



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Βασικών Βιοϊατρικών Επιστημών»

Κατεύθυνση: Γενετική - Κυτταρογενετική-Γενετική Επιδημιολογία

Τίτλος: Η συχνότητα των ετεροζυγωτών φορέων άλφα και βήτα Μεσογειακής Αναιμίας (στον προγαμιαίο πληθυσμό) και η καταγραφή των διαφορετικών τύπων μεταλλάξεων και της συχνότητας των αλληλομόρφων στην επαρχία της Άρτας από το 2015 έως το 2021

Διπλωματική εργασία της φοιτήτριας
Δήμητρα Αντόνι

Επιβλέπων καθηγητής : Κωνσταντίνος Τσιλίδης

2^{ος} Αξιολογητής : Πατρώνα Αγγελίδου Βεζυράκη

3^{ος} Αξιολογητής : Ευαγγελία Ντζάνη

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 30-06-2023



UNIVERSITY OF IOANNINA
FACULTY OF MEDICINE
Post-graduate program in « Basic Biomedical Sciences »
Specialization : Genetics

Title: Beta and alpha thalassemia heterozygotes frequency in the premarital population and characterization of mutation types and allele frequency in the province of Arta from 2015 to 2021

Diploma Thesis of the student
Dimitra Antoni

Supervisor : Konstantinos Tsilidis

2nd Evaluator : Patrona Aggelidou Veziraki

3rd Evaluator : Euaggelia Ntzani

IOANNINA, 30-06-2023

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για τη διεκπεραίωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Κων/νο Τσιλίδη που μου έδωσε την ευκαιρία να εκπονήσω την εργασία αυτή και με όλες του τις υποδείξεις κατάφερα να την ολοκληρώσω. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά την κ. Πατρόνα Αγγελίδου Βεζυράκη και την κ. Ευαγγελία Ντζάνη που με χαρά δέχτηκαν να είναι στη θέση των δυο αξιολογητών.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στο τμήμα πρόληψης της Μεσογειακής Αναιμίας του νοσοκομείου της Άρτας για την πρόσβαση στα αρχεία του και την διευκόλυνση μου από την πολύ καλά οργανωμένη δουλειά τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΕΛΙΔΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Μεσογειακή αναιμία- Γενικές πληροφορίες.....	1
1.2 Αιμοσφαιρίνη.....	2
1.3 α-Μεσογειακή αναιμία.....	3
1.3.1 Κλινικά χαρακτηριστικά και διάγνωση της α-Μεσογειακής αναιμίας.....	6
1.4 β-Μεσογειακή αναιμία.....	8
1.4.1 Κλινικά χαρακτηριστικά και διάγνωση της β-Μεσογειακής αναιμίας.....	11
1.4.2 Μοριακή βάση της β-Μεσογειακής αναιμίας.....	12
1.5 Παθοφυσιολογία και διαφορές μεταξύ α- και β-Μεσογειακής αναιμίας.....	15
1.6 Επιδημιολογία Μεσογειακής αναιμίας- Η Μεσογειακή αναιμία στην Ελλάδα.....	16
1.7 Συμβολή και σημαντικότητα των μονάδων πρόληψης της Μεσογειακής αναιμίας στην Ελλάδα.....	20
2. ΣΚΟΠΟΣ	22
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	23
3.1 Πληθυσμός μελέτης και κανονισμοί εξέτασης.....	23
3.2 Συνδυασμός φορέων και κίνδυνος απόκτησης πάσχοντος παιδιού.....	24
3.3 Φυσιολογικό εύρος τιμών.....	24
3.4 Στατιστική ανάλυση.....	25
3.5 Περιορισμοί μελέτης.....	25
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	26
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	41
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	43

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

	ΣΕΛΙΔΑ
Διάγραμμα 1.....	27
Διάγραμμα 2.....	28
Διάγραμμα 3.....	30
Διάγραμμα 4.....	35

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

	ΣΕΛΙΔΑ
Εικόνα 1.....	2
Εικόνα 2.....	3
Εικόνα 3.....	4
Εικόνα 4.....	6
Εικόνα 5.....	9
Εικόνα 6.....	10
Εικόνα 7.....	19
Εικόνα 8.....	19

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

	ΣΕΛΙΔΑ
Πίνακας 1.....	8
Πίνακας 2.....	12
Πίνακας 3.....	24
Πίνακας 4.....	26
Πίνακας 5.....	27
Πίνακας 6.....	28
Πίνακας 7.....	29
Πίνακας 8.....	31

Πίνακας 9.....	32
Πίνακας 10.....	34
Πίνακας 11.....	36
Πίνακας 12.....	36
Πίνακας 13.....	38

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ

ΜΑ : Μεσογειακή Αναιμία

ΑΓΓΛΙΚΩΝ

MCV : Μέσος όγκος ερυθρών αιμοσφαιρίων

MCH : Μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης σε κάθε ερυθρό αιμοσφαίριο

RBC : Αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων

Hct : Αιματοκρίτης

Hb : Αιμοσφαιρίνη

FERR : Φερριτίνη

RDW : Εύρος κατανομής του μεγέθους των ερυθρών αιμοσφαιρίων

ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ

Μεσογειακή αναιμία, φορείς, μεταλλάξεις

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι αιμοσφαιρινοπάθειες αποτελούν τις συχνότερες μονογονιδιακές διαταραχές παγκοσμίως και οι θαλασσαιμίες είναι οι συχνότερες γενετικές διαταραχές στην Ελλάδα. Εφόσον κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο, η ανίχνευση των φορέων κρίζει ιδιαίτερης σημασίας ώστε να αποφευχθεί η γέννηση πασχόντων παιδιών.

Στη παρούσα εργασία έγινε αναλυτική καταγραφή των διαφορετικών τύπων μετάλλαξης και της συχνότητας εμφάνισης των αλληλομόρφων των ετερόζυγων για την άλφα και βήτα MA στον νομό της Άρτας. Έγινε καταγραφή κυρίως του προγαμιαίου πληθυσμού του νομού (>18 ετών).

Η μελέτη περιορίστηκε στο χρονικό διάστημα 2015-2021 όπου εξετάστηκαν 3222 άτομα (38,96% άντρες και 61,05% γυναίκες) με μέση ηλικία 31,3 έτη. Μεταξύ αυτών, το 88,76% ήταν απολύτως υγιές, το 7,29% ήταν ετερόζυγοι για τη β-MA ενώ το 3,94% ήταν ετερόζυγοι για την α-MA. Ανάμεσα στους 235 συνολικά φορείς για τη β-MA, στα 48 δείγματα που στάλθηκαν για γονοτύπηση καταγράφηκαν 13 διαφορετικοί τύποι μεταλλάξεων, από τους 127 συνολικά φορείς της α-MA καταγράφηκαν 9 διαφορετικοί τύποι μεταλλάξεων στα 58 δείγματα που στάλθηκαν για γονοτύπηση, ενώ καταγράφηκαν και 6 διαφορετικοί συνδυασμοί σύνθετων ετερόζυγων για την α- και β-MA. Στους φορείς της β-MA, παρατηρήθηκαν μεταλλάξεις που εμφανίζονται με διαφορετική συχνότητα στον αντρικό, γυναικείο και τον γενικό πληθυσμό. Από την άλλη πλευρά, επιβεβαιώθηκε η βιβλιογραφία ότι οι πιο κοινές μεταλλάξεις της α-θαλασσαιμίας είναι τα 3.7 μονογονιδιακά ελλείματα. Από την στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε στη συνέχεια, φάνηκε πως δεν υπάρχει κάποια ένδειξη συσχέτισης μεταξύ φύλου και μετάλλαξης τόσο για την άλφα όσο και για τη βήτα MA.

Κατά τη χρονολογία 2015-2021, ύστερα από γενετική συμβουλευτική των ζευγαριών, υπήρξαν δυο διακοπές κυήσεως αποκλείοντας με αυτόν τον τρόπο την γέννηση πάσχοντος παιδιού. Τέλος, ο επιπολασμός των φορέων της Μεσογειακής Αναιμίας στον νομό της Άρτας βρέθηκε να μην απέχει από τον εθνικό επιπολασμό, επιβεβαιώνοντας την υψηλή συχνότητα των φορέων άλφα και βήτα Μεσογειακής Αναιμίας του νομού. Το τελευταίο εύρημα, αποδεικνύει την αναγκαία ύπαρξη μονάδας πρόληψης στο νομό, με τη βοήθεια της οποίας θα γίνονται σωστές διαγνώσεις των φορέων και θα διενεργούνται οι απαραίτητες ενέργειες για την μείωση των γεννήσεων πασχόντων παιδιών.

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are the most common monogenic disorders worldwide and thalassemias are the most common genetic disorders in Greece. Since they are inherited in an autosomal recessive manner, the detection of carriers is of particular importance to prevent the birth of affected children.

A screening of the different types of mutations and the frequency of heterozygous allelomorphs for alpha and beta-thalassemia was carried out in this study. It was mainly the premarital population (>18 years) of the prefecture of Arta that was recorded.

The study was limited to the time period 2015-2021 where 3222 people (38.96% men and 61.05% women) with an average age of 31.3 years were examined. Out of them, 88.76% were completely healthy, 7.29% were heterozygous for beta thalassemia while 3.94% were heterozygous for alpha thalassemia. Moreover, among the 235 total carriers for beta thalassemia and the 127 total carriers for alpha thalassemia, 48 and 58 samples, respectively, were sent for genotyping. More precisely, 13 different types of mutations were recorded for the 48 beta-thalassemia carriers, 9 for the 58 alpha thalassemia carriers, and 6 different combinations of compounds heterozygous for alpha and beta-thalassemia. In beta-thalassemia carriers, mutations were observed to occur with different frequencies in men, women, and in the general population. On the other hand, the most common α -thalassemia mutations were found to be 3.7 monogenic deficits, confirming the bibliography. From the statistical analysis, it appeared that there is no correlation between gender and mutation for both alpha and beta-thalassemia.

As a result of genetic counseling that couples received from 2015-2021, there were two pregnancy interruptions, precluding giving birth to an affected child. Finally, the prevalence of Mediterranean Anemia carriers in the prefecture of Arta was found to be not far from the national prevalence. This confirms the high frequency of alpha and beta thalassemia carriers in the prefecture, showing the importance of a prevention unit there. In this unit, correct diagnosis of carriers will be made and necessary steps will be taken to reduce the births of sick children.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

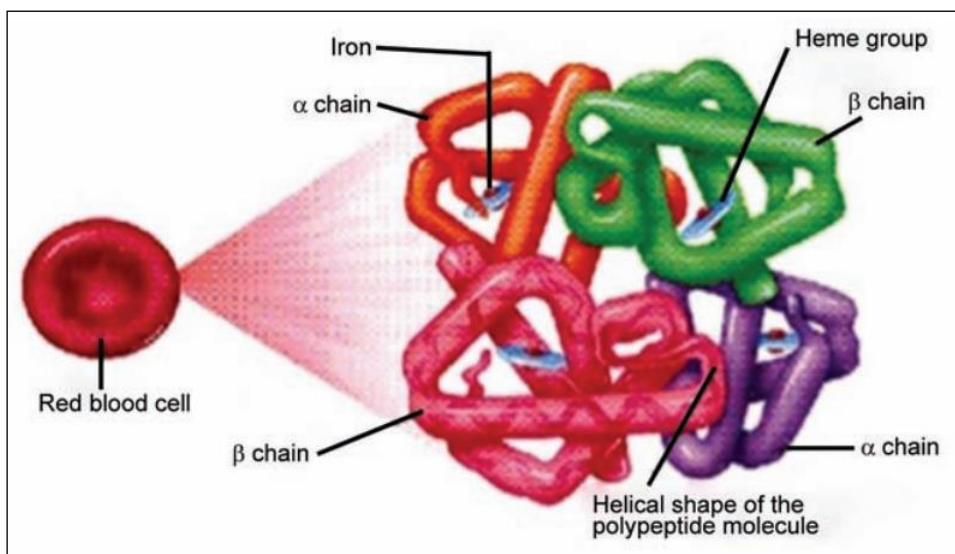
1.1 ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ-ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Οι Θαλασσαιμίες συγκαταλέγονται παγκοσμίως στις πιο κοινές μονογονιδιακές παθήσεις του αίματος που προκαλούνται από πλήρη ή μερική αναστολή της σύνθεσης των σφαιρινικών αλυσίδων που απαρτίζουν το μόριο της HbA αιμοσφαιρίνης [Weatherall DJ et al., 2001]. Ανάλογα σε ποια αλυσίδα εκδηλώνεται η γενετική διαταραχή, τα σύνδρομα αυτά διακρίνονται σε : α-Μεσογειακή Αναιμία και β-Μεσογειακή Αναιμία. Υπάρχουν και σπανιότερες μορφές όπως οι γ-, δ- και δβ-θαλασσαιμίες. Η β-Μεσογειακή Αναιμία (νόσος του Cooley) ή β-θαλασσαιμία είναι συχνότερη και έχει βαρύτερη κλινική εικόνα [Muncie and Campbell, 2009]. Οι πρώτες αναφορές των θαλασσαιμιών εμφανίζονται το 1928 από τον Cooley, ο οποίος περιέγραψε την κλινική μορφή της νόσου σε ομάδα παιδιών με εκδηλώσεις όπως: σοβαρή αναιμία, σκελετικές ανωμαλίες, παραμορφώσεις προσώπου, σπληνομεγαλία, αύξηση των δικτυοερυθροκυττάρων και περίπου 10 χρόνια αργότερα ο Καμινόπετρος ανέφερε ότι η νόσος μεταβιβάζεται κληρονομικά, ως υπολειπόμενο γονίδιο, σύμφωνα με τους νόμους του Mendel [Cooley and Lee,1925]. Η νόσος ονομάστηκε Μεσογειακή Αναιμία ή Θαλασσαιμία ύστερα από παρατηρήσεις των Whipple και Bradferd το 1942 ότι εμφανιζόταν κυρίως σε Μεσογειακούς λαούς. Στη πραγματικότητα όμως πέρα από τη Μεσόγειο είναι διαδεδομένες και σε χώρες όπως η Αφρική, η Μέση Ανατολή, η Ινδική ήπειρος και η Νοτιοανατολική Ασία, συμπεριλαμβανομένης της νότιας Κίνας [Williams and Weatherall, 2012].

Οι Θαλασσαιμίες έχουν αναγνωριστεί ως ένα αναδυόμενο Ευρωπαϊκό ζήτημα δημόσιας υγείας τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω των μεταναστευτικών εισροών που προέρχονται από χώρες όπου ο επιπολασμός της νόσου είναι υψηλός [Aguilar et al.,2014]. Σε παγκόσμιο πληθυσμό, περίπου το 5% (80 έως 90 εκατομμύρια άτομα) είναι φορείς της β- ή α-Μεσογειακής αναιμίας και περίπου 60.000 συμπτωματικά βρέφη γεννώνται σε ετήσια βάση. Η συνολική ετήσια επίπτωση των συμπτωματικών ατόμων υπολογίζεται σε 1 στους 100.000 σε όλο τον κόσμο και 1 στα 10.000 άτομα στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, εκτιμάται ότι η Μεσογειακή αναιμία θα λάβει ανησυχητικές διαστάσεις καθώς αναμένονται περίπου 900.000 γεννήσεις ατόμων με κλινικά σημαντική νόσο μέχρι το 2030 [Cappellini et al.,2010].

