



Meeting del CLUB DEL

# Globulo Rosso

NAPOLI, 12-13 SETTEMBRE 2022  
Complesso dei SS. Marcellino e Festo



## LIBRO DEGLI ABSTRACTS

### SEGRETERIA SITE

Via De' Poeti, 1/7 - 40124 Bologna  
Tel. 051 6390906  
Fax 051 4210174  
E-mail: [segreteria@ercongressi.it](mailto:segreteria@ercongressi.it)  
[www.site-italia.org](http://www.site-italia.org)

### SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

Studio ER Congressi  
Via De' Poeti 1/7 - 40124 Bologna  
Tel. 051 4210559 - Fax 051 4210174  
[ercongressi@ercongressi.it](mailto:ercongressi@ercongressi.it)  
[www.ercongressi.it](http://www.ercongressi.it)

Meeting del CLUB DEL  
**Globulo Rosso**

NAPOLI, 12-13 SETTEMBRE 2022  
Complesso dei SS. Marcellino e Feste

**RESPONSABILI SCIENTIFICI**

**Achille Iolascon**

*Dipartimento di Medicina molecolare e Biotecnologie mediche  
Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli*

**Raffaella Origa**

*Azienda Ospedaliera 'G.Brotzu',  
Università di Cagliari, Cagliari*

**SEGRETERIA SITE**

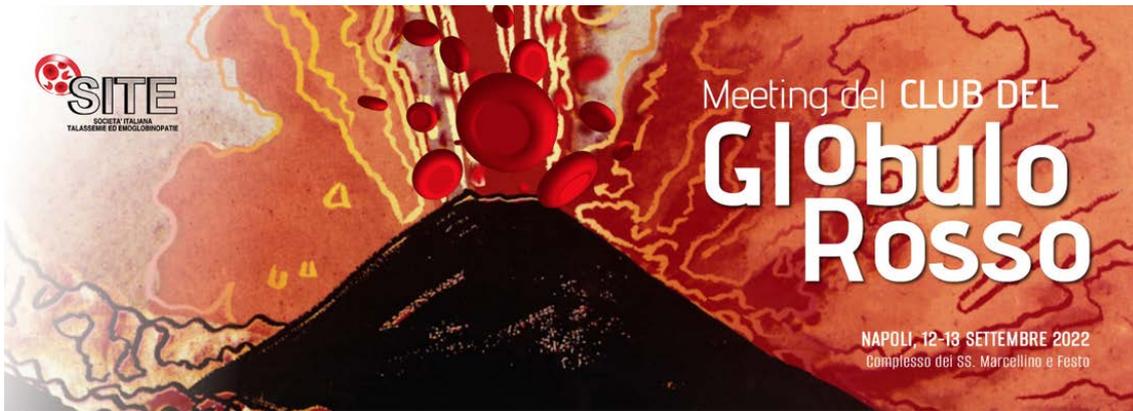
Via De' Poeti, 1/7 - 40124 Bologna  
Tel. 051 6390906 - Fax 051 4210174  
segreteria@ercongressi.it  
www.site-italia.org

**SEGRETERIA ORGANIZZATIVA**

Studio ER Congressi  
Via De' Poeti 1/7 - 40124 Bologna  
Tel. 051.4210559 - Fax 051.4210174  
ercongressi@ercongressi.it  
www.ercongressi.it

## INDEX

Comunicazioni Orali .....	1
Abstracts .....	7



## Comunicazioni Orali

### CO01

#### **STUDIO RETROSPETTIVO DI COORTE IN 35 PAZIENTI CON SOSPETTO CLINICO DI ANEMIA DISERITROPOIETICA CONGENITA DI TIPO I: IMPLICAZIONI DIAGNOSTICHE E TERAPEUTICHE**

R. Marra<sup>1,2</sup>, A. Nostro<sup>1,2</sup>, F.M. Esposito<sup>1,2</sup>, B.E. Rosato<sup>1,2</sup>, V. D'Onofrio<sup>1,2</sup>, F. Del Giudice<sup>1,2</sup>, A. Gambale<sup>2,3</sup>, B. Bruschi<sup>4</sup>, S. Unal<sup>5</sup>, I. Andolfo<sup>1,2</sup>, A. Iolascon<sup>1,2</sup>, R. Russo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli;

<sup>2</sup>CEINGE, Biotecnologie Avanzate, Napoli; <sup>3</sup>DAIMedLab UOC Genetica Medica AOU Federico II, Napoli;

<sup>4</sup>Oncoematologia Pediatrica, AOU Ospedali Riuniti, Ancona; <sup>5</sup>Ematologia pediatrica, Università di Hacettepe, Ankara, Turchia

Le anemie diseritropoietiche congenite (CDA) sono malattie ereditarie caratterizzate da anomalie del differenziamento eritroide. Il sottotipo I è caratterizzato da anemia macrocitica o normocitica, splenomegalia, sovraccarico di ferro, anomalie morfologiche congenite, e presenza di ponti internucleari tra eritroblasti. Ad oggi, due geni sono stati identificati come causativi di tale condizione: CDAN1, che codifica per la proteina Codanina-1; C15orf41, recentemente rinominato CDIN1, codificante una proteina dalla funzione ancora ignota. La frequenza riportata di CDAI è compresa tra 1:1.000.000 e 1:207.000 nati vivi, suggerendo la presenza di molti casi, ad oggi, non diagnosticati. L'estrema rarità della condizione, unita all'eterogeneità clinica ed alla sovrapposizione fenotipica con altre anemie rare, rendono la diagnosi differenziale di

tale patologia complicata. Il presente studio descrive una coorte selezionata di 35 pazienti con sospetto clinico di CDAI riferiti alla nostra unità di genetica medica per inquadramento diagnostico nel periodo 2010-2022.

