

## α-Μεσογειακή αναιμία, αιμοσφαιρινοπάθεια H και ασταθείς α-αλυσίδες

Εμμανουήλ Καναβάκης<sup>1</sup>, Joanne Traeger-Συνοδινού<sup>1</sup>, Βαρβάρα Ντούνα<sup>2</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ:** Η σύνθεση των α αιμοσφαιρινικών αλυσίδων βρίσκεται υπό τον έλεγχο ενός διπλασιασμένου α γονιδίου (*HBA1* και *HBA2* ή α1 και α2) που βρίσκεται στο άκρο του βραχέος σκέλους του χρωμοσώματος 16. Οι μεταλλάξεις που ελαττώνουν τη σύνθεση των α αλυσίδων προκαλούν α θαλασαιμία και μέχρι τώρα έχουν περιγραφεί περισσότερες από 120 (Hb Var <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/>). Στην πλειοψηφία τους είναι ελλείμματα που αφαιρούν μέρος ή και ολόκληρο το γενετικό υλικό των γονιδίων. Σπανιότερα πρόκειται για αντικαταστάσεις ενός νουκλεοτιδίου ή για μικροελλείμματα εντός των α1, α2 γονιδίων και ονομάζονται μη ελλειμματικές μεταλλάξεις. Μείωση της παραγωγής των α αλυσίδων μπορεί να προκληθεί και από μεταλλάξεις που δίνουν γένεση σε υπερασταθείς α αλυσίδες. Στις περισσότερες περιπτώσεις αυτές είναι τόσο ασταθείς που δεν μπορούν να ανιχνευθούν σε πρωτεϊνικό επίπεδο και αποκαλύπτονται από την ανάλυση DNA αλληλουχίας. Στην Ελλάδα η συχνότητα των φορέων α-θαλασαιμίας υπολογίζεται στο 8% και μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 20 μεταλλάξεις υπεύθυνες για τη νόσο. Οι διάφορες κλινικές μορφές της α-MA προέρχονται από τον συνδυασμό των διαφόρων γονοτύπων της νόσου. Η αιμοσφαιρινοπάθεια H είναι η πιο σοβαρή μορφή α-θαλασαιμίας συμβατή με την ζωή. Εμφανίζεται όταν οι α-θαλασαιμικές μεταλλάξεις αλληλεπιδρούν έτσι ώστε να ελαττώσουν την παραγωγή των α-αλυσίδων σε επίπεδα ισοδύναμα περίπου με το ποσό που παράγεται από ένα μόνο α-γονίδιο. Η κλινική έκφραση της αιμοσφαιρινοπάθειας H ποικίλλει και σχετίζεται κυρίως με τον υποκείμενο γονότυπο. Εκτός από την κλασική αιμοσφαιρινοπάθεια H, ασθενείς με υπερασταθείς α μεταλλάξεις, στην ομόζυγη κατάσταση ή όταν αλληλεπιδρούν με άλλες μεταλλάξεις α-θαλασαιμίας, μπορούν να εκδηλώσουν εικόνα ανάλογη της ενδιάμεσης β-μεσογειακής αναιμίας, και πολύ σπάνια HbH-ύδρωπα.

Haema 2011; 2(3): 254-261 Copyright EAE

---

### Εισαγωγή

Η α-μεσογειακή αναιμία (MA) χαρακτηρίζεται από μειωμένη παραγωγή των α-αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης. Είναι κληρονομική νόσος και μεταβιβάζεται με τον υπολειπόμενο αυτοσωματικό χαρακτήρα. Οι α αλυσίδες αποτελούν το απαραίτητο συστατικό όλων των αιμοσφαιρινών από την 6<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης έως την ενήλικη

ζωή, δηλ. της Hb Gower 2 (α2ε2), της HbF (α2γ2), της HbA<sub>2</sub> (α2δ2) και της HbA (α2β2) με αποτέλεσμα η ανεπάρκειά τους, εφ' όσον είναι σημαντική, να εκδηλώνεται τόσο στο έμβρυο, όσο και στον ενήλικα. Το κλινικό φάσμα της α-MA είναι ιδιαίτερος ευρύ και κυμαίνεται από ασυμπτωματική έως βαρύτερη συνδρομή που είναι ασύμβατη με τη ζωή και προκαλεί ενδομήτριο θάνατο.

Η σύνθεση των α αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης κατευθύνεται (ελέγχεται) από την παρουσία δύο α γονιδίων (α2 και α1) που βρίσκονται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 16 (5'-ζ2-ψ1-ψα2-ψα1-α2-α1-θ1-3')<sup>1</sup>. Έτσι κάθε φυσιολογικό άτομο έχει 4 α γονίδια. Η α-θαλασαιμία είναι αποτέλεσμα μοριακών διαταραχών στα α γονίδια. Προκαλείται συχνότερα από ελλείμματα τμημάτων του DNA (deletions), τα οποία άλλοτε μειώνουν (α<sup>-</sup>) και άλλοτε εμποδίζουν τελείως (α<sup>0</sup>) την παραγωγή των α-αλυσίδων

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

<sup>2</sup>Αιματολογικό Εργαστήριο Νοσοκομείο Παιδών «Π. & Α. Κυριακού», Αθήνα

Συγγραφέας υπεύθυνος για επικοινωνία: Εμμανουήλ Καναβάκης, Καθηγητής, Διευθυντής Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παιδών «Αγία Σοφία», 11527, Αθήνα, Τηλ.: +30 210 746 7468, Fax: +30 210 779 5553, e-mail: ekanavakis@med.uoa.gr

από το παθολογικό αλληλίο. Πιο σπάνια προκαλείται όμως και από μεταλλάξεις που αδρανοποιούν το α γονίδιο (μη ελλειμματικές – nondeletional, α<sup>T</sup>). Όντως, οι περισσότερες περιπτώσεις α-θαλασσαιμικών φαινοτύπων συνδυάζονται με τρία ελλείμματα, το -α<sup>3.7</sup> α<sup>+</sup> (πιο συνηθισμένο στην Αφρική, Μεσόγειο, Μ. Ανατολή και Ασία), το -α<sup>4.2</sup> α<sup>+</sup> (σε Ασία, Μεσόγειο, Μ. Ανατολή, ΝΑ. Ασία και Ειρηνικό) και το --<sup>SEA</sup> α<sup>0</sup> (κυρίως Κίνα και ΝΑ. Ασία)<sup>1,2</sup>.

Υπάρχουν 4 βασικές φαινοτυπικές κατηγορίες α-μεσογειακής αναιμίας ως εξής:

1. Η απώλεια ή αδρανοποίηση ενός από τα τέσσερα α γονίδια δεν συνοδεύεται από αιματολογικές διαταραχές και ονομάζεται ετερόζυγος α-θαλασσαιμία-2 ή ήπια ετερόζυγος α-ΜΑ.
2. Η έλλειψη δύο α γονιδίων από το ίδιο χρωμόσωμα ονομάζεται ετερόζυγος α-θαλασσαιμία-1 ή βαρεία ετερόζυγος α-ΜΑ.  
Το άτομο είναι ασυμπτωματικό, αλλά συνήθως εμφανίζει μια ήπια υπόχρωμη, μικροκυτταρική αναιμία. Τον ίδιο αιματολογικό φαινότυπο εμφανίζουν και οι ομοζυγώτες α-θαλασσαιμίας-2 (απώλεια 2 γονιδίων, ένα από κάθε χρωμόσωμα).
3. Η αιμοσφαιρινοπάθεια Η είναι η πιο σοβαρή μορφή της α-μεσογειακής αναιμίας που είναι συμβατή με την ζωή. Οφείλεται σε συνδυασμό μεταλλάξεων που έχουν σαν αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής των α-αλυσίδων στο περίπου 25% της φυσιολογικής. Η σχετική περίσσεια των β-αλυσίδων σχηματίζει ένα τετραμερές γνωστό σαν Hb H (β4), απ' όπου η νόσος πήρε το όνομά της<sup>2</sup>. Στην εμβρυϊκή και νεογνική περίοδο η σχετική περίσσεια των γ-αλυσίδων σχηματίζει ένα άλλο τετραμερές γνωστό σαν Hb Bart's (γ4). Η κλινική έκφραση της νόσου ποικίλλει, από ήπια αναιμία μέχρι τόσο σοβαρή που να απαιτεί μεταγγίσεις και περιγράφεται με λεπτομέρεια παρακάτω.
4. Η απώλεια και των τεσσάρων α γονιδίων είναι ασύμβατη με την ζωή, καθώς το έμβρυο είτε αποβιώνει ενδομητρίως, είτε αναπτύσσει ύδρωπα και αποβιώνει μετά τον τοκετό. Η αδυναμία παραγωγής α αλυσίδων έχει σαν αποτέλεσμα την αντικατάσταση των φυσιολογικών αιμοσφαιρινών από την Hb Portland (ζ2γ2) και Hb Bart's (γ4)<sup>3</sup>.

Η α-θαλασσαιμία είναι πολύ συχνή σε άτομα που κατάγονται από τη ΝΑ Ασία, τη Μεσόγειο και την Αφρική. Η συχνότητα των φορέων θαλασσαιμικών αλληλίων ποικίλλει από 10-20% σε περιοχές της υποσαχάριας Αφρικής, >40% σε πληθυσμούς της Μέσης Ανατολής και της Ινδίας και φτάνει μέχρι το 80% στη βόρεια Παπούα-Νέα Γουινέα και απομονωμένες ομάδες στην ΝΑ Ινδία<sup>4</sup>. Στην Ελλάδα 7% του γενικού πληθυσμού είναι φορείς α<sup>+</sup> ΜΑ (έλλειμμα 3.7 κιλοβάσεις -α<sup>3.7</sup>) και άλλο 1% είναι φορείς κάποιου α0 ελλειμματος ή πιο σπάνια μετάλλαξης που αδρανοποιεί ένα α γονίδιο (nondeletional, α<sup>T</sup>). Οι φορείς των μεταλλάξεων

στα α-γονίδια είναι δύσκολο να διαγνωσθούν καθώς οι αιματολογικές τους παράμετροι είναι συνήθως εντός φυσιολογικών ορίων και επίσης δεν παρατηρείται αύξηση στα επίπεδα της HbA<sub>2</sub> ή της HbF. Η ανάπτυξη όμως των σύγχρονων μοριακών τεχνικών συνέβαλε τα μέγιστα στην διάγνωσή τους καθώς και στη συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου. Με βάση την ανάλυση των γονοτύπων σε ασθενείς με HbH, οι συχνότερες βλάβες στον Ελληνικό πληθυσμό σε ότι αφορά στα ελλείμματα, είναι η -α<sup>3.7</sup> (σε ποσοστό >50% των παθολογικών αλληλομόρφων), η -<sup>MED</sup>, -α<sup>20.5</sup>, και σπανιότερα οι -α<sup>4.2</sup> και -α<sup>5.2</sup>. Οι συχνότερες μη ελλειμματικές μοριακές βλάβες στην Ελλάδα είναι η α<sup>TSAUDI</sup>, με μετάλλαξη στο σήμα πολυαδενυλίωσης (Poly A (A>G); AATAAA>AATAAG, και η πεντανουκλεοτιδική έλλειψη GGTTGA στην 5' θέση δότη στο πρώτο εσώνιο του α2 γονιδίου, η α<sup>Hph</sup>. Σε μικρότερη συχνότητα η α<sup>TPA</sup>, η α<sup>Agf</sup> και α<sup>lc</sup>.<sup>5-10</sup>

## Αιμοσφαιρινοπάθεια Η

Όπως ήδη προαναφέρθηκε είναι η βαρύτερη μορφή α-μεσογειακής αναιμίας που είναι συμβατή με την ζωή και προκύπτει όταν ο συνδυασμός α θαλασσαιμικών μεταλλάξεων αποδίδει ποσότητα α αλυσίδων όση περίπου προέρχεται από ένα α γονίδιο. Η βαρύτητα της νόσου εξαρτάται από τον βαθμό της έλλειψης των α αλυσίδων και αυτό το γεγονός με τη σειρά του σχετίζεται με τον γονότυπο της νόσου. Οι κλινικές εκδηλώσεις συμπεριλαμβάνουν αναιμία, από ήπια έως αναιμία που να απαιτεί επείγουσα μετάγγιση, όπως κατά τη διάρκεια λοιμώξεων ή εγκυμοσύνης, και πολύ σπάνια τακτική μετάγγιση. Στα εργαστηριακά ευρήματα συμπεριλαμβάνονται υποχρωμία, μικροκυττάρωση, ανισοποικιοκυττάρωση και αυξημένα δικτυοερυθροκύτταρα. Άλλα κλινικά ευρήματα είναι ίκτερος, ηπατοσπληνομεγαλία, χολολιθίαση, υπερφόρτωση με σίδηρο στους ενήλικες σαν απότοκος των μεταγγίσεων και καθυστέρηση ανάπτυξης στα παιδιά. Επίσης σπάνια εκδηλώνεται σαν εμβρυϊκός ύδρωπας<sup>11</sup>.

Η συσχέτιση του φαινοτύπου με το γονότυπο έχει μελετηθεί στο παρελθόν τόσο στην χώρα μας, όσο και αλλού<sup>12-16</sup> σε περιορισμένο αριθμό ασθενών, αλλά και γονοτύπων. Όμως η μεγάλη ετερογένεια της α-θαλασσαιμίας στην Ελλάδα, δίνει μια μεγάλη ποικιλία γονοτύπων της αιμοσφαιρινοπάθειας Η. Έτσι οι Kanavakis et al (2000)<sup>17</sup> μελέτησαν 75 ασθενείς στους οποίους από 12 α-θαλασσαιμικές μεταλλάξεις, προέκυψαν 15 διαφορετικοί γονότυποι αιμοσφαιρινοπάθειας Η, αριθμός που δεν είχε άλλοτε περιγραφεί. Η πλειοψηφία των ασθενών στη μελέτη αυτή βρίσκεται σε συνεχή ιατρική παρακολούθηση για 5-10 χρόνια, και 70 από τους 75 ασθενείς ήταν παιδιά. Φαινοτυπικά οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε τρεις κατηγορίες, ως έχοντες ήπια, μέτρια και βαρεία κλινική εικόνα, ανά-