1.2 ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

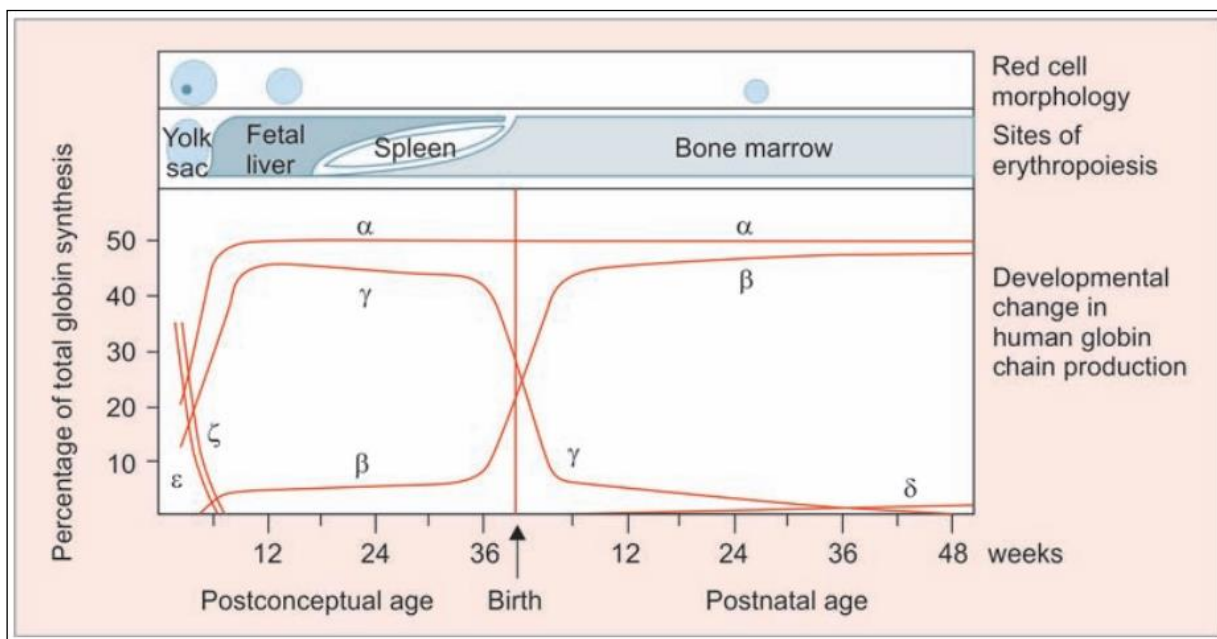
Η αιμοσφαιρίνη είναι η πρωτεΐνη του αίματος η οποία είναι σφαιρική, αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες ανά δυο όμοιες και τέσσερα μόρια αίμης τα οποία είναι ενωμένα ανά ένα σε κάθε αλυσίδα [Εικόνα 1] και ο ρόλος της είναι να δεσμεύει οξυγόνο στους πνεύμονες, να το μεταφέρει στη περιφέρεια και να το αποδίδει στους ιστούς [Mostafa et al.,2020]. Τα φυσιολογικά επίπεδα της αιμοσφαιρίνης για τους άντρες είναι 14-18 g/dl ενώ για τις γυναίκες είναι 12-16 g/dl [Walker et al.,1990].



Εικόνα 1. Δομή αιμοσφαιρίνης ενηλίκων ατόμων [Saxena, 2017].

Η σύνθεση των τεσσάρων αλυσίδων σφαιρίνης καθορίζει την μορφή της αιμοσφαιρίνης. Η εμβρυική αιμοσφαιρίνη (**HbF**) αποτελείται από δυο άλφα και δυο γάμα αλυσίδες ($\alpha_2\gamma_2$). Στον ενήλικα φυσιολογικά κυριαρχεί η αιμοσφαιρίνη A (**HbA**) η οποία αποτελείται από δυο άλφα και δυο βήτα αλυσίδες ($\alpha_2\beta_2$) ενώ υπάρχει και η A_2 (**HbA₂**) αποτελούμενη από δυο άλφα και δυο δέλτα αλυσίδες ($\alpha_2\delta_2$). Κατά τη γέννηση η HbF υπάρχει στο έμβρυο σε ποσοστό περίπου 80% ενώ η HbA σε ποσοστό 20% [Richardson M., 2007]. Η αντικατάσταση της σύνθεσης των γ σφαιρινών (HbF) από τις βήτα σφαιρίνες (HbA) ξεκινάει πριν από τη γέννηση και σε ηλικία περίπου 6 μηνών ένα υγιές βρέφος θα παράγει κυρίως HbA, μικρή ποσότητα HbA₂ και αμελητέα ποσότητα HbF [Muncie and Campbell, 2009]. Οι αναπτυξιακές αλλαγές που συμβαίνουν στην παραγωγή της αλυσίδας της ανθρώπινης σφαιρίνης απεικονίζονται αναλυτικά στην εικόνα 2 [Saxena, 2017].

Η μεγαλύτερη σε ποσοστό ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη, η HbA, έχει δύο σειτ αλυσίδων σφαιρίνης, ένα σύνολο αλυσίδων α- και ένα σύνολο αλυσίδων β-σφαιρίνης. Υπάρχουν τέσσερα γονίδια (δύο κληρονομημένα από τη μητέρα και δύο από τον πατέρα αντίστοιχα) που ρυθμίζουν την παραγωγή της αλυσίδας α-σφαιρίνης, ενώ μόνο δύο γονίδια (το καθένα κληρονομημένο από τον πατέρα και τη μητέρα) ελέγχουν την παραγωγή της αλυσίδας β-σφαιρίνης [Saxena, 2017].



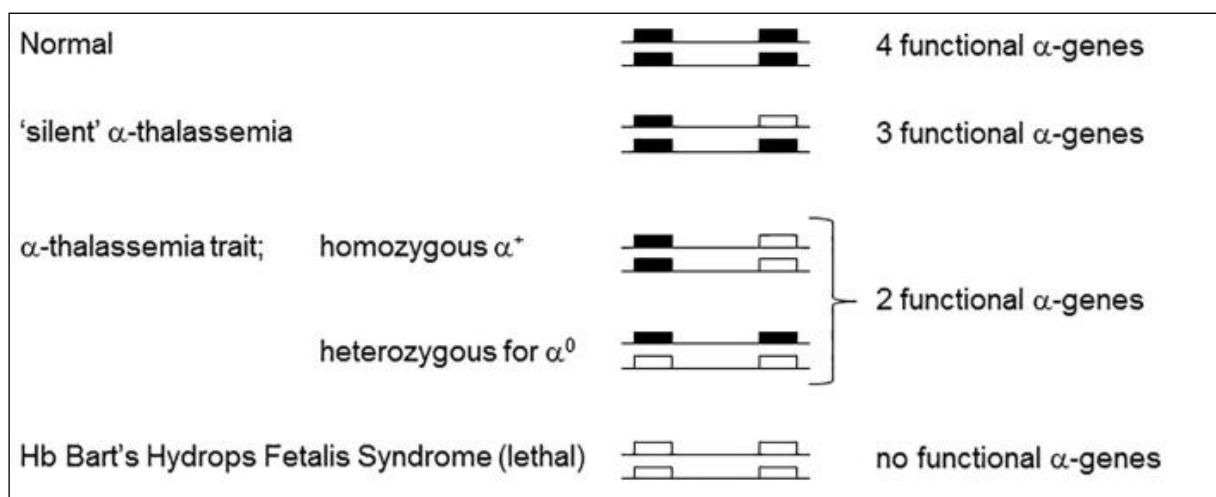
Εικόνα 2. Αναπτυξιακές αλλαγές στη πορεία του χρόνου στην παραγωγή της αλυσίδας της ανθρώπινης σφαιρίνης, οι θέσεις που λαμβάνει χώρα η ερυθροποίηση και η μορφολογία των ερυθρών αιμοσφαιρίων [Saxena 2017].

1.3 Α-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Η α-ΜΑ χαρακτηρίζεται από τον περιορισμό ή την καταστολή παραγωγής των αλυσίδων της α-σφαιρίνης. Η παραγωγή των α αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης ελέγχεται από δυο γονίδια που εντοπίζονται στο τελομερικό άκρο του μικρού σκέλους του κάθε χρωμοσώματος 16 [Samaneh and Cornelis, 2018] όπως φαίνεται και στην εικόνα 5. Όταν υπάρχει διαγραφή ενός μόνο γονιδίου της α-σφαιρίνης, το άτομο είναι σιωπηλός φορέας (α^0/α) και όταν υπάρχει διαγραφή δυο γονιδίων το άτομο χαρακτηρίζεται ως ετερόζυγος (α^0/α) ή ομόζυγος (α^0/α^0) για την α-

ΜΑ. Η διαγραφή των τριών γονιδίων οδηγεί σε σημαντική παραγωγή της αιμοσφαιρίνης Η (α^0/α^+) η οποία χαρακτηρίζεται από την περίσσεια τεσσάρων βήτα αλυσίδων και τέλος όταν έχουμε διαγραφή και των 4 γονιδίων της α -σφαιρίνης παράγεται σημαντική ποσότητα της αιμοσφαιρίνης Bart's (Hb Bart's) η οποία έχει περίσσεια τεσσάρων αλυσίδων γάμα (α^0/α^0) [Muncie and Campbell, 2009]. Γενικά, οι πιο κοινές μεταλλάξεις της α -θαλασαιμίας στον κόσμο είναι τα 3.7 μονογονιδιακά ελλείματα [Karakas et al.,2015].

Οι παραπάνω μορφές α -Μεσογειακής Αναιμίας παρουσιάζονται και στην εικόνα 3 [Samaneh and Cornelis, 2018].



Εικόνα 3. Διαφορετικές μορφές α -Μεσογειακής Αναιμίας [Samaneh and Cornelis, 2018].

Οι φορείς της α -Μεσογειακής αναιμίας είναι κλινικά ασυμπτωματικοί και η διάγνωση γίνεται τυχαία σε κάποια εξέταση ρουτίνας ή σε εξέταση προγεννητικού ελέγχου των μελλοντικών γονέων. Γενικά, οι περισσότεροι φορείς ενός μόνο ελαττωματικού γονιδίου της άλφα σφαιρίνης δεν παρουσιάζουν κάποιο σύμπτωμα αναιμίας. Ωστόσο οι φορείς αυτοί σε μια αιματολογική εξέταση μπορεί να παρουσιάσουν οριακές τιμές αλλά και μικρή μείωση της αιμοσφαιρίνης τους λόγω κάποια απώλειας αίματος, κακής διατροφής ή λόγω κάποιας μόλυνσης [Farashi and Harteveld, 2018].

Στην αιμοσφαιρινοπάθεια Η (HbH), η παραγωγή των α αλυσίδων μειώνεται κατά 30% σε σύγκριση με τα φυσιολογικά επίπεδα. Οι ασθενείς αυτοί έχουν αιμολυτική αναιμία, κυμαινόμενο ποσοστό της αιμοσφαιρίνης HbH, σπληνομεγαλία με μερικές φορές

υπερσπληνισμό, παρουσιάζουν ίκτερο μεταβλητού βαθμού αλλά και άλλες σοβαρότερες επιπλοκές όπως χολόλιθοι, έλκη ποδιών, λοιμώξεις και αιμολυτικά επεισόδια ως αντίδραση σε λοίμωξη ή θεραπεία. Στα άτομα νεαρής ηλικίας είναι πιθανόν να εμφανιστεί κάποια καθυστέρηση στην ανάπτυξη ενώ στους ηλικιωμένους λόγω της χρόνιας αιμόλυσης πιθανότατα να εμφανιστεί υπερφόρτωση σιδήρου στην εγγενή αποθήκευση σιδήρου [Weatherall and Clegg, 2001]. Η αιμοσφαιρινοπάθεια Η γενικά δεν λαμβάνεται υπόψη στον προγεννητικό έλεγχο, εκτός εάν έχει καταγραφεί κάποιο προηγούμενο ιστορικό στην οικογένεια. Παρόλο που η γνώση των μεταλλάξεων μπορεί να επιτρέπει τις προβλέψεις σχετικά με τη νόσο, στην πραγματικότητα η σοβαρότητα της είναι αβέβαιη για κάθε περίπτωση [Farashi and Corneli, 2018].

Η βαρύτερη κλινική εκδήλωση της α-Μεσογειακής αναιμίας είναι ο εμβρυικός ύδρωπας αιμοσφαιρίνης Barte (Hb Bart's) ο οποίος οφείλεται όπως αναφέρθηκε και παραπάνω στην έλλειψη και των 4 α-γονιδίων σφαιρίνης και είναι ασύμβατος με τη ζωή. Η πιο κοινή αιτία είναι η κληρονομικότητα ενός αλληλομόρφου που δεν έχει λειτουργικά γονίδια α-σφαιρίνης και από τους δύο γονείς.

Υπάρχει μια ενδιάμεση κατάσταση μεταξύ της αιμοσφαιρινοπάθειας Η και της Hb Bart's η οποία οφείλεται σε μια σοβαρή μετάλλαξη που δεν οδηγεί σε διαγραφή και σε ένα αλληλόμορφο που δεν εκφράζεται λόγω της διαγραφής και των δυο διπλών α-γονιδίων. Τα βρέφη αυτά έχουν μεταβλητές ποσότητες μη λειτουργικής Hb Bart's, HbH και λειτουργικής Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$). Τα κλινικά χαρακτηριστικά είναι κυρίως έντονη ηπατοσπληνομεγαλία, καρδιαγγειακές παραμορφώσεις σε σημείο καρδιακής ανεπάρκειας, σκελετικές παραμορφώσεις, καθυστερημένη ανάπτυξη του εγκεφάλου αλλά και οίδημα. Ο σοβαρότατος κίνδυνος διεύρυνσης του πλακούντα λόγω του οιδήματος όπως επίσης η εντατική και δια βίου μετάγγιση αίματος και υποστηρικτική θεραπεία αποτελούν σοβαρούς λόγους για την παροχή γενετικής συμβουλευτικής για την επιλεκτική έκτρωση [Stenberg et al., 2009].

Οι διαφορετικοί τύποι α-μεσογειακής αναιμίας ανάλογα με τον αριθμό των γονιδίων της άλφα σφαιρίνης που έχουν επηρεαστεί και οι κλινικές εκδηλώσεις τους παρουσιάζονται και στην εικόνα 4.

No. of affected genes	Type of α -thalassemia disorder	Clinical features
Four defective α -globin genes (α^0)	Hb Bart's hydrops (incompatible with survival)	This condition is incompatible with extrauterine life. Fetuses with this condition die either <i>in utero</i> or shortly after birth due to severe anemia
Three defective α -globin genes (two defective genes from one parent and one defective gene from the other parent) ($\alpha^0\alpha^+$)	HbH disease (causing moderate hemolytic anemia)	Such patients have severe anemia and a defect in the oxygen-carrying capacity. Erythroid hyperplasia can result in typical structural bone abnormalities with marrow hyperplasia, bone thinning, maxillary hyperplasia, and pathologic fractures
Two defective α -globin genes (α^+)	α -thalassemia ⁺ trait (one defective gene from each parent)	The affected individuals are clinically normal but frequently have minimal anemia and reduced MCV and MCH. Red blood cell count is usually increased, typically exceeding $5.5 \times 10^{12}/L$
One defective α -globin genes (α^+)	α -thalassemia ⁰ trait (both defective genes from one parent) α -thalassemia ⁺ trait or α -thalassemia minima or α (+) thalassemia minor	The affected individuals exhibit no clinical abnormalities and may be hematologically normal or have mild reductions in RBC, MCV, and MCH
MCV: Mean corpuscular volume; MCH: Mean corpuscular hemoglobin		

Εικόνα 4. Παρουσίαση των διαφορετικών μορφών της α -Μεσογειακής Αναιμίας ανάλογα με τον διαφορετικό αριθμό των γονιδίων που έχουν επηρεαστεί [Saxena et.al., 2017].

1.3.1 ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ α -ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Τα νεογέννητα και τα παιδιά που πάσχουν από κάποια μορφή Μεσογειακής αναιμίας έχουν συνήθως μια χλωμάδα, μειωμένη ανάπτυξη και κοιλιακή διάταση. Από την άλλη, οι φορείς είναι ασυμπτωματικοί ή μπορεί να παρουσιάσουν ήπια με μέτρια συμπτώματα που σχετίζονται με την αναιμία [Marengo-Rowe, 2007]. Το μεγαλύτερο ποσοστό των φορέων μεσογειακής αναιμίας ανακαλύπτεται τυχαία όταν μέσα από τον αιματολογικό τους έλεγχο παρουσιάζεται ήπια μικροκυτταρική αναιμία. Η μικροκυτταρική αναιμία μπορεί να προκληθεί από σιδηροπενία, θαλασσαιμία, δηλητηρίαση από μόλυβδο, σιδηροβλαστική αναιμία, ή αναιμία χρόνιας νόσου. Τα MCV, RDW, και το ιστορικό του ασθενούς μπορούν να αποκλείσουν ορισμένες από αυτές τις αιτιολογίες. Το MCV είναι συνήθως μικρότερο από 75 fl στη θαλασσαιμία και σπανίως μικρότερο από 80 fl στην έλλειψη σιδήρου έως ότου ο αιματοκρίτης να είναι μικρότερος από το 30 τοις εκατό. Στα παιδιά, ο δείκτης Mentzer (MCV/RBC) μπορεί να βοηθήσει στον διαχωρισμό ανάμεσα στην σιδηροπενία και τη θαλασσαιμία. Στη σιδηροπενία η αναλογία αυτή είναι συνήθως μεγαλύτερη από το 13 ενώ στη θαλασσαιμία μικρότερη από το 13 [Mentzer, 1973]. Επίσης στη διαφοροποίησή τους μπορεί να βοηθήσει και ο RDW ο οποίος

είναι αυξημένος πάνω από το 90% στα άτομα με ανεπάρκεια σιδήρου και μόνο στο 50% στα άτομα με θαλασσαιμία [Flynn, 1986].

