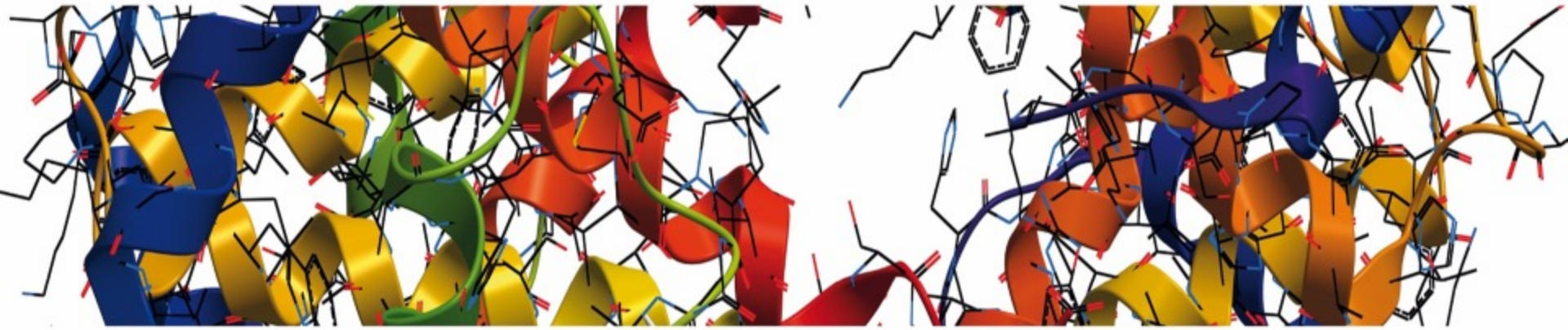
AGGIORNAMENTO SU DIAGNOSI E TERAPIA DELLE EMOGLOBINOPATIE

Ferrara, 4 luglio 2025 | Hotel Ferrara

La diagnosi prenatale e le coppie a rischio

Dott.ssa Stefania Bigoni



Coppie a rischio riproduttivo

CONSULENZA GENETICA NELLE TALASSEMIE ED EMOGLOBINOPATIE

Azienda Ospedaliero Universitaria di Ferrara

U.O. DI GENETICA MEDICA

Direttore Prof.ssa Alessandra Ferlini

Centro di riferimento riconosciuto (HUB) a livello regionale:

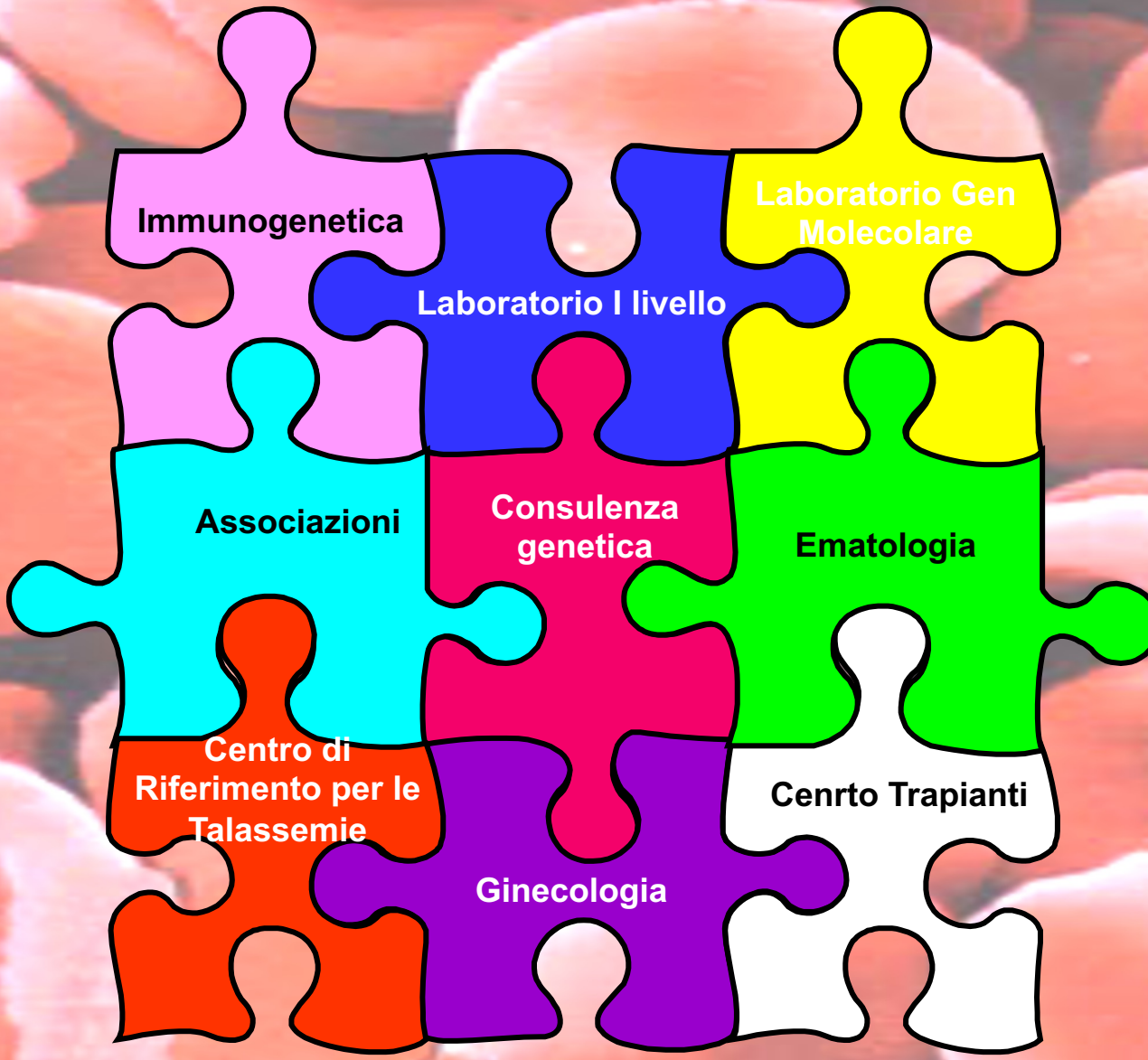
- ✓ per la consulenza genetica
- ✓ per la diagnostica molecolare

Consulenze genetiche

Prenatali (tutte le tipologie)

Postnatali

- CUP (I accesso)
- Ambulatori dedicati:
  - Talassemia Postnatale
  - Oncogenetica
  - Cardiogenetica
  - Dismorfologia
  - Neurogenetica
  - Miogenetica


Immunogenetica
Laboratorio I livello
Laboratorio Gen Molecolare
Associazioni
Consulenza genetica
Ematologia
Centro di Riferimento per le Talassemie
Ginecologia
Cenrto Trapianti

…….LA CONSULENZA GENETICA NELLE TALASSEMIE ED EMOGLOBINOPATIE ……

Epoca di invio della coppia alla consulenza genetica

PRECONCEZIONALE

PRENATALE

CONSULENZA GENETICA
PRECONCEZIONALE

<u>Motivazione</u>: definizione del rischio riproduttivo

❖Coppie in cui entrambi i partner sono portatori di trait beta talassemico

❖Coppie in cui vi è il sospetto per uno/entrambi i partner di trait "talassemico" o di difetto emoglobinico

❖Coppie in cui uno dei due partner è affetto da T. Major (coppie PMA)

❖Modalità di accesso: I accesso CUP (numero verde 800 532 000) /Amb Dedicato su invio specialistico (email geneticamedica@pec.ospfe.it)

CONSULENZA GENETICA PRENATALE

<u>Motivazione</u>: conferma del rischio riproduttivo/programmazione DP

a) Coppie in cui entrambi i partner sono portatori di trait beta talassemico

Situazione più semplice

Entrambi lo sanno da sempre, ricorre nelle famiglie

Generalmente giungono precocemente in gravidanza (rarissimo l'invio nel II trimestre)

Spesso sono stati già caratterizzati molecolarmente in epoca preconcezionale
Caratterizzazione molecolare indispensabile alla programmazione della DP

Modalità di accesso: numero tel dedicato: 0532 236491, dal lun al ven, 11-13

CONSULENZA GENETICA PRENATALE

<u>Motivazione</u>: conferma del rischio riproduttivo/programmazione DP

b) Coppie in cui vi è il sospetto per uno/entrambi i partner di trait "talassemico" o di emoglobinopatia

Non sempre si giunge ad una DP

Fondamentale è il raccordo di tutti i dati disponibili (esami con cui la coppia giunge, esami di I livello in corso di consulenza, esiti indagini molecolari)

Caratterizzazione molecolare indispensabile alla programmazione della DP

Modalità di accesso: numero tel dedicato: 0532 236491, dal lun al ven, 11-13

Iter diagnostico

- complesso
- coinvolge diverse competenze
- In gravidanza da effettuarsi in tempi rapidi

I° Step: Strumenti di Lavoro

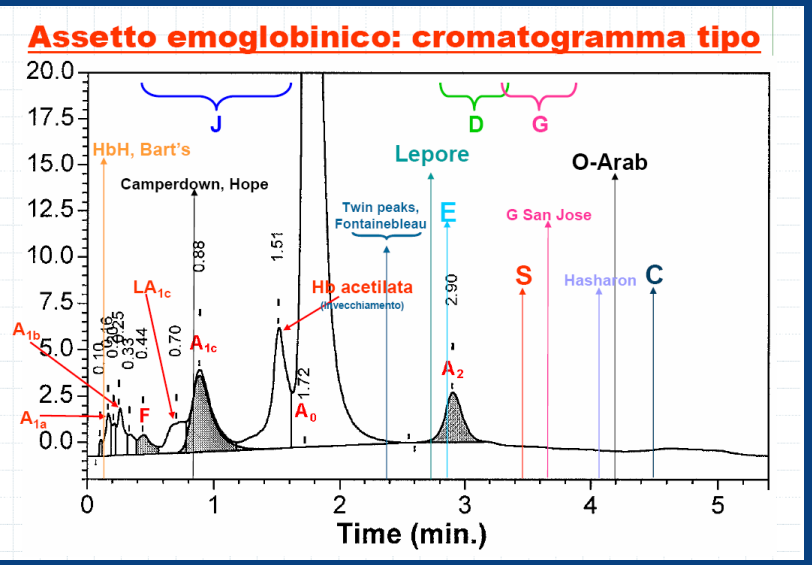
A) Raccolta di informazioni:

✓Anamnesi personale e analisi dell'albero familiare (altri familiari portatori o affetti, precedenti gravidanze esitate in idrope fetale)

✓Area di provenienza (aree ad elevata frequenza di particolari difetti emoglobinici cfr. DeltaBeta tipo Sicilia, HbS, Hb Hasharon)

B) Esame ematologico di base

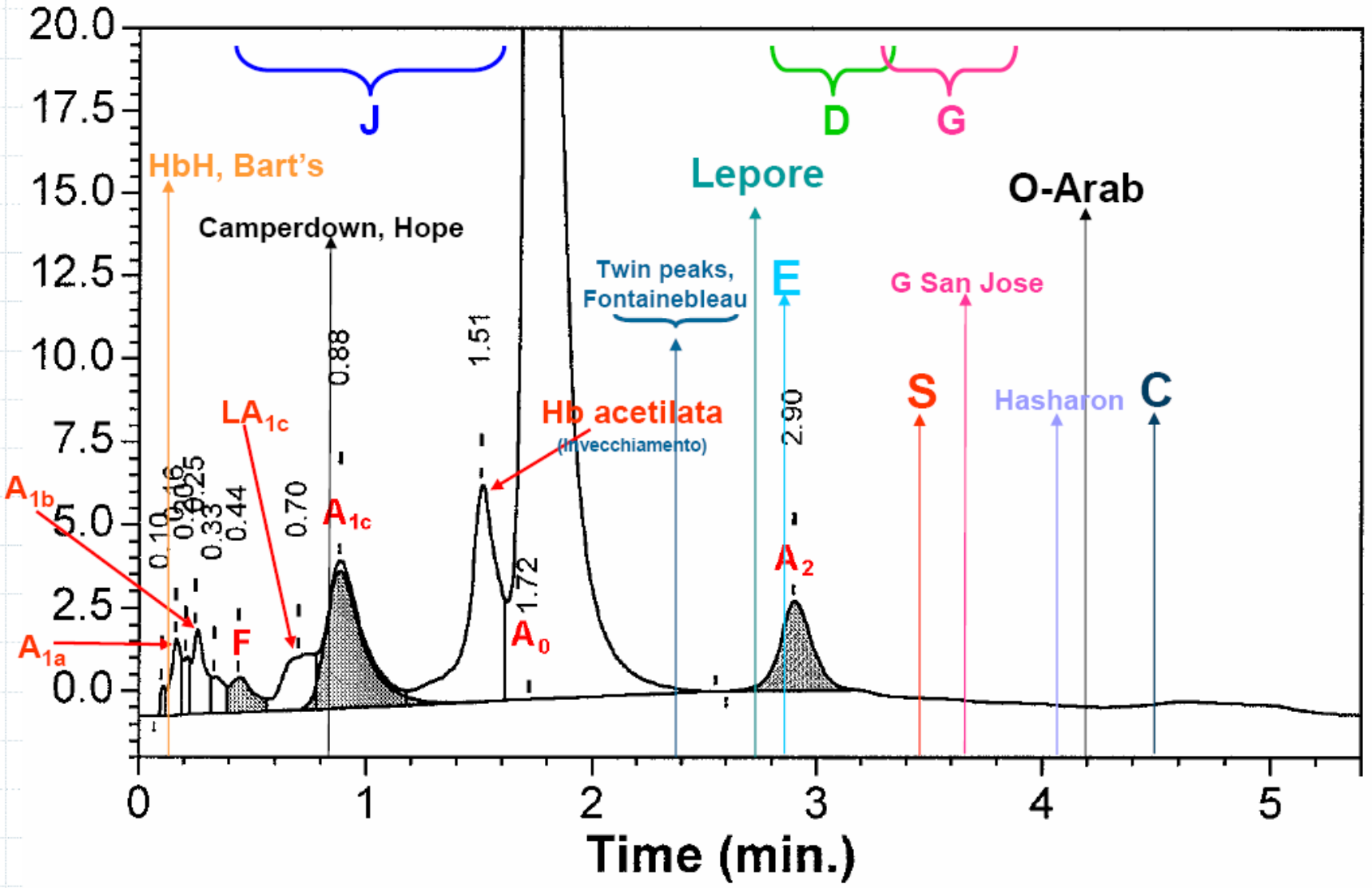
Esame di base per talassemia/emoglobinopatia