λογα με την ηλικία διάγνωσης, τη βαρύτητα της αναιμίας, τις απαιτήσεις σε μεταγγίσεις, τον βαθμό της σπληνικής και ηπατικής διόγκωσης, της οστικής συμμετοχής και σωματικής ανάπτυξης. Παρατηρήθηκε ότι στην ομάδα ελέγχου στην Ελλάδα η πλειοψηφία των περιπτώσεων αιμοσφαιρινοπάθειας H έχει γονοτύπους που οδηγούν σε ήπια ή ενδιάμεσου βαρύτητας κλινική εικόνα, με κύρια χαρακτηριστικά υπόχρωμη, μικροκυτταρική αναιμία, με διατήρηση ικανοποιητικών επιπέδων αιμοσφαιρίνης στο αίμα, ελάχιστη έως ήπια διόγκωση του σπληνός, χωρίς οστικές παραμορφώσεις και στην πλειοψηφία τους χωρίς ανάγκη μεταγγίσεων. Οι πάσχοντες διάγουν μια φυσιολογική ζωή, αλλά μπορεί να απαιτήσουν μεταγγίσεις κατά την διάρκεια λοιμώξεων ή εγκυμοσύνης. Στους ασθενείς τις ομάδας μελέτης οι γονότυποι αυτοί ήταν πιο συχνά ελλείμματα (41 ασθενείς είχαν ελλείμματα τριών α γονιδίων και 18 ήταν διπλοί ετεροζυγώτες για ελλειμματικές και μη ελλειμματικές μεταλλάξεις). Το είδος των ελλειμματικών μεταλλάξεων ήταν η  $\alpha^{3,7}$  σε συνδυασμό με  $-\text{MED}$ ,  $-(\alpha)^{20,5}$  και  $-(\alpha)^{45,2}$ , εντάσσονται δηλαδή όπως αναμένεται στις συχνότερες γενετικές βλάβες στον Ελληνικό πληθυσμό σε ότι αφορά στα ελλείμματα. Οι συχνότερες μη ελλειμματικές μεταλλάξεις, και μάλιστα του  $\alpha 2$  γονιδίου, ευθύνονταν για την βαρύτερη κλινική εικόνα της νόσου σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις που αυτή παρατηρήθηκε. Η συχνότερη ήταν η μετάλλαξη AATAAA>AATAAG στην poly-A αλληλουχία ( $\alpha^{\text{TSaudi}}$  ή HBA2:C.+94A>G), ακολουθούμενη από την απώλεια πέντε νουκλεοτιδίων (GGTGA) από το 5' άκρο της πρώτης μη κωδικοποιούσας περιοχής του  $\alpha 2$  γονιδίου ( $\alpha^{\text{Hph}}$  ή HBA2:c.95+2 95+6delITGAGG). Η Hb Icaria (HBA2:c.427T>A) και η Hb Agrinio (HBA2:c.89T>C) ευθύνονταν για μικρό αριθμό περιπτώσεων, και σε μεμονωμένα περιστατικά ευθύνονται η Hb Constant Spring (Hb CS, HBA2:c.427T>C), η μετάλλαξη στο κωδικόνιο ενάρξεως  $\alpha^{\text{Nco}}$  HBA2:c.2T>C, μία άλλη μετάλλαξη στο σήμα πολυαδενυλίωσης AATAAA>AATGAA ( $\alpha^{\text{PA}}$  ή HBA2:c.+92A>G) και η Hb Aghia Sophia (HBA1:c.187-189delGTG)<sup>18</sup>.

Οι ασθενείς αυτοί με τις μη ελλειμματικές μεταλλάξεις είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και MCHC, αλλά υψηλότερο MCV και επίπεδα Hb H. Στην ομάδα ελέγχου βαρύτερη κλινική εικόνα εμφάνιζαν οι ασθενείς με τις μεταλλάξεις για τις Hb Icaria και Hb Agrinio<sup>19-21</sup>, οι περισσότεροι από τους οποίους απαιτούσαν τακτικές μεταγγίσεις και σπληνεκτομή που βελτιώνει την κλινική τους εικόνα.

Η Hb Constant Spring (Hb CS) και η Hb Icaria ανήκουν στην κατηγορία των μεταλλάξεων που αφορούν στο κωδικόνιο τερματισμού και έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Έχουν περιγραφεί στην διεθνή βιβλιογραφία 6 τέτοιες μεταλλάξεις που είναι το αποτέλεσμα της αντικατάστασης του κωδικονίου τερματισμού από ένα που κωδικοποιεί αμινοξέα, με αποτέλεσμα την επιμήκυνση της α αλυσί-

δας (Hb Var <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/>). Όλες περιγράφηκαν αρχικά εξ' αιτίας της βαρύτερης εικόνας που προκάλεσαν σε ασθενείς στους οποίους συνυπήρχαν με κάποια άλλη μετάλλαξη.

Στον Ελλαδικό χώρο απαντά η Hb Icaria (142, Term→Lys,  $\alpha 2$  TAA>AAA, HBA2:c.427T>A), της οποίας αρκετές περιπτώσεις έχουν περιγραφεί και ο συνδυασμός της με το έλλειμμα  $\alpha^{-\text{MED}}$  οδηγεί σε αιμοσφαιρινοπάθεια H με βαρεία ή ενδιάμεση κλινική βαρύτητα<sup>17,20</sup>. Σε ομόζυγο κατάσταση η Hb Icaria προκαλεί ήπια αιμολυτική αναιμία που χαρακτηρίζεται από ελαφρά μόνο μείωση της MCH και φυσιολογικό MCV, όπως έχει περιγραφεί και στις ανήκουσες στην ίδια κατηγορία Hb CS (142, Term→Gln,  $\alpha 2$  TAA>CAA, HBA2:c.427T>C) και Koya Dora (142, Term→Ser,  $\alpha 2$  TAA>TCA, HBA2:c.428A>C)]. Αυτό οφείλεται μάλλον στην αδυναμία του ερυθρού να ελέγξει τον όγκο του, λόγω της βλάβης της μεμβράνης από τις οξειδωθείσες α αλυσίδες. Σ' ότι αφορά στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό, πιθανολογείται μετα-μεταφραστική αστάθεια του mRNA με αποτέλεσμα χαμηλό επίπεδο έκφρασης της παθολογικής αλυσίδας. Επίσης η επιμηκυσμένη ασταθής αιμοσφαιρινική αλυσίδα καθιζάνει στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη και συμβάλλει, μαζί με την περίσσεια β-αλυσίδων, στον βαθμό αναποτελεσματικής ερυθροποίησης και απόπτωσης. Πιο πρόσφατα προτάθηκε και υποστηρίχθηκε πειραματικά ότι οι παθολογικές α αλυσίδες δεν μπορούν να συνδεθούν με την πρωτεΐνη που σταθεροποιεί τις αλυσίδες της  $\alpha$ -σφαιρίνης. (Alpha hemoglobin Stabilizing Protein, AHSP<sup>19,20</sup>).

Η Hb Constant Spring (Hb CS;  $\alpha 142$ , Term→Gln ( $\alpha 2$ , TAA>CAA), απαντάται κυρίως στην ΝΑ Ασία, αλλά και στην Μεσόγειο. Οι φορείς έχουν πολύ ήπια αναιμία. Στα άτομα που συνκληρονομούν HbCS με  $\alpha^0$  αλληλία εμφανίζεται σοβαρή αιμοσφαιρινοπάθεια H με αιμόλυση σαν συνέπεια της συνάθροισης και επίδρασης των οξειδωθεισών παθολογικών α αλυσίδων στη μεμβράνη του ερυθρού<sup>22,23</sup>. Σε μια πρόσφατη μελέτη ασθενών με αιμοσφαιρινοπάθεια H, διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με απώλεια 2 α-γονιδίων και της μετάλλαξης Constant Spring έχουν βαρύτερη κλινική εικόνα σε σύγκριση με αυτούς που προκύπτουν από την απώλεια 3 εκ των 4 α-γονιδίων<sup>24</sup>. Χαρακτηρίζονται από σοβαρή αναιμία ειδικά κατά την διάρκεια λοιμώξεων και που συχνά απαιτεί μετάγγιση, εμφανίζουν καθυστέρηση ανάπτυξης και υπερφόρτωση με σίδηρο από την πρώτη κιόλας δεκαετία της ζωής τους και έχουν καλή απάντηση στη σπληνεκτομή<sup>24</sup>.

