

Prevenzione oggi per i difetti dell'emoglobina in gravidanza

G. Ivaldi

Laboratorio di Genetica - Settore Microcitemia, Ospedali Galliera, Genova

Riassunto

Da 50 anni la prevenzione delle Emoglobinopatie ha interessato in Italia quasi tutte le Regioni ma soprattutto la Sicilia, la Sardegna, le Regioni del Meridione e il Delta del Po. I flussi migratori sempre più intensi negli ultimi anni, di soggetti provenienti da aree in cui sono frequenti i difetti genetici dell'emoglobina hanno fatto sì che la prevenzione risulti ancora più importante perché spesso si tratta di dover gestire nuove realtà senza una consolidata cultura della prevenzione della talassemia e delle varianti dell'emoglobina. Il Laboratorio che si occupa di questa diagnostica deve essere in grado di spiegare le numerose opportunità diagnostiche utili a prevenire il rischio di malattia sia in epoca preconcezionale che in gravidanza. Lo stato di portatore di un difetto genetico dell'Hb può essere accertato con esami specifici (I livello) da eseguirsi preferibilmente in epoca preconcezionale ma spesso accade che tali esami vengano richiesti in gravidanza, a volte anche avanzata, in condizioni di urgenza e in tempi gestazionali non ottimali. Se l'esito di tali esami è tale da richiedere ulteriori accertamenti mediante analisi molecolare (II livello) oppure occorre esaminare il partner allora i tempi e i livelli decisionali per la coppia si riducono ulteriormente. La prevenzione delle emoglobinopatie in gravidanza richiede pertanto un percorso diagnostico ben definito e tale da poter interpretare in modo certo e rapido un assetto emoglobinico anche in presenza di interferenze come l'anemia ferrocarenziale, i deficit vitaminici e l'aumento fisiologico dell'emoglobina fetale (Hb F) nel sangue periferico.

Summary

Today prevention of hemoglobin defects in pregnancy

Since fifty years the hemoglobinopathies prevention in Italy has affected nearly all Regions especially Sardinia, Sicily, the Southern Regions and the Delta of Po. The prevention is important because of the migratory streams coming from lands, where haemoglobin genetical defects are common, generate new situations which are hard to manage. The Laboratory must be able to explain the numerous diagnostic chances, that could come in handy for preventing the haemoglobinopathy risk both in preconceptional time and in pregnancy. The carrier state of a genetical defect of haemoglobin can be assessed by means of specific tests (first level). These tests must be executed in preconceptional time, but it often happens those tests can be required also in late pregnancy time: then in emergency and in worst gestational time. The decision-making opportunities for the couple become more and more difficult in case of need of second level tests (molecular analysis, tests for partner). Therefore the haemoglobinopathies prevention in pregnancy requires a well-defined diagnostic path to interpret quickly and surely an haemoglobin structure even if interferences such as iron deficiency anemia, vitaminic deficiency and physiological increase of fetal hemoglobin (Hb F) in the peripheral blood.

Key-words: hemoglobinopathies, prevention, pregnancy, HPFH.

Premessa

L'obiettivo di prevenire un difetto genetico a trasmissione autosomica recessiva in una popolazione che sostanzialmente non muta può rimanere una necessità costante nel tempo ma il bisogno di prevenzione crescerà nel momento in cui in quella popolazione giungeranno nuovi soggetti con una maggior prevalenza per quel difetto; è ciò che è accaduto in Italia nel secolo scorso con la migrazione interna dal Sud verso le aree industrializzate del Nord e che sta accadendo in questi anni, su tutto il territorio della Penisola, con l'immigrazione prevalentemente da Paesi dell'Est Europeo, Africa e Asia. Cardine della prevenzione è la conoscenza dello stato di portatore che si attua sostanzialmente solo mediante la opportuna valutazione di pochi esami di laboratorio¹. Negli anni '60 gli studi, i metodi proposti e le raccomandazioni dei coniugi Silvestroni e Bianco² hanno fatto nascere l'esigenza di prevenzione dell'anemia mediterranea mediante indagini sistematiche per diverse categorie di soggetti e in diverse regioni ma tra gli "addetti ai lavori" si è sempre dibattuto su quale fosse l'età più propizia e le circostanze più favorevoli per proporre un'indagine di laboratorio che, accompagnata da opportune informazioni, fosse in grado di rivelare uno stato di portatore o di escluderlo ma anche di essere recepita e ricordata per il resto della vita. Pertanto in alcune realtà gli screening delle emoglobinopatie hanno visto privilegiare il tempo della scuola dell'obbligo³ oggi però la prevenzione si realizza maggiormente in epoca pre-concezionale o comunque in vista di una gravidanza coinvolgendo nel percorso dell'informazione-comunicazione anche le istituzioni civili e religiose. E' evidente che la conoscenza di uno stato di portatore comporterà anche delle scelte procreative responsabili che solo un individuo adulto sarà in grado di operare. Lo stato di portatore, ovvero di potenziale trasmettitore di un difetto dell'emoglobina, non comporta però necessariamente un "rischio" di patologia grave nei figli: molto, infatti, dipenderà dalla tipologia delle mutazioni beta coinvolte e dalle eventuali interazioni con caratteristiche, che potremmo definire favorevoli, presenti sui geni alfa e gamma. Oggi le tecniche molecolari sempre più raffinate permettono di comprendere tutto questo e prevedere molto più di quanto ci era consentito fino a dieci o quindici anni or sono. Con questi presupposti pertanto oggi il ricorso talvolta sbrigativo ad una soluzione prenatale invasiva per i difetti beta globinici risulta sensibilmente diminuito.

