

## GENETICA

Lezione 19 - 12/5

## PRINCIPALI DISORDINI MONOGENICI

Sono disordini che seguono la trasmissione di tipo mendeliano. Le malattie monogeniche derivano da modificazioni di un singolo gene. Le caratteristiche della malattia, cioè il fenotipo che si osserva nei pazienti, dipendono dalle funzioni svolte dal gene alterato. Tuttavia, poiché tale alterazione è presente in tutte le cellule del corpo, la sintomatologia può essere a volte complessa e sistemica.

Si stima che oltre 16 mila malattie ereditarie umane siano monogeniche. Sebbene singolarmente relativamente rare, milioni di persone sono affette da malattie genetiche monogeniche.

Con l'eccezione delle malattie mitocondriali, le malattie monogeniche ereditarie sono trasmesse attraverso geni presenti nel DNA nucleare.

La trasmissione può essere:

- Autosimica dominante
- Autosimica recessiva
- X-linked dominante
- X-linked recessiva

Frequenti disordini monogenici:

- |   |   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <u>Disordini Neurologici</u></li> <li>➢ <b>Malattia di Huntington (HD)</b></li> <li>➢ <b>Sindrome del X-Fragile</b></li> <li>▪ <u>Atassie ereditarie</u></li> <li>➢ Atassia spinocerebellare (SCA)</li> <li>➢ Atassia di Friedreich (FRDA)</li> <li>▪ <u>Neuropatie Periferiche</u></li> <li>➢ <b>Charcot-Marie-Tooth disease</b></li> <li>▪ <u>Malattia del Moto Neurone</u></li> <li>➢ Sclerosi laterale amiotrofica (ALS)</li> <li>▪ <u>Disordini Neurocutanei</u></li> <li>➢ Neurofibromatosi 1 e 2</li> <li>▪ <u>Distrofie Muscolari</u></li> <li>➢ <b>Distrofia muscolare di Duchenne (DMD)</b></li> <li>➢ <b>Distrofia muscolare di Becker (BMD)</b></li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <u>Malattie Cardiache ereditarie</u></li> <li>➢ Aritmie (sindrome da Long QT)</li> <li>➢ Cardiomiopatie (Ipertrofiche, Dilatative)</li> <li>▪ <u>Disordini del Tessuto Connettivo</u></li> <li>➢ Sindrome di Marfan (MFS)</li> <li>▪ <u>Disordini Respiratori</u></li> <li>➢ <b>Fibrosi cistica (CF)</b></li> <li>➢ Deficienza da Alpha-1 anti-tripsina (AATD)</li> <li>▪ <u>Malattie Renali</u></li> <li>➢ <b>Rene policistico</b></li> <li>▪ <u>Malattie del sangue</u></li> <li>➢ <b>Talassemia</b></li> <li>➢ Anemia falciforme</li> <li>➢ Eritrocromatosi</li> <li>➢ <b>Emofilia</b></li> </ul> |
|---|---|

## EMOGLOBINOPATIE

Le emoglobinopatie (talassemia alpha, beta ed anemia falciforme) sono malattie genetiche ereditarie che colpiscono i geni codificanti per le subunità dell'emoglobina, che è la principale proteina degli eritrociti.

L'emoglobina è molecola indispensabile per portare ossigeno dai polmoni ai tessuti e, viceversa, portare la CO<sub>2</sub> dai tessuti ai polmoni per essere eliminata.

Esistono svariati gradi di severità delle emoglobinopatie, a seconda del gene colpito e del tipo di mutazione.

Una molecola di emoglobina è costituita da subunità comunemente denominate alfa e beta (2 alfa e 2 beta). Entrambe sono necessarie per legare l'ossigeno nei polmoni e trasportarlo ai tessuti di tutti gli organi del corpo. La mancanza di una particolare subunità determina il tipo di talassemia: alfa o beta a seconda della catena che è mancante nella Hb matura.

Quali sono i geni che codificano per queste subunità? Esiste un locus che codifica per le subunità alpha che sono sul cromosoma 16. Geni codificanti per le subunità beta sono sul cromosoma 11.

Entrambi i loci sono complessi e contengono più geni codificanti per subunità di tipo alpha o beta, nonché alcuni pseudogeni non funzionanti. La loro espressione è finemente regolata durante lo sviluppo embrio-fetale-adulto e i diversi geni vengono espressi in maniera coordinata durante questo periodo dall'embrione fino all'adulto.