Η Hb Agrinio ( $\alpha 29$ (B10)Leu→Pro, CTG>CCG,  $\alpha 2$ , HBA2:c.89T>C) ανήκει στην κατηγορία των υπερασταθών α-αιμοσφαιρινών (βλ. και παρακάτω) και μέχρι σήμερα έχει περιγραφεί σε άτομα Ελληνικής ή Κυπριακής καταγωγής. Σε μια περίπτωση ομοζυγώτη παρατηρήθηκε σοβαρή υπόχρωμη, μικροκυτταρική αναιμία με χαμηλή τιμή Hb H (<2,5%) και σπάνια έγκλειστα. Στη συνέχεια περιγράφηκαν τρεις περιπτώσεις διπλών ετεροζυγωτών

α<sup>Arginino</sup>/α<sup>Saudi</sup>α. Και οι τρεις διαγνώστηκαν πριν από την ηλικία των 2 ετών και οι δύο περιπτώσεις απαίτησαν τακτικές μεταγγίσεις από πολύ νωρίς. Η πρόσφατη αξιολόγηση 12 περιπτώσεων ομοζυγωτών ή διπλών ετεροζυγωτών από ένα Ελληνικό Κέντρο σε χρονικό διάστημα 15 χρόνων, έδειξε μεγάλη φαινοτυπική ετερογένεια επίσης, από εικόνα ενδιάμεσου μεσογειακής αναιμίας (μεταγγισιοεξαρτώμενης ή μη) μέχρι εμβρυικό ύδρωπα και σε κάποιο βαθμό συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου. Η αρκετά συχνά σοβαρή κλινική εικόνα των ομοζυγωτών και των διπλών ετεροζυγωτών με κάποια άλλη βαρεία α μετάλλαξη, εισάγει την αναγκαιότητα να συμπεριλαμβάνεται η Hb Arginino στο μοριακό έλεγχο στο πλαίσιο της πρόληψης (screening) των ατόμων που προέρχονται από την Ελλάδα και την Κύπρο<sup>21,25,26</sup>.

Το ποσοστό της Hb H είναι ένας παράγοντας-κλειδί για την βαρύτητα της νόσου και μάλιστα για περισσότερους από έναν λόγους. Η Hb H δεν μπορεί να διανείμει οξυγόνο στους ιστούς, είναι δηλαδή λειτουργικά ανενεργής και επί πλέον είναι ασταθής και η κατακρήμνισή της προκαλεί τον σχηματισμό των χαρακτηριστικών εγκλείστων, καθώς και βλάβη της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης και αιμόλυση. Εκτός της χρόνιας αιμόλυσης όμως, οι πάσχοντες από αιμοσφαιρινοπάθεια Η παρουσιάζουν και ένα βαθμό αναποτελεσματικής ερυθροποίησης<sup>27</sup>. Στα περιστατικά αιμοσφαιρινοπάθειας Η με Hb Arginino που έχουν χαρακτηριστικά χαμηλά επίπεδα HbH, είναι αξιοσημείωτο και σε αντίθεση με ότι προαναφέρθηκε ότι η βαρύτητα της νόσου δεν μπορεί να αποδοθεί μόνο στα επίπεδα της Hb H. Φαίνεται ότι η παθολογική α Arginino αλυσίδα που παράγεται επιδεινώνει τις ανωμαλίες της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης που η καθίζηση της περισίσειας των β αλυσίδων έχει ήδη προκαλέσει.

Στη βαρύτητα της κλινικής εκδήλωσης της Hb H φαίνεται ότι παίζουν ρόλο και άγνωστοι γενετικοί ή/και περιβαλλοντικοί παράγοντες, καθώς άτομα με ίδιο γονότυπο μπορεί να έχουν διαφορετική κλινική εικόνα.

### Σπάνιες α- αιμοσφαιρινοπάθειες που οφείλονται σε ασταθείς α αλυσίδες

Σπανιότερα, σημειακές μεταλλάξεις που αφορούν σε αλλαγές νουκλεοτιδίων στο α1 ή στο α2 γονίδιο, έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή πολύ ασταθών α-αλυσίδων που οδηγεί σε εικόνα παρόμοια των υπολοίπων α-θαλασσαιμικών μεταλλάξεων.<sup>28</sup> Υπήρχε η εντύπωση ότι οι μεταλλάξεις αυτές είναι σχετικά σπάνιες. Σ' αυτό συνέβαλλε το γεγονός ότι στους φορείς αυτών των μεταλλάξεων δεν παρατηρούνται μη-φυσιολογικά αιματολογικά ευρήματα και μόνο σπάνια έχουν ήπια αναιμία ή χαμηλούς ερυθροκυτταρικούς δείκτες (κυρίως MCH). Η διερεύνηση επίσης αυτών των περιστατικών απαιτούσε εξειδικευμένα εργαστήρια. Όμως η αυξανόμενη γνώση και

η βελτιούμενη τεχνολογία, έχουν αυξήσει τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον για τις μεταλλάξεις αυτές που οδηγούν σε μια ποικιλία α-θαλασσαιμικών φαινοτύπων. Στις περιπτώσεις αυτές η δομική μεταβολή που προκαλείται από την μετάλλαξη αφορά στην περιοχή που εφάπτονται οι αλυσίδες α1β1. Όπως ήδη αναφέρθηκε οι φορείς είναι είτε ασυμπτωματικοί ή έχουν οριακά μόνο αιματολογικά ευρήματα. Η εικόνα της ήπιας αιμολυτικής αναιμίας μπορεί να εμφανιστεί, όταν ο πρωτεολυτικός μηχανισμός του ερυθροκυττάρου αδυνατεί να απομακρύνει το ασταθές μετουσιωμένο αιμοσφαιρινικό προϊόν.

Πιο εμφανής φαινότυπος προκύπτει όταν οι ασθενείς αυτοί είναι ομοζυγώτες για ασταθείς α αλυσίδες ή διπλοί ετεροζυγώτες με μια άλλη α-θαλασσαιμική μετάλλαξη. Έτσι υπάρχει ένας συνεχώς αυξανόμενος αριθμός περιπτώσεων που περιγράφονται στην βιβλιογραφία και αφορούν περιπτώσεις αιμοσφαιρινοπάθειας Η ή ενδιάμεσης μεσογειακής αναιμίας ή ακόμη και εμβρυικού ύδρωπα που προήλθαν από φορείς γονείς που δεν είχαν διαγνωσθεί. Σαν αποτέλεσμα του συστηματικού ελέγχου διαλογής (screening) και του προγεννητικού ελέγχου σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου ταυτοποιούνται ολοένα και περισσότερες «ποικιλίες» α-θαλασσαιμικών φαινοτύπων με οριακές αιματολογικές διαταραχές. Οι πιθανότητες για συνδυασμούς «ασταθών» ή άλλων θαλασσαιμικών ποικιλιών με κλασσικά ελλείμματα α-θαλασσαιμίας, είναι προφανές ότι είναι περισσότερες σε περιοχές που η θαλασσαιμία ενδημεί αν και οι μετακινήσεις των πληθυσμών και η μετανάστευση έχουν αλλοιώσει τα δεδομένα.

Στην ανασκόπηση αυτή θα αναφερθούν παραδείγματα τα υπερασταθών α αλυσίδων που παρατηρήθηκαν στη χώρα μας και περιγράφηκαν στη διεθνή βιβλιογραφία.

