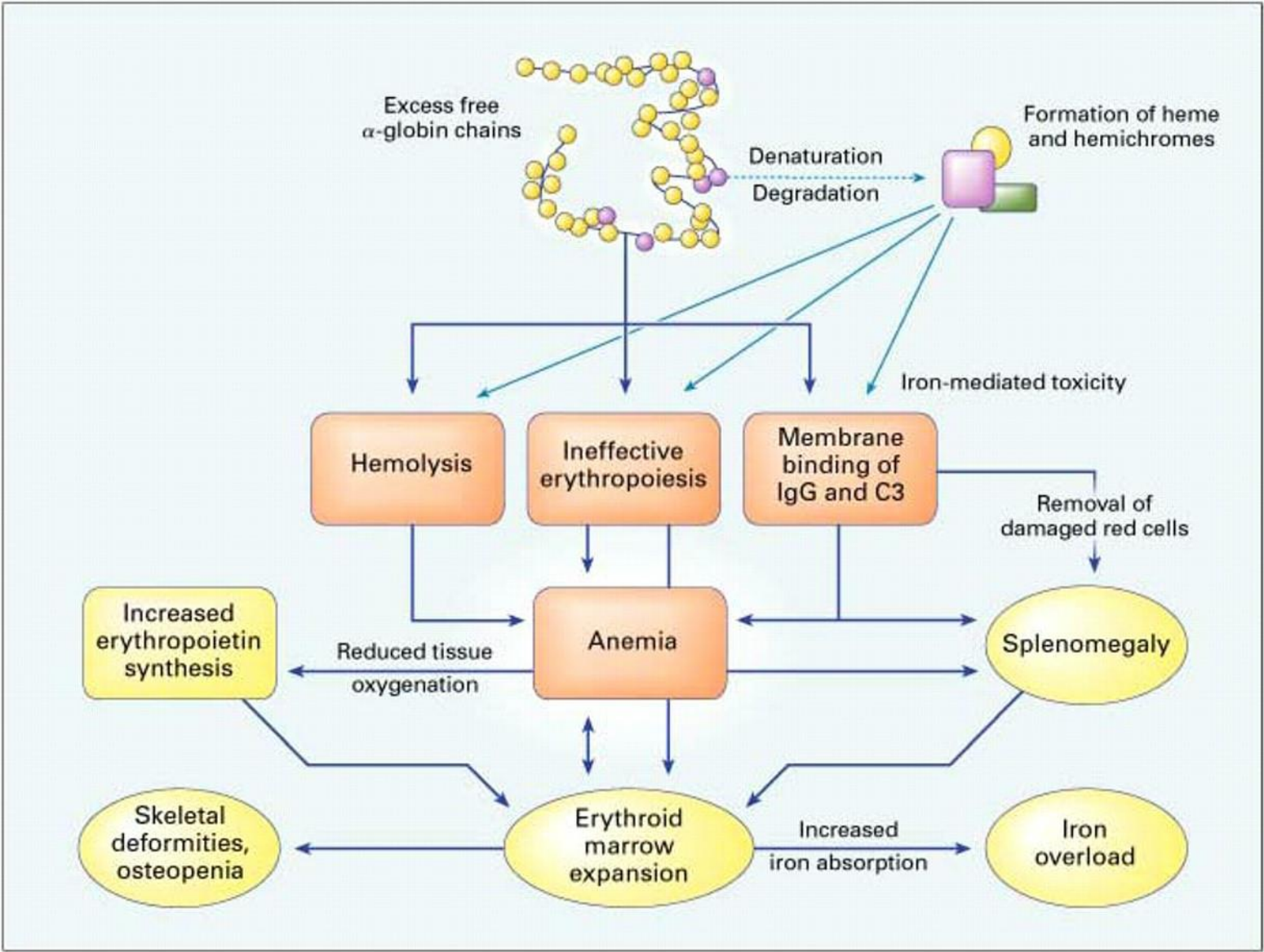
- Circa 200 diverse mutazioni sono state descritte nei pazienti con β -talassemia:
 - singole sostituzioni nucleotidiche;
 - delezioni di interi tratti di genoma.
- Da un punto di vista fenotipico, l'alterazione genetica sottostante può esitare in una ridotta produzione di catene β -globiniche (generalmente indicata come **β^+ -talassemia**) o in una completa assenza delle stesse (**β^0 -talassemia**).
 - Mutazioni a carico del promotore o della regione 5' del gene possono causarne una ridotta espressione o, in alternativa, una completa inattivazione, portando a quadri variabili di β^+ o β^0 -talassemia.
 - Mutazioni che occorrono alla giunzione tra sequenze introniche ed esoniche possono determinare un'alterazione dei meccanismi di *splicing* del mRNA, esitando in forme clinicamente severe di deficit di catene β -globiniche.
 - Mutazioni che interferiscono con il processo di traduzione della catena globinica generalmente producono un fenotipo β^0 : trattasi di mutazioni *frame-shift*, che modificano il quadro di lettura del gene, o di mutazioni *nonsense*, che causano la produzione di una catena proteica prematuramente troncata, dunque non funzionante.