Οι συμπληρωματικές εξετάσεις περιλαμβάνουν τη φερριτίνη ορού, το περιφερικό επίχρισμα αίματος, την ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης, τα επίπεδα μόλυβδου στον ορό, και πιο σπάνια την αναρρόφηση μυελού των οστών. Γενικά όμως, η εξέταση της φερριτίνης του ορού είναι η καλύτερη εξέταση για τον έλεγχο της σιδηροπενικής αναιμίας [Guyatt, 1992]. Η έλλειψη της φλεγμονής σε φυσιολογικά επίπεδα φερριτίνης αποκλείει την σιδηροπενική αναιμία. Η συνολική σιδηροδεσμευτική ικανότητα και ο κορεσμός της τρανσφερίνης σπάνια χρειάζονται. Η σιδηροβλαστική αναιμία μπορεί να αποκλειστεί από την εξέταση με το περιφερικό επίχρισμα ή την αναρρόφηση του μυελού των οστών. Σε περίπτωση που εξακολουθεί να υπάρχει υποψία για θαλασσαιμία, πραγματοποιείται ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης για να βοηθήσει στη διάγνωση της πάθησης.

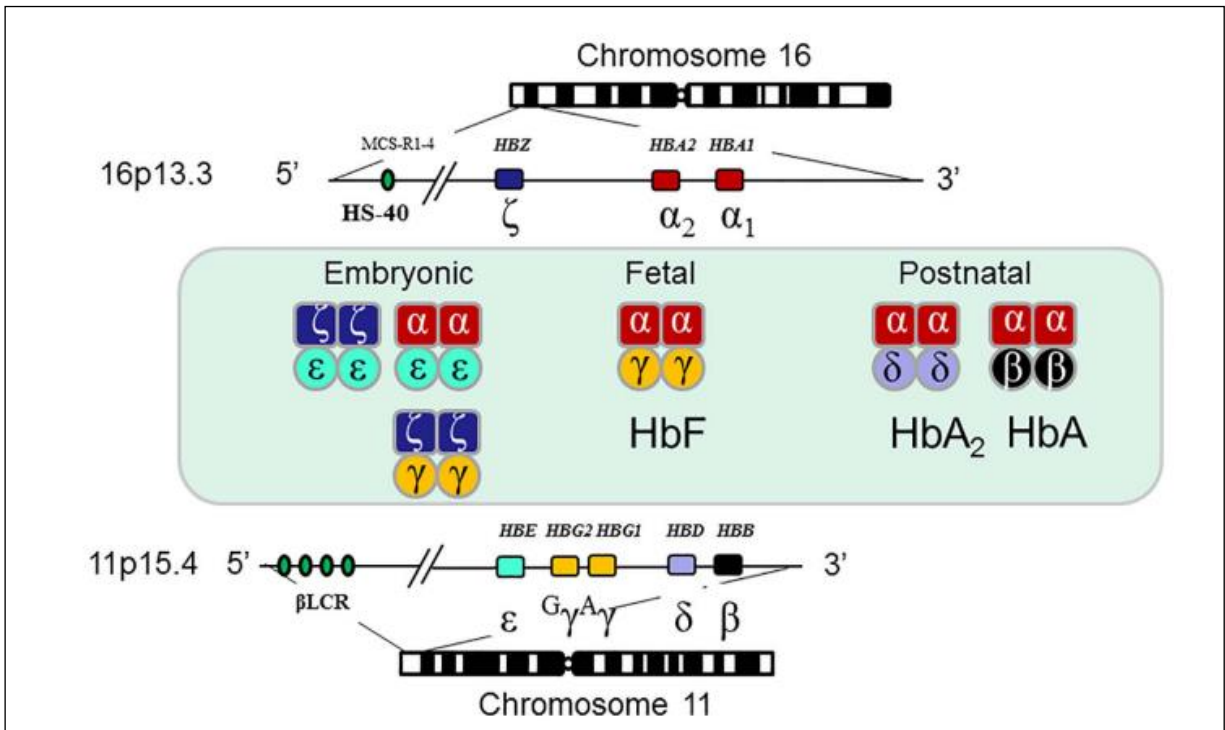
Τα άτομα με α-Μεσογειακή αναιμία μπορεί έχουν: επίπεδα αιμοσφαιρίνης τα οποία κυμαίνονται από φυσιολογικά έως και σοβαρή αναιμία (Hb 15.5–7.5 g/dl), χαμηλό MCV (<79fl), χαμηλό MCH (<27pg), φυσιολογικό ή αυξημένο RBC ($6-7 \times 10^{12}/l$) και φυσιολογικό ή ελαφρώς μειωμένο ποσοστό της HbA₂. Οι σιωπηλοί φορείς της α-Μεσογειακής αναιμίας (α/α⁺), όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, είναι ασυμπτωματικοί και συνήθως δεν συνδέονται από αιματολογικές διαταραχές. Στην ελάσσων α-Μεσογειακή αναιμία (α⁺/α⁺, α/α⁰) παρατηρούνται χαμηλά MCV, MCH, φυσιολογική ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης, αυξημένα RBC, υποχρωμία και μικροκυττάρωση στο επίχρισμα περιφερικού αίματος. Η αιμοσφαιρινοπάθεια Η χαρακτηρίζεται από μειωμένα MCV, MCH, HbA₂, HBH σε ποσοστό 2-40%, Hb 7-10 gr/dL, ανισοκυττάρωση, έντονη υποχρωμία, μικροκυττάρωση, στοχοκυττάρωση, σχιστοκυττάρωση και ερυθροκυτταρικά έγκλειστα [Farashi and Harteveld, 2018]. Η σύνοψη όλων των παραπάνω χαρακτηριστικών παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Αιματολογική εικόνα των διαφορετικών μορφών της α-ΜΑ. Συνοπτικός πίνακας με βάση τις αναφορές όλου του κειμένου. ΚΦ: Κανονικό Φυσιολογικό. *Δεν συνοδεύεται από αιματολογικές διαταραχές και το έλλειμα των α-αλυσίδων καλύπτεται από την υπερλειτουργία των τριών υγιών γονιδίων. **Το έλλειμμα των α-αλυσίδων δεν υπερκαλύπτεται από την υπερλειτουργία των υγιών α-αλυσίδων

	ΣΙΩΠΗΛΟΣ ΦΟΡΕΑΣ α- ΜΑ* α/α ⁺	ΕΛΛΑΣΩΝ α-ΜΑ ** α ⁺ /α ⁺ , α ⁰ /α	ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΑ Η α ⁰ /α ⁺
HbA ₂ (α ₂ δ ₂)	ΚΦ	ΚΦ ή ↓	↓↓
HbF (α ₂ δ ₂)	ΚΦ	ΚΦ	↑ (1-3)%
Hct	ΚΦ	ΚΦ	↓
RBC	ΚΦ	↑	↑
Hb	ΚΦ	ΚΦ	4-10 g%
MCV	ΚΦ ή ↓	↓	↓
MCH	ΚΦ ή ↓	↓	↓
HBH	-	-	2-40%. Συνήθως 8-15%
ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	ΚΦ	Υποχρωμία Μικροκυττάρωση Στοχοκυττάρωση	Υποχρωμία Μικροκυττάρωση Σχιστοκύτταρα Δακρυκύτταρα Βασεόφιλη στίξη Ποικιλοκυττάρωση Ερυθροκυτταρικά έγκλειστα

1.4 Β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Η β-Μεσογειακή αναιμία αποτελεί τη συχνότερη μορφή και έχει την βαρύτερη κλινική εικόνα. Εμφανίζεται σε ομόζυγη μορφή, με το όνομα μείζων β-Μεσογειακή αναιμία ή αναιμία Cooley, ενδιάμεση β-Μεσογειακή αναιμία ή σε ετερόζυγη μορφή με το όνομα μεσογειακό στίγμα [Rund and Rachmilewitz, 2005]. Οφείλεται σε ελλιπή ή ανύπαρκτη σύνθεση των αλυσίδων της β-σφαιρίνης οδηγώντας σε περίσσεια των α αλυσίδων. Προκαλείται από περισσότερες από 200 σημειακές μεταλλάξεις και σπανιότερα διαγραφές των δυο γονιδίων που υπάρχουν και από τους δυο γονείς [Muncie and Campbell, 2009]. Γενικά, η παραγωγή των βήτα αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης ελέγχεται από ένα γονίδιο που εντοπίζονται στο τελομερικό άκρο του μικρού σκέλους του χρωμοσώματος 11 όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 5.



Εικόνα 5. Σχηματική αναπαράσταση της χρωμοσωμικής θέσης των γονιδίων α-σφαιρίνης (16p13.3) και β-σφαιρίνης (11p15.4). Από αριστερά προς τα δεξιά φαίνονται οι αιμοσφαιρίνες που εκφράζονται κατά την εμβρυική φάση και μετά τη γέννηση [Samaneh and Cornelis, 2018].

Η περίσσεια των α-αλυσίδων οδηγεί στην ατελή πλήρωση των ερυθροκυττάρων σε αιμοσφαιρίνη με υπόχρωμα και μικροκυτταρικά ερυθρά αιμοσφαίρια. Υπάρχει ακόμα η μη αποτελεσματική ερυθροποίηση καθώς τα αθροίσματα των ελεύθερων άλφα αλυσίδων προκαλούν οξειδωτική καταστροφή της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων και των ανώριμων ερυθροβλαστών στο μυελό των οστών. Ωστόσο, λίγοι προερυθροβλάστες ωριμάζουν στο μυελό των οστών και μεταφέρονται ως ώριμα ερυθροκύτταρα στο αίμα, τα οποία φέρουν έγκλειστα σωμάτια και αποβάλλονται πρώιμα από το σύστημα μακροφάγων μονοπύρηνων στο σπλήνα, ήπαρ και μυελό των οστών, προκαλώντας αιμόλυση [Cohen et.al.,2004].

Το στίγμα της β-Θαλασσαιμίας οφείλεται στην ύπαρξη μιας μόνο μετάλλαξης στον ένα γόνο των β-αλυσίδων και χαρακτηρίζεται από μικροκυττάρωση και υποχρωμία, ήπια αναιμία όπου τα άτομα είναι ασυμπτωματικά. Εάν όμως η σύνθεση και των δυο γονιδίων είναι δραματικά μειωμένη ή ανύπαρκτη, το άτομο έχει μείζονα βήτα θαλασσαιμία, γνωστή και ως αναιμία

Cooley. Τα άτομα με μείζονα βήτα θαλασσαιμία δεν είναι σχεδόν ποτέ συμπτωματικά στη γέννησή τους λόγω της παρουσίας της HbF, αλλά τα συμπτώματα ξεκινάνε να αναπτύσσονται σε ηλικία έξι χρόνων. Από την άλλη πλευρά, όταν η παραγωγή των βήτα αλυσίδων είναι μειωμένη σε μικρότερο βαθμό, το άτομο εμφανίζει ενδιάμεση βήτα θαλασσαιμία στην οποία τα συμπτώματα είναι λιγότερο σοβαρά και δεν απαιτούν μακροχρόνιες μεταγγίσεις για να επιβιώσουν παραπάνω από τα είκοσι χρόνια [Olivieri, 1999].

Στην ομόζυγη μορφή οι πάσχοντες κληρονομούν και από τους δύο γονείς τα υπεύθυνα για την διαταραχή γονίδια και υπάρχει διαταραχή της σύνθεσης των β αλυσίδων. Έτσι έχουμε και ελάττωση του συνολικού ποσού της αιμοσφαιρίνης που περιέχεται στο ερυθροκύτταρο και επομένως την δημιουργία βαριάς υποχρωμίας. Εξαιτίας της μειωμένης παραγωγής των β αλυσίδων επέρχεται, κατά κανόνα σχεδόν, αύξηση της παραγωγής των γ ή δ αλυσίδων, με αποτέλεσμα την αύξηση των ποσοτήτων των HbF και HbA₂ που περιέχονται στα ερυθροκύτταρα [Rund and Rachmilewitz, 2005]. Οι διαφορετικοί τύποι βήτα μεσογειακής αναιμίας ανάλογα με τον αριθμό των γονιδίων της βήτα σφαιρίνης που έχουν επηρεαστεί παρουσιάζονται και στην εικόνα 6.

<i>No. of affected genes</i>	<i>Type of beta thalassemia disorder</i>	<i>Clinical features</i>
Inheritance of one defective β-globin gene from each parent: Two genes are defective (severe decrease in beta globin synthesis) (β ⁰)	Beta thalassemia major or Cooley anemia (homozygous β-thalassemia)	Synthesis of beta chains is almost completely inhibited resulting in a severe transfusion-dependent anemia at about 3 to 6 months of age, the time when gamma-chain synthesis normally decreases
<i>Beta thalassemia minor (One defective β-globin gene (from either parent))</i>		
One defective β-globin genes from either parent (β ⁺) (reduced synthesis of β-globin chains)	Beta thalassemia trait/carrier state (heterozygous state)	Mild to moderate microcytic anemia with no significant detrimental effect on overall health
Heterogeneous group of thalassemia-like disorders	Beta thalassemia intermedia	Disease severity varies from the asymptomatic carrier state to the severe transfusion-dependent-type anemia

Εικόνα 6. Παρουσίαση των διαφορετικών μορφών β-Μεσογειακής Αναιμίας ανάλογα με τον αριθμό των γονιδίων που έχουν επηρεαστεί [Saxena et al., 2017].

1.4.1. ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ Β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Στη μείζων β-Μεσογειακή αναιμία έχουμε μειωμένο επίπεδο Hb (<7 g/dl), MCV > 50 < 70 fl, MCH > 12 < 20 pg, μειωμένη HbA, αυξημένη HbA₂ και HbF αλλά και αυξημένα τα βιοχημικά ευρήματα όπως σίδηρος, φερριτίνη, φυλλικό οξύ, έμμεση χολερυθρίνη. Η ενδιάμεση β-Μεσογειακή αναιμία χαρακτηρίζεται από επίπεδα Hb μεταξύ 7 και 10 g/dl, 50 < MCV < 80 fl, και 16 < MCH < 24 pg. Η ελάσσονα θαλασσαιμία χαρακτηρίζεται από μειωμένο MCV και MCH, με αυξημένα επίπεδα HbA₂ [Galanello et.al., 1979]. Το επίχρισμα περιφερικού αίματος σε προσβεβλημένα άτομα επιδεικνύει μορφολογικές αλλαγές των ερυθροκυττάρων με μικροκυττάρωση, υποχρωμία, βασεόφιλη στίξη, ανισοκυττάρωση, ποικιλοκυττάρωση και εμπύρηνια ερυθρά αιμοσφαίρια. Ο αριθμός των ερυθροβλαστών σχετίζεται με το βαθμό αναιμίας και είναι αισθητά αυξημένος μετά από τη σπληνεκτομή.

Οι φορείς επιδεικνύουν μειωμένες μορφολογικές αλλαγές αλλά και αλλαγές στα στοιχεία MCV, MCH και RBC που είναι λιγότερο σοβαρές από ό,τι στα προσβεβλημένα άτομα. Οι ερυθροβλάστες κανονικά δεν φαίνονται [Origa, 2016].

Η HbA₂ είναι συνήθως ενισχυμένη στην ελάσσονα β-θαλασσαιμία και μεταβλητή στους ομοζυγώτες β-θαλασσαιμίας και σύνθετους ετεροζυγώτες. Οι ομόζυγοι της β⁰ θαλασσαιμίας εμφανίζουν πλήρη απουσία παραγωγής των β-αλυσίδων σφαιρίνης και η HbF αποτελεί το 92-95% της συνολικής Hb. Στους β⁺ ομόζυγους και β⁺/β⁰ η HbF είναι 70-90% και HbA είναι 10-30% ανάλογα με τον μεταβλητό βαθμό μείωσης της σύνθεσης αλυσίδας β-σφαιρίνης [Origa, 2016].

Τα χαρακτηριστικά για τα διαφορετικά είδη της β-MA παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Αιματολογική εικόνα των διαφορετικών μορφών της β-ΜΑ. Συνοπτικός πίνακας με βάση τις αναφορές όλου του κειμένου.*Τα ετερόζυγα άτομα δεν φέρουν την ασθένεια και εμφανίζουν ήπια αναιμία.