Η Hb Taybe [codons 38/39 (-ACC) Thr→0 (α1)] περιγράφηκε για πρώτη φορά (και έκτοτε αρκετές φορές) στους Άραβες του Ισραήλ, όπου απαντάται αρκετά συχνά σε ομόζυγη κατάσταση. Τα άτομα με Hb Taybe σε ομόζυγη ή διπλή-ετερόζυγη κατάσταση με άλλες μεταλλάξεις α-μεσογειακής αναιμίας, εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα φαινοτύπων που κυμαίνεται από ήπια χρόνια αιμολυτική αναιμία μέχρι εμβρυικό ύδρωπα και η φαινοτυπική αυτή ετερογένεια αφορά και σε άτομα με τον ίδιο γονότυπο, αντανακλώντας την πιθανή συνεισφορά άλλων γενετικών παραγόντων όπως του πρωτεολυτικού μηχανισμού του ερυθροκυττάρου. Στον Ελλαδικό χώρο έχουν περιγραφεί 4 περιπτώσεις διπλών ετεροζυγωτών Hb Taybe σε διπλή ετεροζυγωτία με την κοινή ελλειμματική βλάβη α<sup>+</sup>-3.7kb στις 3 περιπτώσεις και την μετάλλαξη α<sup>Hpb</sup>α στην 4<sup>η</sup>. Οι τρεις από τα 4 περιστατικά προέρχονταν από την Κρήτη. Όλοι οι πάσχοντες είχαν ήπια αναιμία με μορφολογικές αλλοιώσεις των ερυθρών που δεν απαιτούσε μεταγγίσεις και σπληνομεγαλία σαν το μόνο κλινικό εύρημα. Οι τιμές των Hb A<sub>2</sub> και Hb F, ήταν εντός φυσιολογικών ορίων και δεν παρατηρήθηκαν παθολογικά κλάσματα. Στην ίδια μελέτη περιγράφηκαν και τέσσερις φορείς (οι τρεις ήταν

γονείς των ασθενών και ο τέταρτος ανεξάρτητος τυχαία ανακαλυφθείς φορέας). Εκτός από ήπιες μορφολογικές αλλοιώσεις δεν είχαν κανένα άλλο παθολογικό αιματολογικό ή κλινικό εύρημα.

Η Hb Taybe χαρακτηρίζεται από την έλλειψη του αμινοξέος θρεονίνη στην α1β1 περιοχή. Επιπρόσθετα η θρεονίνη 38 αλληλεπιδρά με την Glu35 και το Asp36 της AHSP, την πρωτεΐνη η οποία προστατεύει τις αλυσίδες που σχηματίστηκαν και συμμετέχει στην σωστή τους αναδίπλωση<sup>29-31</sup>.

Η Hb Heraklion (codons 36/37 (-CCC); Pro→O (α1)), έχει περιγραφεί μέχρι σήμερα σε 4 περιπτώσεις που προέρχονται από την Κρήτη. Όπως και στις άλλες περιπτώσεις υπερασταθών αιμοσφαιρινών, αυτές ανιχνεύθηκαν όταν συνυπήρχαν με άλλες κοινές α θαλασσαιμικές μεταλλάξεις, την α<sup>HbH</sup> στις 3 περιπτώσεις και την α<sup>3,7</sup> στην τέταρτη *in trans*. Όλοι οι ασθενείς διαγνώστηκαν στην παιδική τους ηλικία. Είχαν μέτρια αναιμία, χωρίς όμως ανάγκη τακτικών μεταγγίσεων με μορφολογικές αλλοιώσεις, χωρίς όμως παθολογικά αιμοσφαιρινικά κλάσματα. Οι τρεις από τους τέσσερις είχαν σπληνομεγαλία και υπερχοληρυθριναιμία. Η προλίνη α37 στην κεντρική κοιλότητα της α αλυσίδας φυσιολογικά εμπλέκεται στην α1β1 επιφάνεια επαφής των δύο αλυσίδων μέσω του δεσμού της με την ιστιδίνη β147. Επίσης βρίσκεται εγγύς της αργινίνης 31 και της φαινυλαλανίνης 36 της α αλυσίδας στην επιφάνεια α1β1 και συμβάλλει στην σταθεροποίηση του μορίου της αιμοσφαιρίνης στην T στερεοδιάταξη. Η μετάλλαξη προκαλεί αστάθεια και αναμένεται να αλλάζει την χημική συγγένεια με το οξυγόνο. Οι απλοί φορείς όμως δεν έχουν κανένα παθολογικό κλινικό ή εργαστηριακό εύρημα που να τους διαφοροποιεί και να συμβάλλει στην ανίχνευσή τους. Πρόκειται πάντως για μια μάλλον σπάνια μετάλλαξη της οποίας η κλινική εικόνα στους διπλούς ετεροζυγώτες μπορεί να θεωρηθεί ήπια και έτσι δεν θεωρείται σκόπιμο να συμπεριλαμβάνεται στον έλεγχο διαλογής (screening test) του γενικού πληθυσμού<sup>32,33</sup>.

Η Hb Adana (α59(E8)Gly→Asp, GGC>GAC (α2 ή α1)) ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά σε δύο Τούρκους ασθενείς σε συνδυασμό με μια α<sup>0</sup> μετάλλαξη (έλλειμμα). Στην χώρα μας περιγράφηκαν δύο ασθενείς Αλβανικής καταγωγής, και οι δύο με τον ίδιο ακριβώς γονότυπο, δηλ. το 3.7kb α<sup>+</sup> έλλειμμα σε συνδυασμό με την Hb Adana στο α2 γονίδιο. Και οι δύο διαγνώστηκαν χωρίς στην παιδική τους ηλικία με αναιμία και αιμόλυση στην δεύτερη περίπτωση, καθώς και την ανίχνευση ταχέως αιμοσφαιρινικών κλασμάτων. Η κλινική εικόνα της ενδιάμεσης μεσογειακής αναιμίας δεν απαιτήσε παρά μόνο σποραδικές μεταγγίσεις στην πρώτη περίπτωση, ενώ στην δεύτερη που αφορά σε ένα παιδί 2 ετών, ακολουθείται πρόγραμμα τακτικών μεταγγίσεων. Ενδεχομένως άλλοι τροποποιητικοί παράγοντες επηρεάζουν την κλινική έκφραση του συνδυασμού αυτού. Στην βιβλιογραφία έχει περιγραφεί και περίπτωση εμβρυϊκού ύδρωπα σαν αποτέλεσμα της συ-

νύπαρξης της Hb Adana στο α2 γονίδιο με μια α0 μετάλλαξη *in trans*. Αντίθετα η συνύπαρξη της Hb Adana στο α1 γονίδιο με μια α0 μετάλλαξη προκάλεσε εικόνα αιμοσφαιρινοπάθειας H με ανιχνεύσιμα επίπεδα Hb Bart's. Η διαφορά αποδίδεται στην κυρίαρχη έκφραση του α2 γονιδίου. Η μετάλλαξη θεωρείται ότι παρεμποδίζει την αναδίπλωση της α αλυσίδας επηρεάζοντας κάποιες θέσεις επαφής εντός αυτής<sup>34,35</sup>.

