

RELAZIONE CONVEGNO NAPOLI “TALASSEMIA ED EMOGLOBINOPATIE OGGI”

Giorno 13 aprile alle ore 9.30 presso l’Aula Magna della Clinica Pediatrica dell’Università degli Studi della Campania “*L. Vanvitelli*” di Napoli, si è tenuto un Convegno su: “*Talassemia ed Emoglobinopatie oggi*”.

Sono intervenuti vari Clinici del settore: il Prof. *Silverio Perrotta*, la Dott.ssa *Immacolata Tartaglione*, la Dott.ssa *Maddalena Casale*, la Dott.ssa *Elisa De Michele*, la Prof.ssa *Francesca Rossi*, il Prof. *Renzo Manara*, la Dott.ssa *Leila Danesi*, la Dott.ssa *Martina Caiazza*.

Era presente la Federazione Nazionale UNITED nella persona del Presidente *Valentino Orlandi* ed i rappresentanti delle Associazioni dei pazienti.

Dopo i saluti istituzionali ed i ringraziamenti del Prof. *Silverio Perrotta* (Responsabile Emato-Oncologia Pediatrica AOU Policlinico Università degli studi della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli) e del Presidente UNITED *Valentino Orlandi*, si dà inizio ai lavori con il primo intervento della Dott.ssa *Immacolata Tartaglione* (Pediatria, Dottoranda Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli) su “*Emoglobinopatie oggi: dai nuovi farmaci alla terapia genica*”.

La Dottoressa ha illustrato le terapie innovative facendo riferimento al Luspatercept, all’epcidina e al Crizanlizumab. Si fanno accenni sui buoni risultati scientifici annunciati in occasione del congresso annuale dell’*American Society of Hematology* a San Diego riguardo la sperimentazione del farmaco Luspatercept, un agente di maturazione eritroide, per il trattamento di pazienti adulti con rischio da molto basso a medio sindromi mielodisplastiche (MDS) associate anemia che hanno sideroblasti ad anello e richiedono trasfusioni di globuli rossi (RBC) e per il trattamento di pazienti adulti con anemia associata a beta talassemia che richiedono trasfusioni di globuli rossi.

I risultati derivano dallo studio BELIEVE studio di fase III multicentrico, che mette a confronto Luspatercept associato alla miglior terapia di supporto (BSC best supportive care) rispetto a placebo più BSC in pazienti adulti beta talassemici che necessitano di trasfusioni periodiche di globuli rossi. L’età media dei pazienti era di 30 anni in entrambi i bracci di trattamento. I dati sono stati presentati dalla Prof.ssa *Domenica Cappellini* nel corso di una sessione orale al 60° meeting annuale dell’*American Society of Hematology* (ASH) a San Diego, California, e, suggeriscono che Luspatercept possa aiutare i pazienti a ridurre la dipendenza dalle trasfusioni (33% riduzione del fabbisogno trasfusionale con una riduzione di almeno 2 unità di RBC nel corso delle settimane 13–24 rispetto al valore baseline riferito al fabbisogno trasfusionale nell’intervallo di 12 settimane precedente alla randomizzazione). Celgene alla luce dei risultati positivi ottenuti ha presentato una domanda di licenza biologica.

Si annovera tra i nuovi farmaci innovativi l’epcidina, un ormone peptidico prodotto dal fegato, e, che, sembra essere il principale regolatore dell’omeostasi del ferro. E’ una piccola proteina responsabile della regolazione del riciclo del ferro e dell’equilibrio del ferro corporeo. L’epcidina regola l’assorbimento del ferro dall’intestino ed il suo rilascio dai macrofagi (le cellule di deposito coinvolte anche nel sistema immunitario); sembrerebbe essere il regolatore dei depositi di ferro a lungo cercato, pertanto i livelli di epcidina anormalmente bassi causati da mutazioni genetiche o patologia secondaria possono essere sostituiti con epcidina per ripristinare l’omeostasi (parametri normali) del ferro. Agisce insieme ad altre proteine che regolano il metabolismo del ferro, ma non è ancora

