SIGNIFICATO DELL'HB A2 E DI ALTRI PARAMETRI IN PRESENZA DI VARIANTI DELLE CATENE BETA GLOBINICHE

INTRODUZIONE

Nel «Caso 5» di questo portale, si è visto come poter escludere la presenza di β talassemia in tre soggetti portatori di varianti delle catene β globiniche.

Nel «Caso 11», con riferimento ai valori ridotti dell'Hb A2, si è considerato l'effetto prodotto dalla presenza di varianti delle catene a e δ sul valore dell'Hb A2, quando si vuole escludere o ipotizzare la presenza di un tratto β talassemico.

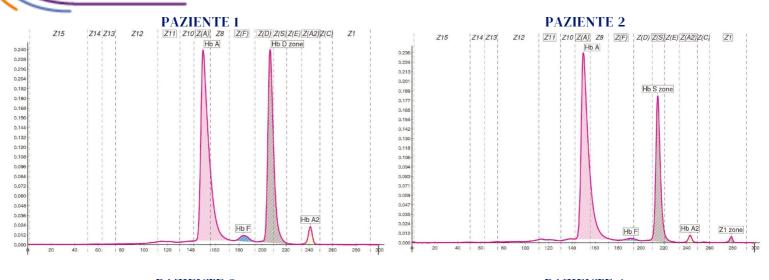
Con altri esempi, si torna qui sul significato da attribuire all'Hb A2, all'Hb F e all'MCV ridotto in relazione all'eventuale co-ereditarietà di difetti β talassemici quando sono presenti varianti delle catene β globiniche. In particolare, a tale proposito ci chiediamo:

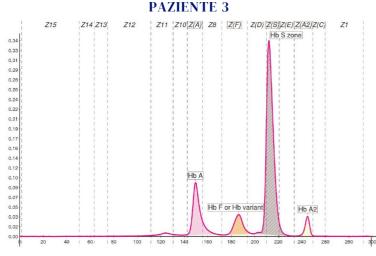
- Quando l'esame di 1º livello può essere concluso escludendo con certezza la presenza di difetti βtalassemici ? (Paziente 1 e 2);
- Quando l'esame di 1ºlivello può essere concluso ipotizzando la contemporanea presenza di β talassemia da confermare con test molecolari? (Paziente 3 e 4).

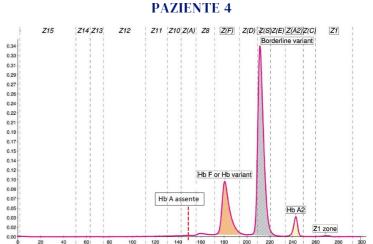


CASO 13

SIGNIFICATO DELL'HB A2 E DI ALTRI PARAMETRI IN PRESENZA DI VARIANTI DELLE CATENE BETA GLOBINICHE







ASSETTO EMOGLOBINICO VALORI **PAZIENTE 1 PAZIENTE 3 PAZIENTE 4 PAZIENTE 2** RIFERIMENTO Hb A2 2,2-3,2 2,6% 1,2% < 4,5% > **5,1%** > **Hb A2-X** 0,9% **Assente** Assente **Assente** Hb F inf. 1% 1,8% 0,9% 8,5% > **25,7%** > Hb X 39,4% 32,0% 68,0% 69,2%

DATI DEL DAZIENTE

| DATI DEL PAZIENTE | | | | | |
|--------------------------|-----------------------|------------|-------------------|-------------------|---------------|
| | VALORI RIFERIMENTO | PAZIENTE 1 | PAZIENTE 2 | PAZIENTE 3 | PAZIENTE 4 |
| Età (sesso) | | 26 (M) | 40 (M) | 22 (M) | 10 (F) |
| RBC $(10^{12}/L)$ | 4,0-5,4 | 5,26 | 4,67 | 5,01 | 3,72 < |
| HGB (g/L) | 120,0-140,0 | 153,0 > | 96,0 < | 104 < | 96,0 < |
| HCT | 0,38-0,47 | 0,47 | 0,29 < | 0,31 < | 0,31 < |
| MCV (fL) | 82-98 | 89,0 | 75,4 < | 62,0 < | 84,7 |
| MCH (pg) | 25,0-34,0 | 29,1 | 23,1 < | 20,7 < | 25,8 |
| Assetto marziale | | Normale | | | Normale |
| Origini | | Asia | Africa | Iran | Italia |