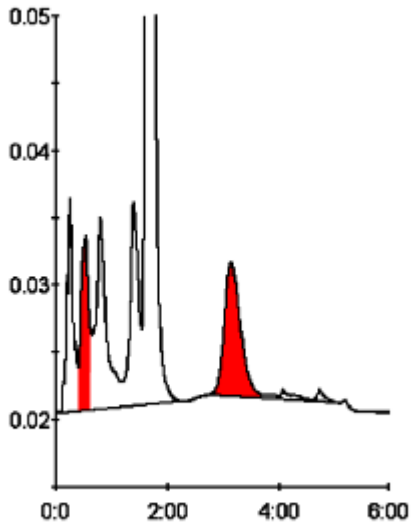
Emocromo
Sideremia
Transferrina
Ferritina
Cromatografia dell'Hb con dosaggio HbA2,HbF

★ Tutto deve quadrare!!!!!

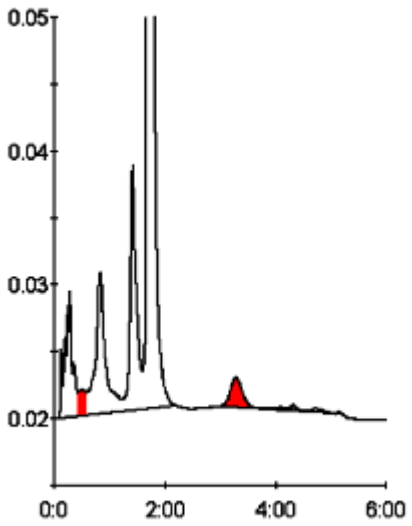
Assetto emoglobinico: cromatogramma tipo



Cromatogrammi

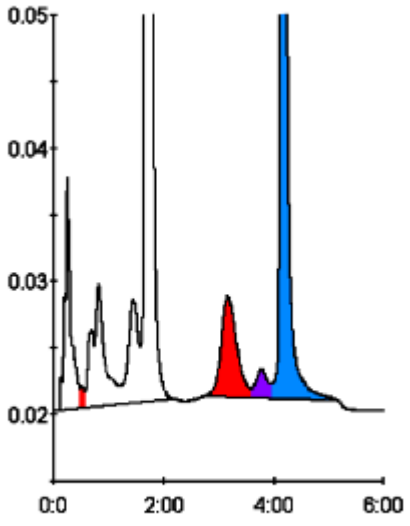


β-Thal

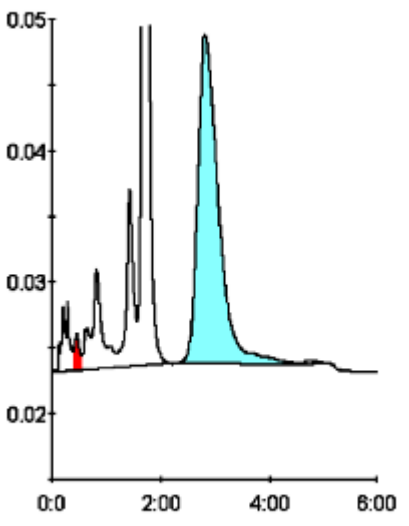


α-Thal

Cromatogrammi

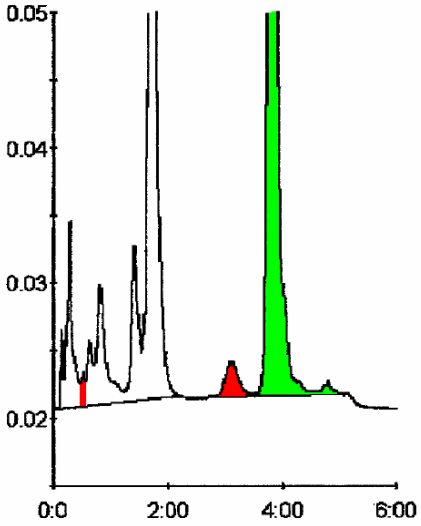


HbS

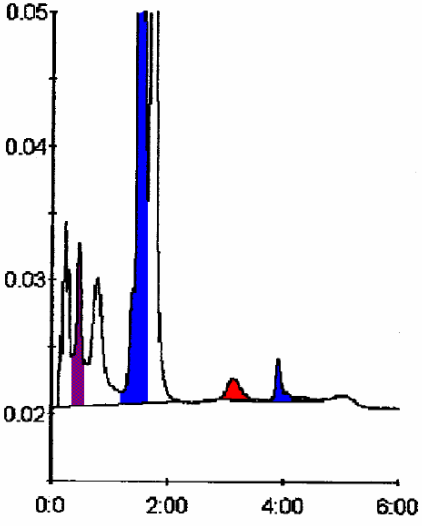


HbE

Cromatogrammi

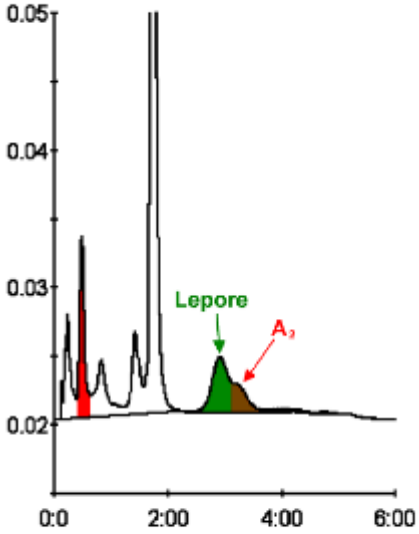


HbD

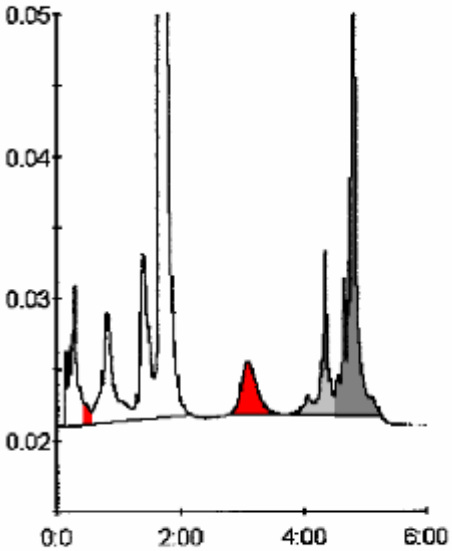


HbJ

Cromatogrammi



Hb Lepore

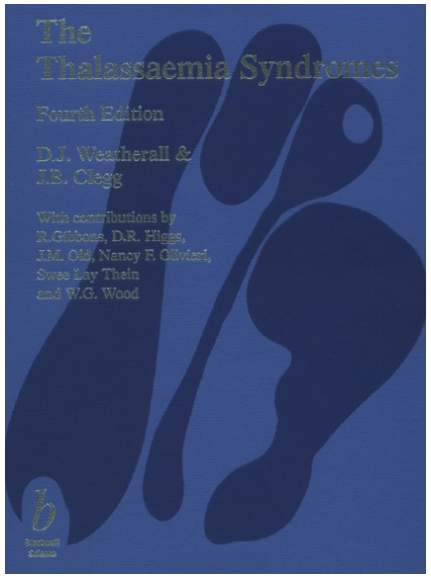


HbC

II° Step: Strumenti di Lavoro

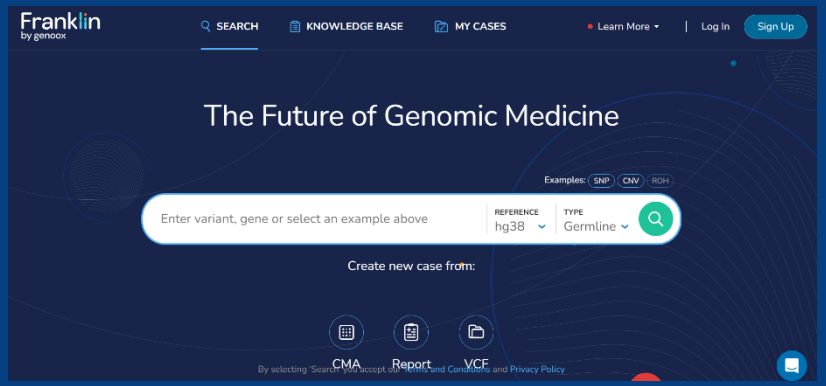
Analisi molecolare geni globinici

- ❖Reverse Dot Blot
- ❖Sequenza geni Beta/Alfa/Delta/Gamma globinici
- ❖MLPA (cluster beta, alfa globinico)
- ❖NGS



PubMed®

ithanet



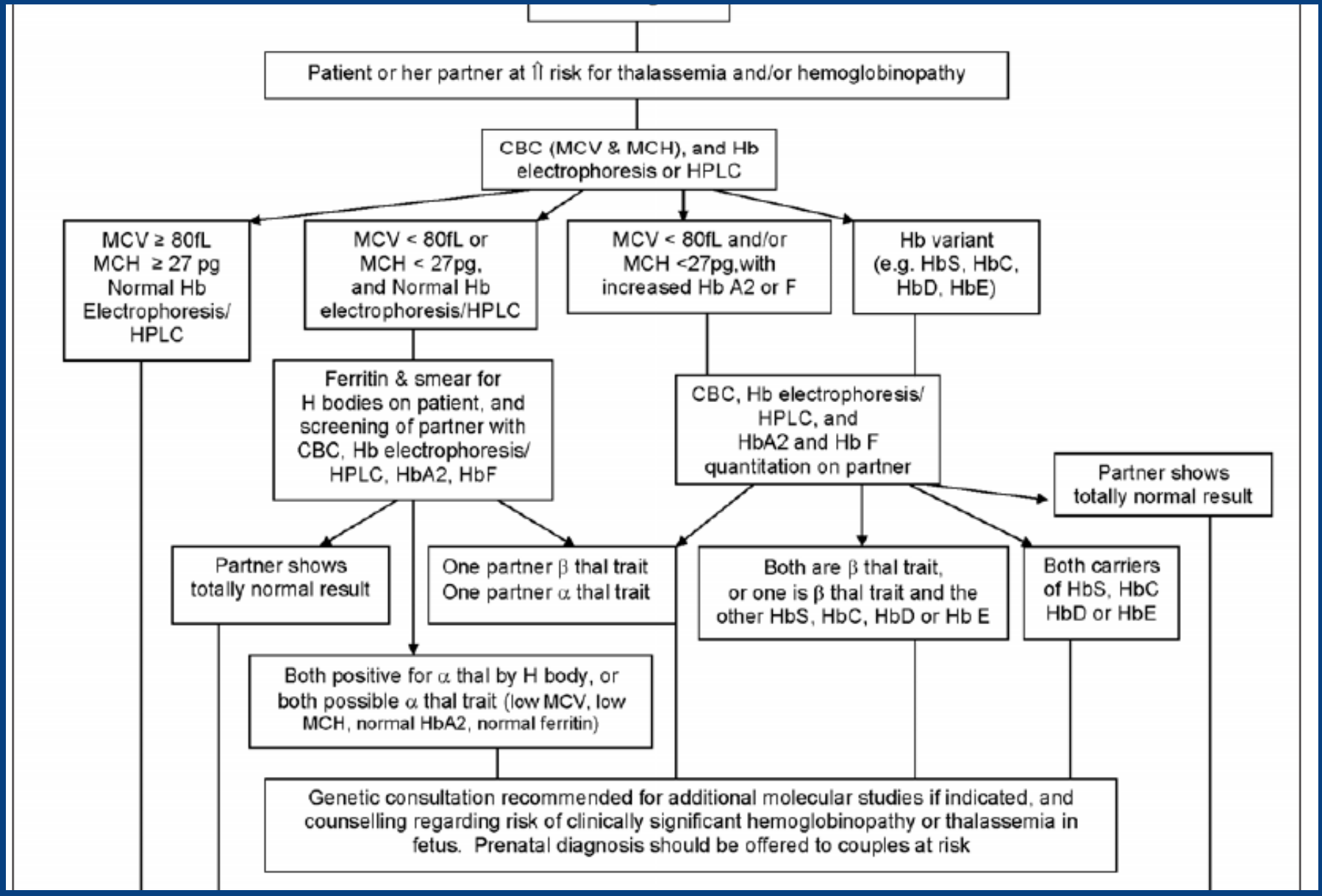
Globin Gene Server

HbVar

Tutto deve quadrare!!!!!