completamente noto come queste proteine interagiscano (comunichino) tra loro. E' però chiaro, oggi, che l'epcidina è la proteina chiave che dà il segnale ad altre all'interno del metabolismo del ferro. Quando tutte le proteine che regolano il ferro funzionano bene e ricevono il segnale corretto dall'epcidina, una quota di ferro appropriata per il fabbisogno corporeo sarà trasferita nel sangue, in modo da evitare un eccessivo accumulo di ferro nei tessuti. L'eccesso o la riduzione di epcidina è la causa delle alterazioni a valle di questo fine meccanismo di regolazione del ferro: la mancanza di epcidina determina sovraccarico di ferro, mentre un eccesso di epcidina causa anemia.

Per il trattamento della Sick cell la Dottoressa parla di un nuovo farmaco: il Crizanlizumab (Studio SUSTAIN presentato durante il 60° Meeting di San Diego); il trattamento consiste nell'infusione di anticorpi monoclonali anti P-selectina umanizzata per una volta al mese con evidente riduzione delle crisi vaso-occlusive; è terminato a marzo 2019 e sono stati arruolati 132 pazienti per 52 settimane. Attualmente si stanno approntando nuovi studi di sperimentazione clinica per generare una serie di dati aggiuntivi sul ruolo svolto da Crizanlizumab nella gestione della drepanocitosi.

E' intervenuta in un secondo momento la Dott.ssa Maddalena Casale (Pediatra, Ricercatrice, Emato-Oncologia Pediatrica Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli) sulla tematica dell' "Asplenia". La Dottoressa evidenzia come la splenectomia è una procedura che può avere una indicazione in quasi tutte le forme di anemie congenite e come sappiamo in forme di emoglobinopatie quali la drepanocitosi si ha un iposplenismo funzionale. Il paziente splenectomizzato o con un iposplenismo funzionale richiede essere oggetto di una particolare attenzione al fine di prevenire l'evoluzione rapida di infezioni. Trattandosi di eventi non prevedibili ed i cui presupposti si presentano prevalentemente in ambiente extraospedaliero, è di fondamentale importanza una accurata educazione del paziente finalizzata a mantenere sempre alto il livello di guardia ed il passaggio di informazioni ai curanti sul territorio. Fondamentale è la copertura vaccinale. Un soggetto splenectomizzato o con iposplenismo funzionale (es: drepanocitosi), ha una maggiore suscettibilità ad infezioni da parte di alcuni micro-organismi quali: streptococco pneumoniae, haemophilus influenzae o neisseria meningitis; pertanto, è indispensabile, in caso di febbre, e/o segni e sintomi che possano indirizzare verso uno stato infettivo, iniziare immediatamente la terapia antibiotica (con ceftriaxone o amoxicillina-clavulanico oppure levofloxacina o moxifloxacina) e richiedere la valutazione clinica. I morsi di animali e le punture di insetti devono essere trattati con particolare prontezza ed attenzione, in quanto possono costituire la porta d'ingresso di microrganismi patogeni. Sulla base di queste premesse nel soggetto splenectomizzato/asplenic sono fortemente raccomandate la vaccinazione anti-pneumococcica (PCV13 e PS23), anti haemophilus, anti meningococcica (MenC+ e MenACWY coniugato Nimenrix) ed antinfluenzale. La profilassi antibiotica nei bambini asplenic nei primi 5 anni di vita ha un'indicazione assoluta; nei soggetti asplenic oltre i 5 anni d'età se vi è stato precedente episodio di batteriemia o condizioni di particolare rischio infettivo e nei primi due anni successivi alla splenectomia; nei soggetti asplenic adulti non vi è indicazione alla profilassi, ma attenta educazione del paziente all'assunzione precoce di terapia antibiotica se febbre e/o segni o sintomi d'organo (es. tosse, cefalea, dolore dentale). Al momento non esistono evidenze scientifiche solide che permettano di stabilire quale, tra i diversi regimi raccomandati sia il più sicuro ed efficace.