GENETICA (2)



- Le alterazioni fisiopatologiche che si osservano nel paziente con β -talassemia sono secondarie all'**eccesso di catene α libere** all'interno dei precursori eritroidi.
 - **Emolisi.** La precipitazione delle catene α , assieme alla presenza dei loro prodotti di degradazione, determina alterazioni della membrana eritrocitaria e del citoscheletro: tali alterazioni portano ad un irrigidimento della struttura del globulo rosso, favorendone l'intrappolamento a livello delle cellule del sistema monocito-macrofagico midollare e splenico.
 - **Eritropoiesi inefficace.** Le catene α libere interferiscono inoltre con la normale eritropoiesi, sia determinando la morte endomidollare dei precursori eritroidi attraverso l'arresto nella fase G_1 del ciclo cellulare, sia inducendo la morte cellulare programmata delle cellule eritroblastiche più mature.
 - **Iperplasia eritroide.** A scopo compensatorio, si assiste ad un importante incremento della sintesi di eritropoietina, cui fa seguito un'esasperata espansione del midollo emopoietico, fino a 30 volte il normale. Come conseguenza di ciò, possono comparire isole di tessuto emopoietico extramidollare (a livello splenico ed epatico, ma anche nel torace e in sede paraspinale), e si assiste alla comparsa di deformazioni scheletriche a livello del cranio e del volto, associate a deficit di mineralizzazione del tessuto osseo (osteopenia, osteomalacia, microfratture).
 - **Emosiderosi.** L'aumento dell'eritropoiesi determina un secondario aumento dell'assorbimento di ferro, con conseguente sovraccarico marziale tissutale (peggiorato dal trattamento trasfusionale cronico cui i pazienti talassemici devono sottoporsi).

FISIOPATOLOGIA



QUADRI CLINICI

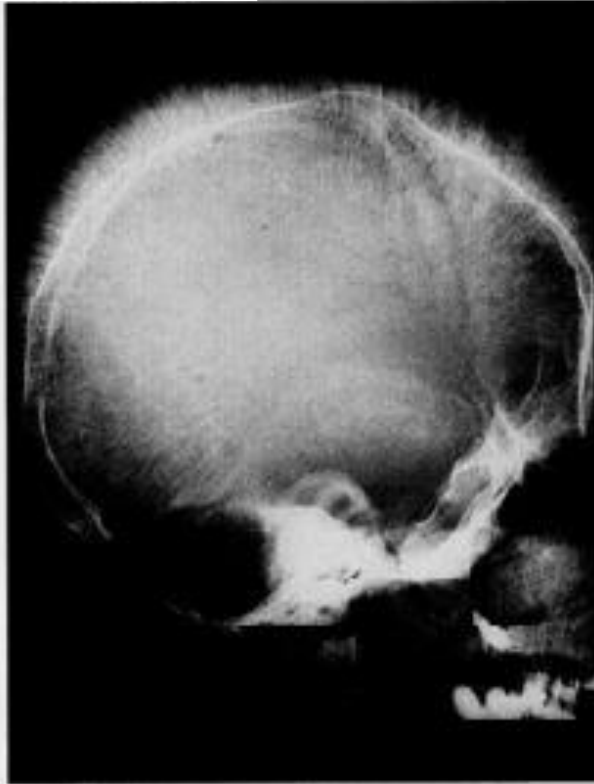
	Genotipo	HbA	HbA ₂	HbF	Altro
Talassemia trasfusione-dipendente (<i>β</i> -talassemia <i>maior</i>)	β^0/β^0	0	↑	↑	
	β^+/β^+	↓↓	↑	↑	
	β^0/β^+	↓↓	↑	↑	
	$\delta\beta/\delta\beta$	0	0	↑	Hb Lepore
	$\delta\beta$ -tal. omozigote	0	0	↑	
Talassemia non- trasfusione-dipendente (<i>β</i> -talassemia <i>intermedia</i>)	β^+/β^+	↓	↑	↑	
	β^0/β^0 o β^+/β^+ con persistenza HbF	0	↑	↑↑	
	$\delta\beta$ -tal. eterozigote	↓	=	↑	
	Concomitante α -tal.	↓	↑	↑	↓ catene α libere
<i>β</i> -talassemia <i>minor</i> (<i>trait β</i> -talassemico)	β^0/β	↓ =	↑	↑ =	
	β^+/β	↓ =	↑	↑ =	
	$\delta\beta/\beta$	↓	=	↑	Hb Lepore

MORBO DI COOLEY

- Alla nascita, il bambino con β -talassemia eterozigote generalmente non è anemico, in quanto protetto dalla significativa concentrazione di emoglobina fetale ancora presente.
- La malattia diviene manifesta durante i successivi sei mesi di vita, allorquando la sintesi di emoglobina fetale tende a diminuire; la diagnosi è di fatto manifesta entro i due anni di vita.
- I caratteri clinici di presentazione sono generalmente il pallore della cute e delle mucose, l'irritabilità, il ritardo di crescita, l'ittero (da emolisi) e il gonfiore addominale, secondario all'epato-splenomegalia. Le caratteristiche alterazioni del cranio e del volto tendono ad appalesarsi più tardi.
- I pazienti non trattati muoiono durante l'infanzia a seguito dell'anemia; approssimativamente, l'80% di essi muore entro i primi cinque anni di vita.
- I pazienti sottoposti a trasfusioni croniche, ma comunque sottotrattati, hanno generalmente una sopravvivenza più lunga, fino a circa 20 anni.
- La principale causa di morte è lo scompenso cardiaco congestizio, secondario all'anemia cronica e al sovraccarico di ferro.