CASO 13

SIGNIFICATO DELL'HB A2 E DI ALTRI PARAMETRI IN PRESENZA DI VARIANTI DELLE CATENE BETA GLOBINICHE

INTERPRETAZIONI

Paziente 1)

HBB: c.364G>C; β 121(G6) Glu>Gln (Hb D Punjab) eterozigote

HBG2:c.-211 C>T; -158 C>T eterozigote

Paziente non trasfuso. Il profilo elettroforetico mostra un picco che può essere facilmente attribuito ad una variante β soprattutto per la percentuale relativa e l'assenza di uno sdoppiamento dell'Hb A2. I parametri eritrocitari fanno escludere la presenza di difetti talassemici. L'Hb F, appena sopra i valori di riferimento, trova spiegazione nella presenza del polimorfismo associato al gene HBG2 rilevato durante l'analisi molecolare eseguita per la caratterizzazione della variante Hb.

Paziente 2)

HBB: c.20A>T; β 6(A3) Glu>Val (Hb S) eterozigote HBD: c.49 G>C; δ 16(A13) Gly>Arg (Hb A') eterozigote

Paziente non trasfuso. Presenza di Hb S confermata con test di sickling dal 1ºlivello. Hb A2: avendo definito la presenza di una variante beta, l'evidente sdoppiamento dell'Hb A2 deve essere attribuito ad una mutazione dei geni δ . L'Hb S risulta in percentuale più bassa rispetto ai valori medi riscontrati per le varianti β, ciò può essere attribuito all'anemia sideropenica. L'anemia incide anche sulle quantità relative dell'Hb A2 e dell'Hb A2-X. La caratterizzazione molecolare dei difetti riscontrati conferma i dati del 1ºlivello ed evidenzia la presenza della variante δ più conosciuta e diffusa in Africa.

Paziente 3)

HBB: c.20A>T; β 6(A3) Glu>Val (HbS) eterozigote HBB: c.92+6 T>C; IVSI-6 (β + tal) eterozigote

Paziente non trasfuso. Presenza di Hb S confermata con test di sickling dal 1ºlivello. L'Hb A risulta pari al 19,0%, pertanto si deve ipotizzare la presenza di un difetto beta+ associato all'Hb S. Il quadro di una talassodrepanocitosi (composto eterozigote per Hb S/ Beta talassemia) è coerente con l'alterazione dei parametri eritrocitari e dell'assetto Hb, compresa l'Hb F (vedere dati in Tabella). La caratterizzazione molecolare è necessaria per definire o confermare il fenotipo ipotizzato.

Paziente 4)

HBB: c.20A>T; β 6(A3) Glu>Val (Hb S) eterozigote HBB: c.118 C>T; codon 39 (β0 tal) eterozigote

Paziente non trasfuso. Presenza di Hb S confermata con test di sickling dal l'livello. L'Hb A è assente, ciò può far ipotizzare la presenza di Hb S omozigote o di un difetto β0 associato all'Hb S. L'Hb A2 sensibilmente aumentata fa propendere per un composto eterozigote per Hb S/ \(\beta \) talassemia. La caratterizzazione molecolare è necessaria per definire o confermare il fenotipo ipotizzato.

CONSIDERAZIONI **CONCLUSIVE**

· Prima di eseguire l'analisi per la determinazione quali-quantitativa delle componenti Hb, occorre sempre escludere che siano state esequite trasfusioni nei tre mesi precedenti l'esame.

Una trasfusione, infatti, comporta la presenza di «sangue normale» che altera i rapporti percentuali relativi tra le diverse Hb, fisiologiche e/o patologiche presenti nel soggetto in esame.