A seguire l'intervento della Dott.ssa Elisa De Michele (AOU San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona – Salerno) sulla *“Terapia trasfusionale”*. La Dottoressa illustra in un primo momento in modo schematico il perché bisogna saper conoscere e fare bene la terapia trasfusionale per il paziente talassemico: l'emotrasfusione continua ad essere fino ad oggi il presidio fondamentale nella cura della talassemia; rappresenta una “scelta obbligata” che consente la sopravvivenza dei pazienti; non rappresenta una terapia “sostitutiva” per ridurre lo stato anemico; agisce modificando i meccanismi patogenetici responsabili delle manifestazioni cliniche. L'alterato rapporto tra catene alfa e catene beta, determinato dal difetto genetico, determina una eritropoiesi inefficace causa dello stato anemico ed ipossico del paziente. E' necessario mantenere un intervallo regolare che può variare tra 2 e 5 settimane per ottenere il mantenimento di un Hb pretrasfusionale compresa tra 9 e 10,5 g/dl e di una Hb post-trasfusionale mai superiore a 14 g/dl. L'emocomponente da trasfondere è ben descritto dalle raccomandazioni SITE-SIMTI: CE di età <10 gg dal prelievo;

concentrato Hb > 56 gr/unità; leucodeplezione < 100.000 per Unità; basso contenuto di citochine (filtrazione pre-storage); contenuto proteico a 0,5 gr/unità (per i pazienti allergici alle proteine plasmatiche emazie lavate manualmente o in automatico).

La quantità di sangue da trasfondere dipende da molti fattori tra cui: il peso del paziente, il valore di Hb che si vuole raggiungere, Ht della sacca, età del paziente, complicanze; il volume: non superiore ai 10/15 ml/kg, nei cardiopatici 5ml/kg. Il tempo ideale di trasfusione della singola unità di globuli rossi concentrati è di circa 60 minuti e comunque non superiore a 90 minuti. Un altro aspetto molto importante è la sicurezza della trasfusione all'atto dell'identificazione emocomponente-paziente. Infatti, oltre ad essere registrata la richiesta e l'assegnazione della sacca al paziente in dispositivi come la cartella elettronica ora è anche necessario il riconoscimento del paziente mediante bracciale che può essere anche elettronico. La Dottoressa conclude affermando che alla terapia trasfusionale è strettamente legata la terapia ferro chelante in quanto una unità di sangue può contenere 200 mg di ferro e in genere per mantenere una Hb di 12 g/dl sono necessari 100-200 mL/kg/anno di eritrociti puri portando all'introduzione di 0.3-0.5 mg/Kg/giorno di ferro. Si è visto come la terapia ferro-chelante se praticata correttamente sia efficace e aumenti fortemente la sopravvivenza del paziente.

Successivamente l'intervento della Prof.ssa Francesca Rossi (Pediatria, Prof. Associato Emato-Oncologia Pediatrica AOUPoliclinico Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli) su *“Trapianti e possibili opportunità”*. Ci sono due aspetti da considerare relativamente a questa tecnica: 1) la maggior reperibilità del donatore: non più solo il fratello compatibile; 2) supporto nella scelta di ricorrere al trapianto: il trapianto è una tecnica comunque rischiosa e la talassemia è attualmente una patologia a basso rischio quando trattata in modo adeguato. Quindi è necessario ridurre il rischio di rigetto, mortalità, di contrarre malattie di peggior gestione rispetto alla malattia di partenza. Il fattore limitante è la fase di condizionamento pre-trapianto che è ancora troppo severa soprattutto nell'adulto. Si cercano comunque continuamente protocolli di condizionamento che possano ridurre la mortalità, anche puntando al chimerismo (coesistenza di cellule del midollo derivate dal trapianto e cellule proprie del paziente) anziché alla totale sostituzione del midollo. Si cerca anche di ampliare il bacino dei possibili donatori non solo il fratello HLA compatibile ma anche familiari (soprattutto dove la consuetudine di matrimonio fra consanguinei è elevata) fino ad includere donatori da registro. La filosofia recente è che si può abbassare moltissimo il rischio di mortalità o malattia linfocitaria data dal condizionamento accettando un maggior rischio di rigetto (anche il 43%), eventualmente a questo punto si può ripetere il trapianto successivamente sfruttando la coda di