Per un breve periodo, fino a 4-6 settimane, l'embrione esprime la emoglobina embrionale, costituita dalle subunità zepsilon, alfa-epsilon, z-gamma. Dalle 4 settimane fino a circa 1 anno dopo la nascita è presente emoglobina fetale (HbF), costituita dalle subunità alfa-gamma che

prendono il sopravvento sulle catene beta e gamma. Nell'adulto è prevalente la emoglobina adulta costituita da subunità alfa-beta (HbA al 95-98%) da alfa-delta (HbA<sub>2</sub>, fino al 2-3% ) e da alfa-gamma (HbF, fino al 2,5%). Tutte queste Hb hanno affinità diversa con l'O<sub>2</sub> e con la CO<sub>2</sub>. La espressione è così finemente regolata durante lo sviluppo embrio- fetale per permettere lo scambio di O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> tra la madre ed il feto.

Meccanismo centrale alla base della fisiopatologia delle *talassemie* è da ricondurre agli effetti deleteri della sintesi squilibrata delle catene globiniche alpha o beta sulla maturazione e sopravvivenza delle cellule eritroidi.

Nell'**anemia falciforme**, la base della fisiopatologia è invece da ricondurre a specifiche mutazioni puntiformi (Glu6Val > HbS; Glu6Lys > HbC) che colpiscono la subunità beta e causano la formazione di strutture bastoncellari, che fanno assumere una forma di falce agli eritrociti, da cui il nome.

Nella **talassemia beta**, uno squilibrio delle catene globiniche porta ad un eccesso di globine a che precipitano, danneggiando strutture di membrana ed accelerando l'apoptosi con eliminazione prematura dei precursori eritrociti (eritropoiesi inefficace). Precipitati di alpha globina sono visibili al microscopio nei precursori eritroidi nel midollo osseo e nei globuli rossi periferici. Sono responsabili per la distruzione intramidollare dei precursori eritroidi che sta alla base delle beta talassemie.

Nella **talassemia alpha**, uno squilibrio delle catene globiniche porta ad un eccesso di globine di tipo beta, con formazione di:

- Quattro  $\gamma$ -globin chains (gamma-4): Hemoglobin Bart (Hb Bart)
- Quattro  $\beta$ -globin chains ( $\beta_4$ ): Hemoglobin H (Hb H)  
Anch'essi formano precipitati. Sono scarsamente efficaci nello scambio O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>.

#### *Talassemia: caratteristiche*

I globuli rossi normali vivono circa 120 giorni nel flusso sanguigno. Tuttavia, per la ridotta produzione di emoglobina in caso di talassemia, che per la ridotta vitalità dei globuli rossi falciformi, che muoiono dopo circa 10-20 giorni, in caso di anemia falciforme.

Gli individui affetti presentano gradazioni variabili di:

- Anemia, che è causa di aspetto pallido e sensazione di stanchezza
- Problemi di sviluppo osseo nei bambini

Tutti i sintomi della talassemia derivano dalla scarsa o assente produzione di emoglobina attiva.

Da ciò lo scarso sviluppo degli eritrociti e la conseguente anemia. Le frequenti e periodiche trasfusioni di sangue sono esse stesse causa di ulteriori eventi patologici per il possibile accumulo di ferro in svariati organi.

Le forme gravi di alpha talassemia colpiscono l'affetto già nel periodo fetale, dove la catena alpha dovrebbe essere già prodotta.

Le forme gravi di beta talassemia colpiscono invece i bambini dopo la nascita quando dovrebbe iniziare la produzione di catena beta.

#### *Anemia falciforme: caratteristiche*

L'anemia falciforme, anche denominata malattia da emoglobina S (Hb S) o in inglese Sickle cell anemia o disease (SCD), è dovuta a mutazioni della catena beta di emoglobina che causano cambi forma nell'eritrocita. I globuli rossi falciformi non possono passare attraverso piccoli vasi sanguigni e quindi si accumulano e causano blocchi, privando così organi e tessuti importanti di sangue e dell'ossigeno trasportato.

#### *Talassemia: prevalenza ed epidemiologia*

Le emoglobinopatie sono le più comuni patologie ereditarie a singolo gene al mondo. La prevalenza di casi è variabile nelle diverse popolazioni: risulta più alta nelle aree in cui la malaria era o è ancora endemica.

La malaria è causata da *plasmodium falciparum* ed è trasmessa dalla zanzara *anopheles*. L'infezione da malaria si sviluppa attraverso due fasi:

1. nel fegato (fase esoeritrocitica);
2. nei globuli rossi (fase eritrocitica).