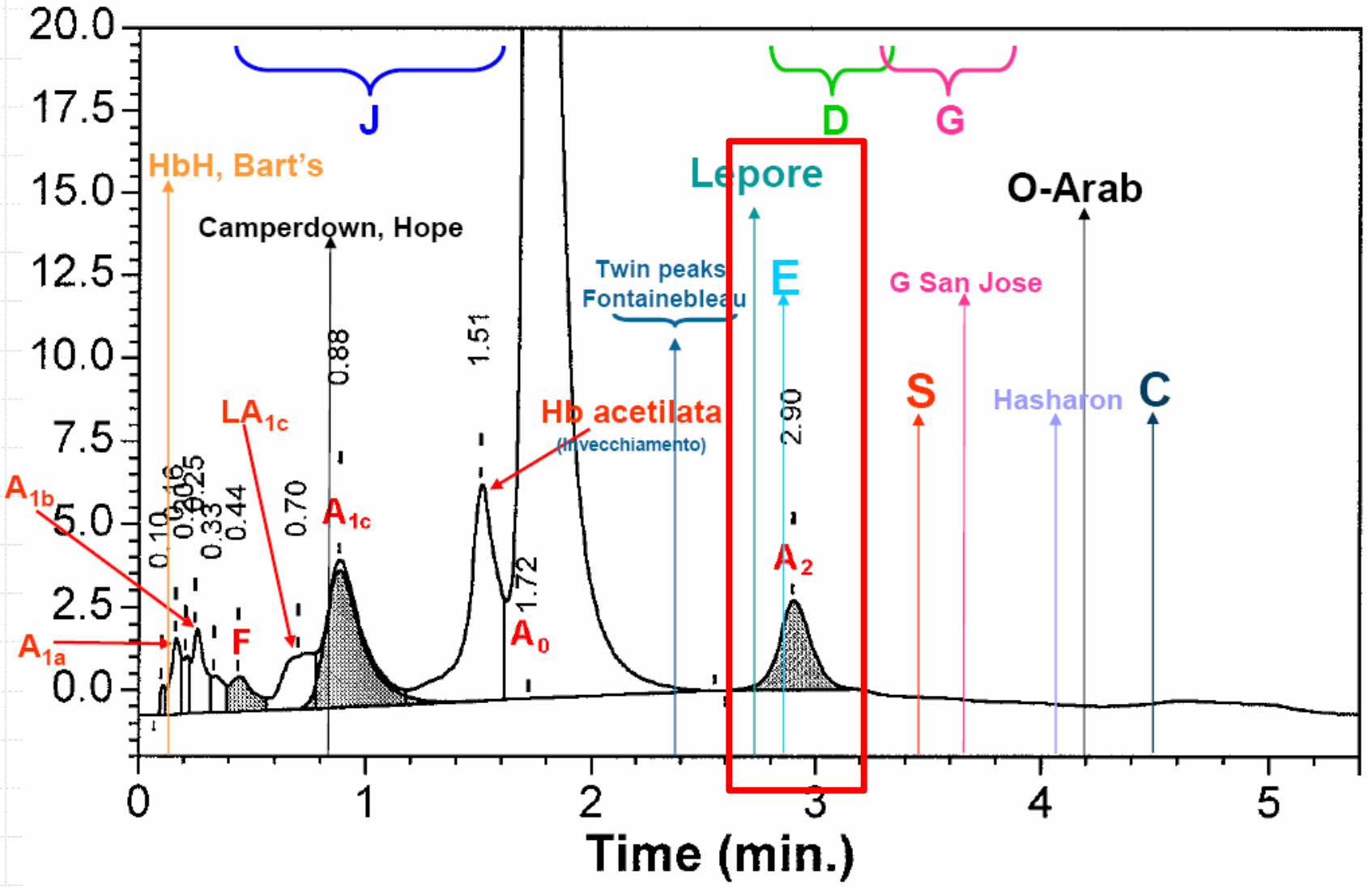
EuroBloodNet

ITER DIAGNOSTICO



Algoritmo diagnostico,da Langlois et al. 2008

Assetto emoglobinico: cromatogramma tipo



α Talassemia

β Talassemia

Table 5. Examples of hemoglobin variants that co-elute with or near HbA2 in HPLC.

Hb Abruzzo	Hb Kenya
Hb Akron	Hb Korle Bu *
Hb Boras	Hb Lepore Baltimore
Hb Bethesda *	Hb Lepore Boston
Hb Chandigarth	Hb Lepore Hollandia
Hb Deer Lodge	Hb Loves Park *
Hb D Iran *	Hb M Saskatoon
Hb Denver *	Hb Muravera
Hb D-Ouled Rabah	Hb Nebraska
Hb E	Hb Ocho Rios
Hb Ethiopia *	Hb Osu Christiansborg *
Hb Fort Worth	Hb Paddington
Hb G Copenhagen	Hb Rocky Mountain
Hb G Coushatta *	Hb San Bruno *
Hb G Ferrara	Hb Santa Juana *
Hb G Galveston	Hb SId (the aged adduct of Hb due to glutathione)
Hb G Honolulu *	Hb Spanish Town
Hb G Taipei	Hb Toulon
Hb Hoshida	Hb Tubingen
Hb Hamadan	Hb Zuri

Mandrile G et al, J. Clin. Med. 2022, 11, 5426

Table 4. Main individual preanalytical variables that can modify the value of HbA2.

Increased HbA2
Hyperthyroidism
Megaloblastic anaemia
Antiretroviral therapy for HIV
Hb unstable variants
Supernumerary alpha genes variants (i.e., $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$)
Glycated component of the Hb B variant if present (a)
Liver disease/alcohol
Hypertrophic osteoarthropathy
KLF1 mutations

Mandrile G et al, J. Clin. Med. 2022, 11, 5426

α Talassemia

δ Talassemia

Table 4. Main individual preanalytical variables that can modify the value of HbA2.

Reduced HbA2
Severe Iron-deficiency anemia
Sideroblastic anemia
δ-Thalassaemia (b)
δ -Thalassaemia chain variants (c)
α-Thalassaemia chain variants(d)
Same type of HpFH due to defect in the Gamma gene promoter (e)
δβ-Thalassaemia
α-Thalassaemia: borderline in Alf + or ALPHA while it is marked in H hemoglobinosis
Hb Lepore (f)
HbD (a) e C (f)

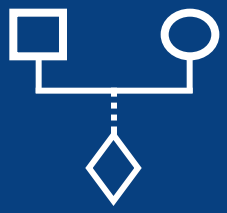
Mandrile G et al, J. Clin. Med. 2022, 11, 5426

NELLA PRATICA……..

Caso-A

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	63
MCH	21,6
HbA2	5,2
HbF	1,5

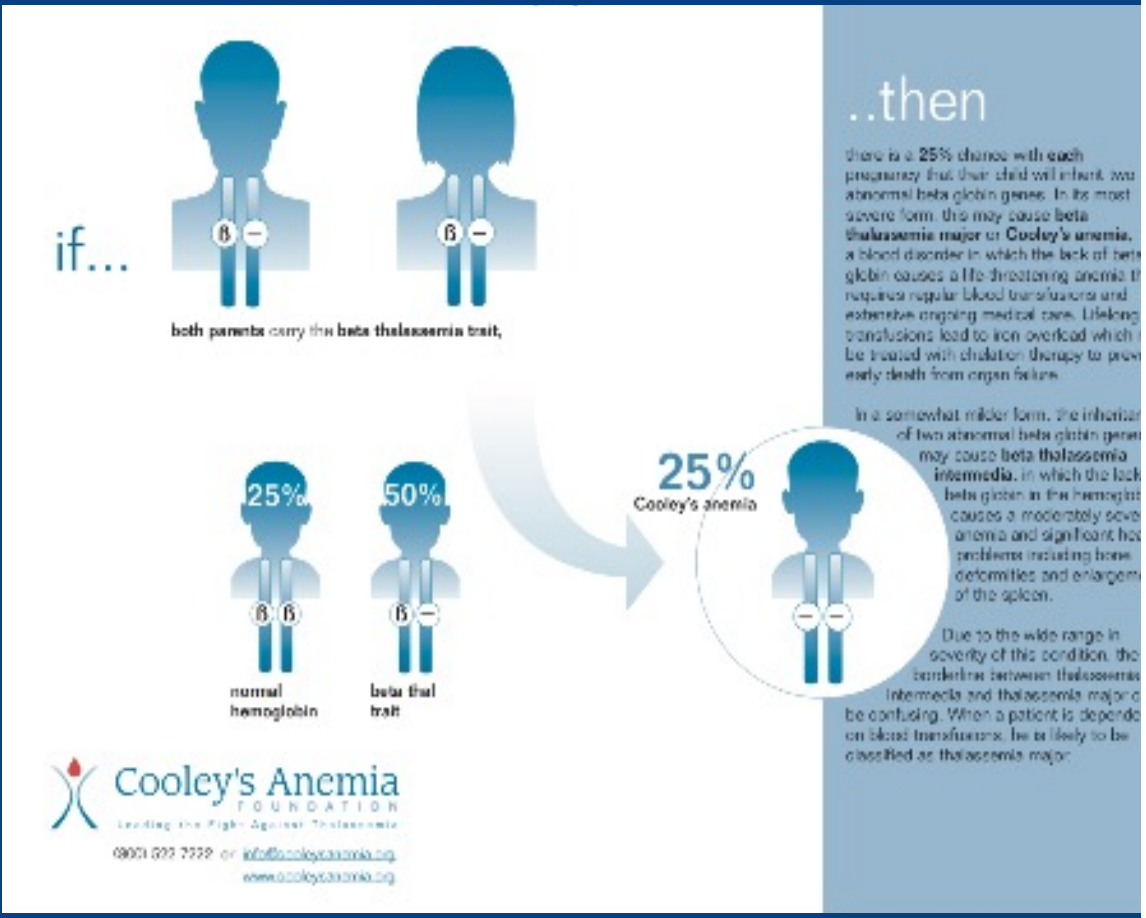
Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

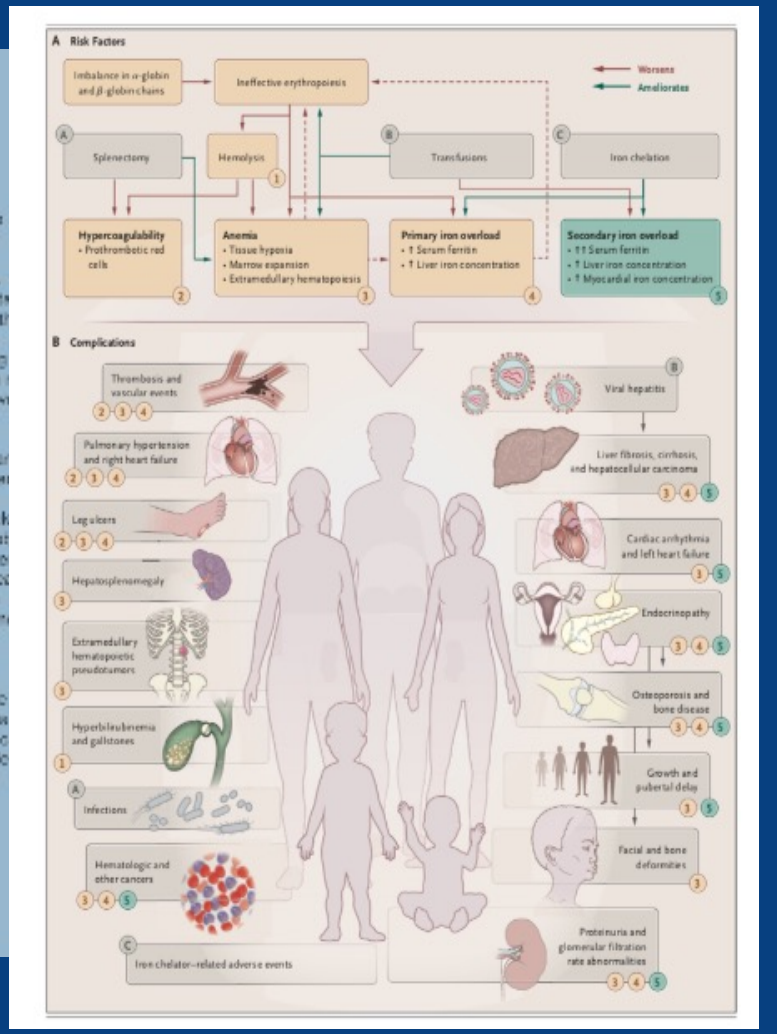
Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta+IVS1-nt110

Counselling genetico:

Modalità di trasmissione





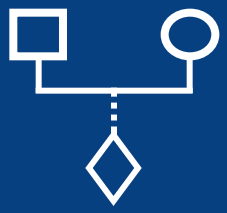
Taher AT et al, β-Thalassemias, N Engl J Med. 2021

- Terapie attuali
- Opzioni Riproduttive
  - Epoca preconcezionale
    - PMA con PGD-M/PGD-A
  - Epoca prenatale
    - Celocentesi
    - CVS/LA
    - DNA fetale (?)