Appropriatezza della prescrizione diagnostica in previsione o in corso di gravidanza

Oggi sempre più frequentemente il laboratorio deve confrontarsi con il termine "appropriatezza" riguardo ai comportamenti, le scelte e le azioni che caratterizzano i cosiddetti "percorsi diagnostici". All'inizio di un percorso diagnostico è importante porre l'attenzione

sull'appropriatezza riguardo la richiesta degli esami sufficienti a porre diagnosi di emoglobinopatia in previsione di una gravidanza ma ancor più se la gravidanza è già in atto. A questo proposito va ricordato il Decreto Ministeriale N. 245 del 10 settembre 1998: emanato a suo tempo per aggiornare precedenti disposizioni, da oltre undici anni governa la materia dei "protocolli di accesso agli esami di laboratorio e di diagnostica strumentale per le donne in stato di gravidanza ed a tutela della maternità responsabile". Tale Decreto, tra l'altro specifica quando e quali esami specialistici possono essere esenti dalla partecipazione alla spesa da parte della donna ed eventualmente del partner non solo in gravidanza ma anche in funzione preconcezionale. In questi anni il Decreto è stato utilizzato erroneamente dai medici prescrittori alla stregua di linee-guida mentre i veri percorsi diagnostici¹ sono stati considerati vincolanti solo per il laboratorio. Gli esami riportati in quel testo (Emocromo, Resistenza Osmotica Eritrocitaria, Emoglobine Anomale) non sono mai stati modificati e sono entrati nella prassi delle prescrizioni di diverse categorie di specialisti, in particolare dei ginecologi e riprodotte dai colleghi di medicina generale. La misura della concentrazione relativa dell'Hb A₂ non viene citata in quel testo pur essendo l'esame unanimemente riconosciuto come specifico e irrinunciabile per valutare la presenza di una beta talassemia eterozigote¹. Non viene indicato nel DM N. 245 neppure il controllo dello stato marziale⁴ indispensabile per una diagnosi differenziale delle anemie. Pertanto si deve concludere che una richiesta formulata sulla base del sopra citato Decreto non permetterà una corretta e completa valutazione dell'assetto emoglobinico e quindi un'adeguata prevenzione.

Gravidanza ed Emoglobina Fetale

La misura dell'HbF nell'individuo adulto assume un significato particolare nella diagnostica di alcuni disordini a carico dei geni globinici: i livelli di HbF aumentano considerevolmente nella β -talassemia omozigote e nella $\delta\beta$ -talassemia, anche allo stato eterozigote, e valori sensibilmente elevati li ritroviamo in alcune forme di persistenza ereditaria di emoglobina fetale (HPFH). Valori meno importanti di Hb F sono presenti nei portatori di beta talassemia, associati ad alcuni polimorfismi dei geni gamma e in alcune patologie acquisite. Dibattuto è il significato dell'aumento relativo, percentualmente poco rilevante, dell'Hb F nella donna in gravidanza che può rendere necessaria talvolta una adeguata diagnosi differenziale per distinguere un passaggio anomalo di cellule fetali nella circolazione materna⁵, tra l'ottava e la ventiduesima settimana di gravidanza, rispetto alla presenza di HPFH di "tipo Svizzero" (sovrapponibile ai polimorfismi -158 C>T sul gene G_γ e alla delezione di 4basi in -225 sul gene A_γ). Una recente osservazione destinata a far capire meglio l'espressione dei geni gamma nella donna in

Tabella I. Misura dell'Hb F in diversi gruppi di donne prima e durante la gravidanza e in condizioni diverse rispetto ad alcuni difetti globinici.