Il test genetico è stato realizzato mediante sequenziamento diretto dei geni candidati (2010-2014) o mediante approccio NGS (2014-2022). L'analisi molecolare così condotta ha portato ad una diagnosi conclusiva nel 71.4% dei casi (25/35). Dei 25 pazienti conclusivamente diagnosticati, 13 sono risultati affetti da CDAI (37.1%), 10 mutati in CDAN1 e 3 in CDIN1. Essi presentano età media alla diagnosi di 10 anni, anemia moderata tendenzialmente macrocitica (Hb media 9.5 g/dL, MCV medio 90.1 fL); il 70% di essi è trasfusione dipendente. Sono stati osservati livelli aumentati di ferritina sierica, recettore solubile della transferrina, eritropoietina ed eritroferone, e livelli ridotti di epcidina. L'analisi morfologica del midollo osseo ha evidenziato la presenza di eritroblasti bi/multinucleari e di ponti internucleari in 4 pazienti. Infine, i 3 pazienti mutati in CDIN1 presentano displasia toracica, sindattilia, arti corti.

È interessante notare che dei 25 pazienti con diagnosi conclusiva, il 48.0% (12/25) ha mostrato una diagnosi di anemia ereditaria rara non-CDAI, in particolare da deficit di piruvato chinasi. Pertanto, tale studio dimostra la necessità di un corretto inquadramento fenotipo e diagnostico al fine di definire condizioni estremamente rare, quali la CDAI, nella prospettiva di gestire in maniera appropriata il paziente alla luce delle continue innovazioni terapeutiche ad oggi disponibili.

**C002****DA ERITROCITOSI AD ANEMIA: UN CASO DI ANEMIA EREDITARIA ASSOCIATO AD UNA NUOVA VARIANTE DA PERDITA DI FUNZIONE NEL GENE EPAS1**

B.E. Rosato<sup>1,2</sup>, R. Marra<sup>1,2</sup>, F. Del Giudice<sup>1,2</sup>, S. Gobbi<sup>3</sup>, P. Coccia<sup>3</sup>, B. Bruschi<sup>3</sup>, A. Iolascon<sup>1,2</sup>, I. Andolfo<sup>1,2</sup>, R. Russo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli; <sup>2</sup>CEINGE, Biotecnologie Avanzate, Napoli; <sup>3</sup>Oncoematologia Pediatrica, AOU Ospedali Riuniti, Ancona, Italia

EPAS1, gene causativo dell'eritrocitosi di tipo IV, codifica per un fattore trascrizionale coinvolto nell'induzione di geni regolati dall'ossigeno, in condizioni di ipossia. L'eritrocitosi è caratterizzata da un aumento della massa e del numero dei globuli rossi (GRs), dell'emoglobina (Hb), e dell'ematocrito (Hct). La maggior parte delle varianti causative sono varianti missenso in eterozigosi, che si associano ad un aumento della produzione di EPO, con conseguente fenotipo da guadagno di funzione (GoF).

Descriviamo qui un caso clinico di un bambino di otto anni giunto alla nostra attenzione per sospetta sindrome mielodisplastica. Il probando presentava anemia cronica (Hb 10.2g/dL) normocitica (MCV 83 fl) con ridotto Hct (31.2%) e riduzione dei GRs (3.7 x10<sup>6</sup>/μL). L'analisi molecolare, condotta mediante un pannello NGS per difetti ereditari del GR, ha rivelato la presenza di una nuova variante nonsenso in stato eterozigote in EPAS1 (NM\_001430.4:c.61delG, p.Asp21Metfs\*27), predetta come patogenetica secondo le linee guida ACMG. L'analisi familiare ha rivelato la presenza della stessa variante anche nel padre e nella sorella che esibivano lo stesso fenotipo, ma non nella madre e nel fratello, non affetti. Il probando e suo padre, inoltre, presentavano una riduzione dei livelli plasmatici di EPO (4.7 mU/ml e 3.8 mU/mL rispettivamente). Pertanto, i dati biochimici non supportavano la diagnosi di eritrocitosi suggerendo che l'allele mutato si associasse a un fenotipo da perdita di funzione (LoF). Il residuo mutato è altamente conservato ed è compreso in un dominio helix-loop-helix, necessario per legare l'elemento di risposta all'ipossia (HRE) sul DNA. Abbiamo, quindi, misurato i livelli di espressione genica di alcuni target di EPAS1 (HIF1a, ATOH8, VEGF), che risultano downregolati nei soggetti portatori della variante non senso rispetto ai controlli sani, dimostrando che la variante altera la capacità di EPAS1 di legare il DNA ed indurre la trascrizione dei geni bersaglio.

Questo paradigmatico caso clinico dimostra, per la prima volta, la presenza di un fenotipo patologico da LoF causato da variante in EPAS1. Di fatti, varianti comuni EPAS1-LoF sono state descritte solo in individui sani che vivono ad alta quota, come effetto fisiologico di adatta-

mento a condizioni di ipossia. Questo caso clinico conferma, inoltre, l'importanza dell'NGS nell'identificazione di nuovi meccanismi patogenici nell'ambito delle anemie ereditarie.