- Una variante, quando viene riscontrata nel corso di esami di 1ºlivello potrà essere considerata «ß variante» se risponde alle seguenti condizioni:
- a) conferma con test specifico (test di falcizzazione per Hb S)
- b) conferma con altro metodo separativo (solo per Hb C e Hb E)
- c) l'Hb A2 non è sdoppiata
- d) la variante β è compresa fra 30 e 48% in assenza di microcitosi (eccetto il caso di varianti instabili)
- Occorre ricordare che ciascun cromosoma 11 porta un gene β, pertanto il nostro patrimonio genetico diploide dispone di <u>due geni</u> β capaci entrambi di <u>produrre catene</u> β globiniche in modo indipendente: Consideriamo l'esempio di un soggetto eterozigote per Hb S, confermato con test di falcizzazione: uno dei due geni β è mutato, con un difetto al codone 6 Glu>Val (HbS) e consentirà quindi la sintesi di catene B-S mentre l'altro gene β, sull'altro cromosoma, è normale e produrrà catene β-A. Il risultato è quello di avere la sintesi di Hb A e di Hb S in un rapporto teorico relativo di 1:1. In realtà la sintesi delle due Hb è spostata a favore dell'Hb A per una maggior affinità delle catene β -A con le catene a rispetto alle β -S, quindi 55-65% di Hb A contro 32-45% di Hb S. Tale rapporto sbilanciato potrà variare secondo le caratteristiche della variante β presente. L'Hb A2, in soggetti eterozigoti per una variante β , nella maggior parte dei casi rimane entro i limiti della norma (inf. 3,2%). Raramente si possono osservare lievi incrementi dell'Hb A2. Tuttavia, in presenza di una variante β , tali incrementi non provano l'esistenza di difetti β talassemici se la percentuale dell'Hb A è superiore al 50%.



CASO 13

SIGNIFICATO DELL'HB A2 E DI ALTRI PARAMETRI IN PRESENZA DI VARIANTI DELLE CATENE BETA GLOBINICHE

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

· Casi particolari nei quali occorre valutare un eventuale sdoppiamento dell'Hb A2: si è detto che una variante delle catene β potrà essere considerata tale se dall'esame del pattern Hb (assetto) non si rileva uno sdoppiamento dell'Hb A2. Occorre però considerare che quando il picco relativo ad una variante si pone in Z15 o in Z14 non avremo mai la possibilità di capire se l'Hb A2 risulta sdoppiata, anche con una variante a. Infatti la componente A2-X, prodotta dalle catene a mutate, verrebbe nascosta rispettivamente dall'Hb A e dall'Hb F (se presente). In questi casi non si ha quindi la possibilità di diversificare il comportamento delle varianti a da quello delle varianti β. Tuttavia, con varianti in Z15 o in Z14 possiamo procedere ad alcune considerazioni:

a)valori di Hb A2 inferiori a 1,5-1,7% possono indicare l'assenza di difetti β talassemici in soggetti con varianti (a o β) che si separano in Z15 o Z14.

b)un valore di Hb A2 superiore a 2,0% in un soggetto con microcitosi può essere osservato con una variante a associata a β talassemia.

c)un valore di Hb A2 compreso fra 2,5 e 3,5% può indicare, <u>in assenza di microcitosi</u>, una variante β non associata a β talassemia.

- Presenza di varianti β e sdoppiamento dell'Hb A2: quando è presente una variante β accertata, l'eventuale sdoppiamento visibile dell'Hb A2 (Hb A2 + Hb A2-X) deve essere considerato il prodotto di una variante δ .
- ullet Presenza di varianti eta e Hb F: polimorfismi vari possono mostrare quote variabili di Hb F anche in presenza di varianti β. Quando si osserva Hb F in quantità superiore al 3% può essere buona norma procedere all'analisi molecolare.
- Presenza di varianti β ed MCV diminuito: esclusa la carenza di ferro, deve essere ipotizzata la presenza di difetti a talassemici. In questi casi si possono osservare valori ridotti della variante e dell'Hb A2.

BIBLIOGRAFIA

1.Barberio G, Ivaldi G. (2020). Emoglobinopatie. Dalla diagnosi alle consulenze specialistiche - Padova, Piccin. 2. www.site-italia.org: Diagnostica di I e II livello delle Emoglobinopatie Buone Pratiche SITE, 2022.