All'interno dei globuli rossi, i parassiti si moltiplicano e periodicamente prorompono per invadere altri globuli rossi ed altri tessuti e organi. Si verificano diversi cicli di amplificazione: le classiche descrizioni di ondate febbrili derivano dalle concomitanti ondate di emissione di

parassiti. Malattie genetiche, quali talassemie ed anemia falciforme forniscono un certo grado di resistenza alla malaria, creando un ambiente non ideale per la crescita del parassita. Trattandosi tuttavia di malattie gravi in condizioni di omozigosi (o eterozigosi composta), la ragione di tale distribuzione geografica ha suggerito l'esistenza di un vantaggio per gli individui eterozigoti. In un portatore eterozigote, l'eritrocita costituisce un microambiente non ideale per la riproduzione del Plasmodium della malaria. Storicamente, ciò ha conferito un vantaggio per l'eterozigote HbS rispetto agli individui normali. Ciò ha determinato un migliore adattamento e diffusione di eterozigoti di talassemia e anemia falciforme nelle aree geografiche che sono o sono state endemiche per la malaria.

#### *Emoglobinopatie: prevalenza ed epidemiologia*

- Alpha talassemia: migliaia di bambini con sindrome di Hb Bart o HbH nascono ogni anno, in particolare nel sud-est asiatico.
- La beta talassemia è più frequente nei paesi del Mediterraneo, Nord Africa, Medio Oriente, India, Asia centrale e Sud-Est asiatico.
- La anemia falciforme colpisce milioni di persone in tutto il mondo. HbS è comune tra le persone i cui antenati vengono dall'Africa.

### **ALFA TALASSEMIA**

L'alfa talassemia è classificata in due tipi a seconda della gravità dei sintomi:

1. alfa talassemia major (nota anche come Hb Barts syndrome), la più grave;
2. talassemia HbH, meno grave

La Hb Barts syndrome è caratterizzata da:

- idrope fetale, una condizione in cui si accumula liquido in eccesso prima della nascita.
- grave anemia
- fegato e milza ingrossati
- difetti cardiaci,
- anomalie del sistema urinario o dei genitali.

A causa di questi gravi problemi di salute, la maggior parte dei bambini nascono morti o muoiono poco dopo la nascita. La sindrome di Hb Bart può anche causare complicazioni alle donne in gravidanza.

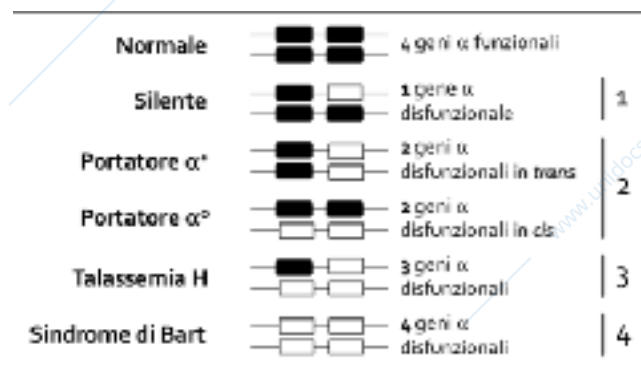
La talassemia HbH è caratterizzata da:

- anemia da lieve a moderata,
- epatosplenomegalia,
- ingiallimento degli occhi e della pelle (ittero).
- Alcuni soggetti affetti presentano anche alterazioni ossee, con mascella e fronte insolitamente prominente.

Le caratteristiche della malattia da HbH di solito compaiono nella prima infanzia. Le persone colpite in genere vivono fino all'età adulta.

Quali sono le alterazioni genetiche che colpiscono gli individui che hanno talassemia alpha?

Come visto in precedenza, il locus globinico alfa include due geni codificanti per le subunità alfa:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  che sono attive e codificano per le catene presenti sia durante il periodo fetale che nell'adulto. Le alterazioni molecolari in alfa talassemia sono generalmente delezioni che colpiscono uno o più dei geni  $\alpha$  duplicati, meno frequenti sono mutazioni puntiformi. Abbiamo perciò una varietà di quadri molecolari. Si possono infatti riconoscere quattro quadri molecolari associati a condizioni cliniche di diversa gravità, che ci fanno comprendere la correlazione esistente tra genotipo e fenotipo. :



Due sono gli stati di portatori con fenotipo assente o minore:

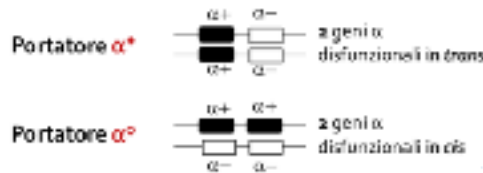
- alfa talassemia silente: causato dalla delezione o disfunzione di uno dei quattro geni alfa-globinici.
- Portatore di alfa<sup>0</sup> o alfa<sup>+</sup> talassemia: derivante dalla delezione o disfunzione di due geni alfa in cis o in trans, rispettivamente.