**C003****HBA2 AUMENTATA IN TRAIT BETA TALASSEMICO, MA FENOTIPO NORMOCITEMICO**

E.R. Testa, L. Geremia, T. Romanet, V. Brunetta, A. Bontadini

Dipartimento di Medicina Trasfusionale, Ospedale Santa Maria degli Angeli, ASFO (Azienda Sanitaria Friuli Occidentale), Pordenone (PN), Italia

*Introduzione:* Riportiamo due casi clinici con presenza di HbA2 aumentata all'assetto emoglobinico eseguito in HPLC, ma in assenza di anemia e microcitosi in normosideremia, sempre es. emocromo normali. *Caso*

*Clinico 1:* Gravida 11° SG 33 aa, provenienza siciliana, in counselling prenatale, rilevato aumento della frazione >HbA2 3.8-3.9% dell'assetto emoglobinico, noto dal 2020, in sospetto trait beta-talassemico silente, HbF 1.7%, non presenti varianti anomale dell'Hb. Esami emocromo nella norma in assenza di anemia e microcitemia Hb 13.5 g/dL, MCV 83.6 fL, vitB12 in range. Necessaria analisi molecolare emoglobinopatie per identificazione molecolare. Eseguito test genetico dei geni alfa e beta-globinico, che non rileva mutazioni a carico del cluster alfa globinico. Si conferma invece lo stato di portatrice eterozigote di trait beta+-talassemia per la variante HBB:c.-151C>T (IVS-101C>T). Come riportato in letteratura, è una mutazione genetica del gene beta-globinico che non sempre dà all'analisi di primo livello un valore HbA2 particolarmente aumentato, ma soprattutto non sempre un quadro fenotipico dell'emocromo suggestivo di microcitosi o anemia, in particolar modo nelle forme "silenti" come il caso in questione. Estendere il test al padre del nascituro ed alla prole e screening neonatale emoglobinopatie.

*Clinico 2:* Donna 22 aa, origine toscana, in counselling preconcezionale, riscontro all'assetto emoglobinico di >HbF 2.5% e lieve aumento di >HbA2 3.6-3.5%, per sospetto trait beta-talassemico, inviato campione a test molecolare. L'analisi genetica emoglobinopatie del gene gamma e beta-globinico c/o Lab. di riferimento, conclude per portatore eterozigote sempre per la variante HBB:c.-151C>T (-101C>T), descritta in letteratura come Beta+ (silente) talassemia. Mentre per il gene gamma-globinico risulta soggetto omozigote per la delezione HBG1:c.-222\_-225delAGCA, associata ad aumento di Hb Fetale nell'adulto, quest'ultimo di non particolare significato clinico. All'es. emocromocitometrico MCV 89.4 fL, Hb 12.1 g/dL, vit B12 e folati nella norma.

*Conclusioni:* Varietà di beta talassemia "silente" i cui parametri ematologici sono nella norma, l'HbA2 è borderline o lievemente superiore alla norma. Le beta talas-

semia silenti sarebbero delle vere beta talassemie, tra l'altro non rare, attualmente in letteratura circa il 2% di tutte le microcitemie non alfa, con riscontro occasionale allo studio delle frazioni emoglobinarie, ma che andrebbero attentamente considerate.

#### CO04

##### TRATTO TALASSEMICO E DIFETTO DI MEMBRANA: UNA COMORBIDITA' DA NON DIMENTICARE

G. Mandrile<sup>1</sup>, A. Roetto<sup>2</sup>, M. Barberis<sup>3</sup>, L. Sbaiz<sup>3</sup>, E. Fermo<sup>4</sup>, C. Vercellati<sup>4</sup>, N. Murciano<sup>5,6</sup>, M. Qiao<sup>5</sup>, L. Kaestner<sup>5</sup>, S. Egee<sup>7</sup>, F. Longo<sup>1</sup>, P. Bianchi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>SSD Microcitemie, AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO); <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino; <sup>3</sup>SCDU Genetica Medica, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino; <sup>4</sup>UOS Fisiopatologia Anemie, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano; <sup>5</sup>Theoretical Medicine and Biosciences, Medical Faculty, Saarland University, Homburg, Germany; <sup>6</sup>Research and Development, Nanion Technologies, Munich, Germany; <sup>7</sup>Integrative Biology of Marine Models, Station Biologique de Roscoff, CNRS, UMR 8227, Sorbonne Université, Roscoff Cedex, France

La coeredità di tratto talassemico e difetti del globulo rosso è relativamente frequente; la presenza di tratto talassemico può essere un fattore confondente nell'identificazione della causa di anemia usando test diagnostici standard e l'utilizzo di pannelli NGS può aiutare nella corretta diagnosi.

Descriviamo il caso di un maschio di 46 anni, affetto da anemia e ittero. In anamnesi episodi di subittero, Hb media in passato 12 g/dl, MCV 65 fl, MCHC 22 pg. Alla visita: Hb 9.2 g/dl, MCV 73.4 fl, MCH 23 pg, reticolociti 138000/uL, bilirubina tot 8.1 mg/dl (indiretta 7.63), LDH 451 U/L, HbA2: 3.4%. HbF 39.8%, sideremia 224 ug/dl, transferrina 191 mg/dl, ferritina 1417 ng/ml (sat 60%), aptoglobina consumata, transaminasi normali, Coombs diretto e indiretto normali. LIC con SQUID: 14.7 mgFe/g liver dry weight. Al EO: pallore, subittero, splenomegalia. Eco addome: steatosi epatica, milza 21 cm. Figlio unico di genitori non consanguinei, originari di Foggia e Oristano. La madre presenta emocromo nella norma, padre non disponibile.

L'analisi del gene beta globinico con reverse dot blot e sequenziamento Sanger su sangue periferico ha rilevato omozigosi per la mutazione CD39, mentre lo stesso esame su spazzolato buccale ha rilevato eterozigosi per la mutazione CD39. Sono risultate normali: MLPA dei geni alfa e beta globinici, HPFH1,2,4,5 e promotore dei geni HGB1 e HGB2, più frequenti mutazioni in TFR2, HFE e FPN1. Conferma molecolare della diagnosi di S. di Gilbert.