	ΕΤΕΡΟΖΥΓΑ ΑΤΟΜΑ β-ΜΑ *	ΟΜΟΖΥΓΑ ΑΤΟΜΑ β-ΜΑ
HbA (α₂β₂)	↓(90-95)%	↓↓↓ (0-20)%
HbA₂(α₂δ₂)	↑ (2-4)%	↑ (4-6)%
HbF(α₂δ₂)	↑ (0.5-4)%	↑↑↑ (40-95)%
Hct	35-40 %	↓↓(32-43)% άντρες- (30-37)% γυναίκες
RBC	↑	↓
Hb	9-13 g%	↓↓ 2-7 gr/dl
MCV	↓ 60-70fl	↓↓ 50-70fl
MCH	↓ 19-23pg	↓↓ 19-23 pg
IRON	ΚΦ	↑↑
FERR	ΚΦ	↑
ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	Ελαφρά υποχρωμία Ελαφρά μικροκυττάρωση Στοχοκυττάρωση Σπάνια ανισοκυττάρωση	Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Μικροκυττάρωση Στοχοκύτταρα Σχιστοκύτταρα Δακρυοκύτταρα Εμπύρηνια Ερυθρά

1.4.2. ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΗΣ β-ΜΕΣΟΓΕΙΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Οι περισσότερες μεταλλάξεις β⁰ και β⁺ έχουν επίπτωση στον αιματολογικό φαινότυπο των φορέων όπως σχετική αύξηση του αριθμού των ερυθροκυττάρων (RBCs), μειωμένο MCV (60-70fl) και μειωμένο MCH (19-23pg) καθώς και χαρακτηριστική αύξηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης Α₂ (HbA₂ συνήθως μεταξύ 4-6%). Κάποιοι από τους «σιωπηλούς φορείς» μπορεί να παρουσιάσουν φυσιολογικό ή σχεδόν φυσιολογικό φαινότυπο, κάποιοι μειωμένο MCV και MCH αλλά και μερικές φορές φυσιολογικά επίπεδα HbA₂ (6%). Ορισμένοι φορείς συγκεκριμένων μεταλλάξεων της β-ΜΑ έχουν ελαφρώς αυξημένα επίπεδα HbF (2% < HbF < 5%), οι φορείς της δβ-ΜΑ συνήθως έχουν ελαφρώς μειωμένους ερυθροκυτταρικούς δείκτες με αξιοσημείωτη αύξηση της HbF (5% < HbF < 10%) και φυσιολογικά ή ελαφρώς αυξημένα επίπεδα HbA₂. Οι μεταλλάξεις που εντοπίζονται στις συντηρημένες περιοχές του DNA στον υποκινητή του β γονιδίου και επηρεάζουν τη μεταγραφή, προκαλούν μόνο μια ήπια έως πολύ μικρή επίπτωση στην παραγωγή των β αλυσίδων και δεν προκαλούν επίπτωση στον

αιματολογικό φαινότυπο όταν βρίσκονται σε ετερόζυγη κατάσταση. Εντοπίζονται είτε στις συντηρημένες περιοχές του DNA στον υποκινητή του β γονιδίου ή στην περιοχή των 50 νουκλεοτιδίων στη 5' μη μεταφραζόμενη περιοχή του γονιδίου (5'UTR) [Kattamis et al.,1990]. Υπάρχουν πάνω από 50 διαφορετικές μεταλλάξεις που επιδρούν σε διάφορα στάδια της επεξεργασίας του RNA, όπως μεταλλάξεις στις θέσεις κοπής και επανασυγκόλλησης (μάτισμα), μεταλλάξεις μέσα στις συντηρημένες περιοχές στα άκρα των ιντρονίων, καθώς και εκείνων που ενεργοποιούν εναλλακτικές θέσεις ματίσματος του RNA μέσα στα εξώνια ή τα ιντρόνια. Οι μεταλλάξεις που αλλάζουν τα δινουκλεοτίδια (GT στο 5' άκρο και AG στο 3') των ιντρονίων, αποτρέπουν τη σύνθεση του φυσιολογικού ώριμου RNA και προκαλούν β⁰ MA [Kattamis et al.,1990].

Περίπου οι μισές από τις μεταλλάξεις που ευθύνονται για τη β-MA επηρεάζουν τη μετάφραση του RNA και όλες έχουν σαν αποτέλεσμα τη β⁰ MA. Οι διαταραχές αυτές μπορεί να προκαλούν είτε άμεσα ένα πολύ πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού, είτε μετατοπίζοντας το πλαίσιο ανάγνωσης να δημιουργούν κωδικόνιο τερματισμού και πρόωρο τερματισμό της πρωτεϊνικής αλυσίδας μέσα στο εξώνιο 1 και 2. Τέτοιες μεταλλάξεις συνοδεύονται από την παρουσία ελάχιστων επιπέδων β mRNA στα ερυθροκύτταρα, εξ αιτίας μιας επιταχυνόμενης αποδόμησης ανώμαλων mRNA γνωστό και ως «nonsense-mediated mRNA decay» (NMD) [Kattamis et al.,1990].

Ορισμένες από τις μεταλλάξεις που βρέθηκαν στον νομό της Άρτας και παρουσιάζονται στα αποτελέσματα, αναλύονται παρακάτω:

- **+1480 C→G** : Ανήκει στη κατηγορία των μεταλλάξεων που επηρεάζουν την επεξεργασία του RNA, εντοπίζονται στην πολύ-A ουρά του γονιδίου (AATAAA) ή στην 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή του γονιδίου δημιουργώντας αλληλόμορφα με φαινότυπο β⁺ MA. Κάποια από αυτά συνοδεύονται με φυσιολογικό φαινότυπο σε ετερόζυγη κατάσταση όπως η αντικατάσταση μιας βάσης στο έκτο νουκλεοτίδιο μετά το κωδικόνιο τερματισμού [Rooks et al.,2005].
- **-101C→ T/NI** : Σε παιδιά και ενήλικες, η μετάλλαξη του προαγωγέα β-101(C→T) ή (HBB):c.-151C>T, παράγει στην ετερόζυγη κατάσταση έναν σιωπηλό φαινότυπο β-θαλασσαιμίας και έχει ως αποτέλεσμα μια ήπια μορφής ενδιάμεση θαλασσαιμία. Αυτό το μοτίβο έκφρασης που σχετίζεται με την ηλικία είναι τυπικό για αυτή τη μετάλλαξη και δεν έχει ανιχνευθεί μέχρι στιγμής για άλλες μεταλλάξεις β-θαλασσαιμίας. Υποθέτοντας την

ύπαρξη διαφορετικών περιφερικών πρωτεϊνών δέσμευσης στο πλαίσιο CACCC με λειτουργία ενεργοποίησης του προαγωγέα του γονιδίου β-σφαιρίνης σε εμβρυϊκή και ενήλικη ηλικία, ο εμβρυϊκός τύπος αλληλεπιδράει λιγότερο αποτελεσματικά με τον μεταλλαγμένο προαγωγέα CACCC σε σύγκριση με τον ενήλικο. Έτσι θα μπορούσε να εξηγηθεί η πιο σοβαρή φαινοτυπική επίδραση της μετάλλαξης β-101 (C → T) στα έμβρυα-νεογέννητα [Murru et al.,1993].

- **CD39 C→T** : Η αντικατάσταση της κυτοσίνης από θυμίνη (CAG>TAG) έχει ως αποτέλεσμα ένα πρόωρο κωδικόνιο λήξης, διακόπτοντας την μετάφραση του mRNA. Σε αυτή την περίπτωση, δεν υπάρχει σύνθεση της β-αλυσίδας, οδηγώντας έτσι σε β⁰ φαινότυπο. Συσχετίζεται ακόμα με χαμηλότερο MCV, μειωμένη Hb και χαμηλότερο Ht συγκριτικά με την μετάλλαξη IVSI-1 G→A [Gomes et al., 2017].
- **CD5-CT** : Η μετάλλαξη CD5 [-CT] οδηγεί σε πλήρης αναστολή της σύνθεσης της β-αλυσίδας μέσω του σχηματισμού ενός σήματος πρόωρου τερματισμού στο κωδικόνιο 21, οδηγώντας έτσι σε β⁰ φαινότυπο [Moassas et al.,2019].
- **IVSI-110 G→A** :Υπάρχουν πολλές μεταλλάξεις β-MA που ενεργοποιούν εναλλακτικές θέσεις ματίσματος του RNA οι οποίες ανταγωνίζονται, στην πράξη, τις φυσιολογικές κατά τη διαδικασία της επεξεργασίας του πρώιμου RNA. Οι περισσότερες μεταλλάξεις που ενεργοποιούν εναλλακτικές θέσεις ματίσματος μέσα στα ιντρόνια ευθύνονται για βαριές μεταλλάξεις β⁺ MA [Traeger-Synodinou et al.,2011].
- **IVSI-1 G→A** :Πρόκειται για μεταλλάξεις όπου αλλάζουν τα δινουκλεοτίδια (GT στο 5' άκρο και AG στο 3') των ιντρονίων αποτρέποντας έτσι τη σύνθεση του φυσιολογικού ώριμου RNA και τελικά προκαλούν β⁰ MA.
- **IVSI-5 G→A , IVSI-6 T→C** : Και οι δύο αφορούν μεταλλάξεις στις συντηρημένες περιοχές στα άκρα των ιντρονίων τα οποία μειώνουν την αποτελεσματικότητα του ματίσματος, σε διαφορετικό βαθμό η κάθε μια. Αν και η μετάλλαξη IVS1-6 T → C σχετίζεται γενικά με ηπιότερη β-θαλασσαιμία, μελέτες έχουν δείξει ότι σε ορισμένες περιπτώσεις, φαινομενικά πανομοιότυπες μεταλλάξεις μπορεί να είναι σοβαρές αλλά αυτό πιθανώς να σχετίζεται με το χρωμοσωμικό υπόβαθρο στο οποίο έχουν προκύψει οι μεταλλάξεις [Thein, 2013]. Και τα δυο αυτά γονίδια παράγουν ματισμένα προϊόντα mRNA και τρία μη φυσιολογικά προϊόντα mRNA πανομοιότυπα με αυτά που παράγονται από τη μετάλλαξη IVSI-1 G→A. Η μετάλλαξη στη θέση 6 έχει αποδειχθεί ότι παράγει σχεδόν

κανονικές ποσότητες mRNA (β^+) ενώ η μετάλλαξη στη θέση 5 παράγει περίπου το μισό mRNA από το φυσιολογικό γονίδιο της β -σφαιρίνης [Treisman, 1983].

- **IVSII-745 C→G** : Η μετάλλαξη αυτή δεν είναι πολύ γνωστή για τον Ελλαδικό χώρο καθώς αποτελεί μόνο το 6,9% των συνολικών μεταλλάξεων που προκαλούν β -MA. Η αντικατάσταση C→G στη θέση IVS-2 745 στο γονίδιο του απλοτύπου VII δημιουργεί μια νέα αλληλουχία CAGGT που χρησιμεύει ως μια νέα και επιβλαβής εσωτερική θέση ματίσματος στο πρόδρομο β -RNA. Στη συγκεκριμένη μετάλλαξη, είναι αξιοσημείωτο ότι η έκφραση της γ -σφαιρίνης είναι πάνω από 40% [Dedoussis et al.,1999].
- **BdPunjab** : Η HbD-Punjab/Los Angeles είναι μια παραλλαγή που προέρχεται από μια σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο βήτα-σφαιρίνης (HBB) στην πρώτη βάση του κωδικονίου 121 (GAA→CAA) με την αντικατάσταση γλουταμίνης για το γλουταμικό οξύ (Glu>Gln) στην αλυσίδα της βήτα σφαιρίνης [Fucharoen et al.,2002]. Οι φορείς της συγκεκριμένης μετάλλαξης είναι κλινικά ασυμπτωματικοί. Η ανάλυση HPLC σε άτομα με το χαρακτηριστικό Hb D Punjab δείχνει δύο κορυφές—μία στη θέση A και η άλλη στη θέση D—με την HbD να σχηματίζει το 30% έως 40% της συνολικής Hb. Οι συγκεντρώσεις HbF και HbA₂ είναι εντός ή ελαφρώς πάνω από τα διαστήματα αναφοράς [Rifai,2018].
- **HbS/ β thalassemia** : Τα κλινικά και αιματολογικά χαρακτηριστικά στην κληρονομικότητα της θαλασσαιμίας HbS/ β είναι αρκετά ποικίλα: ορισμένα είναι σοβαρά ενώ άλλα είναι λιγότερο σημαντικά. Η κλινική βαρύτητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση των μεταλλάξεων της β -θαλασσαιμίας που κληρονομούνται. Οι θαλασσαιμίες HbS/ β ταξινομούνται ως: θαλασσαιμία HbS/ β^0 , με απουσία HbA και σοβαρή κλινική πορεία παρόμοια με την ομόζυγη νόσο HbS (π.χ.S/cd39) και HbS/ β^+ θαλασσαιμία όπου συνήθως σχετίζεται με 20-30% της HbA με ηπιότερη κλινική πορεία (π.χ.Bs/IVSI-6 T>C) [Weatherall and Clegg, 2001].

1.5 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ Α- ΚΑΙ Β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Σε ό,τι αφορά την παθοφυσιολογία των θαλασσαιμιών υπάρχουν τρεις σημαντικές διαφορές μεταξύ α - και β -θαλασσαιμίας:

(α) Στους περισσότερους τύπους β-θαλασσαιμίας η διαταραχή είναι μία σημειακή μετάλλαξη (~300 μεταλλάξεις), ενώ στην α-θαλασσαιμία είναι η απώλεια ολόκληρων τμημάτων γενετικού υλικού (υπάρχουν βέβαια και εξαιρέσεις).

(β) Η έναρξη των συμπτωμάτων στην α-θαλασσαιμία γίνεται από τη στιγμή της γέννησης, αφού διαταράσσονται η HbA και η HbF. Στη β-θαλασσαιμία τα συμπτώματα εμφανίζονται 6 μήνες μετά τη γέννηση διότι τότε η παραγωγή των β-αλυσίδων φτάνει στο μέγιστο,

(γ) Η αιτία της αναιμίας στη β-θαλασσαιμία είναι η μη αποδοτική ερυθροποίηση (90%) αλλά και η αιμόλυση σε πολύ μικρό ποσοστό (10%), ενώ στην α-θαλασσαιμία είναι κυρίως η περιφερική αιμόλυση.

Στην α-θαλασσαιμία, οι πλεονάζουσες β αλυσίδες σχηματίζουν τετραμερή μόρια (β₄), τα οποία είναι μεν ασταθή και καθιζάνουν στην κυτταρική μεμβράνη (μηχανική παραμόρφωση ερυθροκυττάρου), αλλά είναι σχετικά σταθερότερα από τα τετραμερή α₄, τα οποία σχηματίζονται στη β-θαλασσαιμία. Αποτέλεσμα αυτής της διαφοράς είναι το γεγονός ότι η καθίζηση των τετραμερών και η βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης επέρχεται αργότερα στην α-θαλασσαιμία και αφορά περισσότερο τα κυκλοφορούντα ερυθρά, τα οποία καταστρέφονται τελικά πρώιμα στο σπλήνα. Έτσι, η α-θαλασσαιμία, λοιπόν, εκδηλώνεται ως ένα χρόνιο αιμολυτικό νόσημα (οξειδωτική επίδραση των ελεύθερων ριζών στα δομικά στοιχεία των ερυθροκυττάρων → φαγοκυττάρωση και απομάκρυνση τους → διόγκωση του σπλήνα και του ήπατος → αύξηση έμμεσης χολερυθρίνης → ανάπτυξη χολόλιθων).

Από την άλλη πλευρά, στην β-θαλασσαιμία, η πλήρης ή πολύ ελαττωμένη σύνθεση των β αλυσίδων έχει σαν αποτέλεσμα την περίσσεια των α αλυσίδων όπου η άθροιση τους γίνεται στο στάδιο του πρώιμου ερυθροβλάστη. Η περίσσεια των α αλυσίδων συνδέεται με την πυρηνική μεμβράνη όπως και με την κυτταρική μεμβράνη. Αποτέλεσμα είναι η δημιουργία ενδοπυρηνικών εγκλείστων τα οποία θα επιφέρουν βλάβη του πυρήνα του κυττάρου. Έτσι γίνεται ενδομυελική καταστροφή του ερυθροβλάστη ή επιβράδυνση της ωρίμανσής του και εμφάνισης του στην κυκλοφορία [Κουράκλη, 2015].