Due forme clinicamente rilevanti:

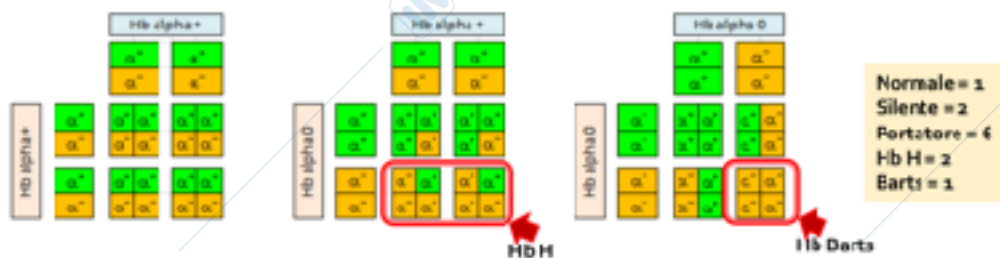
- La malattia di HbH (talassemia H): solo un gene alfa funzionante
- La sindrome di Hb Barts: hydrops fetalis (nessun gene alfa funzionante)

Phenotype	alpha genes	Hb A (α2/β2)	Hb Barts (γ4)	Hb H (β4)	Anemia	MCV	Clinical features
Normal	αα/αα	97-98%	0	0	none	normal	Normal
Silent carrier	-α/αα	96-98%	0-2%	0	none	microcitemia	Asymptomatic
Minor	--/αα αα/α-	88-93%	2-8%	2%	mild	microcitemia	Asymptomatic
Hb H disease	--/--	60-90%	3-5%	5-10%	moderate	microcitemia	Moderate to severe anemia
Major (Barts disease)	--/--	0%	90%	10%	fatal	microcitemia	Hydrops fetalis

Tutte le forme di talassemia presentano una trasmissione autosomica recessiva (AR). La α-talassemia, pur mantenendo una trasmissione AR, presenta peculiarità essendo associata a due geni globinici disfunzionali, α1 e α2, anzichè uno. Nella talassemia alpha, la variabilità clinica e l'aumento della gravità dei sintomi sono direttamente correlati alla riduzione dell' espressione dei due geni per α-globina (una, due, tre o quattro copie). Inoltre, la capacità di trasmettere la malattia varia a seconda del genotipo. Ci sono due principali portatori che possono trasmettere la malattia:



- 2 portatori alfa<sup>+</sup> : ogni allele è un alpha<sup>+</sup> e un alpha<sup>-</sup> → tutta la progenie sarà costituita da alpha<sup>+</sup> e alpha<sup>-</sup> e quindi saranno tutti dei portatori di tipo alpha<sup>+</sup>. (foto1)
- Incrocio un alpha<sup>+</sup> con un alpha<sup>0</sup> (foto 2)
- Incrocio di due alpha<sup>0</sup>



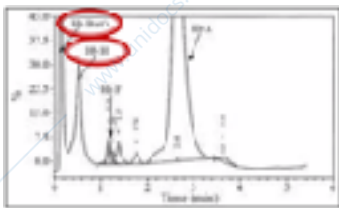
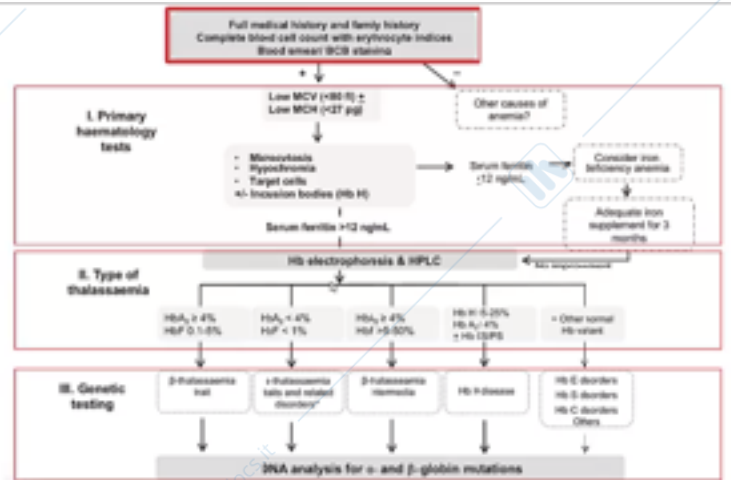
Anche se gli individui  $Hb\ \alpha^+$  o  $Hb\ \alpha^0$  hanno entrambi due geni funzionanti, la loro capacità di trasmettere la malattia è diversa:  $Hb\ \alpha^0$ , non  $Hb\ \alpha^+$ , è in grado di trasmettere la malattia.