Caso-A

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	63
MCH	21,6
HbA2	5,2
HbF	1,5

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta+IVS1-nt110

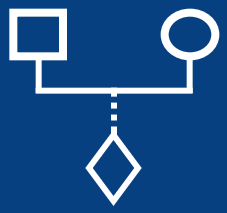
Counselling genetico:
Rischio del 25% di prole affetta da T. Major

SI
Percorso di DP/PGD

Caso-B

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	85
MCH	29
HbA2	3,6
HbF	1,3

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico?????

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

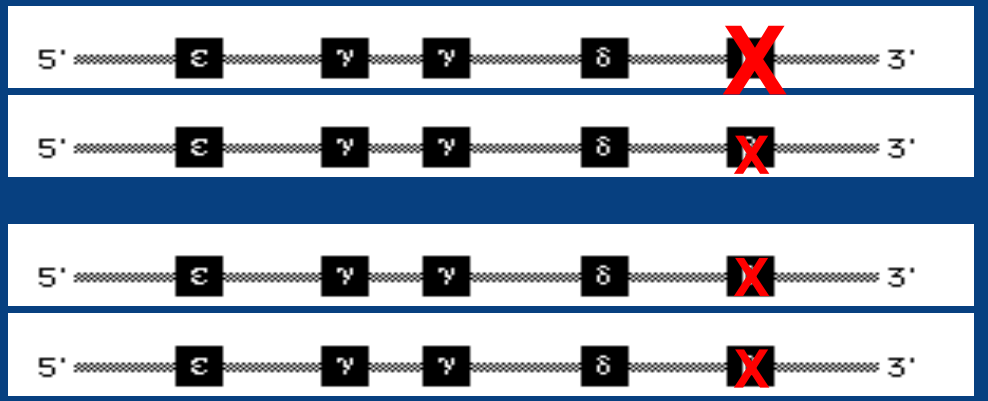
Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta+IVS1-nt101

Counselling genetico:
Rischio del 25% di Hz composta
Beta° cod.39/Beta+IVS1-nt101 (fenotipo variabile da portatore di trait beta talassemico/talassemia intermedia)

Talassemia Intermedia

Fenotipo estremamente variabile

1. Anemia e ittero, variabile
2. Splenomegalia
3. Crescita e sviluppo
4. Alterazioni ossee



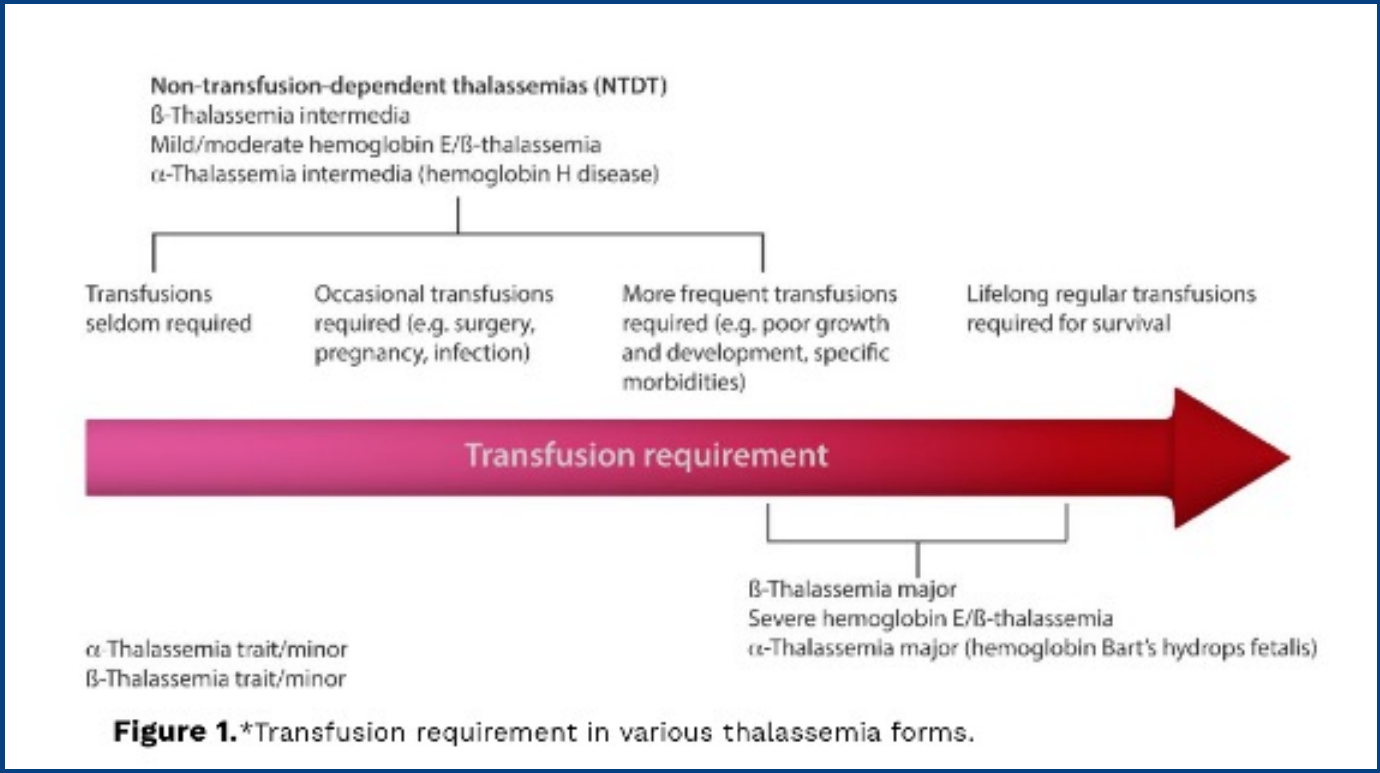


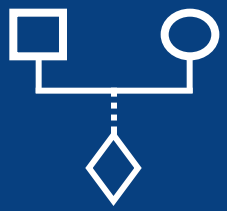
Figure 1. *Transfusion requirement in various thalassemia forms.

Khaled M.et al, Musallam, Haematologica 2013

Caso-B

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	85
MCH	29
HbA2	3,6
HbF	1,3

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico?????

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta+IVS1-nt101

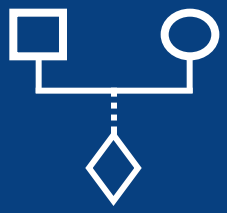
Counselling genetico:
Rischio del 25% di Hz composta
Beta° cod.39/Beta+IVS1-nt101 (fenotipo variabile da portatore di trait beta talassemico/talassemia intermedia)

Percorso di DP/PGD (?)

Caso-C

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	82
MCH	28
HbA2	3,2
HbF	1,1

Ipotesi:
Portatore di?????

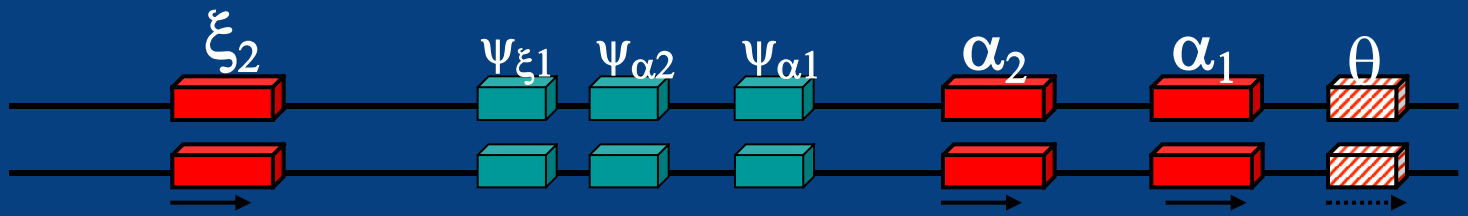
Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi triplo alfa - anti 3.7

Counselling genetico:

Incremento del numero di copie dei geni α- globinici

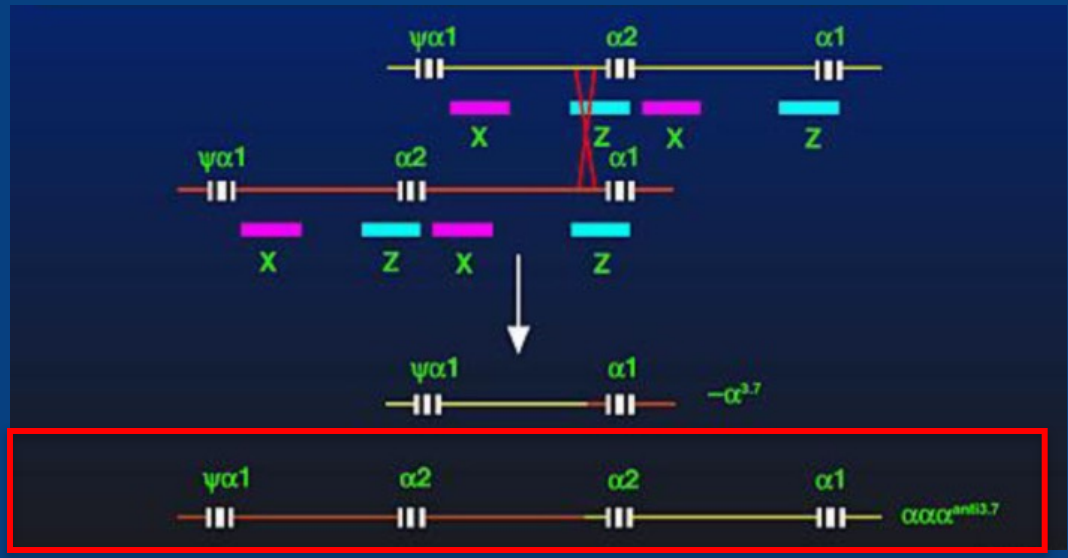
Cluster α–globinico
16p13



EMOCROMO			
GLOBULI BIANCHI :	7.86	x10^3/µl	4.00 - 11.00
GLOBULI ROSSI :	5.75	x10^6/µl	4.50 - 6.50
HGB :	15.3	g/dl	13.0 - 18.0
HCT :	45	%	40 - 54
MCV :	78	fl	76 - 96
MCH :	26.6	pg	27.0 - 32.0
MCHC :	34.2	g/dl	30.0 - 35.0
PLT :	237	x10^3/µl	150 - 450
ERITROBLASTI :	0.0	%	
NEUTROFILI :	5.19	x10^3/µl	2.00 - 7.50
LINFOCITI :	1.93	x10^3/µl	1.50 - 5.00
MONOCITI :	0.58	x10^3/µl	0.20 - 1.00
EOSINOFILI:	0.09	x10^3/µl	0.04 - 0.40
BASOFILI :	0.07	x10^3/µl	0.01 - 0.10
Neutrofili :	66.0	%	
Linfociti :	24.6	%	
Monociti :	7.4	%	
Eosinofili :	1.1	%	
Basofili :	0.9	%	

FERRO :	100	µg/dl	60 - 160
TRANSFERRINA :	264	mg/dl	200 - 360
FERRITINA :	222	ng/ml	24 - 336

EMOGLOBINA A2:	3.3	%	2.0 - 3.3
EMOGLOBINA F :	0.4	%	0.0 - 1.0
COMMENTO :	Valore di HbA2 borderline. Si consiglia consulenza presso Istituto di Genetica Medica		



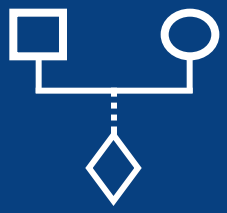
Lieve squilibrio catene a/β

«Lieve trait β talassemico»

Caso-C

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	82
MCH	28
HbA2	3,2
HbF	1,1

Ipotesi:
Portatore di?????

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi triplo alfa - anti 3.7

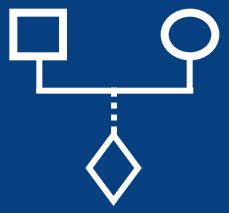
Counselling genetico:
Rischio del 25% di doppia eterozigosi per Beta° cod.39/ triplo alfa - anti 3.7 (talassemia intermedia)

Percorso di DP/PGD (?)