Tipologia dei gruppi esaminati	N. di soggetti esaminati all'interno di ciascun gruppo	Range (min-max) dell'Hb F in ciascun gruppo	Hb F (%) (media dei valori in ciascun gruppo)
Donne non in gravidanza e non portatrici di difetti Hb	560	0,1 – 1,1	0,40
Donne in gravidanza non portatrici di difetti Hb	456	0,4 – 2,0	1,25
Donne in gravidanza non portatrici di Beta Talassemia ma eterozigoti per almeno uno dei polimorfismi più frequenti dei geni gamma	58	1,05 – 4,0	2,45
Donne in gravidanza con Beta Talassemia eterozigote ma non portatrici di poli-morfismi dei geni gamma	66	0,8 – 3,5	1,7

gravidanza ha permesso di ottenere alcuni risultati che richiederebbero però ulteriori conferme su un numero maggiore di campioni⁶. In Tabella I sono invece riportati altri dati che ho potuto ricavare dalla diagnostica degli ultimi due anni su 580 donne in gravidanza e 560 non in gravidanza: si può osservare che i valori relativi dell'Hb F risentono certamente dello stato di gravidanza e la presenza di beta talassemia allo stato eterozigote o di polimorfismi dei geni gamma determinano un ulteriore incremento dell'Hb F come risulta evidente leggendo la variabilità e il valore medio dell'Hb F all'interno di ciascun gruppo. Da questi risultati si potrebbero ipotizzare degli intervalli di riferimento per l'emoglobina fetale personalizzati per la donna in gravidanza e in presenza di difetti globinici.

Gravidanza ed Emoglobina A₂

Un incremento dell'Hb A₂ rappresenta il dato più significativo nell'insieme degli esami utili all'identificazione del portatore di beta talassemia⁷. I livelli di Hb A₂ in alcuni casi possono anche risultare non tipicamente incrementati ponendo dubbi e difficoltà nella formulazione di una diagnosi corretta e definitiva. Il risultato della misura dell'Hb A₂ in gravidanza può richiedere una valutazione più attenta anche di altri parametri analitici oltre a quelli già previsti dalle linee-guida, in particolare il dosaggio della vitamina B12 e degli acidi folici, un eventuale deficit può essere messo in relazione ad una anemia megaloblastica⁸. Si è dimostrata certamente utile anche la raccolta di informazioni anamnestiche pre-test tali da evidenziare eventuali cause di aumento dell'Hb A₂ e dell'MCV dovute a terapie in atto con farmaci antiretrovirali^{9,10}, alla presenza di ipertiroidismo¹¹ o di rare forme di varianti instabili dell'Hb non rilevabili in HPLC¹². L'Hb A₂ può risultare anche sensibilmente diminuita con il rischio conseguente di una sottostima, ciò accade soprattutto nelle anemie di varia natura ma in gravidanza la causa più frequente è certamente la carenza marziale; in tal caso

una opportuna valutazione dell'Hb A₂ dovrà essere presa in considerazione dopo correzione dei livelli ematici del ferro¹³.

Gravidanza e percorsi diagnostici di laboratorio

E' evidente che in gravidanza esistono motivi di maggior urgenza per giungere ad una conclusione del percorso analitico che non sia solo presuntiva: in Figura 1 sono riportati cinque schemi nei quali possiamo ipotizzare altrettanti assetti genetici. Indipendentemente dalle diverse conclusioni a cui perverranno i cinque percorsi ogni passaggio alla fase successiva è dettato da una necessità diagnostica non soddisfatta. Il presupposto essenziale per poter applicare gli schemi di Figura 1 è il dialogo tra il professionista di laboratorio, il clinico e il paziente.