- **Alterazioni scheletriche:** sono la diretta conseguenza dell'espansione del comparto emopoietico, a spese del tessuto osseo che lo circonda.
 - Le alterazioni più evidenti sono a livello del cranio, con ispessimento degli spazi diploici neurocranici e apposizione di trabecole ossee perpendicolarmente al piano diploico stesso (caratteristica morfologia di “cranio a spazzola” alla radiografia standard), prominente delle bozze frontali, marcata iperplasia della mascella, con conseguente malocclusione dentaria e sporgenza degli incisivi superiori (*facies talassemica*).
 - Altre alterazioni scheletriche sono riscontrabili a livello delle ossa di carpo, metacarpo, tarso, metatarso e falangi, che divengono rettangolari e convesse, in ragione dell'espansione della cavità midollare; si osserva inoltre un'irregolare fusione dell'epifisi omerale prossimale ed un aumento in spessore delle coste, specie a livello delle articolazioni costo-vertebrali, dove masse paravertebrali di tessuto emopoietico ectopico possono determinare fenomeni compressivi sul midollo spinale.
- **Alterazioni endocrine.**
 - Il ritardo di crescita risulta correlato sia alle deformità ossee sia ad una inibizione della funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisario da sovraccarico marziale.
 - Lo *spur* puberale tende ad essere assente; il menarca è ritardato, e in alcuni casi è presente un'amenorrea primaria e secondaria. I caratteri sessuali secondari tendono ad essere poco rappresentati in entrambi i sessi.
 - I pazienti che sopravvivono all'adolescenza tendono a mostrare alterazioni del metabolismo dei carboidrati, con comparsa di insulino-resistenza che evolve verso il diabete mellito conclamato nel 6-8% dei casi, prevalentemente in pazienti con concomitante insufficienza epatica. Ipotiroidismo e ipoparatiroidismo subclinici possono essere riscontrati laboratoristicamente nel 10-15% dei pazienti con morbo di Cooley.

MORBO DI COOLEY



Emosiderosi tissutale.

- Il sovraccarico di ferro, secondario all'emolisi cronica e al trattamento trasfusionale, si esplica dapprima con un infarcimento del tessuto epatico (emosiderosi epatica), quindi con la comparsa progressiva di fibrosi (indotta dal danno tossico esercitato sugli epatociti da parte dei radicali liberi dell'ossigeno, la cui produzione è catalizzata dalla presenza di ioni ferro), fino alla cirrosi epatica e all'insufficienza conclamata.
- Le alterazioni dell'anatomia e della funzionalità cardiaca rappresentano la principale causa di morbilità e mortalità nei pazienti con β -talassemia *major*.
 - Quasi la totalità dei pazienti presenta un ingrandimento delle camere cardiache come conseguenza dell'anemia, in associazione ad emosiderosi cardiaca ed insorgenza di aritmie.
 - Il quadro fisiopatologico è quello dello scompenso sinistro, con dispnea ed ortopnea; lo scompenso congestizio destro tende ad essere più raro, prevalentemente nei pazienti più anziani, caratterizzandosi per fegato da stasi ed edemi periferici.
 - Un quadro acuto di miocardite, secondario all'emosiderosi, può essere osservato in associazione al quadro clinico dello scompenso. In assenza di terapia ferrochelante, le alterazioni miocardiche evolvono rapidamente verso lo scompenso cardiaco, con sopravvivenza a 5 anni dall'insorgenza del quadro di scompenso del 48%.