Trasmissione della malattia quando un partner è affetto da Hb H



Diagnosi della talassemia è tipicamente fatta tramite analisi qualitative e quantitative del sangue. Oppure vengono fatte analisi della composizione delle catene globiniche e test genetici.

La prima analisi è di tipo ematologico dove si possono osservare microcitemia, inclusione. Se l'ematologo sospetta talassemia a causa di una storia familiare, la prima analisi che viene fatta è sull'analisi delle globine presenti nel sangue e successivamente si fa un'analisi genetica.

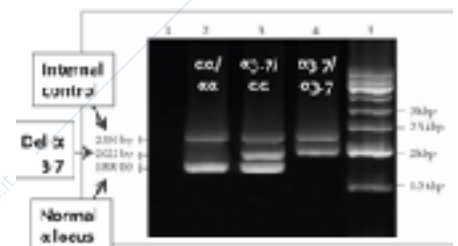


L'analisi qualitativa e quantitativa dell'emoglobina (Hb) identifica la quantità e il tipo di Hb presente. Il genere di Hb nella talassemia  $\alpha$  varia a seconda del tipo di talassemia. I tipi di Hb più rilevanti per l' $\alpha$ -talassemia sono:

- Hemoglobin Barts (Hb Barts): **Four  $\gamma$ -globin chains ( $\gamma_4$ )**
- Hemoglobin H (HbH): **Four  $\beta$ -globin chains ( $\beta_4$ )**

Un'analisi genetica è in grado di evidenziare la presenza o meno di delezioni. Rilevazione dell'alfa talassemia su gel di agarosio dopo PCR multiplex:

- Lane 1: DNA blank;
- Lane 2: controllo normale ( $\alpha\alpha / \alpha\alpha$ ) con una banda di controllo interno LIS1 a 2350 bp e una banda genica  $\alpha 2$ -globina a 1800 bp;
- Lane 3: singolo portatore di delezione del gene della  $\alpha$ -globina ( $-\alpha 3,7 / \alpha\alpha$ ) con una banda di controllo interna, una banda specifica della delezione di 2022 bp e una banda del gene  $\alpha 2$ -globina;
- Lane 4: omozigote individuale per la delezione del gene  $\alpha$ -globina ( $-\alpha 3,7 / -\alpha 3,7$ ) con una banda di controllo interna e una banda specifica per la delezione di 2022 bp;
- Lane 5: marker di peso molecolare da 500 bp

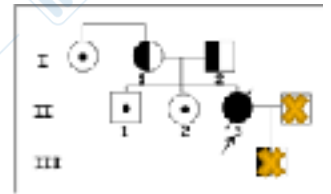


### Terapie

La maggior parte delle persone con malattia da HbH sta clinicamente bene e sopravvive senza alcun trattamento. Richiedono valutazione ematologica ogni 6-12 mesi per determinare i livelli di emoglobina. Occasionalmente possono essere necessarie trasfusioni di globuli rossi se il livello di emoglobina scende. Monitoraggio del carico di ferro con determinazione annuale della concentrazione sierica di ferritina in soggetti che sono stati trasfusi. La terapia di chelazione del ferro può essere necessaria in soggetti con carico di ferro causato da trasfusioni di sangue. Altre eventuali complicazioni, come calcoli biliari o splenomegalia richiedono trattamento chirurgico.

### Counseling genetico

- Genitori di un probando (Generazione I) I genitori di un bambino affetto da sindrome di Bart sono eterozigoti obbligati per il tratto  $\alpha^0$ : una delezione di due geni in cis (- - /  $\alpha\alpha$ ). Si fa nel caso i genitori volessero avere un secondo figlio.
- Fratelli di un probando (Generazione II) Al momento del concepimento, ogni fratello ha una probabilità del 25% di essere affetto, una probabilità del 50% di essere un portatore e una probabilità del 25% di essere non affetto.
- Prole di un probando (Generazione III) La sindrome di Bart non è compatibile con la vita e la procreazione.
- Altri membri della famiglia. (Generazione I) Ogni zio del probando ha un rischio del 50% di essere portatore di una variante  $\alpha$ -talassemica.



Durante la gravidanza è possibile una diagnosi prenatale. Alternativamente è possibile utilizzare approcci di procreazione medicalmente assistita per una diagnosi preimpianto.

### BETA TALASSEMIA

Insorge in soggetti che hanno dei difetti nella produzione della catena beta dell'Hb.