immunosoppressione successiva al primo trattamento. Il trapianto aploidentico (cioè da registro) è l'alternativa al trapianto da fratello o familiare. Il rischio di sviluppo di tumore a causa del condizionamento per il trapianto al momento non è valutabile perché servono ancora studi specifici e una valutazione a lungo termine.

La Professoressa ripercorre l'esperienza di Terapia Genica della BLUEBIRD BIO (Prof. *Locatelli*). L'obiettivo della terapia genica è instaurare la produzione di catene γ (gamma) dell'emoglobina, queste catene non avendo la mutazione che affligge invece le catene β sono efficaci nel trasporto dell'ossigeno. Si usa un vettore lentivirale per il trattamento del sangue periferico del paziente. Poi il paziente deve essere monitorato per circa 15 anni. Dopo l'introduzione dell'elemento geneticamente modificato il picco di emoglobina è di almeno 6 gradi e resta costante sia nei $\beta 0$ (beta zero) che nei $\beta +$. A 18 mesi di follow up i $\beta +$ sono diventati indipendenti da trasfusione con emoglobina di 9,5/12 mentre nei pazienti $\beta 0$ si ha una riduzione delle trasfusioni o riduzione del fabbisogno di sangue trasfuso. La terapia genica viene utilizzata anche per trattare il paziente adulto mentre la terapia trapiantologica ordinaria è applicabile solo in ambito pediatrico. In un secondo momento si fa riferimento all'esperienza del CHOP, ove, il vettore utilizzato non si era rivelato abbastanza sicuro in precedenti studi però ha aperto il filone di ricerca. È stato necessario quindi ingegnerizzare il vettore, oltre a trovare un metodo di screening più rapido ed efficace per selezionare i vettori. L'obiettivo era identificare i vettori capaci di aumentare significativamente l'Hb con un basso numero di coppie vettoriali. Per concludere si fa riferimento all'esperienza del TIGET. Il bersaglio ideale è la cellula ematopoietica prelevata dal midollo, trattata e reintrodotta nel paziente. L'approccio si è rivelato sicuro, stabile (7 anni di follow up). Nella Talassemia ci sono voluti molti anni per ottenere il giusto bilanciamento nella produzione di β -globina al fine di avere Hb corretta. I molti anni di ricerca sono stati necessari per trovare il corretto vettore, affrontare la fase preclinica su topo talassemico poi la fase clinica sui pazienti. Il condizionamento è a bassa tossicità, viene comunque preso un campione di midollo del paziente e tenuto come backup nel caso del non attecchimento delle cellule trattate, anche se nel paziente talassemico si assiste di solito ad un ripristino spontaneo del proprio midollo. Il trattamento viene effettuato su pazienti con specifiche caratteristiche di età (fino ai 35 anni) con funzione cardiaca-polmonare non compromessa e senza infezioni HCV, HIV, accumulo di ferro assente, alto bisogno trasfusionale. Il follow up raccomandato è di 2 anni. Al momento i pazienti trattati sono tutti vivi. Buoni dati di attecchimento con reinfusione intra-ossea.