β -TALASSEMIA *NON-TRASFUSIONE-DIPENDENTE*

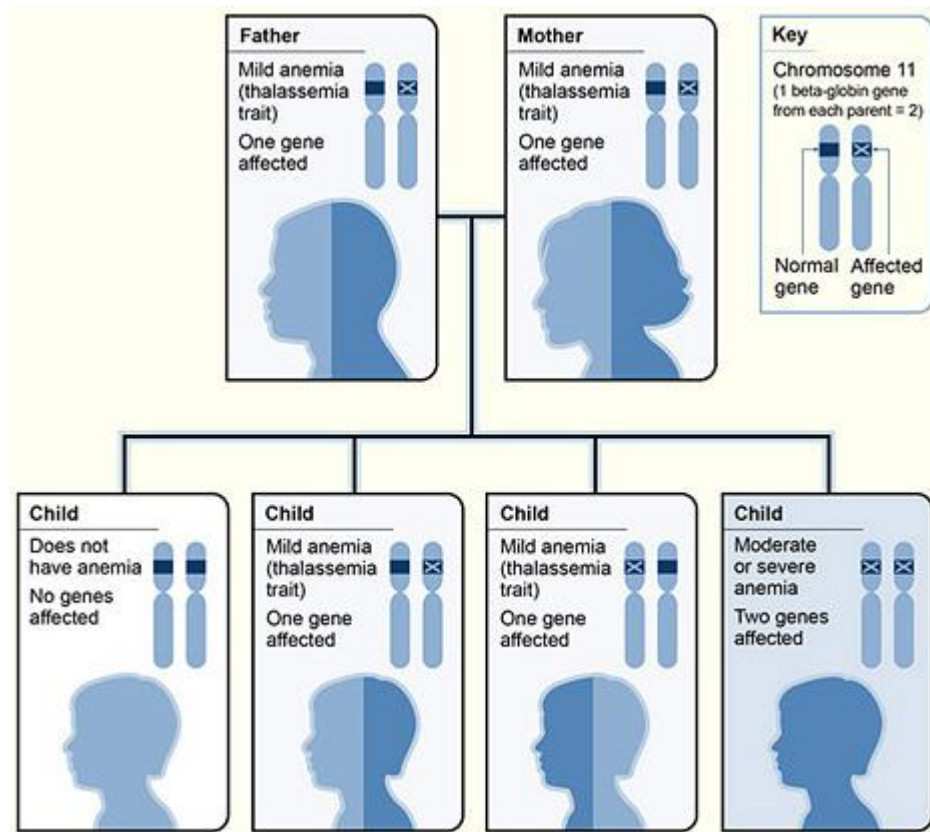
- Il quadro clinico è meno severo rispetto alla controparte omozigote, sia per la presenza di una certa quota di catene β -globiniche funzionanti, sia per la minore concentrazione relativa di catene α libere, sia infine per la discreta compensazione funzionale esercitata dall'emoglobina fetale.
- Il quadro clinico è assai eterogeneo:
 - forme asintomatiche o paucisintomatiche (anche a fronte di livelli di emoglobina particolarmente ridotti): assenza di alterazioni scheletriche, cardiache, dell'accrescimento ed endocrino-metaboliche, in associazione a tassi di sopravvivenza non significativamente compromessi;
 - forme severamente patologiche, caratterizzate dalle alterazioni facio-scheletriche, dal ritardo di crescita, dalla disfunzione cardiaca, dall'insufficienza epatica e dalla splenomegalia tipiche del quadro omozigote, con ovvie ripercussioni sulla qualità di vita del paziente e sulla sopravvivenza.
- La diagnosi di talassemia *intermedia* è prevalentemente clinica, corroborata dal dato laboratoristico che fa riferimento alla necessità più o meno stringente di supporto trasfusionale: la capacità di mantenere livelli emoglobinici accettabili per una qualità di vita soddisfacente, a fronte di un carico trasfusionale occasionale è il criterio principale per porre diagnosi di β -talassemia *intermedia*.

β -TALASSEMIA *NON-TRASFUSIONE-DIPENDENTE*

- Anche in assenza di una terapia trasfusionale costante e a lungo termine, alcuni pazienti sviluppano un sovraccarico marziale secondario all'espansione del comparto eritropoietico, con successivo incremento dell'assorbimento del ferro esogeno.
- I fenomeni tromboembolici rappresentano la principale causa di morbidità nei pazienti con talassemia *intermedia* non sottoposti a trattamento trasfusionale cronico, con un'incidenza variabile tra il 10 e il 30%. Trattasi principalmente di eventi ischemici a livello cerebrale, oppure di eventi trombotici venosi profondi (con aumentato rischio di tromboembolismo polmonare) e portalì.
- In alcuni casi, è possibile rivenire la presenza di tessuto emopoietico extramidollare, che si manifesta sotto forma di masse paravertebrali, addominali o toraciche: solo raramente queste masse divengono sintomatiche, causando compressione su radici nervose o su strutture anatomiche adiacenti, e generalmente mostrano una buona risposta al trattamento trasfusionale, riducendosi di dimensioni.

TRATTO β -TALASSEMICO

- È una condizione caratterizzata dalla presenza di anemia lieve, microcitica, ipocromica, o dall'assenza di anemia e di sintomatologia clinica, corrispondente ad un genotipo di eterozigosi semplice per un gene β -talassemico.
- Spesso si riscontra un aumento (compensatorio) del numero degli eritrociti, o un aumento delle resistenze globulari osmotiche.