1.6 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ - Η ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Περίπου το 5% του παγκόσμιου πληθυσμού έχει μια παραλλαγή του γονιδίου της σφαιρίνης. Η θαλασσαιμία επηρεάζει εξίσου άνδρες και γυναίκες και εμφανίζεται σε περίπου 4,4 για κάθε

10.000 γεννήσεις στις οποίες τα νεογνά επιβιώνουν [Rund and Rachmilewitz, 2005]. Η συχνότητα εμφάνισης της Μεσογειακής Αναιμίας είναι αυξημένη στις χώρες της Μεσογείου, στη Μέση Ανατολή, στην Νότια και Ανατολική Ασία, στον Νότιο Ειρηνικό και στην Νότια Κίνα με ποσοστό φορέων που κυμαίνεται από 2-25% [Cappellini et al.,2010]. Η υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης φορέων αναφέρεται στην Κύπρο (14%), στη Σαρδηνία (10,3%) και στη Νοτιοανατολική Ασία [Galanello and Origa, 2010]. Η θαλασσαιμία εντοπίζεται σε ανθρώπους που ζουν σε υγρά κλίματα όπου εμφανίζεται συχνά και η ελονοσία καθώς η καθίζηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων δεν ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των πρωτόζωων που παρασιτούν σε αυτά. Ο συνδυασμός δρεπανοκυτταρικής αναιμίας, β-θαλασσαιμίας και α-θαλασσαιμίας παρατηρούνται συχνά σε άτομα από περιοχές που είναι ενδημικές για την ελονοσία εδώ και αιώνες. Οι κλινικά σοβαρές μορφές όπως είναι η νόσος HbH και ο Εμβρυικός ύδρωπας, εμφανίζονται κυρίως στη Νοτιοανατολική Ασία, στη Μεσόγειο και στη Μέση Ανατολή. Λόγω της μετανάστευσης των πληθυσμών αλλά και λόγω των γάμων μεταξύ ομάδων διαφορετικών εθνικοτήτων, η ενδημικότητα της θαλασσαιμίας έχει αλλάξει δραματικά τα τελευταία τριάντα χρόνια [Ελευθερίου Α.,2007]. Περιοχές όπως η Βόρεια Ευρώπη και η Βόρεια Αμερική, που προηγουμένως ήταν γνωστές ως μη ενδημικές για τις αιμοσφαιρινοπάθειες, πλέον αντιμετωπίζουν μια μεγάλη πρόκληση στη διάγνωση και θεραπεία της θαλασσαιμίας και της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας, ιδίως όμως της α-θαλασσαιμίας λόγω της αφθονίας και της πολυπλοκότητάς της [Farashi and Cornelis, 2018]. Το 2018 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) ανέφερε ότι τουλάχιστον το 5,2% των ατόμων παγκοσμίως ήταν φορείς θαλασσαιμίας, ότι περίπου το 1,1% των ζευγαριών παγκοσμίως κινδύνευε να αποκτήσει παιδιά με διαταραχή της αιμοσφαιρίνης και ότι 2,7/1.000 συλλήψεις επηρεάστηκαν θετικά για κάποια μετάλλαξη του γονιδίου της αιμοσφαιρίνης [WHO, 2020].

Το 1973 εισήχθη στην Ελλάδα το Εθνικό Πρόγραμμα Πρόληψης της Θαλασσαιμίας όπου και στόχευε στην πρόληψη της συσσώρευσης νέων περιπτώσεων μέσω της γενετικής συμβουλευτικής και της προγεννητικής διάγνωσης και επιπλέον στην παροχή βέλτιστης φροντίδας στους ασθενείς. Οι υπηρεσίες παρέχονταν και συνεχίζουν να παρέχονται από την Κεντρική Μονάδα στην Αθήνα, αλλά και από 21 Μονάδες προσαρτημένες σε νοσοκομεία της Αθήνας και άλλων πόλεων, ιδίως σε περιοχές με υψηλές συχνότητες [Boussiou et al, 2008]. Ακόμα, στην Ελλάδα υπάρχει το Εθνικό Μητρώο Αιμοσφαιρινοπαθειών (NRHG) το οποίο ιδρύθηκε το 2009 με σκοπό τον εντοπισμό και τη συλλογή λεπτομερών επιδημιολογικών και

κλινικών δεδομένων των ασθενών με αιμοσφαιρινοπάθειες από όλη τη χώρα και την ανάδειξη της αξίας ενός εθνικού μητρώου που ενημερώνεται συνεχώς για την επιτήρηση των υπηρεσιών υγείας [Voskaridou et al., 2019].

Στην Ελλάδα ο επιπολασμός των φορέων Μεσογειακής Αναιμίας (ετερόζυγη ή ελάσσονα Θαλασσαιμία) είναι 70 ανά 1.000 άτομα γενικού πληθυσμού ενώ από την άλλη ο επιπολασμός των ασθενών με Μεσογειακή Αναιμία είναι 4.000 σε πληθυσμό 11 εκατομμυρίων. Η νεογνική νοσηρότητα στην Ελλάδα της ομόζυγης μορφής της Μεσογειακής εκτιμάται περίπου σε 120-130 ανά 100.000 γεννήσεις, ετησίως. Η γεωγραφική κατανομή των ασθενών με Μεσογειακή Αναιμία ποικίλει με συχνότητα εμφάνισης που ανέρχεται έως και 15% στις περιοχές της Θεσσαλίας, της Δυτικής Πελοποννήσου και Δυτικής Ηπείρου εν αντιθέσει με την Μακεδονία, όπου η συχνότητα είναι μειωμένη [Loukopoulos, 2011].

Η συχνότητα των **φορέων β-θαλασσαιμίας** είναι περίπου 8,0%, ενώ το 1,5% του πληθυσμού είναι φορείς του γονιδίου bS [HBB: c.20A>T]. Το ποσοστό των φορέων β-θαλασσαιμίας μπορεί να φτάσει το 15-20,% σε ορισμένες περιοχές, παρουσιάζοντας μια εντελώς άνιση κατανομή σε όλη την Ελλάδα. Οι περιοχές χαμηλού υψομέτρου της Θεσσαλίας, της Δυτικής Ηπείρου και της Δυτικής Πελοποννήσου εμφανίζουν συχνότητες έως και 15%, ενώ στις περιοχές με μεγάλο υψόμετρο και τη Μακεδονία (Βόρεια Ελλάδα), η συχνότητα είναι σημαντικά χαμηλότερη [Loutradi-Amagnostou A. 2001, Samara M.2007, Boussiou M. 2008]. Από την άλλη πλευρά, η α-θαλασσαιμία στον ελληνικό πληθυσμό αναφέρεται συχνότητα 0,4-1,2% [Παπαγιαννάκη Ε.]. Το 1995, δημοσιεύθηκε για πρώτη φορά από τον *Vassilipoulos et al.* μια νέα μετάλλαξη στην οποία ονομάστηκε HbArta, λόγω της πόλης από την οποία καταγόταν ο συγκεκριμένος άνθρωπος που την εμφάνισε. Ακόμα σε μελέτη που διεξήχθη το 2007 για την μοριακή ετερογένεια της β θαλασσαιμίας στην Ελλάδα από τους *Bousiou et al.*, οι μεταλλάξεις του γονιδίου της β-σφαιρίνης cd29 C→T, IVS-I-2 T→C, IVS-I-5 G→T, cd37 G→A και poly A Kourdish AATAAA→AATAAG αναφέρονται για πρώτη φορά στην Ελλάδα, ενώ η cd7 GAG→TAG είναι μια νέα μετάλλαξη β⁰ θαλασσαιμίας που ανιχνεύθηκε σε ενήλικα άνδρα από την Αλβανία που διαμένει στην Ελλάδα. Ανακαλύφθηκαν επίσης τρεις μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί DNA (IVS-I-85 T→C, IVS-I-91 C→T και IVS-I-108 T→C). Μεταξύ αυτών, τα IVS-I-85 T→C και IVS-I-91 C→T είναι νέα και περιγράφονται για πρώτη φορά παγκοσμίως. Τα παραπάνω αποτελέσματα των μεταλλάξεων β θαλασσαιμίας από τη μελέτη παρουσιάζονται πιο αναλυτικά στις εικόνες 7 και 8.

Mutation	Phenotype	Case number	Frequency %
IVS-I-110 G→A	β^+	1599	42.1
CD39 C→T	β^0	714	18.8
IVS-I-1 G→A	β^0	487	12.8
IVS-I-6 T→C	β^+	307	8.1
IVS-II-745 C→G	β^+	239	6.3
IVS-II-1 G→A	β^0	125	3.3
CD6 -A	β^0	63	1.7
-101 C→T	β^+	60	1.6
-87 C→G	β^+	40	1.0
CD5 -CT	β^0	31	0.8
CD8 -AA	β^0	30	0.8
Rare mutations		101	2.7
Total		3796	100

Εικόνα 7. Κατανομή και σχετικές συχνότητες των κοινών και σπάνιων μεταλλάξεων β-θαλασσαιμίας στην Ελλάδα. Με την μεγαλύτερη συχνότητα παρουσιάζονται οι μεταλλάξεις IVS-I-110 G>A (42,1%), CD39 C>T (18,8%) και IVS-I-1 G>A (12,8%) [Boussiou et al.,2007].

Mutation	Phenotype	No. of cases
-90 C→T	β^+	1
-30 T→A	β^+	1
-28 A→C	β^+	1
CD7 GAG→TAG	β^0	1
CD8/9 +G	β^0	4
CD15 TGG→TAG	β^0	1
CD29 C→T	β^+	2
CD30 AGG→ACG	β^0	10
IVS-I-2 T→C	β^0	2
IVS-I-5 G→A	β^+	14
IVS-I-5 G→T	β^+	1
IVS-I-116 T→G	β^0	10
IVS-I-130 G→C	β^0	3
DEL IVSI -25 bp	β^0	1
DEL -44 bp	β^0	10
CD37 TGG→TGA	β^0	1
CD44 -C	β^0	8
IVS-II-848 C→A	β^+	10
+1480 C→G	β^+	4
+1570 T→C	β^+	7
PolyA AATAAA→AATGAA	β^+	8
polyA Kurdish AATAAA→AATAAG	β^+	1
Total		101

Εικόνα 8. Σπάνιες μεταλλάξεις της β-θαλασσαιμίας στην Ελλάδα [Boussiou et al.,2007].

1.7 ΣΥΜΒΟΛΗ ΚΑΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΟΝΑΔΩΝ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Η Ελλάδα είναι μια πρωτοποριακή μεσογειακή χώρα στην εφαρμογή τόσο ενός εθνικού προγράμματος πρόληψης των αιμοσφαιρινοπαθειών όσο και ενός δομημένου προγράμματος διαχείρισης των ασθενών. Σε αυτό συνέβαλε και το γεγονός ότι το ρίσκο να γεννηθεί ένα παιδί με αιμοσφαιρινοπάθεια κυμαίνεται από 1 στα 24 σε 1 στα 150 ζευγάρια. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, το Εθνικό πρόγραμμα πρόληψης των αιμοσφαιρινοπαθειών καθιερώθηκε το 1973 και ο προγεννητικός έλεγχος παρέχεται από το 1977. Υπάρχουν διάφορες μονάδες πρόληψης Μεσογειακής αναιμίας στην Ελλάδα οι οποίες συντονίζονται από το Εθνικό κέντρο πρόληψης των θαλασσαιμιών στο γενικό Λαϊκό Νοσοκομείο στην Αθήνα. Δεδομένου ότι η ανίχνευση των φορέων Μεσογειακής αναιμίας δεν είναι υποχρεωτική, ο κυριότερος σκοπός των παραπάνω μονάδων είναι η αποτελεσματική ενημέρωση και ο έλεγχος του πληθυσμού για τις γενετικά κληρονομικές αιμοσφαιρινοπάθειες αλλά και για τον κίνδυνο γέννησης ενός πάσχοντος παιδιού. Επιπλέον, οι μαιευτικές κλινικές παίζουν καθοριστικό ρόλο στην καθοδήγηση των εγκύων γυναικών στις μονάδες πρόληψης θαλασσαιμίας για ανίχνευση των γονέων που είναι φορείς [Theodoridou S., 2018].

Η λειτουργία των μονάδων πρόληψης της Μεσογειακής Αναιμίας έχει ιδιαίτερη σημασία τόσο σε ανθρωπιστικό όσο και σε κοινωνικό επίπεδο με τελικό στόχο την πλήρη εξάλειψη των πασχόντων στο μέλλον. Η σωστή εφαρμογή του προγράμματος πρόληψης στην Ελλάδα τα προηγούμενα χρόνια είχε ως αποτέλεσμα να μειωθεί ιδιαίτερα ο αριθμός γεννήσεων πασχόντων παιδιών από ΜΑ. Εκτός από την ανθρωπιστική-κοινωνική πλευρά, το ζήτημα πρόληψης της ΜΑ έχει ακόμη μια διάσταση, την οικονομική καθώς σε κάθε ασθένεια η πρόληψη είναι αποτελεσματικότερη από κάθε μέθοδο αντιμετώπισης.

Όλα τα ζευγάρια έχουν δικαίωμα και πρέπει να γνωρίζουν, αν έχουν αυξημένο κίνδυνο να αποκτήσουν παιδιά με γενετικό νόσημα και ποιες επιλογές υπάρχουν διαθέσιμες. Ο ιατρός έχει το καθήκον και την υποχρέωση να μεταδώσει αυτές τις πληροφορίες, να προτείνει ειδικές εξετάσεις ή να τους παραπέμψει για μια πιο εξειδικευμένη γνώμη [Κατρίου et.al,200]. Σε όλα αυτά τα ζευγάρια μπορεί να δοθεί γενετική καθοδήγηση, δηλαδή η μέθοδος επικοινωνίας η οποία αναφέρεται στα γεγονότα και στους κινδύνους επανάληψης γενετικών νοσημάτων σε μια οικογένεια. Η διαδικασία της καθοδήγησης σκοπεύει να βοηθήσει τις οικογένειες να πάρουν

δικές τους λογικές αποφάσεις σχετικά με την αναπαραγωγή και να προσαρμοστούν όσο γίνεται καλύτερα στην κατάσταση τους [Λουκίδου Χ.,2005].

Παρότι, κατά τις τελευταίες δεκαετίες τόσο στην Ελλάδα όσο και σε διεθνές επίπεδο σημειώθηκαν σημαντικές πρόοδοι στη διάγνωση και την εισαγωγή νέων θεραπευτικών μεθόδων, η μεσογειακή αναιμία παραμένει ένα πολύπλοκο πρόβλημα υγείας καθώς συνεπάγεται ποικίλα σωματικά προβλήματα και ανάγκες τα οποία επιφέρουν δραματικές αλλαγές στη καθημερινή ζωή των πασχόντων και του υποστηρικτικού τους περιβάλλοντος. Δεδομένων αυτών των αλλαγών, τα άτομα βιώνουν σύνθετα προβλήματα από τη ψυχική σφαίρα όπως άγχος και κατάθλιψη τα οποία είναι δυνατόν να επηρεάσουν ακόμα και τη βιολογική πορεία της νόσου ή να αποτελέσουν το βαθύτερο αίτιο για μερική ή πλήρη παραίτηση από τη θεραπεία [Κουτελέκος, 2013].

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας το ετήσιο κόστος ενός προγράμματος πρόληψης σε εθνικό επίπεδο είναι σχεδόν ίσο με το κόστος της θεραπευτικής αγωγής των ασθενών που γεννιούνται στο ίδιο έτος [Ελευθερίου Α. 2007].

Χωρίς μέτρα πρόληψης και προγεννητικού ελέγχου αναμένεται να γεννηθούν περισσότερα από 150 παιδιά με Μεσογειακή Αναιμία το χρόνο με μεγάλο κόστος (ηθικό και οικονομικό) τόσο για τις οικογένειες των πασχόντων όσο και για το κράτος [Ευάγγελος Κ.,2017]. Ένας υψηλός αριθμός γεννήσεων πασχόντων παιδιών αποτελεί μεγάλο οικονομικό κόστος για την εθνική οικονομία και άρα μείωση των κονδυλίων για την θεραπεία των ήδη πασχόντων [Modell B. and Darlison M., 2008].

2. ΣΚΟΠΟΣ

Λαμβάνοντας υπόψιν όλες τις παραπάνω πληροφορίες καθώς επίσης και το γεγονός ότι ο νομός της Άρτας αποτελεί μια περιοχή όπου η συχνότητα των φορέων άλφα και βήτα Μεσογειακής Αναιμίας βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα, κρίθηκε σκόπιμη η διεξαγωγή της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας. Επίσης, σημαντικό λόγο αποτέλεσε το γεγονός ότι δεν έχει διεξαχθεί προηγουμένως μια αναλυτική μελέτη για τους τύπους της μετάλλαξης και της συχνότητα εμφάνισης των αλληλομόρφων των ετεροζυγωτών για την α- και β-ΜΑ στον συγκεκριμένο νομό. Ακόμα, λαμβάνοντας υπόψιν τον τωρινό αριθμό των ομόζυγων πασχόντων από μεσογειακή αναιμία, μέσω της συγκεκριμένης εργασίας προορίζεται αφενός μεν η σημασία των μονάδων πρόληψης, αφετέρου δε, η ανάγκη ελέγχου του προγαμιαίου πληθυσμού για την αποφυγή γεννήσεων πασχόντων παιδιών στον συγκεκριμένο νομό όπως και γενικότερα στον χώρο της Μεσογείου.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 ΠΛΥΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η εργασία αυτή έλαβε έγκριση από το επιστημονικό και διοικητικό συμβούλιο του Γενικού Νοσοκομείου της Άρτας τηρώντας αυστηρά την προστασία των προσωπικών στοιχείων καταγράφοντας ανώνυμα όλα τα δεδομένα.