Indagini per Emoglobinopatie in gravidanza avanzata

Nel caso in cui la donna in gravidanza o la coppia giungano ad eseguire esami oltre la ventitreesima settimana oggettivamente non si può più parlare di prevenzione, si deve parlare di esami ai genitori che possono portare a definire le probabilità che alcuni assetti genetici siano stati trasmessi al feto. In questo caso, d'intesa con il neonatologo, qualora sussista il rischio che il feto possa essere affetto, si può ricorrere ad una diagnosi alla nascita che nella maggior parte dei casi richiederà al laboratorio un approccio diagnostico di tipo molecolare¹⁴.

Conclusioni

Le diverse tecniche e le numerose metodiche utilizzate nella diagnosi delle talassemie e delle varianti Hb si sono evolute al fine di garantire una maggior sensibilità, rapidità e precisione, mediante "percorsi logici" "a più livelli diagnostici". Agire secondo livelli diagnostici

significa procedere con la logica della razionalizzazione delle risorse, spostando necessariamente determinati accertamenti e conclusioni in ambiti più specialistici e in Centri di riferimento.

E' importante ricordare che le indagini di 1° e 2°

livello per le emoglobinopatie devono sempre fare riferimento ad una "anamnesi preventiva pre-test e ad una consulenza genetica conclusiva post-test", quali parti integranti dell'intero percorso diagnostico. Questo modo di procedere deve entrare nella prassi anche dei