A seguire l'intervento del Prof. Renzo Manara (Neurologo e Neuradiologo, Prof. Associato Università degli Studi di Salerno Scuola medica salernitana sezione di Neuroscienze, Salerno) su "*Coinvolgimento cerebrale nelle emoglobinopatie*". Il Professore ha mostrato uno studio sugli aspetti cognitivi nella talassemia, illustrando le metodiche dello studio, nel quale si escludono complicanze a livello celebrale dei pazienti (meno di 20) che hanno partecipato allo studio e di una paragonabile risposta cognitiva dei pazienti talassemici confrontata con un gruppo di controllo non talassemici. La valutazione degli aspetti cognitivi ha preso in esame anche aspetti non prettamente clinici, quali il grado di istruzione, il tipo di lavoro svolto, inserimento sociale e concludendo, il ferro non sembra influenzare e nuocere sugli aspetti cognitivi dei pazienti. Occorre sicuramente approfondire ulteriormente gli studi.

Il successivo intervento è quello della Dott.ssa Leila Danesi (Endocrinologa Istituto Auxologico Italiano, Milano) su "*Il problema della sessualità nelle anemie congenite*". La Dott.ssa in un primo

momento illustra l'apparato endocrino mettendo in evidenza le complicanze endocrine nella talassemia: ipoparatiroidismo, GHD nell'adulto, ipotiroidismo, diabete mellito, iposurrenalismo, bassa statura, ipogonadismo, osteopenia/osteoporosi. Si è poi discusso del problema della sessualità, e, di conseguenza, della fertilità (capacità di riprodursi). Le cause possono essere di origine organica, di origine psicologica e di origine mista. Tra le cause di origine organica si evidenzia l'ipogonadismo: ipogonadotropo o centrale + ipergonadotropo o primario. Tra le cause: accumulo marziale nelle cellule ipofisarie secernenti gonadotropine e a livello gonadico; ipossiemia cronica; epatopatia cronica; predisposizione genetica; carenze nutrizionali e di zinco miglioramento dello sviluppo testicolare in corso di terapia con zinco in pazienti non talassemici carenti; stress psicofisico.

L'ipogonadismo nell'uomo talassemico presenta: ridotte dimensioni testicolari, scarso o assente sviluppo dei caratteri sessuali secondari (peli pubici, barba, tono di voce, distribuzione e tono muscolare), ridotti desiderio e potenza sessuale, ridotta fertilità da danno genetico del dna degli spermatozoi, alterata motilità degli spermatozoi; nella donna talassemica presenta: ipoplasia uterina, amenorrea (assenza di ciclo mestruale), scarso o assente sviluppo dei caratteri sessuali secondari (ghiandola mammaria, distribuzione ginoide dell'adipe), ridotta libido e secchezza vaginale. Nella donna la fertilità diminuisce con l'avanzare dell'età, dopo i 31 anni. Nell'uomo la riduzione di fertilità con l'avanzare dell'età è meno evidente. La fecondazione si verifica se sono soddisfatte alcune condizioni: corretta ovulazione; corretta qualità, frequenza e timing dei rapporti sessuali; capacità fecondative del seme; integrità delle vie genitali femminili, soprattutto tube. La spermatogenesi: alterazioni di forma+riduzione di motilità e numerosità degli spermatozoi rispetto ai soggetti sani; danno del DNA; maggiori difetti di cromatina in relazione alle basse concentrazioni di spermatozoi; associazione negativa tra i valori di ferritina e la morfologia degli spermatozoi. Si fa riferimento all'induzione di spermatogenesi: gonadotropina corionica; gonadotropina umana della menopausa oppure ormone follicolo-stimolante. Durata massima del trattamento senza interruzioni 2 anni; all'induzione di ovulazione: (adeguamento soggettivo della dose) valori di estradiolo plasmatico, comparsa e sviluppo di follicoli nelle ovaie (monitoraggio ecografico), rottura del follicolo con liberazione dell'ovulo, consigliati rapporti sessuali nella stessa giornata e nel giorno successivo, fecondazione, e, alle tecniche di fecondazione assistita: inseminazione artificiale (IA) o inseminazione in vivo. Grazie ai progressi ottenuti nel campo delle trasfusioni e della terapia chelante si è verificato nei pazienti talassemici un significativo aumento della durata e della qualità di vita. E' possibile ottenere la fertilità sia nell'uomo che nella donna con tecniche di induzione di spermiogenesi e di ovulazione nelle situazioni clinicamente compatibili.