Για την διεξαγωγή της πάρθηκε το ιστορικό από την Μονάδα Πρόληψης της Μεσογειακής Αναιμίας που βρίσκεται στο νοσοκομείο της Άρτας. Πιο συγκεκριμένα στην καταγραφή συμμετείχαν άτομα ηλικίας 18 ετών και άνω, είτε ως ζευγάρια είτε ατομικά για προληπτικό έλεγχο. Η καταγραφή περιορίστηκε στο διάστημα 2015-2021 όπου στο τέλος του έτους 2021 η μονάδα έκλεισε και παραμένει ανενεργή.

Ο έλεγχος πρώτης γραμμής για τον εντοπισμό των φορέων μη φυσιολογικών γονιδίων της σφαιρίνης και των ζευγαριών που βρίσκονται σε κίνδυνο είναι απλός, χαμηλού κόστους και παρόμοιος σε όλες τις μονάδες πρόληψης MA της χώρας. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε πλήρης αιματολογική εξέταση, μαζί με το αποτέλεσμα από το περιφερικό επίχρισμα από το μικροσκόπιο, τα επίπεδα σιδήρου φερριτίνης, Hb και της ηλεκτροφόρησης της αιμοσφαιρίνης για όλους τους εξεταζόμενους.

Τα δείγματα που στάλθηκαν για περαιτέρω γονιδιακό έλεγχο στο Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής του Εθνικού Κέντρου Θαλασσαιμίας στο Λαϊκό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών ήταν αυτά που δεν μπορούσαν να διευκρινιστούν μόνο με τα αιματολογικά χαρακτηριστικά και τα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης από τη μονάδα.

Τα δείγματα που χαρακτηρίζονταν από τη μονάδα ως φορείς για την α ή β-MA χωρίς γονιδιακό έλεγχο ήταν εκείνα όπου ο μελλοντικός σύντροφος ήταν απών και για τον οποίον επιβαλλόταν να εξετασθεί μελλοντικά ώστε να αποκληθεί ο κίνδυνος συγκληρονόμησης των ελαττωματικών γονιδίων και γέννησης πάσχοντος παιδιού αλλά και εκείνα των οποίων ο σύντροφος παρουσίασε ευρήματα που αντιστοιχούν σε μη φορείς για α & β-MA. Τα άτομα που βρέθηκαν με ετερόζυγη δρεπανοκυτταρική αναιμία μαζί με β-MA συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη.

3.2 ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΦΟΡΕΩΝ ΚΑΙ ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ ΠΑΣΧΟΝΤΟΣ ΠΑΙΔΙΟΥ

Στην περίπτωση που ο ένας γονέας είναι ετερόζυγος για τη β-MA και ο σύντροφος του είναι υγιής, υπάρχει 50% πιθανότητα σε κάθε εγκυμοσύνη να γεννηθεί παιδί φορέας για τη β-MA.

*Για τα ζευγάρια που είναι και οι δυο ετερόζυγοι για τη β-MA, σε κάθε εγκυμοσύνη υπάρχει 25% πιθανότητα γέννησης πάσχοντος παιδιού από μείζονα μεσογειακή αναιμία, 50% πιθανότητα γέννησης παιδί φορέα για τη β-MA και 25% πιθανότητα γέννησης υγιούς παιδιού.

*Η σύνθετη ετερόζυγη δρεπανοκυτταρική αναιμία σε συνδυασμό με τη β-MA οδηγεί σε έμβρυο συμβατό με δρεπανοκυτταρική νόσο.

*Ο συνδυασμός ετερόζυγης β-MA και ετερόζυγης α-MA δεν υποδεικνύει πιθανότητα για το ζευγάρι να αποκτήσει παιδί πάσχον από μείζονα β-MA, Δρεπανοκυτταρική νόσο, βαριά αιμοσφαιρινοπάθεια Η ή εμβρυικό ύδρωπα που οφείλεται σε α-MA.

*Η ομόζυγη ήπια α-MA σε συνδυασμό με την ετερόζυγη α⁰-MA αντιστοιχεί σε κάθε εγκυμοσύνη σε 50% πιθανότητα απόκτησης παιδιού με αιμοσφαιρινοπάθεια Η.

*Η ετερόζυγη α⁺-MA σε συνδυασμό με την ετερόζυγη α⁰-MA αντιστοιχεί σε κάθε εγκυμοσύνη σε 25% πιθανότητα απόκτησης παιδιού με αιμοσφαιρινοπάθεια Η.

*Ο συνδυασμός δυο γονέων με α⁰-MA εγκυμονεί 25% πιθανότητα απόκτησης παιδιού με εμβρυικό ύδρωπα (Hb Bart's).

3.3 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΥΡΟΣ ΤΙΜΩΝ

Όλοι οι υπολογισμοί των διαφόρων αιματολογικών στοιχείων για την κατάταξή τους ως εντός ή εκτός των φυσιολογικών ορίων, έγιναν με βάση τον παρακάτω πίνακα αναφοράς του τμήματος πρόληψης στο νοσοκομείο της Άρτας.

Πίνακας 3. Φυσιολογικό εύρος τιμών των βασικών αιματολογικών στοιχείων.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΥΡΟΣ ΤΙΜΩΝ
HbA (%)	95-98 (♂ και ♀)
HbA ₂ (%)	2-3,1 (♂ και ♀)
HbF (%)	< 2 (♂ και ♀)
HbS,C ή E	Απών (♂ και ♀)
MCV (fl)	81-99 (♂ και ♀)

MCH (pg)	27,5-32 (♂ και ♀)
RBC (x10 ⁶) (M/μl)	4,5-5,5 (♂) & 3,8-5,8 (♀)
Σίδηρος (μg/dl)	65-175(♂) & 50-170 (♀)
Φερριτίνη (ng/ml)	26-388 (♂) & 8-252 (♀)
Αιματοκρίτης (%)	42-54 (♂) & 37-47 (♀)

Σύμφωνα με τις τιμές του πίνακα 3, οι υγιείς ενήλικες δεν πρέπει να έχουν καθόλου αιμοσφαιρίνη S, C ή E. Εάν ανιχνευθεί αιμοσφαιρίνη S σε μέτρια ποσοστά, το άτομο μπορεί να έχει στίγμα δρεπανοκυτταρικής αναιμίας ενώ αν τα ποσοστά της HbS είναι υψηλά, το άτομο μπορεί να έχει δρεπανοκυτταρική νόσο.

3.4 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση όλων τα στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα IBM SPSS Statistics 20 και το Excel. Χρησιμοποιήθηκαν κυρίως μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις για την περιγραφή των μεταβλητών της μελέτης και για την συσχέτιση των διαφορετικών μεταλλάξεων ανά φύλο χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία 2-tailed Pearson Correlation.

3.5 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μεθοδολογία που εφαρμόζει το Εθνικό Πρόγραμμα Πρόληψης δεν ανιχνεύει σιωπηλές ετερόζυγες μορφές θαλασσαιμίας και κάποια σπάνια αιμοσφαιρινικά κλάσματα των οποίων η συχνότητα εκτιμάται <1 % στον γενικό πληθυσμό.

Στη περίπτωση όπου στο εξεταζόμενο ζευγάρι, ο ένας παρουσίαζε φυσιολογικά εργαστηριακά ευρήματα και το άλλο άτομο πιθανότητα για ετεροζυγωτία με κάποια ήπια μετάλλαξη και εφόσον δεν διέτρεχαν κάποιον κίνδυνο το παιδί να συγκληρονομήσει κάποια γονίδια και να γεννηθεί πάσχον, η μονάδα πρόληψης δεν προχωρούσε σε διεξαγωγή μοριακού ελέγχου, σύμφωνα πάντα με το πρωτόκολλο που ακολουθούνταν από το κέντρο αναφοράς. Επομένως, κάποιες από τις ήπιες αυτές μεταλλάξεις που θα είχε μόνο ο ένας μελλοντικός γονέας, δεν έχουν καταγραφεί και επομένως περιορίζουν τη λίστα και τον αριθμό των μεταλλάξεων

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα στοιχεία που καταγράφηκαν για το κάθε άτομο με θετική γενετική ανάλυση για το παθολογικό γονίδιο των α και β σφαιρινών απεικονίζονται στον πίνακα 4 και είναι τα εξής: το φύλο, η ηλικία, τα αιματολογικά στοιχεία RBC, MCV, MCH, ο αιματοκρίτης, ο σίδηρος και η φερριτίνη.

Έχει καταγραφεί επίσης η κάθε μετάλλαξη μαζί με την εικόνα από το επίχρισμα περιφερικού αίματος και τα κλάσματα αιμοσφαιρίνης που την αντιπροσωπεύουν, τα οποία παρουσιάζονται αναλυτικά στους πίνακες που αφορούν την κάθε μετάλλαξη ξεχωριστά. Κατά τη διάρκεια των επτά ετών στα οποία περιορίστηκε η μελέτη, εξετάστηκαν σύνολο 3222 άτομα όπου ο συνολικός αριθμός για τους άντρες είναι 1255 ενώ για τις γυναίκες είναι 1967.

Πίνακας 4. Απεικόνιση μέσω τιμών και τυπικών αποκλίσεων των συνεχών και κατηγορικών μεταβλητών του συνολικού δείγματος που εξετάστηκε.

ΣΥΝΕΧΕΙΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ		
	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (SD)
Ηλικία	31,3 έτη	9,23
RBC	5.375.625 (Μ/μl)	743.989,9
MCV	71,9 (fl)	8,96
MCH	23,3 (pg)	3,9
Αιματοκρίτης	38,0 (%)	6,12
Σίδηρος	96,6 (μg/dl)	72,6
Φερριτίνη	102,9 (ng/ml)	102,5
ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ		
	ΠΟΣΟΣΤΟ (έτη)	
ΦΥΛΟ	ΑΡΡΕΝ	38,96 %
	ΘΗΛΥ	61,05 %

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 4 αλλά και τις φυσιολογικές τιμές που παρουσιάζονται στον πίνακα 3, συμπεραίνουμε ότι οι μέσες τιμές για τα στοιχεία RBC, αιματοκρίτης, σίδηρος και φερριτίνη είναι εντός των φυσιολογικών ορίων ενώ οι μέσες τιμές για τα στοιχεία MCV και MCH είναι κάτω των φυσιολογικών ορίων.

Στον πίνακα 5 φαίνονται αναλυτικά τα άτομα που εξετάστηκαν κάθε χρόνο στο διάστημα 2015-2021, τα άτομα με θετική γενετική ανάλυση για το παθολογικό γονίδιο άλφα και βήτα σφαιρίνης

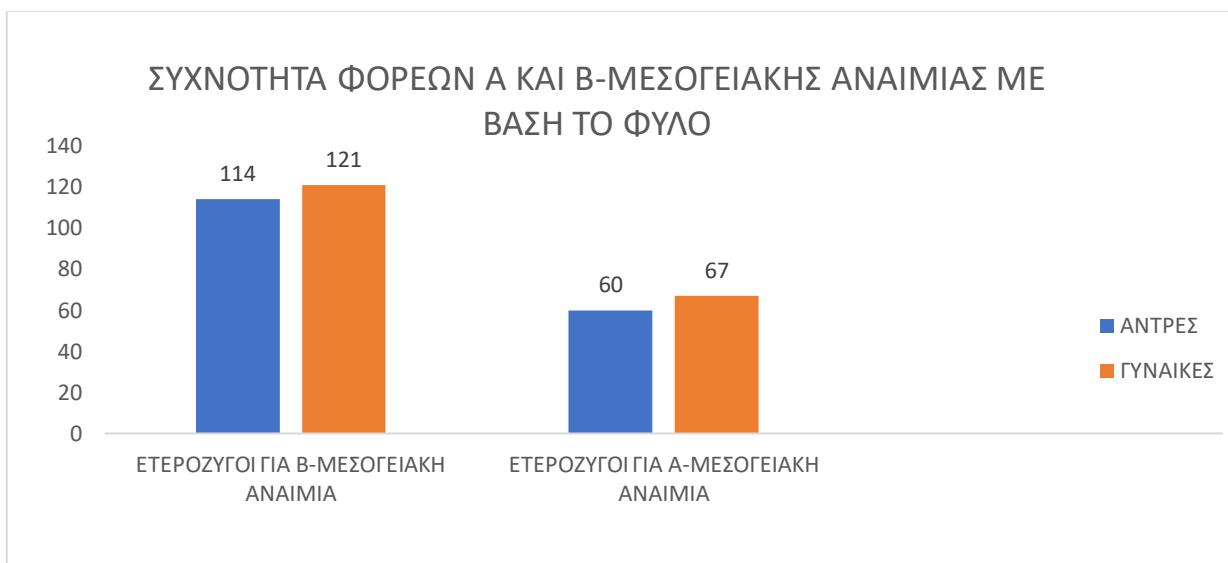
και τα άτομα που χαρακτηρίστηκαν ως φορείς χωρίς γονιδιακό έλεγχο. Τα αποτελέσματα του Πίνακα 5 παρουσιάζονται πιο αναλυτικά στα Διαγράμματα 1 και 2.

Πίνακας 5. Αναλυτική παρουσίαση των 3222 ατόμων που εξετάστηκαν κατά το χρονικό διάστημα 2015-2021

ΕΤΟΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΤΟΜΩΝ	ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕ ΘΕΤΙΚΗ ΓΟΝΟΤΥΠΗΣΗ ΓΙΑ β-ΜΑ		ΕΤΕΡΟΖΥΓΟΙ ΜΕ β-ΜΑ ΧΩΡΙΣ ΓΟΝΟΤΥΠΗΣΗ		ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕ ΘΕΤΙΚΗ ΓΟΝΟΤΥΠΗΣΗ ΓΙΑ α-ΜΑ		ΕΤΕΡΟΖΥΓΟΙ ΜΕ α-ΜΑ ΧΩΡΙΣ ΓΟΝΟΤΥΠΗΣΗ	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
2015	630	1	2	30	20	4	6	2	4
2016	365	5	6	11	10	3	5	10	12
2017	350	4	2	13	13	5	9	14	11
2018	515	3	1	11	18	4	5	1	3
2019	570	3	7	13	18	3	3	5	1
2020	405	4	3	6	9	4	2	2	3
2021	387	5	1	4	11	3	2	0	1
N	3222	26	22	88	99	26	32	34	35



Διάγραμμα 1. Από τα 3222 άτομα που εξετάστηκα συνολικά, το 88,76% ήταν απολύτως υγιείς, ακολουθούν οι ετερόζυγοι για την β-ΜΑ με άγνωστη μετάλλαξη με ποσοστό 5,80%, αμέσως μετά οι ετερόζυγοι για την α-ΜΑ άγνωστης μετάλλαξης με 2,14%, μετά οι ετερόζυγοι για την α-ΜΑ γνωστής μετάλλαξης με ποσοστό 1,80% και τέλος οι ετερόζυγοι για β-ΜΑ γνωστής μετάλλαξης με 1,49%.



Διάγραμμα 2. Διάγραμμα όπου φαίνεται οι ετερόζυγοι για τη β-ΜΑ να είναι περισσότεροι (n=235) από τους ετερόζυγους για την α-ΜΑ (n=127). Οι γυναίκες είναι αυτές που εμφανίζονται σε μεγαλύτερο ποσοστό ως φορείς και για τα δυο είδη ΜΑ συγκριτικά με τους άντρες.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 1 και 2, το 7,29% των συνολικών ατόμων (3222) του νομού που εξετάστηκαν είναι ετερόζυγοι για τη β-ΜΑ και το 3,94% είναι ετερόζυγοι για την α-ΜΑ, επιβεβαιώνοντας τη βιβλιογραφία ότι η β-ΜΑ αποτελεί τη συχνότερη μορφή έχοντας όμως και τη βαρύτερη κλινική εικόνα όπως θα αναφερθεί και στη συνέχεια.

Πίνακας 6. Συσχέτιση του φύλου με την α και β-ΜΑ.