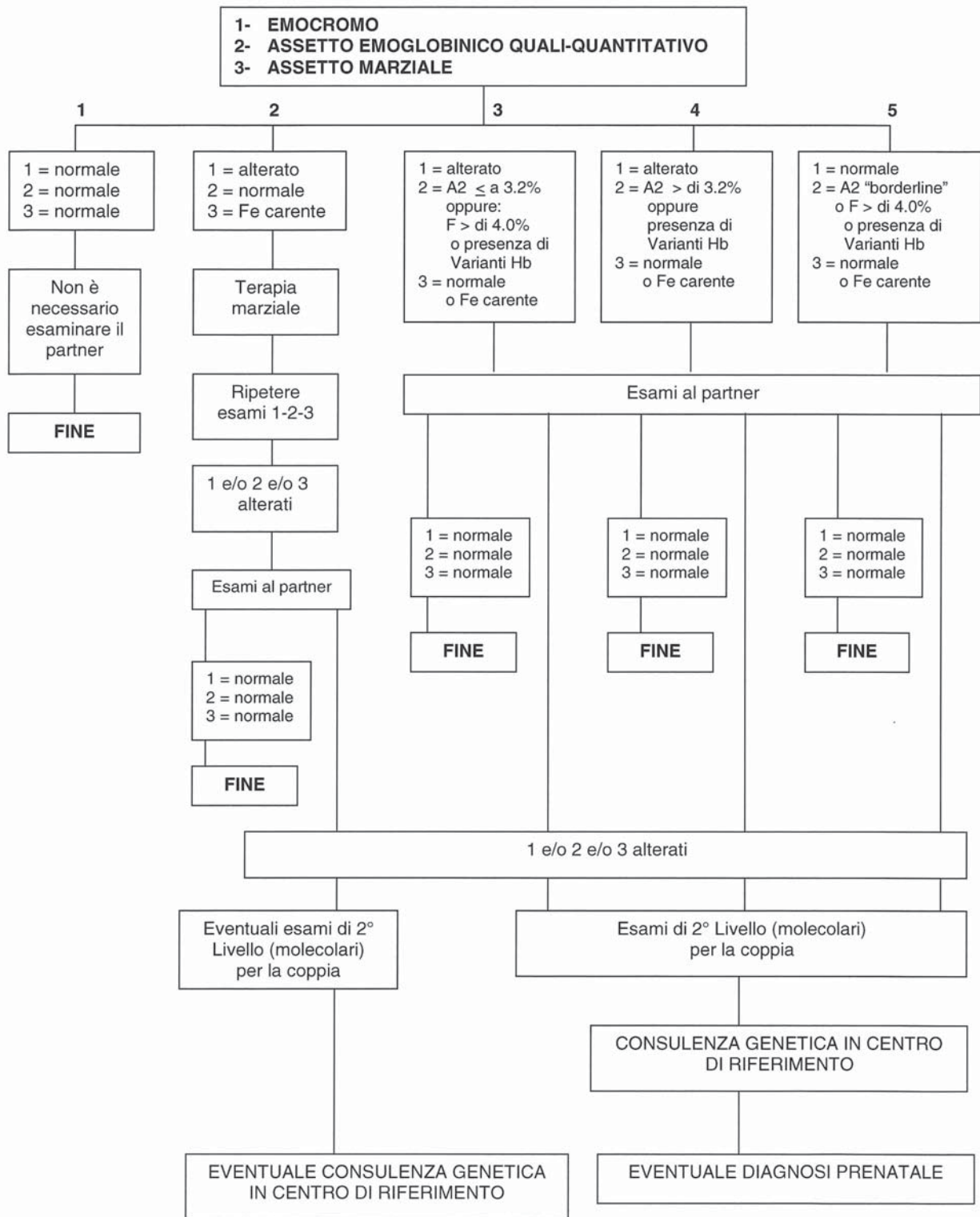


Figura 1. Percorso diagnostico semplificato in previsione o all'inizio di una gravidanza.

laboratori di analisi chimico cliniche quando si trovano a dover gestire test che implicano una correlazione genotipo - fenotipo. In questi casi la comunicazione del risultato del laboratorio deve essere gestita con molta attenzione e ciò vale in modo particolare per gli esami preventivi eseguiti in gravidanza perché in molti casi costituiscono la base di partenza per ulteriori accertamenti in laboratori di riferimento o di supporto alle decisioni della coppia.

Bibliografia

1. Traeger-Synodinos J, Old JM, Petrou M, Galanello R. Best Practice Guidelines for carrier identification and prenatal diagnosis of haemoglobinopathies. Manchester: European Molecular Genetics Quality Network workshop; 2002.
2. Silvestroni E. L'organizzazione sanitaria per la lotta contro le microcitemie in Italia. Atti Giornate Studio su "Il Problema Sociale della Microcitemia e del Morbo di Cooley in Italia". Roma: Ist It Med Soc Ed; 1961.
3. Silvestroni E, Bianco I, Graziani B, Carboni C, D'Arca SU. First premarital screening of thalassaemia carriers in intermediate schools in Latium. *J Med Gen* 1948; 15:202-7.
4. Giordano PC. The effect of iron deficiency anaemia on the levels of haemoglobin subtypes: possible consequences for clinical diagnosis. *Clin Lab Haematol* 2003; 25:203.
5. Popat N, Wood WG, Weatherall DJ, Turnbull AC. Pattern of maternal F-cell production during pregnancy. *Lancet* 1977; 2: 377-9.
6. Mosca A, Paleari R, Leone D, Ivaldi G. The relevance of hemoglobin F measurement in the diagnosis of thalassaemias and related hemoglobinopathies. *Clin Biochem* 2009; 42:1797-801.
7. Mosca A, Paleari R, Ivaldi G, Galanello R, Giordano PC. The role of haemoglobin A₂ testing in the diagnosis of Thalassaemias and related Haemoglobinopathies. *J Clin Pathol* 2009; 62:13-7.
8. Metha BC, Agarwal MB. Haaemoglobin A₂ in nutritional megaloblastic anaemia. In *J Med Res* 1983; 77:478-81.
9. Routy JP, Monte M, Beaulieu R, Toma E, St-Pierre L, Dumont M. Increase of haemoglobin A₂ in human immunodeficiency virus-1-infected patients treated with zidovudine. *Am J Hematol* 1993; 43:86-90.
10. Galactéros F, Amaudric F, Préhu C, Feingold N, Doucet-Populaire F, Sobel A, et al. Acquired unbalanced haemoglobin chain synthesis during HIV infection. *C R Acad Sci III* 1993; 316:437-40.
11. Kendall AG, Bastomsky CH. Haemoglobin A₂ in hyperthyroidism. *Haemoglobin* 1981; 5:571-7.
12. Alperin JB, Dow PA, Petteway MB. Haemoglobin A₂ levels in health and various hematological disorders. *Am J Clin Pathol* 1977; 67:219-26.
13. Madan N, Sikka M, Sharma S, Rusia U. Phenotypic expression of haemoglobin A₂ in beta-thalassaemia trait with iron deficiency. *Ann Hematol* 1998; 77:93-6.
14. Ivaldi G, Leone D, Pascotto D, Moruzzi M, Mussap M. Lo screening delle emoglobinopatie su sangue cordonale: diagnosi certe o da confermare? Atti 2° Evento Nazionale Congiunto SIBioC -SIMeL - Biochimica Clinica 2009; 33:5.