Caso-D

Ipotesi:
Portatore di trait
beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



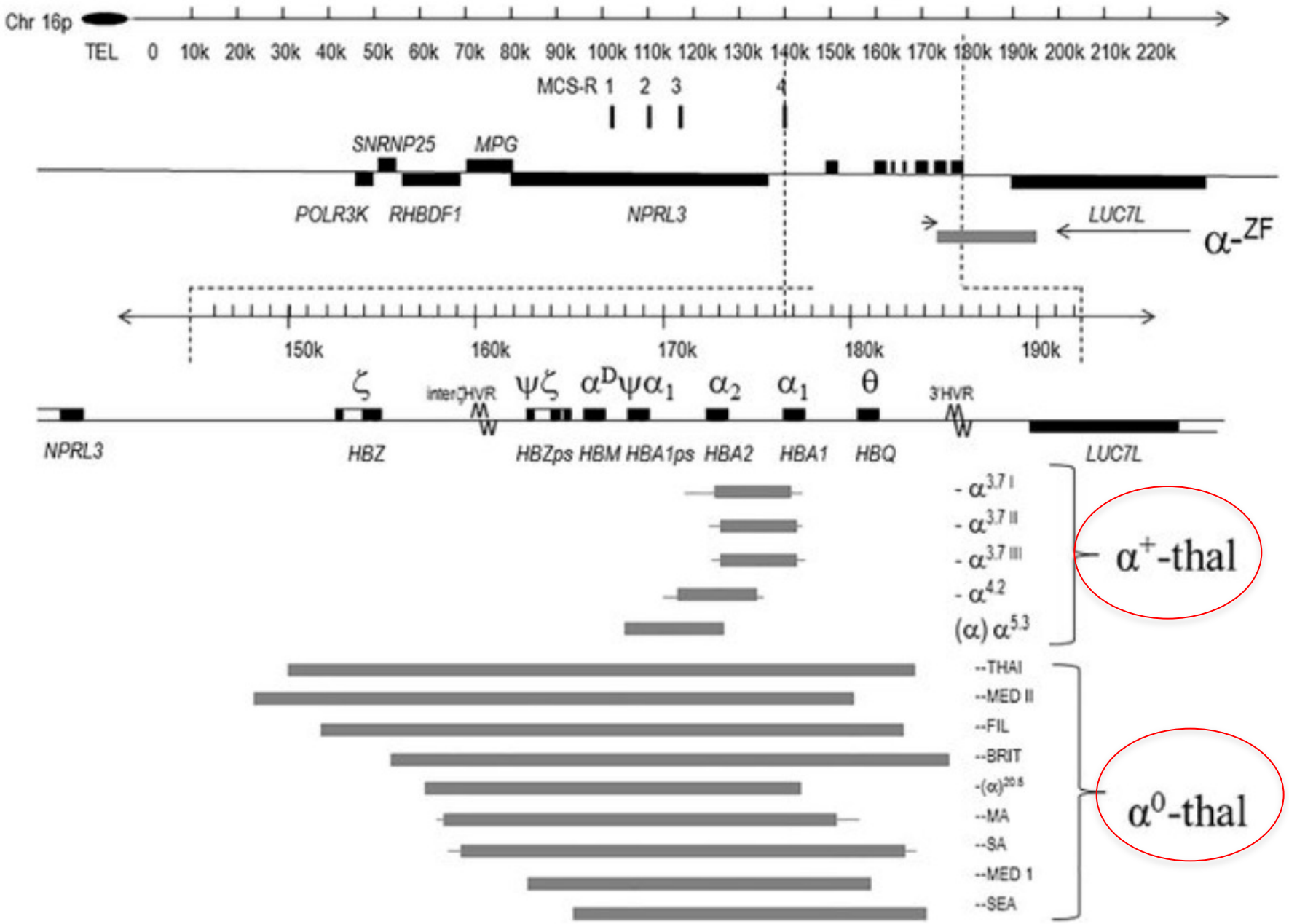
GR	5.00
Hb	11,8
MCV	75
MCH	25,6
HbA2	2,7
HbF	1

Ipotesi:
Portatore di trait
alfa talassemico

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi del. alfa-3.7

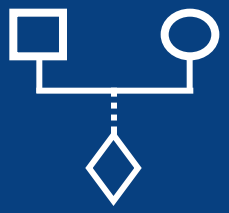
Counselling genetico:


Chr 16p
TEL 0 10k 20k 30k 40k 50k 60k 70k 80k 90k 100k 110k 120k 130k 140k 150k 160k 170k 180k 190k 200k 210k 220k
MCS-R 1 2 3 4
SNRNP25
MPG
POLR3K
RHBDF1
NPRL3
LUC7L
α-ZF
150k
160k
170k
180k
190k
ζ
inter ζHVR
ψζ
α^Dψα1
α2
α1
θ
3'HVR
NPRL3
HBZ
HBZps HBM HBA1ps HBA2 HBA1 HBQ
LUC7L
- α3.7 I
- α3.7 II
- α3.7 III
- α4.2
(α) α5.3
α+-thal
--THAI
--MED II
--FIL
--BRIT
-(α)20.5
--MA
--SA
--MED 1
--SEA
α0-thal

Caso-D

Ipotesi:
Portatore di trait
beta talassemico

GR	6,09
Hb	10,6
MCV	57
MCH	17
HbA2	4,9
HbF	0,9



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	75
MCH	25,6
HbA2	2,7
HbF	1

Ipotesi:
Portatore di trait
alfa talassemico

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi del. alfa-3.7

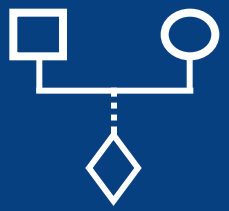
Counselling genetico:
Rischio del 25% di doppia eterozigosi
Beta° cod 39 e delez. alfa-3.7

NO Percorso di
DP/PGD!!!!

Caso-E

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

GR	5.00
Hb	11,8
MCV	75
MCH	25,6
HbA2	2,7
HbF	1



GR	5.00
Hb	11,8
MCV	75
MCH	25,6
HbA2	2,7
HbF	1

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi del. alfa-3.7

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi del. alfa-3.7

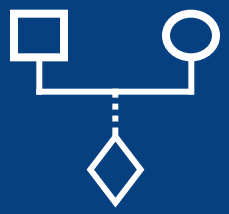
Counselling genetico:
Rischio del 25% di omozigosi per la del. alfa-3.7

NO
Percorso di DP/PGD

Caso-F

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	66
MCH	20,3
HbA2	2,2
HbF	0,4



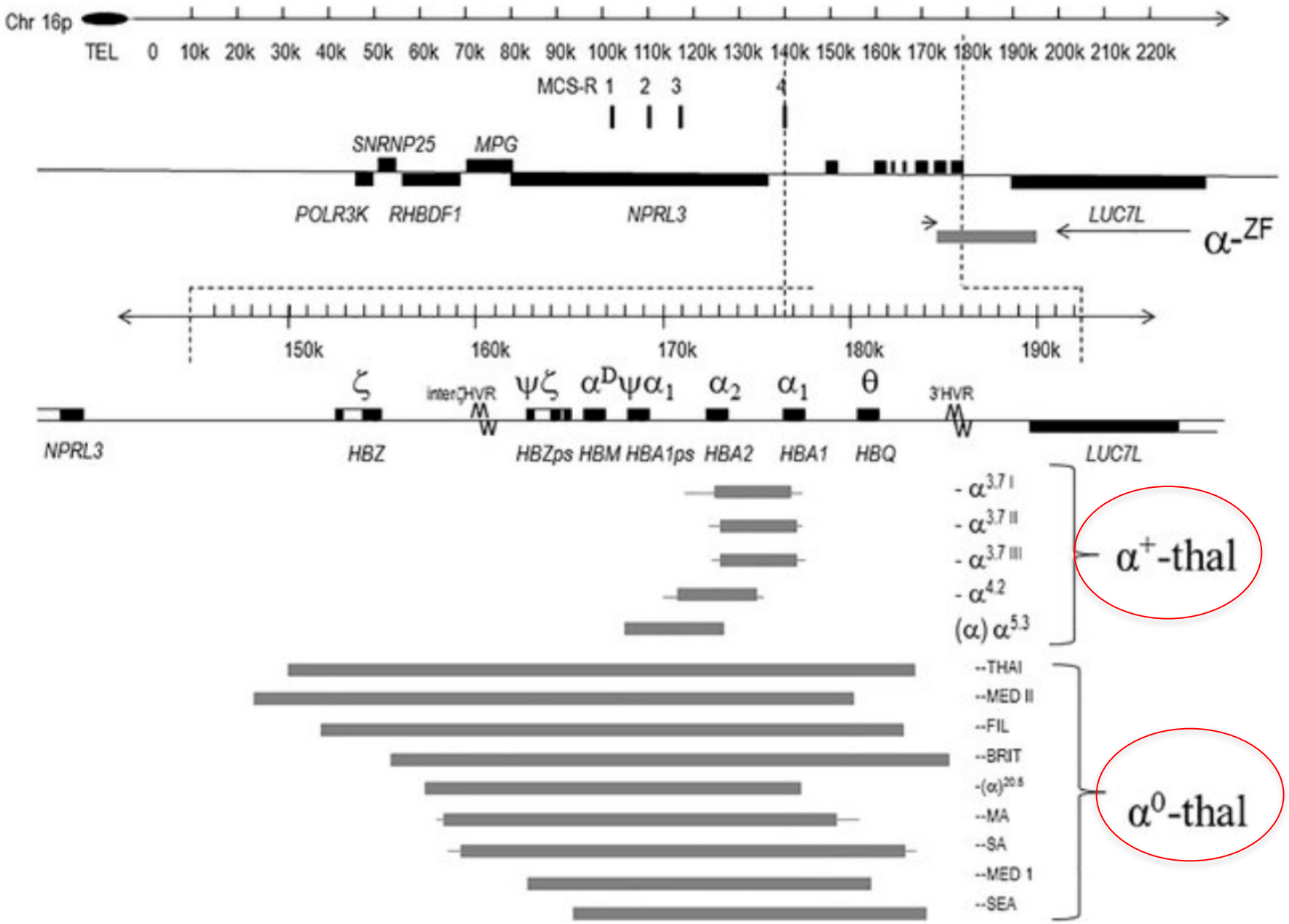
GR	5,93
Hb	13,6
MCV	67
MCH	21,9
HbA2	2,7
HbF	1,4

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi delezione --FIL

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi delezione --FIL

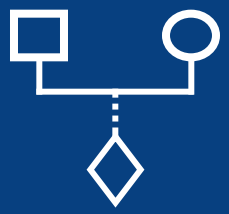
Counselling genetico:


Chr 16p
TEL 0 10k 20k 30k 40k 50k 60k 70k 80k 90k 100k 110k 120k 130k 140k 150k 160k 170k 180k 190k 200k 210k 220k
MCS-R 1 2 3 4
SNRNP25
MPG
POLR3K
RHBDF1
NPRL3
LUC7L
α-ZF
150k
160k
170k
180k
190k
ζ
inter ζHVR
ψζ
α^Dψα1
α2
α1
θ
3'HVR
NPRL3
HBZ
HBZps HBM HBA1ps HBA2 HBA1 HBQ
LUC7L
- α3.7 I
- α3.7 II
- α3.7 III
- α4.2
(α) α5.3
α+-thal
--THAI
--MED II
--FIL
--BRIT
-(α)20.5
--MA
--SA
--MED 1
--SEA
α0-thal

Caso-F

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	66
MCH	20,3
HbA2	2,2
HbF	0,4



GR	5,93
Hb	13,6
MCV	67
MCH	21,9
HbA2	2,7
HbF	1,4

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

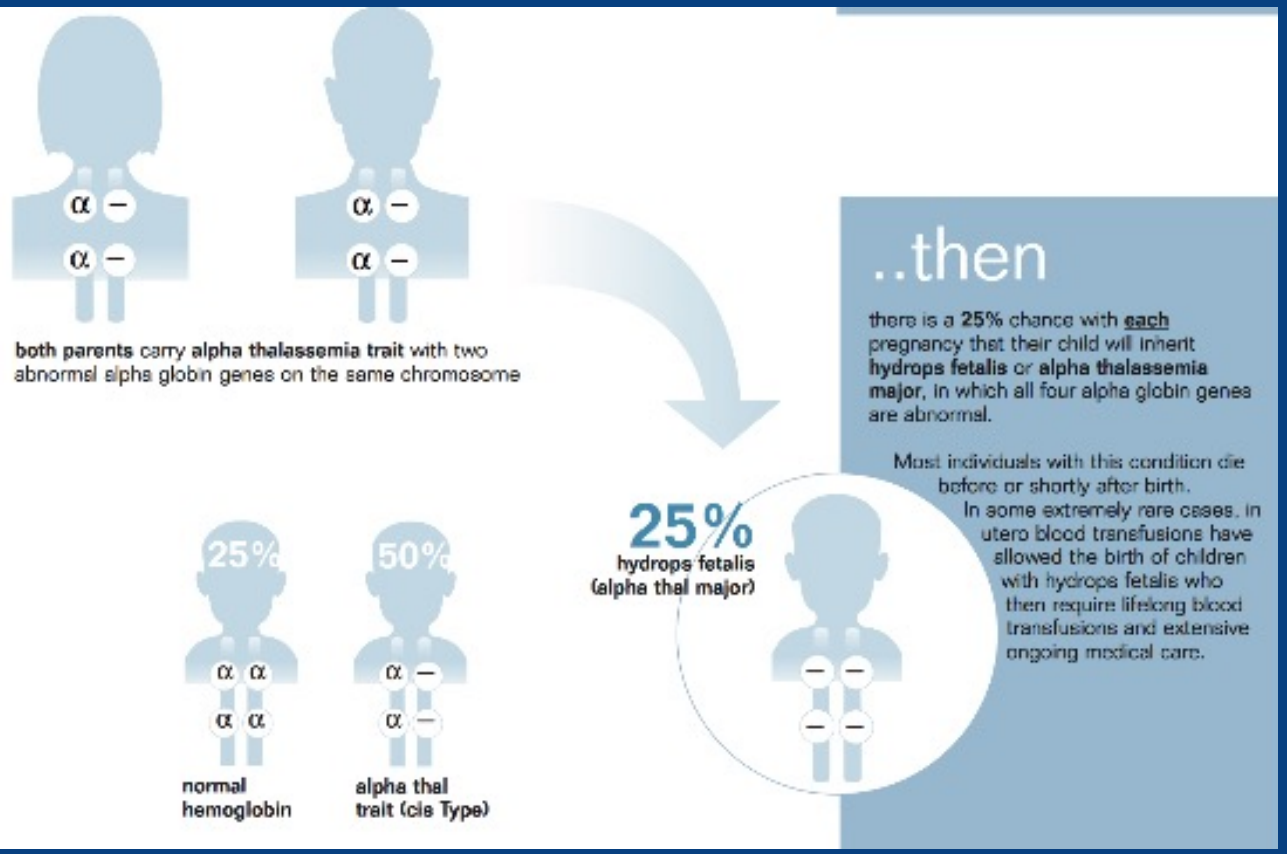
Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi delezione --FIL

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi delezione --FIL

Counselling genetico:
Rischio del 25% di omozigosi per la del. **–FIL** (idrope fetale)

SI
Percorso di DP/PGD!!