La severità del quadro clinico e la presenza di dacriociti e stomatociti allo striscio hanno indotto ad ipotizzare

un concomitante difetto di membrana del globulo rosso. L'ectacitometria e i test di fragilità osmotica sono risultati non informativi a causa dell'eterozigosi per CD39. L'analisi in NGS ha mostrato la presenza di una variante di incerto significato, mai descritta, in PIEZO1 c.5819G>A (p.Arg1940Gln) nel probando ma non nella madre. Mutazioni del gene PIEZO1 sono responsabili di xerocitosi ereditaria. Sono in corso analisi funzionali con high-throughput patch clamp per valutare la patogenicità della variante. Questo caso dimostra che la morfologia del globulo rosso può indurre a sospettare la presenza di concomitanti patologie del globulo rosso diverse dalla talassemia in pazienti con fenotipo atipico. In presenza di varianti di significato non noto è necessaria l'analisi funzionale per la determinazione del significato patogenico della variante.

#### CO05

##### CRISI FALCEMICA ACUTA ATIPICA MIMANTE UNA COLECISTITE ACUTA

M. Serra<sup>1</sup>, E. Colizzi<sup>1</sup>, M.R. De Paolis<sup>2</sup>, C. De Risi<sup>2</sup>, D. Canaris<sup>2</sup>, F. Parente<sup>1</sup>, N. Di Renzo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>"Centro Talassemia ed Emoglobinopatie", Unità Operativa di Medicina Interna, Ospedale "Vito Fazzi"; <sup>2</sup>Unità Operativa di Ematologia e Trapianto di cellule staminali, Ospedale "Vito Fazzi", Italia

Maschio, anni 28, affetto da Sick Cell Disease (SCD) in terapia con oncocarbide, ASA, accede in PS per dolore toraco-addominale resistente alla terapia antidolorifica. Si riscontrano aumento della bilirubina (tot 10 mg/dl, diretta 6,5 mg/dl), aumento dell'HbS a 62%, Hb 12,2 g/dl (Hb >10 g/dl con iperviscosità), PLT 509.000/uL, PCR 100, HbF 2,9%, HbA2 2,7%. L'angiografia toracica esclude una sindrome toracica acuta. All'ecodoppler evidenza di calcolosi della colecisti con pareti lievemente ispessite.

Il paziente viene ricoverato in Chirurgia. Il dolore diventa via via più localizzato in ipocondrio destro con comparsa di positività al segno di Murphy. Ulteriore incremento degli indici di colesterasi.

Nei pazienti SCD giovani-adulti con dolore addominale acuto le cause più frequenti sono relate a patologie del tratto biliare. I dati della letteratura evidenziano che il 60% dei pazienti affetti da SCD con età <30 e più del 40% <20 sono affetti da disfunzioni del tratto biliare (colecistite o fango biliare). Un'evenienza particolare è invece rappresentata dalla colesterasi intraepatica acuta, caratterizzata da dilatazione sinusoidale, iperplasia delle cellule di Kupffer ed eritrofagocitosi. Questo quadro necessita di immediato scambio eritrocitario potendo evolvere in insufficienza epatica acuta(1) ed il trattamento è rappresentato dalla trasfusione ematica, dallo scambio eritrocitario, l'utilizzo di agenti chelanti il ferro, idrossiurea, fino al trapianto.

L'iperbilirubinemia è presente in entrambi i casi e l'e-

cografia addominale può non essere sensibile per discriminare fra le diverse condizioni, poiché spesso l'ostruzione colestatica è minima.

In fase acuta la sicurezza della biopsia epatica è controversa(2), e spesso lo scambio eritrocitario può mascherare le alterazioni morfologiche(3). Recentemente è stato auspicato un ruolo del fibroscan(4).

Nel nostro paziente è stata eseguita una colangiogramma RMN che risultava negativa. Questi veniva quindi trasferito nel reparto di Ematologia, dove veniva trattato con salasso e, per il dato di HbS pari a 62%, con scambio eritrocitario, sino ad ottenere livelli di HbS pari a 35%, e regressione della sintomatologia dolorifica. L'avvio della terapia in acuto con crizanlizumab è stato efficace nel contenere il rischio di recidiva, cosicché, a più di 2 mesi dall'evento, non si sono presentate altre crisi.

In conclusione, si ribadisce la difficoltà nell'indirizzamento diagnostico dei pazienti affetti da SCD con episodi acuti addominali legati a disfunzioni del tratto biliare.

## CO06

### INFLUENZA DELLA DIETA SUI MICRODOMINI DI MEMBRANA DELL'ERITROCITA IN MODELLI ANIMALI

E. Pizzi<sup>1</sup>, M. Ponzi<sup>1</sup>, N. Sarleti<sup>1</sup>, F. Fratini<sup>1</sup>, S. Mochi<sup>1</sup>, C. Ferreri<sup>2</sup>, A. Sansone<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299; <sup>2</sup>Consiglio Nazionale Delle Ricerche, I.S.O.F. - Bio Free Radicals

In anni recenti è stato dimostrato il ruolo fondamentale dei microdomini di membrana, compartimenti altamente dinamici, ricchi in colesterolo e sfingolipidi, denominati "lipid-rafts", in diversi e fondamentali processi cellulari quali la trasduzione del segnale e l'organizzazione spaziale della membrana. È stato inoltre dimostrato che alterazioni di questi compartimenti sono coinvolte in diverse patologie.