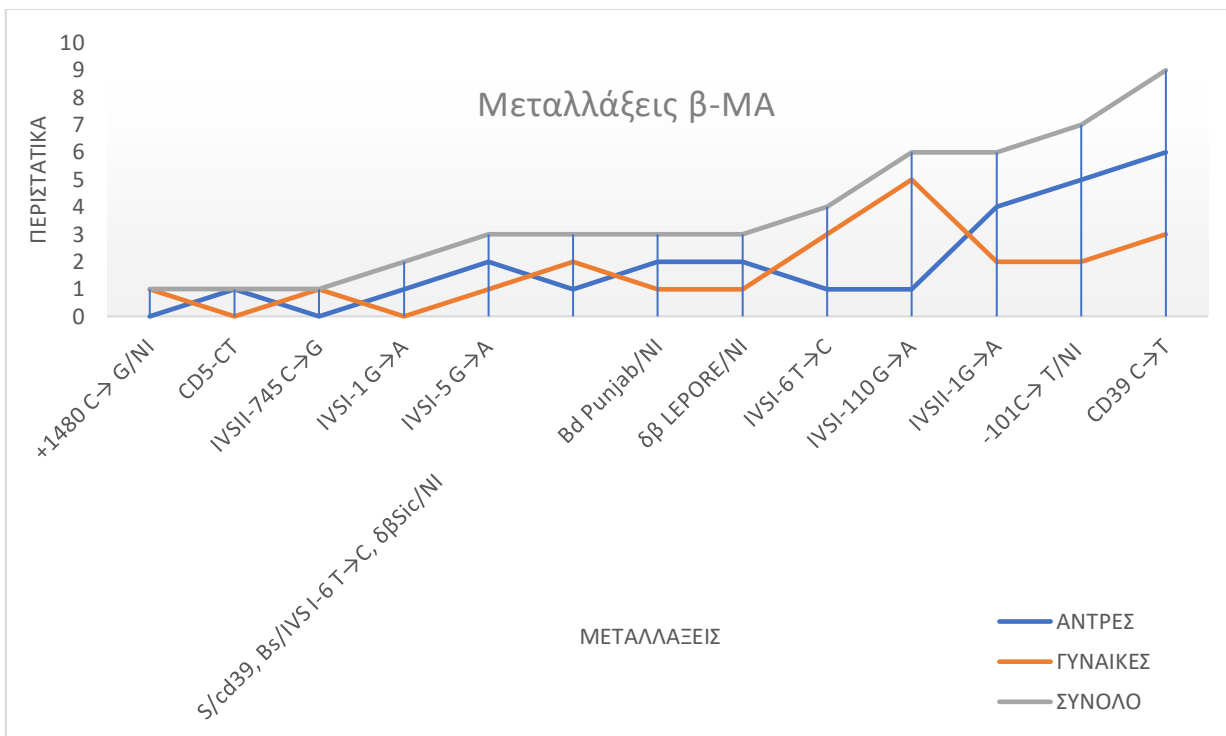
Correlations			
		SEX	MUTATION
SEX	Pearson Correlation	1	-,072
	Sig. (2-tailed)		,462
	N	106	106
MUTATION	Pearson Correlation	-,072	1
	Sig. (2-tailed)	,462	
	N	106	106

Σύμφωνα με τον πίνακα 6 και έχοντας ως αρχική υπόθεση ότι η συσχέτιση μεταξύ των δυο μεταβλητών είναι μηδενική, δεν φαίνεται να υπάρχει κάποια συσχέτιση (p=0,46) μεταξύ του φύλου και της εμφάνισης της α και β-ΜΑ.

Στον Πίνακα 7 που ακολουθεί, παρουσιάζονται οι 13 διαφορετικοί τύποι μεταλλάξεων που εμφανίστηκαν στους 48 φορείς της β-ΜΑ των οποίων τα δείγματα στάλθηκαν για γονιδιακό έλεγχο. Έχει καταγραφεί για την κάθε μετάλλαξη ο φαινότυπος (β^+ ή β^0), ο αριθμός εμφάνισης της κάθε μετάλλαξης στον αντρικό και γυναικείο πληθυσμό καθώς και η σχετική συχνότητα εμφάνισης ανάμεσα στους 48 ετερόζυγους για β-ΜΑ. Τα αποτελέσματα του πίνακα 7 παρουσιάζονται και στο διάγραμμα 3.

Πίνακας 7. Κατανομή και σχετικές συχνότητες των 13 σημειακών μεταλλάξεων των ετερόζυγων ατόμων με β-θαλασσαιμία στον νομό της Άρτας.

ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ	ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ	ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ			ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ %
		ΑΝΤΡΕΣ	ΓΥΝΑΙΚΕΣ	N	
+1480 C→G/NI	β^+	0	1	1	2,08%
-101C→T/NI	β^+	5	2	7	14,58%
CD39 C→T	β^0	6	3	9	18,75%
CD5-CT	β^0	1	0	1	2,08%
IVSI-110 G→A	β^+	1	5	6	12,50%
IVSI-1 G→A	β^0	1	0	1	2,08%
IVSI-5 G→A	β^0	2	1	3	6,25%
IVSI-6 T→C	β^+	1	3	4	8,33%
IVSII-1G→A	β^0	4	2	6	12,50%
IVSII-745 C→G	β^+	0	1	1	2,08%
S/cd39, Bs/IVS I-6 T→C, δβSic/NI (Διπλή ετεροζυγωτία δρεπανοκυτταρικής και β-ΜΑ)	HBS & β^0, β^+	1	2	3	6,25%
BdPunjab/NI	β^+	2	1	3	6,25%
δβ LEPORE/NI	β^+	2	1	3	6,25%
ΣΥΝΟΛΟ		26	22	48	



Διάγραμμα 3. Απεικόνιση της κάθε μετάλλαξης για την β-MA και των περιστατικών στα οποία αντιστοιχεί για τον αντρικό και γυναικείο πληθυσμό.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 7 και του διαγράμματος 3, η μετάλλαξη IVSI-110 G>A εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στον γυναικείο πληθυσμό του νομού της Άρτας, ενώ στον αντρικό πληθυσμό είναι η μετάλλαξη CD39 C>T. Μεταξύ των ετερόζυγων ατόμων για τη β-M, η μετάλλαξη CD39 C>T εμφανίζεται σε ποσοστό 18,75%, ακολουθεί η -101C>T σε ποσοστό 14,58% και στη συνέχεια οι IVSI-110 G>A και IVSII-1G>A σε ποσοστό 12,50%. Οι μεταλλάξεις με το μικρότερο ποσοστό εμφάνισης είναι οι : +1480 C→G/NI, CD5-CT, IVSI-1 G→A και IVSII-745 C→G (2,08%). Τα άτομα με Διπλή ετεροζυγωτία δρεπανοκυτταρικής και β-MA) βρέθηκαν σε ένα σημαντικό ποσοστό 6,25%.

Για να εξακριβωθεί αν υπάρχει κάποια συσχέτιση του φύλου και της μετάλλαξης, έγινε στατιστική ανάλυση και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 8.

Πίνακας 8. Συσχέτιση του φύλλου με το είδος της μετάλλαξης στους φορείς της β-MA.

Correlations			
		SEX	MUTATION
SEX	Pearson Correlation	1	0,033
	Sig. (2-tailed)		0,823
	Sum of Squares and Cross-products	11,979	2,896
	Covariance	0,255	0,062
	N	48	48
MUTATION	Pearson Correlation	0,033	1
	Sig. (2-tailed)	0,823	
	Sum of Squares and Cross-products	2,896	639,479
	Covariance	0,062	13,606
	N	48	48

Όπως φαίνεται και στον πίνακα 8 και έχοντας ως αρχική υπόθεση ότι η συσχέτιση μεταξύ των δυο μεταβλητών είναι μηδενική, δεν υπάρχει κάποια ένδειξη συσχέτισης ($p=0,823$) μεταξύ του φύλου και της μετάλλαξης της β-MA που εμφανίζεται.

Στον πίνακα 9 που ακολουθεί για την κάθε μετάλλαξη των φορέων της β-MA παρουσιάζονται αναλυτικά τα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης που προέκυψαν, η εικόνα από το επίχρισμα του περιφερικού αίματος από το μικροσκόπιο καθώς και οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες MCV, MCH και RBC. Έχοντας ως οδηγό τον πίνακα 3 με της φυσιολογικές τιμές της κάθε παραμέτρου, η κάθε μια έχει χαρακτηριστεί ως αυξημένη (\uparrow) - πολύ αυξημένη ($\uparrow\uparrow$), μειωμένη (\downarrow) - πολύ μειωμένη ($\downarrow\downarrow$) ή φυσιολογική (ΚΦ). Στα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης τα όρια δείχνουν την κατώτερη και την ανώτερη τιμή που καταγράφηκε.

Πίνακας 9. Απεικόνιση των 13 μεταλλάξεων της β-ΜΑ που βρέθηκαν στον νομό της Άρτας, του φαινοτύπου που προκαλεί η κάθε μια, τα κλάσματα της ΗΒΑ₂ και ΗΒF, τα στοιχεία MCV, MCH, RBC και την εικόνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων από το επίχρισμα περιφερικού αίματος.

ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ	ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ		ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	MCV	MCH	RBC
	A2	F				
+1480 C→ G/NI	ΚΦ 3,60%	-	Ελαφρά Υποχρωμία	ΚΦ	ΚΦ	↓ ή ΚΦ
-101C→ T/NI	↑ 3,7-4%	↑ 1,1-5,7%	Ελαφρά Υποχρωμία	ΚΦ	ΚΦ	ΚΦ
CD39 C→T	↑ 2-5,7%	ΚΦ 0-2%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓↓	↓↓	↑
CD5-CT	↑ 5,30%	-	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓↓	↓↓	↑
IVSI-110 G→A	↑ ή ΚΦ 2,4-5,6%	ΚΦ 0,6-1,6%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓	↓	ΚΦ
IVSI-1 G→A	↑ ή ΚΦ 2,2-5,2%	↑ 1,5-3,3%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓↓	↓↓	↑
IVSI-5 G→A	ΚΦ 2,4-3,2%	↑ 1,3-4,2%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓↓	↓↓	(↑ άντρες) ΚΦ (γυναίκες)
IVSI-6 T→C	↑ ή ΚΦ 2,4-4,3%	↑ ή ΚΦ 0-2,6%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση	ΚΦ ή ↓	ΚΦ ή ↓	↑ (άντρες) ΚΦ (γυναίκες)
IVSII-1G→A	↑ 4,6-5,6%	↑ ή ΚΦ 0-2,5%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓↓	↓↓	↑ (άντρες) ΚΦ (γυναίκες)
IVSII-745 C→G	↑ 5,20%	↑ 2,60%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓↓	↓↓	ΚΦ
S/cd39, Bs/IVS I-6 T→C, δβSic/NI (Διπλή ετεροζυγωτία δρεπανοκυτταρικής και β-ΜΑ)	↑ ή ΚΦ 2,5-5,8%	↑ 2,2-16,5%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓	↓	ΚΦ ή ↓

BdPunjab/NI	↑ 2,8-6,7%	-	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Άγνωστο κλάσμα: 37,1%	ΚΦ	ΚΦ	ΚΦ
δβ LEPORE/NI	↑↑ 13,70%	↑ 2,2-3%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓	↓	↑ ή ΚΦ

Στον πίνακα 9, σχεδόν σε όλες τις μεταλλάξεις για τα ετερόζυγα άτομα της β-MA εμφανίζεται αυξημένη ή οριακά αυξημένη (σιωπηλοί φορείς) η HbA₂. Η μετάλλαξη δβLEPORE σε ετερόζυγο άτομο που βρέθηκε στον νομό εμφανίζει τη μεγαλύτερη αύξηση της HbA₂ σε ποσοστό 13,7% καθώς επίσης και ένα άγνωστο κλάσμα στο 37,1%. Σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις οι δείκτες MCV και MCH είναι χαμηλοί ενώ ο δείκτης RBC είναι αυξημένος. Οι φορείς της β-MA που εμφανίζουν πλήρη απουσία παραγωγής της β αλυσίδας (β⁰) έχουν πιο σύνθετη και βαριά αιματολογική εικόνα, κάτι το οποίο φαίνεται και στις μεταλλάξεις CD39C>T, CD5(-CT), IVSI-1G>A, IVSI-5G>A και IVSII-1G>A.

Από την άλλη πλευρά, οι φορείς της δβ-MA εμφανίζουν αξιοσημείωτη αύξηση της HbF (>5%) και ελαφρώς αυξημένα επίπεδα HbA₂, συμφωνώντας με την βιβλιογραφία.

Πέρα από τις μεταλλάξεις β⁺ που αντιστοιχούν σε σιωπηλούς φορείς και παρουσιάζουν μια ελαφριά υποχρωμία, σχεδόν σε όλες τις υπόλοιπες παρατηρούνται: υποχρωμία, ανισοκυττάρωση, ποικιλοκυττάρωση και βασεόφιλη στίξη.

Στον πίνακα 10 που παρουσιάζεται παρακάτω, φαίνονται οι 9 διαφορετικές μεταλλάξεις μεταξύ των 58 ετερόζυγων και ομόζυγων ατόμων με α-MA στον αντρικό και γυναικείο πληθυσμό καθώς και η σχετική συχνότητα εμφάνισης ανάμεσα τους.

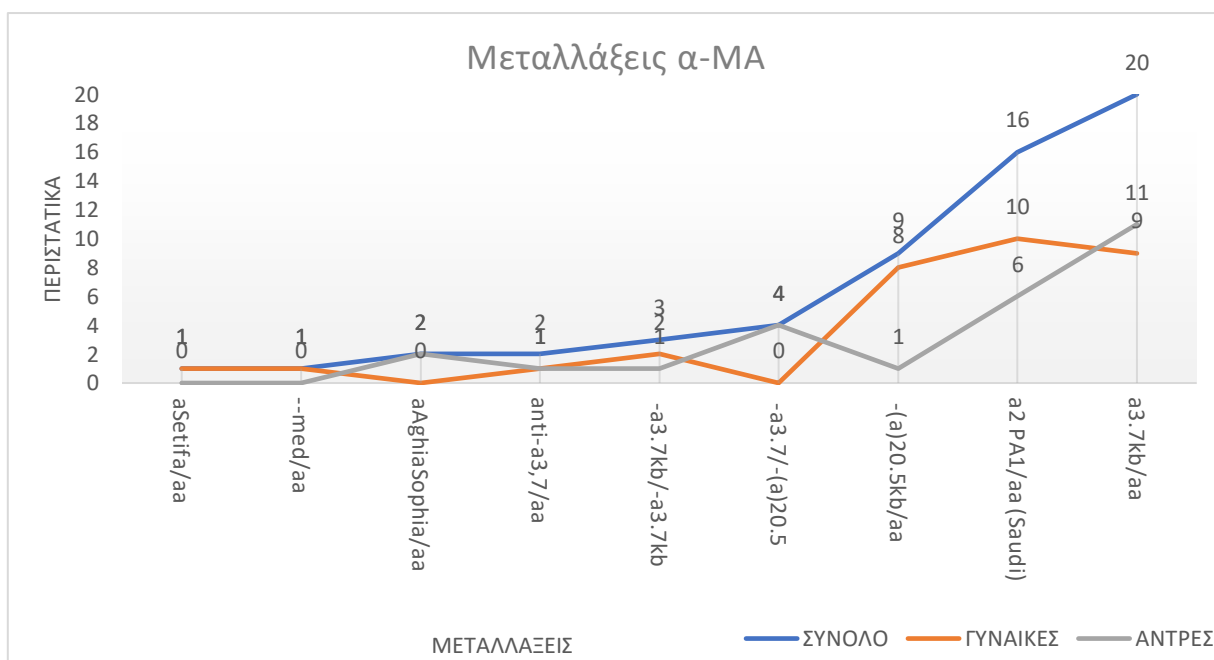
Πίνακας 10. Κατανομή και σχετικές συχνότητες των μεταλλάξεων των ετερόζυγων - ομόζυγων ατόμων με α-θαλασσαιμία στον νομό της Άρτας.

ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ	ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ			ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ %
	ΑΝΤΡΕΣ	ΓΥΝΑΙΚΕΣ	N	
-a3.7kb/-a3.7kb (Ηπια ομόζυγη α-MA)	1	2	3	5,17%
a3.7kb/aa (Ήπια ετερόζυγη α-MA, Σιωπηλός φορέας)	11	9	20	34,48%
-(a)20.5kb/aa (Ετερόζυγη α- MA)	1	8	9	15,52%
-a3.7/- (a)20.5 (Ηπια αιμοσφαιρινοπάθεια Η)	4	0	4	6,90%
a2 PA1/aa (Saudi)	6	10	16	27,59%
aAghiaSophia/aa	2	0	2	3,45%
anti-a3.7/aa [triple (aaa) σε διπλή ετεροζυγωτία]	1	1	2	3,45%
aSetifa/aa	0	1	1	1,72%
--med/aa	0	1	1	1,72%
ΣΥΝΟΛΟ:	26	32	58	

Μεταξύ των συγκεκριμένων ατόμων, η ήπια ετερόζυγη α-MA (σιωπηλός φορέας) **a3.7kb/aa**, εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό συγκριτικά με τις υπόλοιπες. Στη δεύτερη θέση εμφανίζεται η μετάλλαξη **a2 PA1/aa (Saudi)** ακολουθώντας η ετερόζυγη α-MA **-(a)20.5kb/aa** ενώ οι μεταλλάξεις με τη μικρότερη συχνότητα εμφάνισης είναι η aSetifa/aa και η med/aa.