Ultimo intervento quello della Dott.ssa Martina Caiazza (Biologa, Assegnista di Ricerca Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli) su *"Talassemia, come si trasmette, le possibili mutazioni e la diagnosi definitiva"*. Le cause della Talassemia sono esclusivamente genetiche. Essa è determinata da una mutazione del gene HBB, il gene predisposto alla formazione della proteina beta-globina, componente immancabile nelle proteine adulte di emoglobina, formate da due unità identiche di beta-globina e altrettante di alfa-globina. La beta-globina è fondamentale nella formazione dell'emoglobina adulta. Il difetto genetico impedisce all'organismo di produrre sub unità di beta globine; la loro totale assenza si indica con il nome di beta-zero. Altre mutazioni al gene HBB consentono invece una ridotta produzione di beta globuline. In questo caso si tratta di una talassemia Beta-più. Possiamo distinguere l'anemia mediterranea in tre differenti tipologie, sulla base della sua gravità: talassemia major o morbo di Cooley, talassemia intermedia e talassemia minor. A seconda della forma da cui siamo colpiti, la complessità dei sintomi spazia da estremamente complessi ad

assenti. In una coppia se uno dei partner è un portatore sano, ma l'altro non ne è affetto, non sussiste la possibilità di mettere al mondo bambino con talassemia. Vi è però il 25% di probabilità che il bambino sia portatore sano a sua volta. Le cose cambiano qualora entrambi i partner abbiano l'anemia mediterranea. In questo caso vi è un 25% di possibilità che il neonato sia talassemico grave, un 25% che non abbia alcun tratto della malattia e il 50% che erediti solamente uno dei tratti difettosi e che dunque nasca con la forma minore di questo male. La diagnosi di anemia mediterranea, oltre che sulla base dei sintomi, è eseguita mediante esame del sangue. Gli individui affetti da questa malattia hanno i globuli rossi di dimensioni più piccole rispetto alla norma. Queste cellule sono anche numericamente meno presenti e al microscopio palesano forma irregolare e pallore.

La talassemia può inoltre essere diagnosticata anche con test molecolari, che possono essere eseguiti in qualsiasi momento, inclusi i mesi prima della nascita con un test prenatale, al fine di scoprire se il bambino nascerà talassemico o meno. I test prenatali effettuati in laboratorio sono: l'amniocentesi che si effettua fra la sedicesima e la diciottesima settimana di gravidanza, e, la villocentesi, tecnica con la quale, invece del liquido amniotico si preleva una parte del tessuto dove sono contenuti i villi coriali, e, deve essere eseguita fra l'undicesima e la tredicesima settimana di gravidanza.

Dopo la pausa pranzo, nell'ultima sessione del Convegno si sono affrontate problematiche inerenti gli aspetti normativi utili per i pazienti affetti da malattia rara con l'intervento di *Enrico Martinelli*, e, i Clinici intervenuti, in una tavola rotonda con i pazienti, hanno risposto alle varie domande poste dalla platea riguardanti le tematiche affrontate.

Il Convegno termina alle ore 16.30 ringraziando gli organizzatori, i Clinici intervenuti, la Federazione UNITED, i rappresentanti delle Associazioni dei pazienti e tutti i presenti in sala.

Luana De Gioia “Associazione Talassemici Brindisi”

Andrea Tetto Associazione “AMAMI” Torino