Il lavoro che verrà presentato si basa su una nuova strategia messa a punto dal nostro gruppo<sup>1,2</sup> che consente la caratterizzazione e l'analisi comparativa dei "lipid-rafts" in diversi campioni cellulari, sfruttando un approccio multidisciplinare di proteomica, lipidomica e bioinformatica. La procedura sperimentale per isolare i "lipid-rafts" dal resto della membrana, sfrutta le loro proprietà chimico-fisiche che sono legate alla peculiare composizione lipidica e alle proteine ad essi associate e determina il loro galleggiamento lungo un gradiente di saccarosio. Attraverso un approccio di proteomica quantitativa è quindi possibile, per ciascuna proteina del campione, definire il corrispondente profilo di abbondanza lungo il gradiente. L'insieme di questi profili consente di generare una sorta di "bar-code" descrittivo dell'organizzazione dei microdomini del campione cellulare in studio. L'applicazione di metodi statistico/computazionali per-

mette il confronto dei "bar-code" di campioni cellulari sottoposti a trattamenti o a condizioni che possono perturbare l'organizzazione dei microdomini.

In questo studio, abbiamo analizzato l'organizzazione dei microdomini di membrana in eritrociti isolati da topi sottoposti a regimi alimentari con diversa composizione in acidi grassi. L'effetto della dieta nei diversi campioni è stato verificato e analizzato attraverso il confronto dei "bar-code" e l'analisi lipidomica. Metodi bioinformatici sono stati utilizzati per ricostruire le reti di interazione funzionali proteina-proteina allo scopo di mettere in evidenza i pathway metabolici e i processi cellulari che risultano influenzati dalle diverse diete.

## Bibliografia

1. Fratini et al. An integrated approach to explore composition and dynamics of cholesterol-rich membrane microdomains in sexual stages of malaria parasite (2017) *Molecular and Cellular Proteomics*, 16: 1801-1814.
2. Olivieri et al. Structural organization of erythrocyte membrane microdomains and their relation with malaria susceptibility (2021) *Communications Biology*, 4 no. 1375

## CO07

### UTILIZZO DELL'ALBUMINA GLICATA COME MARCATORE DI OMEOSTASI GLICIDICA NEI PAZIENTI CON -TALASSEMIA TRASFUSIONE-DIPENDENTE (TDT): RISULTATI PRELIMINARI

C.M. Gagliotti<sup>1</sup>, T. Ceglie<sup>1</sup>, F. Longo<sup>1,2</sup>, G. Mandrile<sup>1</sup>, V. Voi<sup>1</sup>, F.M. Di Bella<sup>3</sup>, M. Nucera<sup>3</sup>, M. Zanin<sup>3</sup>, A. Piolatto<sup>1</sup>, E. Foddai<sup>3</sup>, G.B. Ferrero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro di Riferimento per le Emoglobinopatie, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino; <sup>2</sup>Day Hospital della Talassemia e delle Emoglobinopatie, A.O.U. Ferrara; <sup>3</sup>SCDO Laboratorio Analisi Cliniche e Microbiologiche, A.O.U. San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO), Italia

**Introduzione:** I pazienti con  $\beta$ -talassemia trasfusione-dipendente (TDT) sono ad alto rischio di sviluppare alterata tolleranza glicidica (IGT) e diabete mellito (DM). Il monitoraggio dell'omeostasi glicidica e la diagnosi precoce sono quindi fondamentali nei pazienti TDT ad alto rischio. La misurazione dell'emoglobina glicata (HbA1c), comunemente utilizzata per valutare l'omeostasi glicidica nella popolazione generale, non è considerata affidabile nei pazienti TDT, poiché il regime trasfusionale ne inficia una corretta valutazione. Negli ultimi anni, l'interesse si è rivolto su biomarcatori glicemici alternativi e, tra questi, l'albumina glicata (AG) sembra essere il candidato più promettente.

**Metodi:** Si tratta di uno studio osservazionale prospettico monocentrico. I principali criteri di inclusione erano diagnosi di TDT, normofunzione renale e normoalbuminemia. Un singolo prelievo è stato eseguito immediatamente prima della trasfusione. HbA1c è stata valutata con metodica elettroforetica capillare, utilizzando lo

strumento Sebia Capiyllaris 3 Tera. AG è stata dosata con metodica enzimatica, utilizzando lo strumento Alinity ci-series (Abbott). I restanti esami ematochimici sono stati eseguiti come da normale pratica clinica.

**Risultati:** In questo studio sono stati coinvolti 138 pazienti TDT (F/M: 80/58, intervallo di età 1.6-78.7 anni), di cui 5 (3.6%) con pregressa diagnosi di IGT e 14 (10.1%) di DM. I valori di HbA1c e di AG% (GA in rapporto all'albumina totale) sono risultati differenti tra pazienti normoglicemici e pazienti con DM ( $P < 0.001$ ) Figura 1, e la correlazione ottenuta tra i due indici è stata di 0.64 (Pearson's  $R^2$ ,  $P < 0.001$ ). La correlazione con la glicemia spot è risultata superiore per AG% rispetto a HbA1c ( $R^2 = 0.70$  e  $0.58$ , rispettivamente;  $P < 0.001$ ). Tra gli individui normoglicemici, HbA1c è risultata superiore ai limiti normali in 72/117 (61.5%) pazienti; nello stesso gruppo AG% è risultata superiore ai limiti normali in 2/117 (1.7%) pazienti. Entrambi gli indici hanno mostrato una correlazione positiva con l'età dei pazienti.

**Discussione:** Nonostante i risultati siano preliminari, l'AG si è dimostrata un parametro affidabile per identificare alterazioni del metabolismo glicidico in pazienti TDT. Ulteriori studi, su popolazione più ampia saranno necessari per validare il possibile impiego routinario di questa metodica.

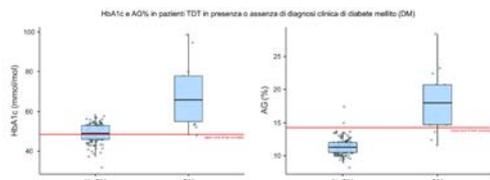


Figura 1.