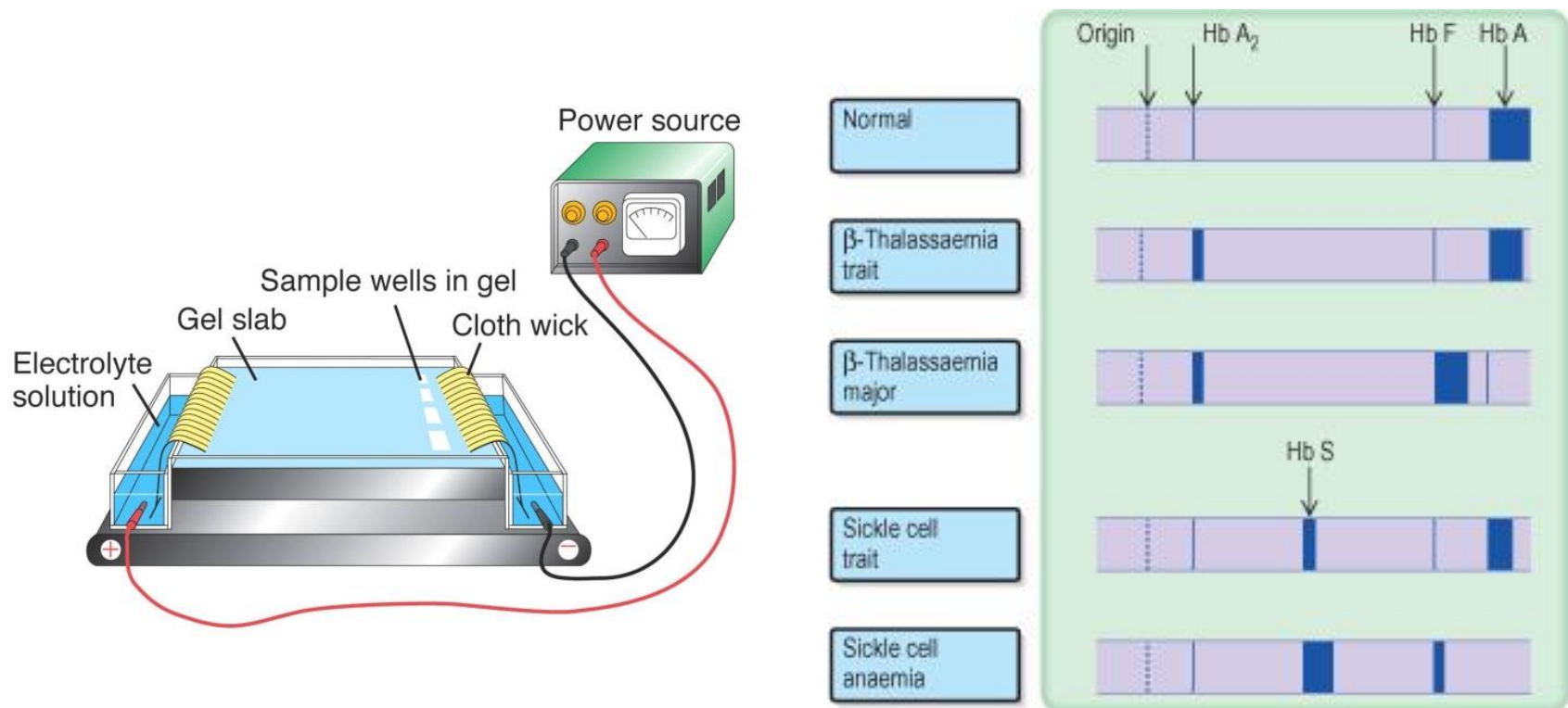


- Il paziente portatore ha una vita perfettamente normale.
- L'importanza della diagnosi di β -talassemia eterozigote è fondamentale eugenetica, in quanto deve consentire al portatore di essere informato che la sua unione con un individuo β -talassemico eterozigote può esitare nel concepimento – nel 25% dei casi – di un individuo severamente anemico, affetto da morbo di Cooley.

LABORATORIO (1)

- L'anemia è cronica e di grado variabile, ipocromica e microcitica (MCV < 75 fL), con concomitanti i caratteri dell'eritropoiesi inefficace e dell'emolisi:
 - anemia severa nel morbo di Cooley (e con tendenza a declinare nel corso del primo mese di vita) e in alcune forme di β -talassemia *intermedia*;
 - anemia lieve (1 o 2 g/dL inferiori rispetto ad individui di pari sesso ed età).
- La morfologia eritrocitaria è quantomai variabile, comprendendo poichilociti, emazie a bersaglio (codociti) e dacriociti, espressione dell'emopoiesi extramidollare. Sono inoltre presenti eritrociti ripiegati (leptociti), contenenti corpi inclusi di forma irregolare, rappresentati da precipitati di catene a in eccesso. Spesso possono essere riscontrate in circolo cellule eritroidi nucleate.
- I valori di reticolociti in circolo sono variabili: ridotti nel morbo di Cooley, in relazione all'elevata quota di eritropoiesi inefficace; normali o lievemente aumentati nella β -talassemia *intermedia* e nel tratto talassemico, in ragione di modeste quote di emolisi extravascolare.
- Una completa valutazione dell'assetto marziale del paziente è necessario per correttamente diagnosticare il tratto talassemico, differenziandolo dalla carenza di ferro manifesta.