Στις α-ασταθείς αιμοσφαιρινοπάθειες-HbH η φαινοτυπική ποικιλομορφία επηρεάζεται δυνητικά από τις μοριακές βλάβες στα αλληλεπιδρώντα α γονίδια και από τον μηχανισμό της πρωτεϊνικής αστάθειας ανάλογα με την παθολογική α αλυσίδα. Αν και οι α θαλασσαιμικοί γονότυποι στους ασθενείς με κλαστική αιμοσφαιρινοπάθεια H σχετίζονται ισχυρά με τον κλινικό και αιματολογικό φαινότυπο<sup>11</sup> οι γονότυποι σε ασθενείς με υπερασταθείς ποικιλίες δεν συνδέονται ξεκάθαρα με τον σχηματισμό HbH. Πιθανώς ο ακριβής μηχανισμός της πρωτεϊνικής αστάθειας διαφέρει για κάθε μια από τις υπερασταθείς αιμοσφαιρίνες που περιγράψαμε και αυτό μπορεί να παίζει καθοριστικό ρόλο στη φαινοτυπική τους έκφραση. Περισσότερες από 20 υπερασταθείς α αιμοσφαιρίνες έχουν περιγραφεί, οι οποίες όταν συνδυάζονται με άλλες μεταλλάξεις του α γονιδίου έχουν σαν αποτέλεσμα αιμοσφαιρινοπάθεια H ή αιμολυτική αναιμία<sup>36</sup>. Ένας τρίτος διακριτός φαινότυπος είναι αυτός της ενδιάμεσης μεσογειακής αναιμίας με εκσεσημασμένη δυσερυθροποίηση. Η απουσία ανιχνεύσιμων παθολογικών αιμοσφαιρινικών κλασμάτων, συμπεριλαμβανομένης και της HbH, προκαλεί σύγχυση και απαιτούν DNA ανάλυση για τον ακριβή χαρακτηρισμό τους.

### Κλινική αντιμετώπιση της αιμοσφαιρινοπάθειας H και α-ασταθών αιμοσφαιρινοπαθειών

Στην πλειοψηφία των ασθενών τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης βρίσκονται γύρω στα 8-10g/dl και παραμένουν σχετικά σταθερά. Πτώση της τιμής της αιμοσφαιρίνης παρατηρείται κατά την διάρκεια εμπύρετων επεισοδίων, οπότε μπορεί να απαιτηθεί μετάγγιση. Σε σπάνιες περιπτώσεις απαιτούνται τακτικές μεταγγίσεις επειδή τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης παραμένουν σταθερά χαμηλά ακόμη και χωρίς κάποιο εμπύρετο επεισόδιο. Στις περιπτώσεις αυτές υπάρχει μεγαλύτερη σπληνομεγαλία και πιο έντονες οστικές αλλοιώσεις. Συνήθως συστήνεται η λήψη φυλλικού οξέος (2-5 mg/ημ), ιδιαίτερα στα παιδιά προκειμένου να ανταποκριθούν στις ανάγκες της αυξημένης ερυθροποίησης.

Η οξεία αιμόλυση μπορεί να είναι τόσο απότομη όσο και στην περίπτωση της έλλειψης G-6-PD και να οδηγήσει τον ασθενή σε βαρύτατη κλινική εικόνα. Σπάνια αναφερόμενη είναι και η απλαστική κρίση μετά από λοίμωξη

από τον ιό Parvo B19. Η πτώση της αιμοσφαιρίνης συνοδεύεται από δικτυοερυθροκυτταροπενία, σημείο διαφορικής διάγνωσης από την οξεία αιμόλυση.

Παρά το γεγονός ότι οι περισσότεροι ασθενείς έχουν σπληνομεγαλία, η σπληνεκτομή δεν συστήνεται όταν διατηρούν σταθερά επίπεδα αιμοσφαιρίνης και δεν απαιτούν συχνές μεταγγίσεις, δεν έχουν υπερσπληνισμό ή πιεστικά φαινόμενα λόγω του μεγέθους του σπληνός. Η σπληνεκτομή συνοδεύεται συνήθως από σημαντική αύξηση της αιμοσφαιρίνης και είναι αυτονόητο ότι μετεγχειρητικά λαμβάνονται όλα τα απαραίτητα μέτρα για την αποφυγή βακτηριακών λοιμώξεων και φλεβικής θρόμβωσης.

Οι ασθενείς με βαρύτερη κλινική εικόνα που μεταγγίζονται συστηματικά πρέπει να έχουν τη φροντίδα των πολυμεταγγιζομένων ασθενών, με έμφαση στην αποσιδήρωση.

Χολόλιθοι ανιχνεύονται στο >30% των ασθενών με αιμοσφαιρινοπάθεια Η και αποτελούν αιτία χολοκυστίτιδος και ανιούσης χολαγγειίτιδος<sup>37</sup>.

## Σύνδρομα που σχετίζονται με α-μεσογειακή αναιμία

### α-θαλασσαιμία και νοητική υστέρηση

Υπάρχουν 2 διακριτά σύνδρομα στα οποία η α-θαλασσαιμία συνοδεύεται από νοητική υστέρηση. Το πρώτο, το σύνδρομο ATR-16 χαρακτηρίζεται από μεγάλες χρωμοσωμικές ελλείψεις που «αφαιρούν» άνω της 900kb-1Mb του τελομερούς του βραχέος σκέλους του χρωμοσώματος 16, συμπεριλαμβανομένου του συμπλέγματος ζ (HBZ) και α (HBA1 και HBA2) γονιδίων, με αποτέλεσμα μονοσωμία για το τελομερές 16p και α-θαλασσαιμικό φαινότυπο. Χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό συμβατικής κυτταρογενετικής, FISH και μοριακής ανάλυσης, παρατηρήθηκε μια ποικιλία χρωμοσωμικών αναδιατάξεων είτε κληρονομούμενων είτε de novo, συμπεριλαμβανομένων μεταθέσεων, αναστροφών, ελλειμμάτων και υποτελομεριδιακών ελλείψεων. Καθώς οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες ποικίλουν ευρέως, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι ο φαινότυπος αυτής της κατάστασης δείχνει επίσης αξιοσημείωτη ποικιλία, αλλά πάντα συμπεριλαμβάνει νοητική υστέρηση και αναπτυξιακές ανωμαλίες με α-θαλασσαιμία. Θεωρείται ότι η νοητική υστέρηση και άλλες συγγενείς ανωμαλίες που παρατηρούνται στο σύνδρομο αυτό προκαλούνται από την έλλειψη δοσο-ευαίσθητων γονιδίων στο τελομερές 16p, καθώς και σε άλλες συνυπάρχουσες χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Μεγαλύτερα ελλείμματα (~900-2000 kb) μπορεί να συνδυάζονται με ποικίλου βαθμού νοητική υστέρηση, ενώ ελλείμματα μεγαλύτερα των 2000 kb, επειδή αφορούν περιοχές υπεύθυνες για οξάδη σκλήρυνση τύπου 2 και πολυκυστική νόσο του νεφρού τύπου I, μπορεί να οδηγήσουν σε θαλασσαιμικά σύνδρομα σε συνδυασμό και με αυτές

τις καταστάσεις εξ' αιτίας της γειννίασης των γονιδίων. Είναι σημαντικό για την κατανόηση της γενετικής βάσης της νοητικής υστέρησης να ταυτοποιηθούν τα γονίδια στο τελομερές 16 που προκαλούν γνωσιακές και αναπτυξιακές ανωμαλίες όταν λείπει το ένα τους αντίγραφο. Ο ορισμός του συνδρόμου ATR-16 ήταν σημαντικός επειδή έδωσε την πρώτη ένδειξη ότι η νοητική υστέρηση μπορεί να είναι αποτέλεσμα κρυπτικών, υποτελομεριδιακών αναδιατάξεων και ελλείψεων, μια παρατήρηση που αργότερα βρέθηκε σε σημαντικό ποσοστό αδιευκρίνιστων περιπτώσεων νοητικής υστέρησης.