## C008

### LA SINDROME MICROCITEMICA NON HA SEMPRE CAUSE EREDITARIE: DUE CASI INTERESSANTI

S. Cmet, A.R. Cussigh, E. Fontanini

*Istituto di Patologia Clinica - Dipartimento di Medicina di Laboratorio - Azienda Sanitaria Universitaria Friuli Centrale (ASU FC), Italia*

Pervengono al nostro laboratorio due richieste di fenotipo emoglobinico. Il primo riguarda il caso di una donna, 88 anni, ricoverata in medicina per sospetta polmonite. L'emocromo mostra un lieve aumento dei globuli rossi ( $5.77 \times 10^6/uL$ ), anemia (11.7g/dL) e microcitosi (MCV 69.3fL). L'assetto marziale descrive un quadro di deficit di ferro: sideremia 24ug/dL, ferritinemia 17ng/mL, transferrinemia 390mg/dL e saturazione della transferrina 5%. Il secondo fenotipo appartiene ad una donna di 71 anni con lieve microcitemia (MCV 78.7fL), policitemia ( $5.33 \times 10^6/uL$ ) e assenza di anemia

(13.1g/dL). Il bilancio del ferro è normale: sideremia 111ug/dL, ferritinemia 117ng/mL e transferrinemia 294mg/dL.

Il fenotipo emoglobinico della prima donna mostra un assetto delle frazioni così composto: HbA 49.0%, HbA2 2.2%, HbF 0.1% e variante emoglobinica non riconosciuta 48.7%, mentre quello della seconda donna: HbA 93.9%, HbA2 5.4% e HbF 0.7%. In entrambi i casi si prosegue con la diagnostica molecolare, sottoponendo ad analisi NGS dei cluster alfa e beta globinici. La prima donna risulta avere una variante in eterozigosi silente, non patologica, sul gene beta globinico (Hb Okayama, HBB:c.9T>G, p.His3Gln) che chiarisce solo in parte la microcitemia. La seconda donna, il cui fenotipo suggerisce una talassemia beta, risulta avere solo una triplicazione del gene alfa (alfa anti-3.7), che non conferma il sospetto diagnostico e non giustifica l'innalzamento della frazione dell'HbA2.

Nella prima donna il sospetto di talassemia indotto dalla valutazione dell'emocromo non viene confermato e si considerano altre ipotesi oltre ad una più attenta valutazione della storia clinica della paziente. Si suggerisce il dosaggio dell'eritropoietina e lo studio dell'equilibrio acido-base per escludere una policitemia secondaria a pneumopatia. Per quanto riguarda la seconda donna, si suggerisce il dosaggio degli ormoni tiroidei, per escludere una tireopatia, possibile causa dell'incremento dell'HbA2.

Per uno studio dell'assetto emoglobinico completo ci si deve avvalere di un approccio multidisciplinare. L'emocromo induce un sospetto diagnostico, il fenotipo indirizza nella diagnosi, la biologia molecolare può confermare l'ipotesi, oppure spingere alla ricerca di altri fattori scatenanti.

## C009

### STUDIO OSSERVAZIONALE SULL'USO DELL'IDROSSIUREA NELLA VITA REALE DELLA RETE MIOT

P. Ricchi<sup>1</sup>, A. Meloni<sup>2</sup>, P. Rigano<sup>3</sup>, L. Pistoia<sup>2</sup>, A. Spasiano<sup>1</sup>, M. Allò<sup>4</sup>, G. Messina<sup>5</sup>, A. Quarta<sup>6</sup>, R. Rosso<sup>7</sup>, A. Quota<sup>8</sup>, A. Filosa<sup>1</sup>, A. Maggio<sup>3</sup>, A. Pepe<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale "A. Cardarelli"; <sup>2</sup>Fondazione G. Monasterio CNR-Regione Toscana; <sup>3</sup>Ospedale "V. Cervello"; <sup>4</sup>Ospedale San Giovanni di Dio - ASP Crotona; <sup>5</sup>Grande Ospedale Metropolitano "Bianchi-Melacrino-Morelli"; <sup>6</sup>Ospedale "A. Perrino"; <sup>7</sup>Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico "Vittorio Emanuele"; <sup>8</sup>Ospedale "V. Emanuele III", Italia

L'idrossiurea (HU) è stata ampiamente utilizzata nella pratica clinica per gestire i pazienti con talassemia non trasfusione-dipendente (NTDT). Pochi dati sono disponibili sugli effetti della sua somministrazione nei pazienti italiani. Lo scopo di questo studio multicentrico

è valutare gli effetti ematologici e non ematologici della somministrazione a breve e lungo termine di HU. Abbiamo considerato 71 pazienti (30 femmine) con NTDT (<4 trasfusioni all'anno) arruolati consecutivamente nella rete Myocardial Iron Overload in Thalassemia (MIOT) e trattati per >12 mesi con HU. I pazienti sono stati seguiti prospetticamente fino a settembre 2019. I pazienti hanno iniziato il trattamento con HU a un'età media di 37,0±12,1 anni e l'anemia era l'indicazione nell'88,6% dei casi. La durata media del trattamento HU è stata di 8,2±5,8 anni. Dopo 12 mesi di terapia sono stati rilevati un aumento significativo dell'emoglobina e dei valori medi del volume corpuscolare e una significativa diminuzione di globuli bianchi, bilirubina indiretta, globuli rossi nucleati e piastrine, livelli di acido urico e recettore solubile della transferrina. Sono stati definiti responders i 28 pazienti che hanno raggiunto un aumento ≥1,0 g/dl dei livelli di emoglobina dopo 12 mesi. I responders hanno ricevuto una dose significativamente più alta di HU e hanno mostrato valori di emoglobina pre-trattamento significativamente più bassi. Sulla base della curva ROC (Receiver Operating Characteristic), un dosaggio >16,6 mg/dl ha discriminato i responders con sensibilità accettabile e buona specificità (59,3% e 85,7%, rispettivamente) e con un'area sotto la curva di 0,75 (P<0,0001). I responders hanno sperimentato una