La beta talassemia è classificata in due tipi a seconda della gravità dei sintomi:

1. **talassemia major** (nota anche come morbo di Cooley o anemia mediterranea), la più grave.

I sintomi della talassemia major compaiono entro i primi 2 anni di vita quando si verifica il cambio di Hb > da HbF a HbA. I bambini sviluppano:

- una grave anemia.
- Non crescono al ritmo atteso
- possono avere una milza, un fegato e un cuore ingrossati
- le ossa possono essere deformate.

Gli affetti necessitano di frequenti trasfusioni di sangue, che possono portare a un accumulo di ferro nel corpo, causando ulteriori problemi a milza, fegato e cuore.

2. **talassemia intermedia**, meno grave. I segni e i sintomi della talassemia intermedia compaiono nella prima infanzia o successivamente. Le persone colpite presentano sintomi meno gravi e più sfumati rispetto alla talassemia major:

- anemia da lieve a moderata
- una crescita lenta
- anomalie ossee

Gli affetti raramente hanno bisogno di trasfusioni.

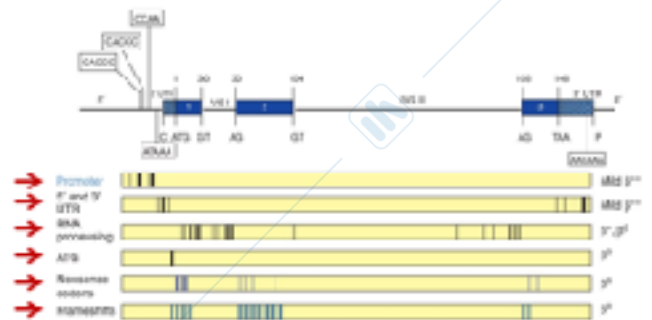
### Alterazioni genetiche della talassemia beta

Sono stati ora caratterizzati quasi 300 alleli  $\beta$ -talassemici. La stragrande maggioranza delle talassemie  $\beta$  è causata da mutazioni che coinvolgono uno, o un numero limitato, di nucleotidi del gene  $\beta$  o le sue immediate regioni fiancheggianti. Ogni mutazione può avere effetti diversi sulla produzione di beta globina. In base agli effetti sulla produzione di beta globina, le mutazioni si suddividono in:

- Beta 0 : si riferisce all'assenza di produzione di beta globina. Quando i pazienti sono omozigoti per un gene della talassemia beta 0 non possono creare normali catene beta. Sono causa di quella che è la talassemia MAJOR
- Beta + : indica una mutazione che presenta una produzione ridotta ma non assente di beta globina. Sono causa di quella che è la talassemia INTERMEDIA.

Svariati tipi di mutazioni che colpiscono il gene della b-globina (HBB) sono responsabili dello sviluppo di beta-talassemia. La maggior parte sono mutazioni puntiformi, ma sono state evidenziate anche delezioni che colpiscono il gene o regioni regolatorie (b-Locus Control Region) o ampie delezioni che coinvolgono molteplici geni. Tipi di mutazioni puntiformi che colpiscono il gene HBB in beta-talassemia. Questo tipo di mutazioni include la maggior parte degli alleli beta-talassemici. Le mutazioni possono:

- essere presenti nel promotore,
- possono colpire la regione 5' o 3'
- Possono colpire e determinare anomalie di splicing e quindi formare mRNA scorretti
- Possono colpire il punto di inizio ATG
- Mutazioni all'interno delle regioni codificanti sono spesso mutazioni nonsense oppure possono anche essere di tipo frameshifts.



In contrast con  $\alpha$ -talassemia, la  $\beta$ -talassemia è raramente causata da delezioni, ad eccezione di:

- un gruppo di delezioni ristrette al gene della  $\beta$ -globin
- un gruppo di ampie delezioni che colpiscono la regione regolatoria  $\beta$ -LCR

#### Come viene trasmessa la beta-talassemia?

Tutte le forme di talassemia presentano una trasmissione autosomica recessiva (AR). Questo significa che da una coppia di portatori vi sarà il 25% della progenie che potrebbe essere affetta, un 25% della progenie del tutto normale e un 50% della progenie risulta portatrice come i genitori. Esistono rare forme di beta-talassemia a trasmissione autosomica dominante (AD).

In Italia la beta-talassemia è la forma di talassemia più frequente. Circa 3 milioni di portatori sani quindi circa 1 ogni 20 individui. Circa 7000 i pazienti talassemici, di cui 2700 in Sicilia e 1100 in Sardegna. Anche Puglia ed il bacino del delta del Po sono regioni con alta prevalenza di soggetti portatori o affetti perché con la presenza delle paludi c'era la presenza della zanzara.