Το δεύτερο σύνδρομο α-θαλασσαιμίας με νοητική υστέρηση ονομάζεται σύνδρομο ATR-X, είναι πιο συχνό από το σύνδρομο ATR-16 και πρόκειται για φυλοσύνδετη διαταραχή που προκαλείται από μεταλλάξεις στο ATR-X γονίδιο που βρίσκεται στο X χρωμόσωμα (Xq13.1-q21.1). Παρουσιάζεται με έναν σύνθετο φαινότυπο και οι άρρενες πάσχοντες έχουν πολύ σοβαρά νοητικά προβλήματα και συγγενείς ανωμαλίες. Συχνά έχουν χαρακτηριστικές αλλοιώσεις στο πρόσωπο. Στο 90% των ασθενών αυτών είναι παρούσες σκελετικές και γενετικές ανωμαλίες όπως ερμαφροδιτιμίες. Παρουσιάζουν α-θαλασσαιμικό φαινότυπο αλλά με σημαντικές διαφορές στην παρουσία εγκλείστων που βρίσκονται σε ποσοστό 0-32% των κυκλοφορούντων ερυθροκυττάρων. Καθώς περιγράφονται περισσότερες περιπτώσεις έχουν προκύψει κάποιες συσχετίσεις μεταξύ του φαινοτύπου και της θέσης της μετάλλαξης. Παρά την πρόοδο που έχει επιτελεσθεί στον ορισμό του φαινοτύπου, τις ιδιότητες της πρωτεΐνης και τις συνέπειες των μεταλλάξεων λίγες είναι οι πληροφορίες για τη λειτουργία της και ιδιαίτερα ο ρόλος της στην έκφραση της σφαιρίνης. Το προϊόν είναι μια πρωτεΐνη που συνδέεται με την χρωματίνη και είναι μέλος της οικογένειας SNF2, των πρωτεϊνών αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης. Διαθέτει δύο πολύ διατηρημένες περιοχές (highly conserved domains) μέσα στις οποίες έχουν περιγραφεί >125 διαφορετικές μεταλλάξεις. Οι δράσεις της ATRX πρωτεΐνης *in-vivo* δεν έχουν διευκρινισθεί και αποτελούν αντικείμενο έρευνας. Έχει εμπλακεί στη ρύθμιση της μεταγραφής μέσω τροποποίησης της χρωματίνης, αλληλεπίδρασης πρωτεϊνών, δράσεις ATPάσης και ελικάσης και επίδρασης στο πρότυπο της μεθυλίωσης του γονιδιωματός. Η ποικιλία των φαινοτύπων των ασθενών προτείνει ότι η ATRX αλληλεπιδρά με άλλους γενετικούς παράγοντες ώστε να εκφραστούν φυσιολογικά πολλά γονίδια με αναπτυξιακά σήματα, συμπεριλαμβανομένων και των α, αλλά όχι των β γονιδίων.

### Επίκτητη HbH σε μυελοπαραγωγικά σύνδρομα

Το σύνδρομο έχει περιγραφεί κυρίως σε ηλικιωμένους ασθενείς που πάσχουν από πρωτογενείς μυελικές

διαταραχές, όπως η ερυθρολευχαιμία, η μυελοδυσπλασία, η ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών, η οξεία λευχαιμία κ.λπ. Επίκτητες μεταλλάξεις στο ATRX βρέθηκαν σ' αυτούς τους ασθενείς. Η μοριακή του βάση δεν έχει διελευκανθεί αν και θεωρείται ότι η καταστολή της έκφρασης των  $\alpha$ -γονιδίων στους ασθενείς αυτούς είναι αποτέλεσμα της επίπτωσης της σωματικής μετάλλαξης στο ATRX σε συνδυασμό με κοινούς γενετικούς ή/και επιγενετικούς παράγοντες που ευθύνονται για τη μυελοδυσπλασία. Γενικότερα η βαρύτητα της  $\alpha$ -θαλασσαιμίας και το εξαρτώμενο επίπεδο παραγωγής HbH είναι μεγαλύτερη από αυτή που παρατηρείται στη θαλασσαιμία των

συνδρόμων με νοητική υστέρηση. Αν και έχουν ταυτοποιηθεί λιγότερες μεταλλάξεις αυτές κατανέμονται ισόποσα σχεδόν στις δύο κύριες περιοχές του ATRX. Δεν είναι πιθανό οι μεταλλάξεις αυτές να εμπλέκονται στην παθογένεια των Μυελοουπερπλαστικών συνδρόμων. Είναι μάλλον επίκτητες σαν «περαστικές» μεταλλάξεις που γίνονται πιο σοβαρές όταν αλληλεπιδρούν με μια ή περισσότερες γενετικές ή επιγενετικές μεταλλάξεις μιας μυελοπαραγωγικής διαταραχής.

Τα σπάνια αυτά σύνδρομα δίνουν σημαντικές πληροφορίες για τη βιολογική ρύθμιση και έκφραση των  $\alpha$ -γονιδίων και άλλων αναπτυξιακών οδών<sup>11,38</sup>.

### **$\alpha$ -thalassemia, H hemoglobinopathy and unstable $\alpha$ globin chains**

by Emmanuel Kanavakis<sup>1</sup>, Joanne Traeger-Synodinos<sup>1</sup>, Varvara Douna<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics, Athens University, St. Sophia's Children's Hospital, Athens,

<sup>2</sup>Hematology Laboratory "P. & A. Kyriakou", Athens

**ABSTRACT:** The synthesis of  $\alpha$ -globin chains is directed by the duplicated  $\alpha$ -globin genes (*HBA1* και *HBA2* ή  $\alpha 1$  και  $\alpha 2$ ) located at the tip of the short arm of chromosome 16 (16p13.3). Mutations that reduce the synthesis of  $\alpha$ -globin chains cause  $\alpha$ -thalassemia ( $\alpha$ -thal), and over than 120 have been described worldwide (Hb Var <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/>). The majority of the most common  $\alpha$ -thal determinants are deletions that remove some, or all of, the  $\alpha$ -globin gene cluster. Less common are single nucleotide (nt) substitutions or micro deletions within either the  $\alpha 1$ - or  $\alpha 2$ -globin genes, also known as nondeletional mutations. An apparent reduction in  $\alpha$ -globin chain synthesis can also be caused by substitutions that give rise to hyperunstable  $\alpha$ -globin chains. In most cases, these variants are so unstable that they cannot be detected at the protein level, and can only be deduced from the DNA sequence. In Greece,  $\alpha$ -thal has an estimated carrier frequency of 8.0%, with over 20 different mutations observed to date. According to the number of  $\alpha$  genes with impaired function, four major hematological and clinical phenotypes can be characterized. Coinheritance of a thalassemia mutations may lead to the expression of clinically relevant conditions, most notably Hb Bart's hydrops fetalis and Hb H disease. HbH disease is the severest form of a thalassemia compatible with postnatal life, and it occurs when a thalassemia mutations interact to reduce a globin synthesis to levels approximately equivalent to the output of a single  $\alpha$  globin gene. The clinical severity of Hb H disease may vary considerably, but strongly correlates with the underlying  $\alpha$  thalassemia genotype. Patients with genotypes involving hyperunstable  $\alpha$ -globin chain variants (either in the homozygous or compound heterozygous state with typical haploinsufficient a thalassemia mutations) may have classical Hb H disease, but also may have a condition with clinical and hematological findings similar to  $\beta$ -thal intermedia and very rarely HbH-hydrops.