Modalità di trasmissione

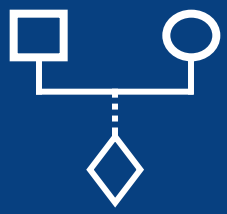


- Opzioni Riproduttive
  - Epoca preconcezionale
    - PMA con PGD-M/PGD-A
  - Epoca prenatale
    - Celocentesi
    - CVS/LA
    - DNA fetale (?)

Caso-G

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	66
MCH	20,3
HbA2	2,2
HbF	0,4



GR	5.50
Hb	11,8
MCV	75
MCH	25,6
HbA2	2,7
HbF	1

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

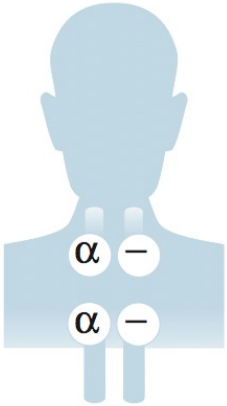
Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi delezione --FIL

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi del. alfa-3.7

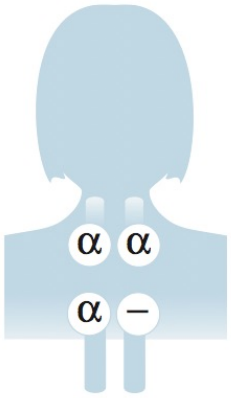
Counselling genetico:

The alpha thalassemia traits combine in different ways to produce blood disorders that range from mild to severe in their effect on the human body.

if...



one parent has **alpha thalassemia trait** with two abnormal alpha globin genes on the same chromosome

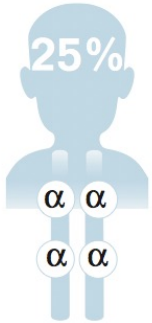


and **the other parent** has the **silent carrier state** with a single abnormal alpha globin gene on one chromosome

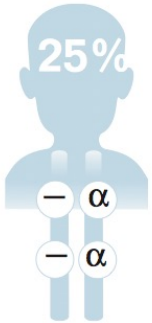
..then

there is a **25%** chance with **each** pregnancy that their child will be born with **hemoglobin H disease** in which three of the four alpha globin genes are abnormal.

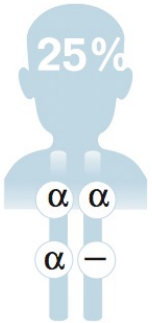
In this condition, the lack of alpha protein is great enough to cause moderate to severe anemia and may cause serious health problems such as an enlarged spleen, bone deformities and fatigue.



normal hemoglobin

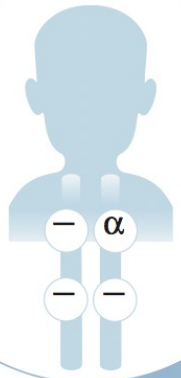


alpha thal trait



alpha thal silent carrier

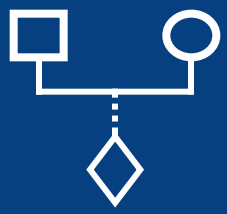
25%
hemoglobin H disease



Caso-G

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	66
MCH	20,3
HbA2	2,2
HbF	0,4



GR	5.50
Hb	11,8
MCV	75
MCH	25,6
HbA2	2,7
HbF	1

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi delezione --FIL

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi del. alfa-3.7

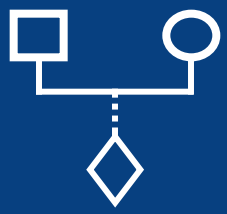
Counselling genetico:
Rischio del 25% di eterozigosi composta per le del.-alfa 3.7/--FIL (Malattia HbH)

???
Percorso di DP/PGD

Caso-H

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	66
MCH	20,3
HbA2	2,2
HbF	0,4



GR	5.50
Hb	11,8
MCV	75
MCH	25,6
HbA2	2
HbF	1
HbVar	1,3

Ipotesi:
Portatore di trait alfa talassemico

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Eterozigosi delezione --FIL

Analisi molecolare geni alfa globinici:
Hz Hb Constant Spring

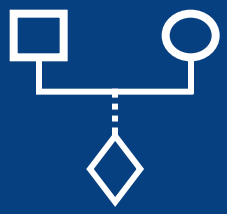
Counselling genetico:
Rischio del 25% di eterozigosi composta per Hb Costant Spring /--FIL
Talassemia Intermedia di grado moderato/severo

Si
Percorso di DP

Caso-I

Ipotesi:
Portatore di HbS

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	82
MCH	27
HbA2	3,2
HbF	0,4
HbS	40



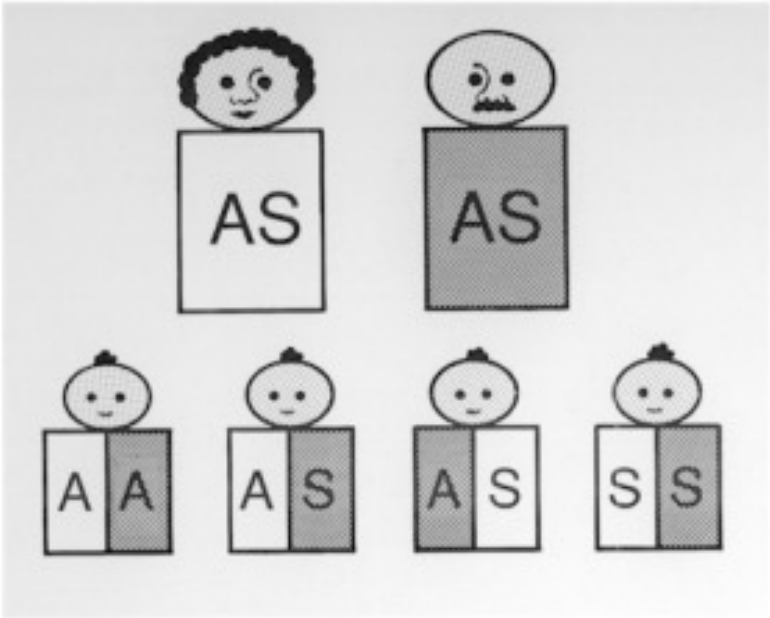
GR	6,39
Hb	13,6
MCV	83
MCH	28
HbA2	3,3
HbF	0,4
HbS	38

Ipotesi:
Portatore di HbS

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi variante HbS

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi variante HbS

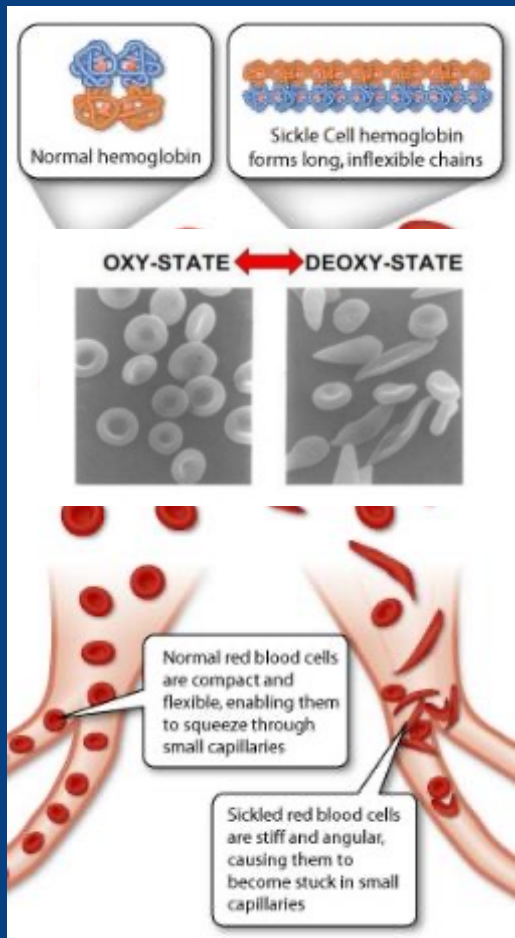
Genetics



Sickle Cell Anemia

Sickle Cell Anemia (SS) is an inherited blood disorder (autosomal recessive). Approximately one in 400 black babies are born with Sickle Cell Anemia, and about one in 11 have Sickle Cell Trait (AS).

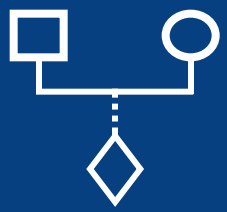
The two hemoglobin types inherited will determine the shape of the red blood cell (RBC). When both parents have Sickle Cell Trait, there is a 1-in-4 chance (25 percent) the baby will have normal hemoglobin (AA), a 50 percent chance the baby will have Sickle Cell Trait (AS), and a 1-in-4 chance (25 percent) the baby will have Sickle Cell Anemia (SS). These chances remain the same with each pregnancy.



Caso-I

Ipotesi:
Portatore di HbS

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	82
MCH	27
HbA2	3,2
HbF	0,4
HbS	40



GR	6,39
Hb	13,6
MCV	83
MCH	28
HbA2	3,3
HbF	0,4
HbS	38

Ipotesi:
Portatore di HbS

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi variante HbS

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi variante HbS

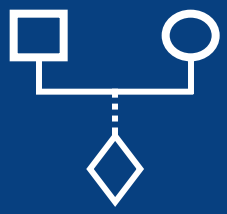
Counselling genetico:
Rischio del 25% di prole affetta da Drepanocitosi

SI
Percorso di DP/PGD!!

Caso-L

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	60
MCH	21
HbA2	5,2
HbF	2,4



GR	6,39
Hb	13,6
MCV	83
MCH	28
HbA2	3,3
HbF	0,4
HbS	38

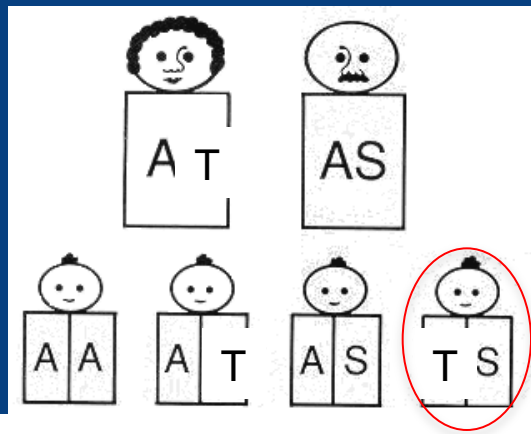
Ipotesi:
Portatore di HbS

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

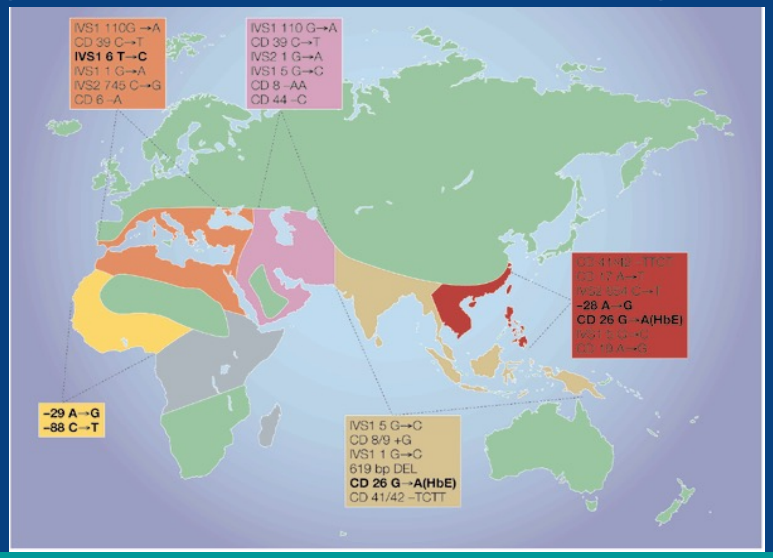
Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi variante HbS

Drepanocitosi: il fenotipo o diversi fenotipi…

Eterozigosi composta Sβ (microdrepanocitosi)



- Eterozigosi composta $\beta^s\beta^\circ$
- Eterozigosi composta $\beta^s\beta+$



Fenotipo dipende da:
- Tipo di mutazione Beta talassemica β° / $\beta+$
- Aplotipo β^s

Nei β° β^s (vs $\beta^s\beta^s$): Persistenza della splenomegalia e crisi di sequestro splenico per lo più in adolescenza

TABLE 3. Incidence of complications of sickle cell disease in the United States, by genotype

Complication	Gene variant*			
	Hb SS	*Hb SC*	*Hb S/* β°-thalassemia	*Hb S/* β⁺-thalassemia
Acute chest syndrome (per 100 patient-years)†	12.8	5.2	9.4	3.9
Cerebrovascular accidents (per 100 patient-years)‡	0.6	0.2	0.1	0.1
Pain crises (per patient-year)§	0.8	0.04	1.0	0.4

* *Hb SS*, sickle cell anemia; *Hb SC*, sickle hemoglobin C disease; *Hb S*, sickle hemoglobin.
† Source: Castro et al. (7).
‡ Source: Ohene-Frempong et al. (17).
§ Source: Platt et al. (6).