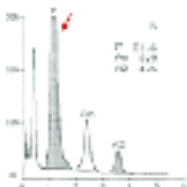
#### Diagnosi: sospetti clinici

Sospetto di beta talassemia major avviene quando un neonato o bambino di età inferiore ai due anni presenta le seguenti caratteristiche cliniche:

- Grave anemia microcitica
- Lieve ittero
- Epatosplenomegalia (fegato e milza più grandi)

Se non curati, i bambini affetti non crescono e presentano espansione del midollo osseo per compensare l'eritropoiesi inefficace. Diagnosi è tipicamente fatta tramite analisi del sangue:

- La dimensione dei globuli rossi (MCV da 89 arrivano ad essere 50-70 fl)
- Analisi della composizione delle catene globiniche
- Test genetici mediante sequenziamento del gene HBB



#### Diagnosi tramite composizione emoglobine

In questa analisi di composizione delle catene globiniche è evidente un'anomala abbondanza di Hb F. La frazione percentuale (81,6%) suggerisce trattarsi di un paziente omozigote b<sup>+</sup> o eterozigote composto b<sup>+</sup>/b<sup>0</sup>.

Nella beta-talassemia quindi che portano mutazioni omozigote beta<sup>0</sup>, non si ha la produzione di Hb adulta (HbA) e si ha la prevalenza di HbF (fetale), con una piccola produzione di HbA2. Nel caso di talassemia intermedia e si ha la produzione di HbA e HbA2 e una percentuale elevata, ma non tanto elevata di HbF nel sangue.

Hemoglobin type	NORMAL		BETA-TALASSIC		BETA-TALASSIC	
	%	g/g	%	g/g	%	g/g
HbA	96%	96%	0%	0%	0%	0%
HbA2	<1%	0.8%	0.8%	0.8%	0%	0%
HbF	2%	2%	>12%	>12%	81%	81%

$\beta^0$  -thalassemia complete absence of globin beta chain production  
 $\beta^+$  -thalassemia variable degree of reduction of globin beta chain synthesis

**Diagnosi: indagini di genetica molecolare**

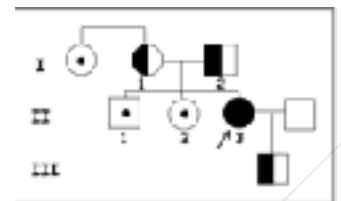
L'analisi della sequenza del gene HBB, codificante per la  $\beta$  globina conclude l'analisi diagnostica, portando al riconoscimento della mutazione causa della malattia. Il risultato dell'analisi può trovare applicazione nell'indagine familiare su eventuali portatori. Può anche trovare applicazione in indagini prenatali o preimpianto nel caso di ulteriori gravidanze.

**Terapie**

I bambini affetti beta talassemia major richiedono regolari trasfusioni di sangue per tutta la vita. I pazienti che ricevono frequenti trasfusioni di sangue vanno incontro ad un sovraccarico di ferro e possono sviluppare complicazioni, soprattutto alla milza. Il trattamento con chelanti del ferro (deferossamina, il deferiprone ed il chelante orale deferasirox), capaci di rimuovere il ferro nel sangue e nei tessuti, è necessario per evitare danni agli organi interni. Ciò ha permesso ai pazienti con talassemia major di vivere una vita lunga. Comportamenti personali indicati: limitare il consumo di carne, alimento ricco di ferro, e bere tè perché i tannini riducono l'assorbimento del ferro. Il trapianto di midollo osseo è l'unica cura risolutiva. È indicato per i pazienti con talassemia major.

**Counseling genetico**

- Genitori di un probando (Generazione I) I genitori di un bambino affetto sono eterozigoti obbligati e pertanto portano una singola copia di una variante patogena HBB.
- Fratelli di un probando (Generazione II) Al momento del concepimento, ogni fratello ha una probabilità del 25% di essere affetto, una probabilità del 50% di essere un portatore e una probabilità del 25% di essere non affetto. Gli eterozigoti (portatori) sono clinicamente asintomatici ma a volte leggermente anemici, spesso indicati con talassemia minore.
- Prole di un probando (Generazione III) La prole di un individuo con  $\beta$ -talassemia e uno sano sono eterozigoti obbligati (portatori) per una variante patogena in HBB.
- Altri membri della famiglia. (Generazione I) Ogni zio del probando ha un rischio del 50% di essere portatore di una variante patogena HBB.