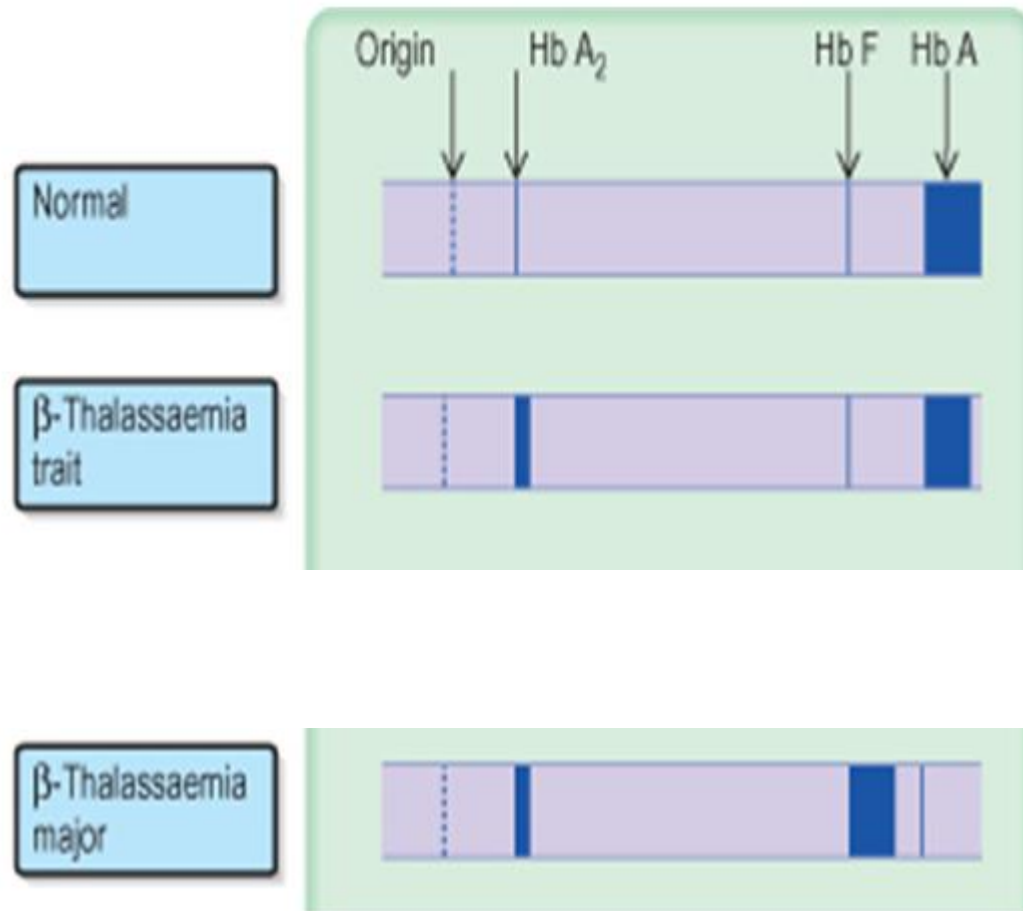
ELETTROFORESI DELL'EMOGLOBINA



SEPARAZIONE ELETTROFORETICA DELLE PRINCIPALI EMOGLOBINOPATIE

	origine → 					
Gruppo	C	S	G	A	J	H
Mobilità	↓ più lenta di S	lenta	più lenta di A	–	più veloce di A	la più veloce
Hb marker	HbA ₂	HbS	HbG	HbA	HbJ	HbH
Principali Hb	C, A ₂ , E	S, D	G, L	F, A	J, Norfolk	H. Bart's

ELETTROFORESI DELL'EMOGLOBINA



- Nei pazienti con tratto β -talassemico, i livelli di emoglobina fetale sono persistentemente elevati durante il primo anno di vita, con lento declino nel periodo successivo; si associa un incremento della concentrazione di emoglobina A₂ già a partire dal sesto mese di vita (5,1%, approssimativamente il doppio delle normali concentrazioni, con un rapporto HbA₂/HbA di 1:20 invece che 1:40, come risulta nei controlli sani).
- Nel morbo di Cooley, manca del tutto la produzione di emoglobina adulta ($\alpha_2\beta_2$, o HbA), a fronte di una predominanza di emoglobina fetale e di valori assai variabili di emoglobina A₂ ($\alpha_2\delta_2$).

TERAPIA TRASFUSIONALE



- Un regime trasfusionale intenso, volto a mantenere concentrazioni emoglobiniche superiori ai 9 g/dL, consente il normale sviluppo somatico del bambino talassemico, riducendo l'espansione dell'eritropoiesi e lo sviluppo di organomegalia, attenuando le alterazioni del cranio e del sistema scheletrico.
- Regimi trasfusionali più intensi, volti a mantenere concentrazioni di emoglobina superiori a 12 g/dL, dovrebbero essere riservati soltanto a pazienti incapaci di tollerare concentrazioni di emoglobina inferiori.
- L'inizio della terapia trasfusionale deve essere preso in considerazione in funzione delle condizioni cliniche del paziente e in funzione della tolleranza dell'anemia.
- Problematiche collaterali:
 - sovraccarico marziale;
 - alloimmunizzazione post-trasfusionale.