### **Βιβλιογραφία**

- Higgs DR. Molecular mechanisms of  $\alpha$ -thalassemia. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, Eds. Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge: Cambridge University Press. 2001; 405–430.
- Waye JS, Chui DHK. The  $\alpha$ -globin gene cluster: genetics and disorders. Clin Invest Med. 2001; 24(2):103-109.
- Chan V, Chan VWY, Tang M, et al. Molecular defects in Hb H hydrops fetalis. Br J Haematol. 1997; 96(2):224–228.
- Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull World Health Organ. 2001; 79(8):704-712.
- Anagnostou A, Tassiopoulou A, Rombos J, et al. Alpha-Thalassemia in Greece; carrier identification and frequency. Thalassemia Today. The Mediterranean experience. Ed. Sirchia G, Zanella A. 1987; p 337.
- Higgs DR.  $\alpha$ -Thalassemia. Bailliere's Clinical Hematology. 1993; 6(1):117.
- Καναβάκης Ε. Συχνότητα της  $\alpha$ -Μεσογειακής αναιμίας στον Ελληνικό Πληθυσμό. Διατριβή επί Υψηγεία. 1984.

8. Kanavakis E, Tzotzos S, Liapaki A, et al. Frequency of α-Thalassemia in Greece. *Am J Hematol.* 1986; 22:225.
9. Καράμπαμπα Φ. Δομική, παθοφυσιολογική και γενετική μελέτη των συνδρόμων της α-Μεσογειακής αναιμίας στον Ελληνικό πληθυσμό. Διδακτορική διατριβή. 2000.
10. Liebhaver SA. α-Thalassemia. *Hemoglobin.* 1989; 13:685.
11. Chui D, Fucharoen S, Chan V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. *Blood.* 2003; 101(3):791-800.
12. Kanavakis E, Traeger-Synodinos J, Papasotiriou I, et al. The interaction of alpha zero thalassaemia with Hb Icaria: three unusual cases of haemoglobinopathy H. *Br J Haematol.* 1996; 92(2):332-5.
13. Kattamis C, Kanavakis E, Tzotzos S, et al. Correlation of clinical phenotype to genotype in Hemoglobin H disease. *Lancet.* 1988; 1:442-4.
14. Galanello R, Pirastu M, Melis MA, et al. Phenotype-genotype correlation in haemoglobin H disease in childhood. *J Med Genet.* 1983; 20(6):425-9.
15. Paglietti E, Galanello R, Moi P, et al. Molecular pathology of haemoglobin H disease in Sardinians. *Br J Haematol.* 1986; 63(3):485-96.
16. Fucharoen S, Thonqlairuam V, Winichagoon P. Hematologic changes in α-thalassemia. *Am J Clin Pathol.* 1988; 90(2):193-196.
17. Kanavakis E, Papasotiriou I, Karagiorga M, et al. Phenotypic and molecular diversity of Haemoglobin H disease: a Greek experience. *Br J Haematol.* 2000; 111(2):915-923.
18. Traeger-Synodinos J, Hartevelde CL, Kanavakis E, et al. Hb Aghia Sophia [α62(E11)Val 0 (α1)], an "in-frame" deletion causing α-thalassemia. *Hemoglobin* 1999; 23(4):317-324.
19. Clegg JB, Weatherall DJ, Contopoulos-Griva I, et al. Haemoglobin Icaria, a new chain termination mutant which causes α-thalassaemia. *Nature.* 1974; 251(5472): 245-247.
20. Kanavakis E, Traeger-Synodinos J, Papasotiriou I, et al. The interaction of α0 thalassaemia with Hb Icaria: three unusual cases of haemoglobinopathy H. *Br J Haematol.* 1996; 92(2):332-335.
21. Hall GW, Thein SL, Newland AC, et al. A base substitution (T C) in codon 29 of the α2 globin gene causes α-thalassaemia. *Br J Haematol.* 1993; 85(3):546-552.
22. Clegg JB, Weatherall DJ, Milner PF. Haemoglobin Constant Spring – α chain termination mutant? *Nature.* 1971; 234(5328):337-340.
23. Hartevelde CL, Traeger-Synodinos J, Ragusa A, et al. Different geographic origins of Hb Constant Spring [α2 codon 142 TAA CAA]. *Haematologica* 2001; 86(1):36-38.
24. Lal A, Goldrich ML, Haines DA, et al. Heterogeneity of hemoglobin H disease in childhood. *N Engl J Med.* 2011; 364(8):710-8.
25. Traeger-Synodinos J, Metaxotou-Mavromati A, Kanavakis E, et al. An α-thalassemic hemoglobinopathy: homozygosity for the Hb Agrinio α2-globin chain variant. *Hemoglobin.* 1998; 22(3):209-215.
26. Traeger-Synodinos J, Douna V, Papasotiriou I, et al. Variable and often Severe Phenotypic Expression in Patients with the α-thalassemic Variant Hb Agrinio (α29 (B10) Leu→Pro (α2)). *Hemoglobin.* 2010; 34(5):430-438.
27. Papasotiriou I, Traeger-Synodinos J, Vlachou K, et al. Erythroid marrow activity and haemoglobin H levels in haemoglobin H disease. *Journal of Pediatric Hematology Oncology.* 1998; 20:539-544.
28. Poyart C, Wajcman H. Hemolytic anemias due to hemoglobinopathies. *Mol Aspects Med.* 1996; 17(2):129-42.
29. Galacteros F, Girodon E, M'Rad A, et al. Hb Taybe (α38 or 39 THR deleted): an α-globin defect, silent in the heterozygous state and producing severe hemolytic anemia in the homozygous. *C R Acad Sci III.* 1994; 317(5):437-444.
30. Arnon S, Tamary H, Dgany O, et al. Hydrops fetalis associated with homozygosity for Hemoglobin Taybe (α38/39 THR deletion) in newborn triplets. *Am J Hematol.* 2004; 76(3):263-266.
31. Douna V, Liapi D, Kampourakis D, et al. First observation of Hb Taybe [codons 38/39 (-ACC) Thr→ 0 (α1)] in Greece: clinical and hematological findings in patients with co-inherited α+-thalassemia mutations. *Hemoglobin.* 2008; 32(4):371-378.
32. Traeger-Synodinos J, Papasotiriou I, Metaxotou-Mavromati A, et al. Distinct phenotypic expression associated with a new hyperunstable α globin variant (Hb Heraklion, α1cd37(C2)Pro→ 0): comparison to other α-thalassemic hemoglobinopathies. *Blood Cells Mol Dis.* 2000; 26(4):276-284.
33. Douna V, Papasotiriou I, Metaxotou-Mavromati A, et al. Further identification of the hyperunstable α globin chain variant Hb Heraklion [codons 36/37 (-CCC); Pro 0 (α1)] in Greek cases with co-inherited α+-thalassemia mutations. *Hemoglobin.* 2008; 32(4):379-385.
34. Curuk MA, Dimovski AJ, Baysal E, et al. Hb Adana or α259(E8)Gly Aspβ2, a severely unstable α1-globin variant, observed in combination with the -(α)20.5 kb α-thal-1 deletion in two Turkish patients. *Am J Hematol.* 1993; 44(4):270-275.
35. Douna V, Papasotiriou I, Garoufi A, et al. A rare thalassemic syndrome caused by interaction of Hb Adana [α59(E8) GlyAsp] with an α+-thalassemia deletion: clinical aspects in two cases. *Hemoglobin.* 2008; 32(4):361-369.
36. Wajcman H, Traeger-Synodinos J, Papasotiriou I, et al. Unstable and thalassemic alpha chain hemoglobin variants: a cause of Hb H disease and thalassemia intermedia. *Hemoglobin.* 2008; 32(4):327-49.
37. Fucharoen S, Viprakasit V. HbH disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology.* 2009; ASH Education Program Book.
38. Higgs DR, Weatherall DJ. The Alpha Thalassemias. *Cell Mol Life Sci Basel.* 2009; 66(7):1154-62.