diminuzione significativamente maggiore dei globuli bianchi dopo 12 mesi di trattamento. La risposta ematologica è diminuita nel trattamento a lungo termine (Figura 1) Durante il trattamento HU non sono state rilevate variazioni significative nella frequenza di dispnea, astenia, dilatazioni atriali, complicanze cardiovascolari (ipertensione polmonare, aritmie, ulcere e trombosi venosa profonda), e ematopotesi extramidollare. Questo studio sembra suggerire che non solo per i pazienti con risposta ematologica, ma anche per quelli affetti da complicanze specifiche, l'HU potrebbe essere ancora una valida opzione per limitare l'avanzamento del carico clinico complessivo della malattia, senza causare eventi avversi significativi e aumento della mortalità.

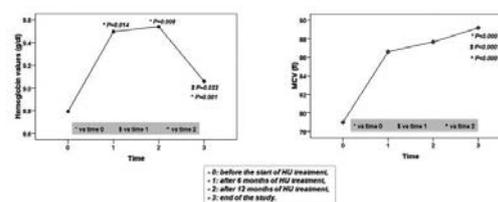


Figura 1.



## Abstracts

### D01

#### **HBA2 NELLA NORMA, MA GENOTIPO DA TRAIT BETA TALASSEMICO**

E.R. Testa, L. Geremia, T. Romanet, V. Brunetta, A. Bontadini

*Dipartimento di Medicina Trasfusionale, Ospedale Santa Maria degli Angeli, ASFO (Azienda Sanitaria Friuli Occidentale), Pordenone (PN), Italia.*

**Introduzione:** Riportiamo due casi clinici con assetto emoglobinico nella norma, eseguito in HPLC, valori di HbA2 in range di riferimento, ma in presenza di anemia con moderata/discreta microcitosi in normosideremia.

**Caso Clinico 1:** Gravida 12° SG 28 aa, provenienza Puglia, in counselling prenatale, eseguito assetto emoglobinico con dosaggio HbA2 del 2.9-3.1%, ripetuto su due campioni in due differenti laboratori, HbF 1.5%, non presenti varianti anomale dell'Hb. All'es. emocromo possibile trait talassemico, secondo precedenti es. emocromo che evidenziavano microcitemia Hb stabile 9.3-9.4 g/dL, MCV 78 fL, ferritinemia 30 ng/ml. Valutata per concause di anemia, negativi ricerca H.P. e SOF su tre campioni. Per cui necessaria analisi genetica emoglobinopatie per identificazione molecolare. Inviato campione ad analisi genetica emoglobinopatie del gene alfa e beta-globinico c/o Lab. di riferimento, mutazioni assenti per i geni delta ed alfa-globinici, risultati in assetto biallelico normale. Si conferma invece lo stato di portatrice eterozigote di trait beta+talassemia per la variante HBB:c.92+6T>C (IVS-I-6 T>C). Mutazione genetica del gene beta-globinico che non sempre dà all'analisi di primo livello un valore HbA2 particolarmente aumentato, in letteratura scientifica il dosaggio di HbA2 atteso per tale variante è compreso tra 3.3-4.4%, ma il quadro fenotipico dell'emocromo ne suggerisce un approfondimento genetico

come il caso in questione.

**Caso Clinico 2:** donna 55 aa, provenienza Romania, in osservazione per anemia, riscontro all'assetto emoglobinico del 20/08/2021 di HbF 1.6% e nella norma HbA2 2.8-2.7%, per sospetto trait talassemico in un quadro fenotipico di moderata microcitosi MCV 62.9 fL ed Hb 11.5 g/dL in normosideremia, per cui inviato campione a test molecolare. L'analisi genetica emoglobinopatie del gene beta-globinico c/o Lab. di riferimento, conclude per portatore eterozigote per la mutazione IVS 2.745 C>G (HBB:c.316-7C>G) descritta in letteratura come beta+talassemia. Genotipo compatibile con il quadro emoglobinico di microcitemia ed ematologico di moderata anemia. Mutazioni assenti per i geni delta ed alfa-globinici.

**Conclusioni:** Il valore di HbA2 nella norma, non aumentato, non esclude necessariamente un trait beta talassemico e non sottende necessariamente un trait alfa talassemico. Per cui non prescindendo dal quadro ematologico, che suggerisce l'approfondimento molecolare, è consigliabile una indagine genetica completa di geni beta ed alfa globinici.

### D02

#### **HBA2 RIDOTTA IN HbD E DELTA VARIANTI EMOGLOBINICHE, CHE POTREBBERO NASCONDERE UN TRAIT BETA TALASSEMICO**

E.R. Testa, L. Geremia, T. Romanet, V. Brunetta, A. Bontadini

*Dipartimento di Medicina Trasfusionale, Ospedale Santa Maria degli Angeli, ASFO (Azienda Sanitaria Friuli Occidentale), Pordenone (PN), Italia*

**Introduzione:** Riportiamo 3 casi clinici di HbD e delta

varianti emoglobiniche che sottostimano la frazione emoglobinica HbA2 nel diagnosticare un trait beta talassemico e simulano un trait alfa talassemico con riduzione di HbA2.