**ANEMIA FALCIFORME**

L'anemia falciforme è una malattia che colpisce la molecola di emoglobina e fa sì che l'eritrocita cambi forma in condizioni di stress. Anche denominata malattia da emoglobina S (Hb S) dal nome degli eritrociti che caratterizzano questa patologia. Nell'anemia falciforme, la molecola di emoglobina è difettosa. Dopo che le molecole di emoglobina hanno rilasciato l'ossigeno, possono formare lunghe strutture simili a bastoncini che si irrigidiscono e assumono la forma della falce, da cui il nome.

I globuli rossi normali vivono circa 120 giorni nel flusso sanguigno, ma i globuli rossi falciformi muoiono dopo circa 10-20 giorni. Poiché non possono essere sostituiti abbastanza velocemente, il sangue manca di globuli rossi, portando a una condizione di anemia cronica. L'anemia può causare facile affaticamento. Nonché ritardo nello sviluppo nei bambini. La rapida decomposizione dei globuli rossi può anche causare ittero, colorito giallastro degli occhi e della pelle.

A differenza dei globuli rossi sani, che di solito sono lisci e a forma di ciambella, i globuli rossi falciformi non possono passare attraverso i piccoli vasi sanguigni. Invece, si accumulano e causano blocchi che privano gli organi e i tessuti del sangue che trasporta ossigeno. Questo processo produce episodi periodici dolorosi e portare a danni in tessuti e organi vitali, specialmente nei polmoni, nei reni, nella milza e nel cervello.

**Prevalenza**

L'allele HbS è particolarmente comune tra le persone i cui antenati provengono dall'Africa subsahariana, dal Sud America, dall'Arabia Saudita, dall'India e dai paesi del Mediterraneo come Turchia, Grecia e Italia. La malattia si manifesta in circa 1 su 500 nati afroamericani e 1 su ogni 1000-1400 nati ispano-americani. Circa 1 su 12 afroamericani porta l'allele HbS.

### Alterazioni genetiche

L'anemia falciforme è causata da mutazioni nel gene del beta-globina (HBB). Una particolare mutazione del gene HBB c.174>C; p.Glu6Val (mutazione in cui si passa da Adenina a citosina, che determina il cambiamento da acido glutammico a valina) produce una versione anormale della beta-globina nota come emoglobina S (HbS). Nell'anemia falciforme, l'emoglobina S sostituisce entrambe le subunità beta nell'emoglobina.

Storicamente, il termine "anemia falciforme" è usato per descrivere i soggetti omozigoti per HbS. Con una maggiore conoscenza dello spettro di emoglobinopatie falciformi, la tendenza è stata quella di usare il termine ombrello "malattia delle cellule falciformi". Quindi non deriva solo da HbS ma anche da eterozigoti composti da HbC. HbC è una mutazione da Guanina ad Adenina che converte l'acido glutammico (che si trova nella stessa posizione di HbS) in lisina. Il termine anemia falciforme deve essere seguito da una descrizione genotipica dettagliata per l'individuo:

- HbS/S
- HbS/C
- HbS/beta<sup>0</sup>-talassemia

L'anemia falciforme è una malattia ereditaria a trasmissione Autosomica recessiva (AR). È comunemente causata dalla variante omozigote HBB p.Glu6Val (Hb S / S). È causata anche da varianti HBB patogene eterozigoti composte, che includono l'allele HbS e una seconda variante patogena:

- Hb S / C
- Hb S / β<sup>+</sup> talassemia
- Hb S / β<sup>0</sup> talassemia

La trasmissione porta ad un 25% della progenie affetta, 25% individui sani e il 50% portatrice.

### Diagnosi

La maggior parte degli individui con anemia falciforme sono sani alla nascita e diventano sintomatici dopo che i livelli di emoglobina fetale diminuiscono.

Diversi elementi clinici sono suggestivi di anemia falciforme, soprattutto se riscontrate in individui con storia familiare di anemia falciforme o discendenti da familiari Africani, Indiani o Centro Americani. E dalla presenza anche di:

- Anemia grave che causa pallore
- Ittero
- Episodi ricorrenti di forte dolore di mani e piedi senza altri eziologia identificata
- Sepsis pneumococcica o meningite
- Ictus, soprattutto in un bambino a causa del blocco del passaggio del sangue

L'anemia falciforme è diagnosticata in test sul sangue:

- Anemia normocitica con presenza di cellule falciformi,
- Presenza di emoglobina S (HbS) in un test di emoglobina
- Presenza di mutazioni HbS in indagini di genetica molecolare. Questa è utilizzata sia per analisi di un'intera famiglia sia per diagnosi pre-impianto che diagnosi pre-natali.