TERAPIA FERROCHELANTE



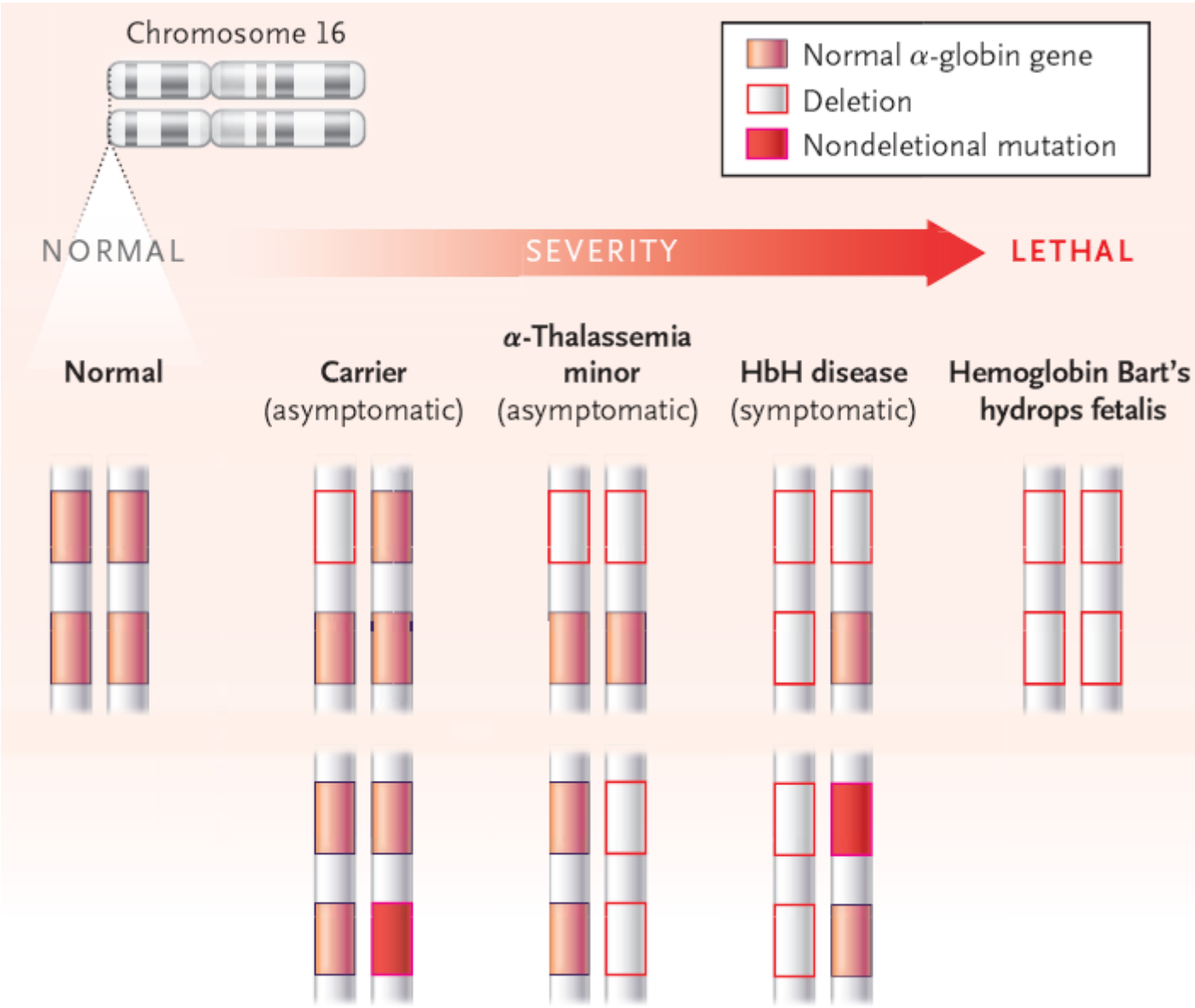
- La terapia ferrochelante risulta attualmente l'unico mezzo in grado di rimuovere il ferro in eccesso nel paziente trasfusione-dipendente:
 - consente un normale sviluppo somatico e puberale nei bambini β -talassemici sottoposti a terapia trasfusionale inoltre;
 - riduce l'accumulo di ferro a livello epatico, mantenendolo a livelli compatibili con la normalità e rallentando la fibrosi e la cirrosi;
 - migliora la funzionalità del miocardio, riducendo il ferro in eccesso, fino a far regredire il quadro dello scompenso cardiaco (deferiprone).

Compound		DFO	DFP	DFX
Molecular weight, Da	657	139	373	
Chelating properties	Hexadentate	Bidentate	Tridentate	
Recommended dose	30-60 mg/kg	75-100 mg/kg	20-40 mg/kg per day	
Delivery	Subcutaneous or intravenous 8-12 h, 5-7 d/wk	Oral 3 times daily	Oral once daily	
Half-life	8-10 min	1.5-4 h	12-18 h	
Excretion	40%-60% fecal	90% urinary	90% fecal	
Adverse effects	Ocular, auditory toxicity, growth retardation, local reactions, allergy	Gastrointestinal upset, arthralgia, neutropenia, agranulocytosis	Gastrointestinal upset, rash, ocular, auditory toxicity, reversible increases in creatinine, hepatitis	

α -TALASSEMIE

- Le α -talassemie sono malattie difficili da diagnosticare, in quanto le alterazioni nelle concentrazioni di emoglobina fetale e di emoglobina A₂ caratteristicamente presenti nelle sindromi β -talasemiche non sono riscontrabili in questo contesto.
- La biologia molecolare è l'unico mezzo attraverso il quale è possibile repertare il deficit genico che sottostà alla patologia, che generalmente consiste in una delezione genica.
- Geograficamente, trattasi di condizioni che interessano prevalentemente individui di etnia afro-americana ed asiatici, segnatamente Cinesi, Cambogiani, Tailandesi e Filippini.
- In considerazione dei flussi migratori, si tratta di una patologia emergente anche nel continente europeo.