TABLE 4. Median survival of individuals of all ages with sickle cell disease in the United States, by sex and genotype, 1980s*

Sex and genotype†	Median survival (years)
Male, *Hb SS*	42
Female, *Hb SS*	48
Male, *Hb SC*	60
Female, *Hb SC*	68

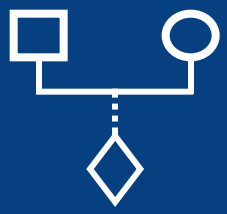
* Source: Platt et al. (14).
† *Hb SS*, sickle cell anemia; *Hb SC*, sickle hemoglobin C disease.

Ashley-Koch-a J Epidemiol, 2000

Caso-L

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	60
MCH	21
HbA2	5,2
HbF	2,4



GR	6,39
Hb	13,6
MCV	83
MCH	28
HbA2	3,3
HbF	0,4
HbS	38

Ipotesi:
Portatore di HbS

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi variante HbS

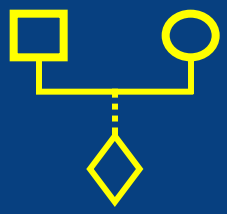
Counselling genetico:
Rischio del 25% di Microdrepanocitosi

SI
Percorso di DP!!

Caso N

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	60
MCH	21
HbA2	5,2
HbF	2,4



GR	6,39
Hb	13,6
MCV	90
MCH	30
HbA2	1,5
HbF	0,4
Hbvar	1,2%

Ipotesi:
Portatore di variante delta globinica

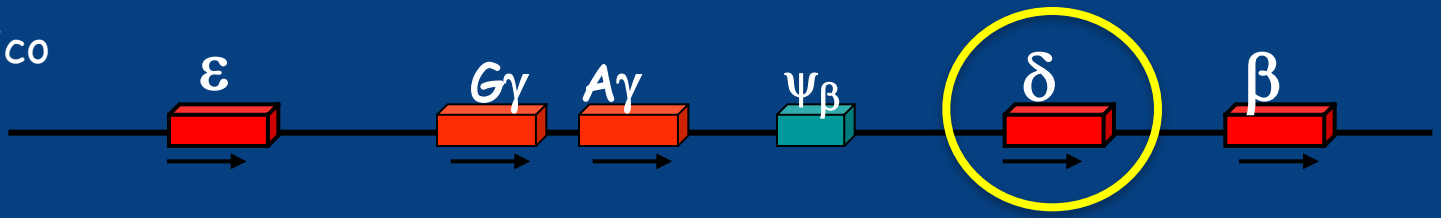
Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni delta globinici:
Eterozigosi variante delta globinica Hb A2' (or B2)

δ-Talassemia

deficit quantitativo o di funzione delle catene globiniche δ

Cluster beta globinico



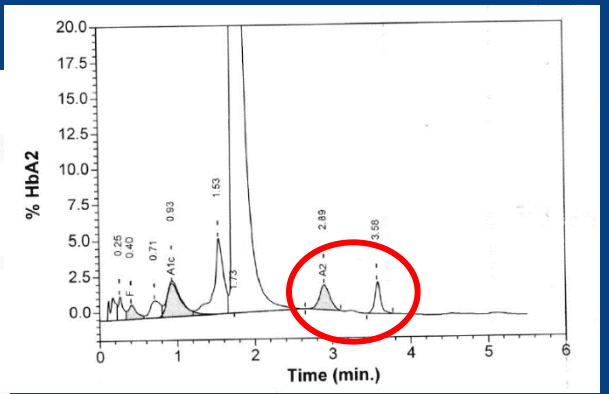
Trait δ-Talassemico isolato
pattern tipico

EMOCROMO			
GLOBULI BIANCHI :	11.40	x10^3/µl	4.00 - 11.00
GLOBULI ROSSI :	4.70	x10^6/µl	3.80 - 5.80
HGB :	13.9	g/dl	11.5 - 16.5
HCT :	41	%	40 - 54
MCV :	88	fl	76 - 96
MCH :	29.6	pg	27.0 - 32.0
MCHC :	33.7	g/dl	30.0 - 35.0
PLT :	238	x10^3/µl	150 - 450
ERITROBLASTI :	0.0	%	
NEUTROFILI :	8.03	x10^3/µl	2.00 - 7.50
LINFOCITI :	2.02	x10^3/µl	1.50 - 5.00
MONOCITI :	0.97	x10^3/µl	0.20 - 1.00
EOSINOFILI:	0.29	x10^3/µl	0.04 - 0.40
BASOFILI :	0.09	x10^3/µl	0.01 - 0.10
Neutrofili :	70.5	%	
Linfociti :	17.7	%	
Monociti :	8.5	%	
Eosinofili :	2.5	%	
Basofili :	0.8	%	
EMOGLOBINA A2:	1.8	%	2.0 - 3.3
EMOGLOBINA F :	0.6	%	0.0 - 1.0

Delezione δ -7.2 Kb Corfù

[0] EMOCROMO			
GLOBULI BIANCHI :	9.57	x10^3/µl	4.00 - 11.00
GLOBULI ROSSI :	4.12	x10^6/µl	3.80 - 5.80
HGB :	11.3	g/dl	11.5 - 16.5
HCT :	34	%	40 - 54
MCV :	83	fl	76 - 96
MCH :	27.4	pg	27.0 - 32.0
MCHC :	33.2	g/dl	30.0 - 35.0
PLT :	267	x10^3/µl	150 - 450
ERITROBLASTI :	0.00	%	
NEUTROFILI :	7.44	x10^3/µl	2.00 - 7.50
LINFOCITI :	1.31	x10^3/µl	1.50 - 5.00
MONOCITI :	0.57	x10^3/µl	0.20 - 1.00
EOSINOFILI:	0.24	x10^3/µl	0.04 - 0.40
BASOFILI :	0.01	x10^3/µl	0.01 - 0.10
Neutrofili :	77.70	%	
Linfociti :	13.70	%	
Monociti :	6.00	%	
Eosinofili :	2.50	%	
Basofili :	0.10	%	
[0] EMOGLOBINA A2:	1.8	%	2.0 - 3.3
[0] EMOGLOBINA F :	0.8	%	0.0 - 1.0
[0] COMMENTO :	Presenza di banda anomala (1.2%) in zona post HbA2. Si consiglia consulenza presso Istituto di Genetica Medica		
[0] FERRO :	62	µg/dl	60 - 180
[0] TRANSFERRINA :	392	mg/dl	200 - 360
[0] FERRITINA :	9	ng/ml	11 - 306

Variante delta Hb A_2' (or B_2)

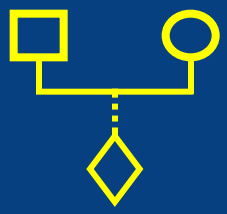


Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1b	---	0.7	0.254	13265
F	0.8	---	0.403	14918
LA1c	---	1.4	0.706	27664
A1c	5.1	---	0.932	59074
P3	---	4.8	1.530	92043
Ao	---	86.3	1.732	1650555
A2	1.8	---	2.892	32454
Unknown	---	1.2	3.578	22487

Caso N

Ipotesi:
Portatore di trait beta talassemico

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	60
MCH	21
HbA2	5,2
HbF	2,4



GR	6,39
Hb	13,6
MCV	90
MCH	30
HbA2	1,5
HbF	0,4
Hbvar	1,2%

Ipotesi:
Portatore di variante delta globinica

Analisi molecolare geni beta globinici:
Eterozigosi Beta° cod 39

Analisi molecolare geni delta globinici:
Eterozigosi variante delta globinica Hb A2' (or B2)

Counselling genetico:
Rischio del 25% di feto con doppia eterozigosi per la mutazione Beta° cod39 e la variante delta Hb A2' (or B2)

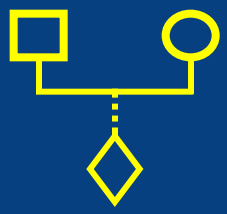
Fenotipo:
Microcitosi
HbA2 nella norma

No Percorso DP!!

Caso O

Ipotesi:
Portatore di variante delta globinica

GR	6,39
Hb	13,6
MCV	90
MCH	30
HbA2	1,5
HbF	0,4
Hbvar	1,2%



GR	6,39
Hb	13,6
MCV	90
MCH	30
HbA2	1,5
HbF	0,4
Hbvar	1,2%

Ipotesi:
Portatore di variante delta globinica

Non analisi molecolare

Counselling genetico:
Rischio del 25% di feto con eterozigosi composta per le mutazioni a carico dei geni delta globinici

Fenotipo:
Normocitosi
Normocromia
↓ HbA2
Variante delta globinica

No Percorso DP!!

CASO CLINICO-NGS
Consulenza genetica riproduttiva

RIPORTATA DIAGNOSI DI **TALASSEMIA MAJOR**

INIZIO REGIME TRASFUSIONALE INTORNO AI 3 ANNI

SPLENECTOMIA A 9 ANNI

ATTUALMENTE INTERVALLO TRASFUSIONALE circa 30gg

TERAPIA FERROCHELANTE (EXJADE)

NON ELEMENTI DI INCREMENTO DEL RISCHIO GENETICO

[0] EMOCROMO			
GLOBULI BIANCHI :	9.94	x10^3/µl	4.00 - 11.00
GLOBULI ROSSI :	4.62	x10^6/µl	3.80 - 5.80
HGB :	13.3	g/dl	11.5 - 16.5
HCT :	41	%	40 - 54
MCV :	88	fl	76 - 96
MCH :	28.8	pg	27.0 - 32.0
MCHC :	32.8	g/dl	30.0 - 35.0
PLT :	225	x10^3/µl	150 - 450
ERITROBLASTI :	0.00	%	
NEUTROFILI :	7.26	x10^3/µl	2.00 - 7.50
LINFOCITI :	2.02	x10^3/µl	1.50 - 5.00
MONOCITI :	0.59	x10^3/µl	0.20 - 1.00
EOSINOFILI:	0.03	x10^3/µl	0.04 - 0.40
BASOFILI :	0.04	x10^3/µl	0.01 - 0.10
Neutrofili :	73.10	%	
Linfociti :	20.30	%	
Monociti :	5.90	%	
Eosinofili :	0.30	%	
Basofili :	0.40	%	
[0] EMOGLOBINA A2:	2.6	%	2.0 - 3.3
[0] EMOGLOBINA F :	0.2	%	0.0 - 1.0
[0] COMMENTO :	I parametri di laboratorio non indicano segni fenotipici di trait beta talassemico. Assenza di bande anomale.		

MLPA HBA

CONCLUSIONE:
Risultato compatibile con assenza di delezioni/duplicazioni nel cluster alfa globinico.
E' appropriata consulenza genetica.
Sensibilità diagnostica ~80%.