*Caso Clinico 1:* Donna di 62 aa, origine friulana, lieve poliglobulia, anemia ipocromica normosideremica e subittero. All'assetto emoglobinico in HPLC presente un picco minore pari all'1.3% dell'area, eluito successivamente rispetto all'HbA2 che a sua volta ammontava all'1.3%. Caratterizzazione molecolare per escludere un trait alfa-talassemico: trasversione G>C al codone 7 del gene delta e sostituzione aminoacidica Glu>Asp, corrispondente ad una variante HbA2-Pordenone.

*Caso Clinico 2:* Maschio 16 aa, tunisino, per riscontro di aumento ematocrito, Jak2 neg, no fumo, studio emoglobinopatie per eritrocitosi congenite. Riscontro all'assetto emoglobinico di <HbA2 1.50% ridotta. L'analisi molecolare ha evidenziato la variante HBD:c.82G>T p.(Ala28Ser) denominata HbA2-Yialousa, allo stato eterozigote. È tipicamente dell'area mediterranea, appartenente alle etnie greche, cipriota, sarde; in associazione con beta-thal in doppia eterozigosi può presentare una HbA2 normale 2.8-3.8 % e ridurre l'HbA2 aumentata tipica del trait beta-talassemico, portando a diagnosi errate.

*Caso Clinico 3:* Maschio 51 aa, provenienza Marocco, in osservazione per riscontro occasionale di variante emoglobinica al test Hb glicata in affetto da DMNID, in assenza di anemia. L'analisi genetica ha evidenziato una variante gene beta HBB:c.60C>Ap.(Asn20Lys) nominata HbD Ouled Rabah allo stato eterozigote, isolata nei Tuareg delle tribù arabo-berbere di Marocco, Algeria, Libia, Tunisia. La forma eterozigote di suddetta emoglobina anomala di norma non evidenzia anomalie cliniche o ematologiche di rilievo direttamente correlate a questa variante. Segnalata in letteratura un quadro patologico se in doppia eterozigosi con trait falcemico HbS.

*Conclusioni:* Ad oggi sono state riportate in letteratura 86 diverse variazioni del gene delta globinico: 54 producono varianti strutturali mentre 32 sono associate a difetti talassemici con diminuita o assente sintesi di catene delta, in ogni caso l'effetto prevalente è rappresentato dalla alterata produzione di HbA2. Osservare varianti delle catene delta globiniche rappresenta certamente un evento raro e clinicamente poco rilevante, ma è evidente che tali anomalie possono rappresentare un elemento di incertezza e variabilità quando occorre valutare lo stato di portatore di beta talassemia, in presenza di parametri significativamente alterati dell'emocromo.

### D03

#### L'IMPORTANZA DI POTER DISPORRE DI TEST DI PRIMO E SECONDO LIVELLO NELL'INQUADRAMENTO DELLE EMOGLOBINOPATIE: UN CASO CLINICO

A.R. Cussigh, S. Cmet, E. Fontanini

*Istituto di Patologia Clinica - Dipartimento di Medicina di Laboratorio - Azienda Sanitaria Universitaria Friuli Centrale (ASU FC)*

*Introduzione:* I flussi migratori degli ultimi decenni hanno portato all'incremento del riscontro di emoglobinopatie e talassemie nella popolazione risiedente in Italia, con conseguente impatto nella diagnostica di laboratorio di routine.

Descriviamo il caso di una giovane donna di 28 anni di etnia africana giunta al Pronto Soccorso dell'Ospedale di Udine per dolore toracico e cardiopalmo. All'accesso vengono richiesti i seguenti esami di laboratorio: emocromo (Rbc  $5.76 \times 10^6/\mu\text{L}$ , Hb 16.0 g/dl, MCV 79.6 fL, RDW 15.8%, PLT  $184 \times 10^3/\mu\text{L}$ ), PT, APTT, D-Dimero, Troponina, Glicemia (85 mg/dL v.n 76-110), Azotemia, Creatinemia. L'anamnesi risulta difficoltosa per problemi linguistici: la paziente riferisce di essere diabetica, ma nega l'assunzione di farmaci. Per questo motivo viene richiesto il dosaggio dell'HbA1c. Dal cromatogramma emerge la totale mancanza del picco dell'HbA1c e dell'HbA0, condizione suggestiva per presenza di variante emoglobinica in omozigosi. Si procede con la determinazione del fenotipo emoglobinico, che evidenzia: HbA 0%, HbA2 4.5%, HbF 35.8%, HbS 59.7%. Si comunica l'informazione al reparto, avvisando che il dosaggio della glicata viene sostituito con la Fruttosamina come parametro alternativo (251  $\mu\text{mol/L}$  v.n.205-285). Il dato non propende per una condizione di patologia diabetica. Dal confronto con i clinici emerge storico per presenza di HbS in omozigosi risalente a 10 anni prima; la paziente nuovamente interrogata nega di essere stata sottoposta a trasfusioni e nega l'assunzione di idrossiurea. Il Laboratorio di Patologia Clinica di Udine già da qualche anno si occupa anche di diagnostica di secondo livello per le emoglobinopatie, quindi si decide per l'inquadramento molecolare. Si esegue test NGS che consente la valutazione del cluster alfa e beta globinico, con determinazione sia delle SNV che CNV. L'analisi dei risultati conferma la presenza della mutazione HbS (HBB:c.20A>T, p.Glu7Val) ma evidenzia anche eterozigosi per una grande delezione nel cluster beta globinico classificata come HPFH-2 Ghanaian. Lo stato di emizigosi HbS associata ad HPFH spiega quindi sia una condizione di sindrome falcemica lieve, che la persistenza di valori elevati di HbF in assenza di assunzione di farmaci specifici.

In conclusione, questo report vuol far emergere l'importanza di poter disporre di strumenti diagnostici alternativi e test di secondo livello per poter meglio inquadrare e gestire una popolazione che cambia.