GENETICA



MALATTIA DA EMOGLOBINA H

- Risulta dalla compresenza di una *cis* α^0 -talassemia e di una α^+ -talassemia, con una produzione di catene α -globiniche al 25-30% del normale.
- Eccessi di catene γ tendono ad accumularsi durante la gestazione (emoglobina Bart), e durante la vita adulta tendono a formarsi tetrametri di catene β -globiniche (emoglobina H), dimostrabili elettroforeticamente come componente **a rapida migrazione**, che rende ragione del 3-30% dell'emoglobina totale.
- L'emoglobina H, rispetto ai tetrametri di catene α riscontrati nel morbo di Cooley, tende ad essere maggiormente solubile, precipitando **molto lentamente** nel citoplasma delle emazie circolanti, andando a formare rari corpi inclusi.
 - Ciò determina un quadro di **anemia emolitica**, con segni di eritropoiesi inefficace lievi o del tutto assenti.
 - L'anemia è variabile, ma è generalmente **moderato-severa**, sovrapponibile a quanto si osserva nella β -talassemia intermedia, con alterazioni ossee secondarie all'espansione del comparto eritroide e splenomegalia da emopoiesi extramidollare.
 - In alcuni casi, tuttavia, il quadro clinico complessivo può essere assai sfumato, mentre in altri, al contrario, può svilupparsi in gradi differenti un'idrope fetale.
 - L'anemia può esacerbarsi e divenire importante durante le manifestazioni febbrili, eventualmente associandosi ad **ittero**.

IDROPE FETALE DI BART

- È una condizione caratterizzata dalla completa assenza di produzione di catene α -globiniche, a fronte di un'omozigosi per la delezione *cis* α^0 -talassemica:
 - non è possibile la formazione di tetrametri di catene globiniche durante lo sviluppo fetale, una volta cessata la produzione di catene ζ ;
 - catene libere γ , normalmente prodotte, tendono ad aggregarsi formando tetrameri (γ_4), che vanno a costituire la cosiddetta **emoglobina Bart**.
- L'emoglobina Bart ha un'elevata affinità per l'ossigeno, per cui lo lega in grandi concentrazioni a livello del sangue placentare, ma risulta del tutto incapace di cederlo ai tessuti fetali in via di formazione ed accrescimento: ne consegue uno stato di estrema **ipossia tessutale**, cui fa seguito lo sviluppo di edema (idrope), di ipoalbuminemia da esasperata emopoiesi epatica e di scompenso cardiaco congestizio, con morte *in utero* nella maggior parte dei casi.
- I feti che sopravvivono sono marcatamente anemici (con concentrazioni di emoglobina tuttavia variabili tra i 3 e i 10 g/dL), pletorici, organomegalici; le emazie sono marcatamente microcitiche ed ipocromiche; è presente anisopoichilocitosi. All'elettroforesi dell'emoglobina, viene riscontrata la presenza di emoglobina Bart, in associazione a piccole quote di emoglobina H ed emoglobina Portland ($\zeta_2\gamma_2$). Del tutto assenti, per mancanza di catene α -globiniche, l'emoglobina fetale e l'emoglobina A₂.

FORME ASINTOMATICHE

- **Tratto α^+ -talassemico.** È correlata alla delezione di un gene globinico su quattro.
 - È assai frequente negli individui di razza africana, con prevalenza fino al 20-30% in certe popolazioni. Individui con difetto α^+ che si uniscono con individui con difetto α^0 hanno un aumentato rischio di generare una prole con tre geni globinici deleti.
 - Non si ravvisano alterazioni laboratoristiche significative: non compare anemia, non si hanno modificazioni del volume cellulare medio e non variano le concentrazioni relative delle emoglobine F e A₂. Alla nascita, può essere rilevata elettroforeticamente una percentuale di emoglobina Bart (tetrametri γ_4) inferiore o pari al 3%; nell'età adulta, tuttavia, non si riscontra un eccesso di catene β , in quanto eliminate per proteolisi.
- **Tratto α^0 -talassemico.** Risulta dalla delezione – o dalla non funzione – di due geni globinici su quattro. La delezione di entrambi i geni sullo stesso cromosoma (delezione *cis*) è la forma più frequente nelle popolazioni mediterranee ed asiatiche, ma può essere osservata anche la delezione di un gene su ciascun allele, condizione nota come omozigosi α^+ -talassemica o delezione *trans*, segnatamente nelle popolazioni afroamericane.
 - In entrambe le condizioni, è presente una lieve anemia, ipocromica e microcitica, generalmente asintomatica. Durante la vita fetale, è possibile rinvenire una concentrazione di emoglobina Bart tra il 3 e l'8%, che rapidamente scompare dopo la nascita.
 - Nella vita adulta non si reperta un eccesso di catene β , in quanto rapidamente eliminate per via proteolitica. Inclusi di emoglobina H possono essere riscontrati tuttavia nell'1% circa degli eritroblasti.