CASO CLINICO-NGS
Consulenza genetica riproduttiva

NGS GENI HBB E HBA

NON ELEMENTI DI INCREMENTO DEL RISCHIO GENETICO

Genotipo eterozigote composto per le mutazioni:
•c.92+6T>C [IVS-I-6 (T>C)] (Portuguese type beta+)
•p.(Gln40Ter) [Beta° cod.39] nel gene Beta globinico

Genotipo eterozigote per la mutazione triplo alfa anti – 3.7 nel cluster Alfa globinico

[0] EMOCROMO			
GLOBULI BIANCHI :	9.94	x10^3/µl	4.00 - 11.00
GLOBULI ROSSI :	4.62	x10^6/µl	3.80 - 5.80
HGB :	13.3	g/dl	11.5 - 16.5
HCT :	41	%	40 - 54
MCV :	88	fl	76 - 96
MCH :	28.8	pg	27.0 - 32.0
MCHC :	32.8	g/dl	30.0 - 35.0
PLT :	225	x10^3/µl	150 - 450
ERITROBLASTI :	0.00	%	
NEUTROFILI :	7.26	x10^3/µl	2.00 - 7.50
LINFOCITI :	2.02	x10^3/µl	1.50 - 5.00
MONOCITI :	0.59	x10^3/µl	0.20 - 1.00
EOSINOFILI:	0.03	x10^3/µl	0.04 - 0.40
BASOFILI :	0.04	x10^3/µl	0.01 - 0.10
Neutrofili :	73.10	%	
Linfociti :	20.30	%	
Monociti :	5.90	%	
Eosinofili :	0.30	%	
Basofili :	0.40	%	
[0] EMOGLOBINA A2:	2.6	%	2.0 - 3.3
[0] EMOGLOBINA F :	0.2	%	0.0 - 1.0
[0] COMMENTO :	I parametri di laboratorio non indicano segni fenotipici di trait beta talassemico. Assenza di bande anomale.		

MLPA HBA

CONCLUSIONE:
Risultato compatibile con assenza di delezioni/duplicazioni nel cluster alfa globinico.
E' appropriata consulenza genetica.
Sensibilità diagnostica ~80%.

CASO CLINICO-NGS
Consulenza genetica riproduttiva

Rischi riproduttivi <u>per la coppia</u>

- **50%** di **doppia eterozigosi** mutazione beta talassemica e triplo alfa con quadro ematologico di anemia di severità molto variabile → **Talassemia Intermedia**

- **50%** di **portatore sano di beta talassemia**

EMQN Best Practice Guidelines for molecular and haematology methods for carrier identification and prenatal diagnosis of the haemoglobinopathies

This article has been amended since online publication. A corrigendum also appears in this issue.

Joanne Traeger-Synodinos[*,1], Cornelis L Harteveld[2], John M Old[3], Mary Petrou[4], Renzo Galanello[5], Piero Giordano[2], Michael Angastiniotis[6], Barbara De la Salle[7], Shirley Henderson[8] and Alison May[6] on behalf of contributors to the EMQN haemoglobinopathies best practice meeting

European Journal of Human Genetics (2015) 23, 426–437

Table 1 β-Thalassaemias and β-globin gene disorders—genotype interactions, disease states and recommendations for prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis (PGD)

Genotype interaction	*Disorder expected*	*Appropriate to offer PND*
Homozygous		
β^0 or severe β^+-thalassaemia	Thalassaemia major	Yes
Mild β^+-thalassaemia	Thalassaemia intermedia	Occasionally[a]
Mild β^{++}-thalassaemia (silent)	Very mild thalassaemia intermedia	No
$\delta\beta^0$-thalassaemia	Thalassaemia intermedia	Occasionally[a]
Hb Lepore	Thalassaemia intermedia to major (variable)	Occasionally[a]
HPFH	Not clinically relevant	No
Hb C	Not clinically relevant	No
Hb D-Punjab	Not clinically relevant	No
Hb E	Not clinically relevant	No
Hb O-Arab	Not clinically relevant	No
Compound heterozygous		
β^0/severe β^+-thalassaemia	Thalassaemia major	Yes
Mild β^+/β^0 or severe β^+-thalassaemia	Thalassaemia intermedia to major (variable)	Occasionally[a]
Mild β^{++}/β^0 or severe β^+-thalassaemia	Mild thalassaemia intermedia (variable)	Occasionally[a]
$\delta\beta^0/\beta^0$ or severe β^+-thalassaemia	Thalassaemia intermedia to major (variable)	Occasionally[a]
$\delta\beta^0$/mild β^+-thalassaemia	Mild thalassaemia intermedia	Occasionally[a]
$\delta\beta^0$/Hb Lepore	Thalassaemia intermedia	Occasionally[a]
Hb Lepore/β^0 or severe β^+-thalassaemia	Thalassaemia major	Yes
Hb C/β^0 or severe β^+-thalassaemia	β-thalassaemia trait to intermedia (variable)	Occasionally[a]
Hb C/mild β^+-thalassaemia	Not clinically relevant	No
Hb D-Punjab/β^0 or severe β^{++}-thalassaemia	Not clinically relevant	No
Hb E/β^0 or severe β^+-thalassaemia	Thalassaemia intermedia to major (variable)	Yes
Hb O-Arab/β^0-thalassaemia	Severe thalassaemia intermedia	Yes
$\alpha\alpha\alpha/\beta^0$ or severe β^+-thalassaemia	Mild thalassaemia intermedia	No
$\alpha\alpha\alpha\alpha/\beta^0$ and $\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha/\beta^0$-thalassaemia	Mild to severe thalassaemia intermedia (variable)	Occasionally[a]

Note: The decision to have prenatal diagnosis belongs to the couple, once they have had comprehensive counselling.
[a]Couples with genotypes that may lead to offspring with unpredictable phenotypes occasionally select to have prenatal diagnosis or PGD.

Table 2 Sickle cell disorders—interactions and indications for prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis (PGD)

Genotype interaction	*Disorder expected*	*Appropriate to offer PND*
Homozygous		
Hb S	Sickle cell disease	Yes
Compound heterozygous		
Hb S/β° or severe β^{+}-thalassaemia	Sickle cell disease	Yes
Hb S/mild β^{+}-thalassaemia	Mild sickle cell disease	Occasionally[a]
Hb S/$\delta\beta^{\circ}$-thalassaemia	Mild sickle cell disease	Occasionally[a]
Hb S/Hb Lepore	Mild sickle cell disease	Occasionally[a]
Hb S/HbC	Sickle cell disease (variable severity)	Yes
Hb S/Hb D-Punjab	Sickle cell disease	Yes
Hb S/Hb O-Arab	Sickle cell disease	Yes
Hb S/Hbs C-Harlem, S-Southend, S-Antilles	Sickle cell disease	Yes
Hb C/Hb S-Antilles	Sickle cell disease	Yes
Hb S/Hbs Quebec-Chori, C-Ndjamena, O-Tibesi	Sickle cell disease	Yes
Hb S/Hbs I-Toulouse, Shelby, Hope, North Shore	Haemolytic anaemia	No
Hb S/Hb E	Mild to severe sickle cell disease	Occasionally[a]
Hb S/HPFH	Very mild sickle cell disease	No

Note: The decision to have prenatal diagnosis belongs to the couple, once they have had comprehensive counselling.
[a]Couples with genotypes that may lead to offspring with unpredictable phenotypes occasionally select to have prenatal diagnosis or PGD.

Table 3 α-Thalassaemias—interactions and indications for prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis

Genotype interaction	*Disorder expected*	*Appropriate to offer PND*
Homozygous		
α°-thalassaemia ($--/--$)	Hb Bart's hydrops fetalis	Yes
α^{+}-thalassaemia ($-\alpha/-\alpha$)	Not clinically relevant	No
α^{+}-thalassaemia ($\alpha^{T}\alpha/\alpha^{T}\alpha$)	Severe α-thalassaemia carrier to severe Hb H disease	Occasionally[a]
Compound heterozygous		
α°-thal/α^{+}-thal ($--/-\alpha$)	Hb H disease	No

Note: The decision to have prenatal diagnosis belongs to the couple, once they have had comprehensive counselling.
[a]Couples with genotypes that may lead to offspring with unpredictable but potentially severe phenotypes occasionally select to have prenatal diagnosis or PGD. Reported examples of potentially severe phenotypes include genotype combinations involving variants in the polyadenylation signal in the *HBA2* gene, Hb Adana, Hb Agrino, Hb Constant Spring and Hb Taybee (see Supplementary Table S1 for HGVS nomenclature).

Journal of Clinical Medicine

MDPI

Opinion

First and Second Level Haemoglobinopathies Diagnosis: Best Practices of the Italian Society of Thalassemia and Haemoglobinopathies (SITE)

Giorgia Mandrile [1], Susanna Barella [2,3], Antonino Giambona [2,3], Antonia Gigante [4,5], Michela Grosso [5,6], Silverio Perrotta [4,5], Saverio Sciarquetta [3,5] and Gian Luca Forni [7,8,*]

Prenatal diagnosis orientation table.

Expected Phenotype	Degree of Uncertainty in Predicting Phenotype	Agreement among Experts	Indication to Make PND Available	Agreement among Experts
2 severe β0 or β+ mutations	thalassemia major	low	100%	strong	94%
Hb Lepore + severe β0 or β+ mutations	thalassemia major	low	100%	strong	94%
δβ0 + severe β0 or β+ mutations	severe thalassemia intermedia/thalassemia major	low	100%	strong	94%
HbE + severe β0 or β+ mutations	severe thalassemia intermedia/thalassemia major	average	100%	strong	94%
Hb O-Arab + severe β0 or β+ mutations	thalassemia intermedia/thalassemia major	average	94%	strong	94%
Homozygous δβ0 thalassemia	thalassemia intermedia	low	100%	open	100%
δβ0 + mild β+ mutations	thalassemia intermedia	high	88%	open	98%
δβ0 + Hb Lepore/HbE/Hb O-Arab	thalassemia intermedia	average	88%	open	100%
HbC + severe β0 or β+ mutations	thalassemia intermedia	average	88%	open	100%
Homozygous HbC /HbE/HbD Punjab/Hb O-Arab	thalassemia intermedia	high	88%	low	98%
Hb D-Punjab/Hb O-Arab + severe β0 or β+ mutations	thalassemia intermedia	high	94%	clear	88%
HbS/HbE	drepanocytic syndrome with intermediate course	average	88%	open	94%
HbS + severe β0 or β+ mutation	drepanocytic syndrome	low	88%	clear	100%
HbS + mild β+ mutations	drepanocytic syndrome with intermediate course	average	100%	open	92%
HbS +δβ0 or Hb Lepore	drepanocytic syndrome with intermediate course	average	100%	open	100%
HbS + HbD Punjab	drepanocytic syndrome	high	100%	clear	100%
α0 + α+ thalassemia (–/-α)	HbH disease	average	94%	open	100%
ααα o αααα + severe β0 or β+ mutations	thalassemia intermedia with variable clinical picture	average	86%	open	94%
ααα o αααα + β+ mutation	mild thalassemia intermedia	average	82%	low	100%
2 silent β+ mutations	very mild thalassemia intermedia	low	100%	low	96%
HbC + mild β+ mutations	mild thalassemia intermedia	average	84%	low	92%
HPFH	not clinically significant	low	100%	none	100%
Homozygous α+ thalassemia	not clinically significant	low	100%	none	100%
Homozygous ααα	not clinically significant	low	100%	none	100%

RIASSUNTO DELLE PIÙ FREQUENTI COMBINAZIONI IN DIAGNOSI PRENATALE

(2) (24)

Genitore portatore di	β0	HbS	HbC/ Hb O-Arab/ HbD-Punjab	HbE	δβ0	HbLepore	β+	α0	α+
β0									
HbS									
HbC/ Hb O-Arab/ HbD-Punjab									
HbE									
δβ0									
Hb Lepore									
β+									
α0									
α+									

In rosso le situazioni con indicazione alla diagnosi prenatale, in giallo le situazioni in cui l'indicazione alla diagnosi prenatale è aperta.

Buone Pratiche SITE, Giugno 2022

Message to take home……

L'approccio è per una patologia genetica autosomica-recessiva: il rischio sussiste **se entrambi** i partner sono portatori (attenzione AD)

- Scelta dell'Iter diagnostico appropriato (NGS in tal senso ci sta facilitando il compito!!)
- Concordanza di tutti i dati in nostro possesso (dati familiari, accertamenti ematologici, cromatografia Hb, molecolari) Attenzione errori di laboratorio!!!!!!!
- Corretta correlazione genotipo/fenotipo, indispensabile ad una formulazione del rischio di talassemia ed emoglobinopatia per la prole
- Confronto e collaborazione tra i centri di riferimento

Epoca preconcezionale: epoca ideale per effettuare gli accertamenti ematologici/molecolari per formulazione un definito rischio di occorrenza di talassemia/emoglobinopatia, per consentire tutte le opzioni riproduttive

Corretto Counselling (tipo di rischio, qualità del rischio)

Importanza dei colloqui congiunti multidisciplinari

In gravidanza è meglio effettuare precocemente gli esami alla coppia, in modo da consentire tutte le opzioni riproduttive

Rendere i singoli e le coppie consapevoli del rischio di patologia genetica per la prole, aiutandoli nelle loro decisioni riproduttive

…evitare la nascita di un bimbo affetto in coppie <u>inconsapevoli</u> del rischio e non evitare la nascita di un bambino affetto

Dott. Calogero Vullo

Un particolare ringraziamento a

UO di Genetica Medica

Equipe medici
consulenza genetica
(in particolare i medici in formazione)

Gruppo GSG

Gruppo NGS

Lab Analisi

Dott. Marco Lucci

Servizio di Diagnosi Prenatale

DH Talassemie ed Emoglobinopatie

Grazie per l'attenzione .....