Τα αποτελέσματα του πίνακα 10 παρουσιάζονται πιο αναλυτικά στο διάγραμμα 4 όπου φαίνεται πως η μετάλλαξη **a3.7kb/aa** εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στους άντρες ενώ η **a2PA1/aa(Saudi)** εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στις γυναίκες. Στο σύνολο εμφανίζεται

πρώτη η **a3.7kb/aa** (34,48%) ακολουθώντας δεύτερη η **a2PA1/aa(Saudi)** με ποσοστό 27,59%, επιβεβαιώνοντας τη βιβλιογραφία ότι οι πιο κοινές μεταλλάξεις της α-θλασσαιμίας στον κόσμο είναι τα 3.7 μονογονιδιακά ελλείματα [Karakas et al.,2015]. Οι μεταλλάξεις με τη μικρότερη συχνότητα εμφάνισης είναι η aSetifa/aa και η med/aa.



Διάγραμμα 4. Απεικόνιση της κάθε μετάλλαξης για την α-MA και των περιστατικών στα οποία αντιστοιχεί για τον αντρικό και γυναικείο πληθυσμό.

Για να φανεί εάν υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ φύλου και των διαφορετικών ειδών α-MA που εμφανίζονται στους ετερόζυγους, έγινε στατιστική ανάλυση των δυο αυτών παραγόντων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 11.

Πίνακας 11. Συσχέτιση φύλου με το είδος της μετάλλαξης που εμφανίζεται στους φορείς της α-MA.

Correlations			
		SEX	MUTATION
SEX	PearsonCorrelation	1	0,052
	Sig. (2-tailed)		0,701
	N	58	58
MUTATION	PearsonCorrelation	0,052	1
	Sig. (2-tailed)	0,701	
	N	58	58

Όπως φαίνεται και στον πίνακα 11 και έχοντας ως αρχική υπόθεση ότι η συσχέτιση μεταξύ των δυο μεταβλητών είναι μηδενική, δεν υπάρχει κάποια ένδειξη συσχέτισης ($p=0,701$) μεταξύ φύλου και μετάλλαξης για την α-MA.

Στον πίνακα 12 παρουσιάζονται τα αιματολογικά χαρακτηριστικά για τις 9 διαφορετικές μεταλλάξεις μεταξύ ομόζυγων και ετερόζυγων ατόμων για την α-MA. Και εδώ, όπως και στη περίπτωση της β-MA, παρουσιάζονται αναλυτικά τα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης που προέκυψαν, η εικόνα από το επίχρισμα του περιφερικού αίματος από το μικροσκόπιο καθώς και οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες MCV, MCH και RBC. Έχοντας πάλι ως οδηγό τον πίνακα 3 με της φυσιολογικές τιμές της κάθε παραμέτρου, η κάθε μια έχει χαρακτηριστεί ως αυξημένη (\uparrow) - πολύ αυξημένη ($\uparrow\uparrow$), μειωμένη (\downarrow) - πολύ μειωμένη ($\downarrow\downarrow$) ή φυσιολογική (ΚΦ). Στα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης τα όρια δείχνουν την κατώτερη και την ανώτερη τιμή που καταγράφηκε.

Πίνακας 12. Απεικόνιση των 9 ειδών μεταλλάξεων της α-MA που βρέθηκαν στον νομό της Άρτας, τα κλάσματα της HBA₂ και HBF που εμφανίζονται στην κάθε περίπτωση, τα στοιχεία MCV, MCH, RBC και την εικόνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων από το επίχρισμα περιφερικού αίματος. ΚΦ: κανονικό φυσιολογικό

ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ	ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ		ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	MCV	MCH	RBC
	A2	F				
-a3.7kb/-a3.7kb (Ήπια ομόζυγη α-MA)	ΚΦ 2,3-2,6%	ΚΦ 0-1,1%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση	\downarrow	\downarrow	\uparrow (άντρες) ΚΦ(γυναίκες)

a3.7kb/aa (Ηπια ετερόζυγη α-MA - Σιωπηλός φορέας)	↓ ή ΚΦ 1,7-2,7%	ΚΦ 0,6-1,6%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Μικροκυττάρωση	↓ ή ΚΦ	↓ ή ΚΦ	↑ (άντρες) ΚΦ(γυναίκες)
-(a)20.5kb/aa (Ετερόζυγη α- MA)	↓ 0,9-2,6%	↑ 0,5-13,1%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓	↓	↑ (άντρες) ΚΦ(γυναίκες)
-a3.7/-(a)20.5 (Ήπια αιμοσφαιρινοπά θεια Η)	↓↓ 0,6-1%	↑ 5,6-6,5%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση Βασεόφιλη στίξη	↓↓	↓↓	↑
a2 PA1/aa (Saudi)	ΚΦ 2,2-2,9%	ΚΦ 0,5-0,8%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση	↓	↓	↑ (άντρες) ΚΦ(γυναίκες)
aAghiaSophia/aa	↓ ή ΚΦ 1,2-2,8%	ΚΦ 0-1,2%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση	↓	↓	ΚΦ ή ελαφρώς ↑
anti-a3.7/aa	ΚΦ 2,8-3%	ΚΦ 0,5-1,2%	Βασεόφιλη στίξη	ΚΦ	ΚΦ	ΚΦ
aSetifa/aa	↓↓ 0,9%	ΚΦ 0,90%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Άγνωστο κλάσμα: 15,7%	ΚΦ	ΚΦ	ΚΦ
--med/aa	ΚΦ 2,30%	ΚΦ 0,70%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση	↓↓	↓↓	↑

Όπως είναι αναμενόμενο, στην α-MA, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις του Πίνακα 12 εμφανίζεται χαμηλή η HbA₂ όπως και οι δείκτες MCV και MCH. Στην ήπια αιμοσφαιρινοπάθεια Η εμφανίζονται οι χαμηλότεροι δείκτες MCV και MCH, τα χαμηλότερα ποσοστά στην HbA₂ αλλά και αυξημένος ο RBC. Ημετάλλαξη aSetifa/aa παρουσιάζει και αυτή το μικρότερο ποσοστό (0,9%) της HbA₂ και ένα άγνωστο κλάσμα στο 15,7%. Ο δείκτης RBC είναι φυσιολογικός, πέρα από την αιμοσφαιρινοπάθεια Η και την med/aa, σε όλες τις γυναίκες και ελαφρώς αυξημένος στους άντρες. Το επίχρισμα περιφερικού αίματος χαρακτηρίζεται στο σύνολο από υποχρωμία, ανισοκυττάρωση και ποικιλοκυττάρωση .

Στον πίνακα 13 που ακολουθεί, έχουν καταγραφεί τα σύνθετα ετερόζυγα άτομα για τη β και α-ΜΑ. Φαίνονται τα περιστατικά στα οποία εμφανίστηκαν, τα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης, τα αποτελέσματα από το επίχρισμα του περιφερικού αίματος καθώς και οι δείκτες MCV, MCH και RBC. Και σε αυτή τη περίπτωση έχει χαρακτηριστεί η κάθε παράμετρος ως αυξημένη (↑) - πολύ αυξημένη (↑↑), μειωμένη (↓) - πολύ μειωμένη (↓↓) ή φυσιολογική (ΚΦ). Στα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης τα όρια δείχνουν την κατώτερη και την ανώτερη τιμή που καταγράφηκε ενώ υπάρχει (-) στα σημεία όπου δεν υπήρχε καθόλου κλάσμα αιμοσφαιρίνης.

Πίνακας 13. Απεικόνιση των 6 διαφορετικών συνδυασμών σύνθετων ετερόζυγων α και β-ΜΑ που βρέθηκαν στον νομό της Άρτας μαζί με τα κλάσματα της αιμοσφαιρίνης, το επίχρισμα του περιφερικού αίματος και τους δείκτες MCV, MCH και RBC.

ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ	ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ	ΚΛΑΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ			ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ	MCV	MCH	RBC
		A2	F	S				
-α3.7kb/αα & IVSI-110 G>A/NI	1	3,10%	-	-	Ανισοκυττάρωση Βασεόφιλη Στίξη	↓	↓	↑
-α3.7kb/αα & Bs/NI	2	↑ 3,2 - 6,4%	1,50 %	↑↑ 32,2%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση	↓	↓	ΚΦ
antia3.7kb/-α20.5kb & IVSI-110 G>A/NI	1	↑ 5,9%	1,90 %	-	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ελιπτοκυττάρωση	↓	↓	ΚΦ
-α3.7kb/-α20.5kb & Bs/NI	1	-	2,10 %	↑↑ 18%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση	↓	↓	↑
-(α)20.5kb/αα & Bs/NI	1	↑ 3,6%	-	↑↑ 23,7%	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση	↓	↓	↑
aAgrinio a/αα & IVSI-110 G>A/NI	1	↑ 5%	-	-	Υποχρωμία Ανισοκυττάρωση Ποικιλοκυττάρωση	↓	↓	ΚΦ

Τα άτομα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 13 είναι φορείς κάποιας μετάλλαξης τόσο της άλφα όσο και της βήτα Μεσογειακής αναιμίας. Παρουσιάζουν αιματολογική εικόνα ανάλογη της

κάθε μετάλλαξης που είναι πιο βαριά. Οι τρεις περιπτώσεις που είναι ετερόζυγοι α-MA και δρεπανοκυτταρικής νόσου παρουσιάζουν αυξημένα ποσοστά της HBS αλλά και αυξημένο δείκτη RBC σε σχέση με τους υπόλοιπους.

Ο συνδυασμός ετερόζυγης β-MA και ετερόζυγης α-MA όπου εμφανίζεται 3 φορές, δεν υποδεικνύει πιθανότητα για το ζευγάρι να αποκτήσει παιδί πάσχον από Μείζονα β-MA, Δρεπανοκυτταρική νόσο, βαριά αιμοσφαιρινοπάθεια H ή εμβρυικό ύδρωπα που οφείλεται σε α-MA.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα το οποίο ανιχνεύθηκε πρώτη φορά στον νομό είναι η ύπαρξη του τριπλασιασμένου α γονιδίου (anti3.7kb) . Η μετάλλαξη αυτή παρουσιάστηκε σε άτομο που ήταν ετερόζυγος για τη β-MA (IVSI-110G>A), σύνθετος ετερόζυγος για την α-MA (-a20.5kb) και του τριπλασιασμένου α γονιδίου (anti 3.7kb) όπως φαίνεται στον πίνακα 13, ενώ η σύντροφος του ήταν ετερόζυγη για το τριπλασιασμένο α γονίδιο (anti-a3.7/aa) όπως φαίνεται και στον πίνακα 12. Η εύρεση του γονότυπου της συντρόφου βασίστηκε στο μοναδικό εύρημα της βασεόφιλης στίξης καθώς όλα τα υπόλοιπα αιματολογικά ευρήματα ήταν απολύτως φυσιολογικά. Το συγκεκριμένο ζευγάρι έλαβε γενετική συμβουλευτική και γέννησε ένα παιδί σύνθετο ετεροζυγώτη, δηλαδή αιμοσφαιρινοπάθεια H (a3.7/-a20.5kb), ένα παιδί ετεροζυγώτη για τη β-MA και ετεροζυγώτη για την α-MA (IVSI-110G>A/NI & -a20.5kb/aa) αλλά και ένα τρίτο παιδί ετεροζυγώτη για το τριπλασιασμένο α γονίδιο (anti-a3.7/aa).

ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΚΥΗΣΕΩΣ

Κατά τη χρονολογία 2015-2021 υπήρξαν 2 διακοπές κύησης ύστερα από τη γενετική συμβουλευτική των ζευγαριών. Στην μια περίπτωση ο πατέρας ήταν ετερόζυγος για τη β-MA και η μητέρα ετερόζυγη δρεπανοκυτταρικής αναιμίας οδηγώντας σε έμβρυο με σύνθετη ετερόζυγη δρεπανοκυτταρική αναιμία και β-MA (Bs/IVS I-6 T>C), σύμφωνα με τα αποτελέσματα του προγεννητικού ελέγχου. Στην άλλη περίπτωση η μητέρα ήταν ετερόζυγη για τη β-MA (IVSII-745 C>G/NI) και ο πατέρας επίσης ετερόζυγος για τη β-MA (IVSII-1G>A/NI), γεγονός όπου υπήρχε 25% πιθανότητα σε κάθε εγκυμοσύνη το έμβρυο να συγκληρονομήσει τις μεταλλάξεις των γονιδίων της β-σφαιρίνης και των δυο γονέων (συνδυασμός συμβατός με Μείζονα β-Μεσογειακή Αναιμία).

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΥ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Γενικά, μετά την απογραφή του έτους 2021 ο πληθυσμός του νομού της Άρτας ανέρχεται στους 63.927 κατοίκους. Γνωρίζοντας ότι 3222 άτομα εξετάστηκαν στη μονάδα πρόληψης, ο επιπολασμός περιόδου (2015-2021) για τους φορείς της α- και β-ΜΑ είναι ο εξής:

$$P_{\beta\text{-ΜΑ}} = 230/3222 = 0,07 = \mathbf{7,14\%}$$

$$P_{\alpha\text{-ΜΑ}} = 121/3222 = 0,0376 = \mathbf{3,76\%}$$

$$P_{\text{ΜΑ}} = 230 + 121/3222 = 0,109 = \mathbf{10,9\%}$$

Έχοντας υπόψιν ότι στην Ελλάδα ο επιπολασμός των φορέων Μεσογειακής Αναιμίας (ετερόζυγη ή ελάσσονα Θαλασσαιμία) είναι 70 ανά 1.000 άτομα γενικού πληθυσμού (7%), ο νομός της Άρτας βλέπουμε ότι δεν απέχει πολύ από το συγκεκριμένο.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τα ευρήματα της εργασίας, συμπεραίνουμε ότι οι φορείς της α -και β -MA συνυπάρχουν μαζί με τον υγιή πληθυσμό του νομού της Άρτας σε αξιοσημείωτο ποσοστό. Θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι ο συγκεκριμένος νομός αποτελεί μικρογραφία της χώρας καθώς ο επιπολασμός των φορέων της Μεσογειακής Αναιμίας δεν απέχει από τον εθνικό επιπολασμό. Παρόλη την ανισότητα μεταξύ του ποσοστού των φορέων της α - και β -MA, δεν φαίνεται να υπάρχει κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση του φύλου με την κάθε μετάλλαξη και στις δυο περιπτώσεις. Η έλλειψη αυτή συσχέτισης αν και θα μπορούσε να είναι ψευδώς αρνητική λόγω του μικρού μεγέθους δείγματος που αναλύθηκε, δεν έχει κάποια επιβεβαίωση από τη βιβλιογραφία. Επιπλέον, τα εργαστηριακά ευρήματα που παρατηρήθηκαν για την κάθε μετάλλαξη, επιβεβαιώνουν όλα όσα γνωρίζαμε ήδη από τη βιβλιογραφία.

Γενικά, η β -MA (όπως και οι φορείς της) είναι η πιο κοινή γενετική διαταραχή στην Ελλάδα όπως και σε πολλές Μεσογειακές και Βαλκανικές χώρες, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται και με τα δικά μας ευρήματα καθώς οι φορείς β -MA είναι σχεδόν διπλάσιοι της α -MA. Ακόμα, ανάμεσα σε όλες τις μεταλλάξεις της α -MA που καταγράφηκαν, η ύπαρξη του τριπλασιασμένου α -γονιδίου (anti 3.7kb) σε άτομο ετερόζυγο για τη β -MA και σύνθετο ετερόζυγο για την α -MA, αναφέρθηκε για πρώτη φορά στον νομό. Πλέον το τριπλασιασμένο αυτό α -γονίδιο υπάρχει σε δυο από τα παιδιά του οι οποίοι διατρέχουν μεγάλο κίνδυνο να το μεταβιβάσουν και στους απογόνους τους και για αυτόν τον λόγο θα χρειαστεί στο μέλλον ο έλεγχος των συντρόφων τους από τα προγράμματα πρόληψης.

Είναι γενικά παγκοσμίως αποδεκτό ότι τα προγράμματα πρόληψης λειτουργούν αποτελεσματικά σε χώρες με υψηλή συχνότητα των μεταλλάξεων της αιμοσφαιρίνης και κρίνεται αναγκαίος ο προγεννητικός έλεγχος όλων των ζευγαριών. Όπως ισχύει και σε όλες τις περιπτώσεις των γενετικών παθήσεων, η γενετική συμβουλευτική των γονέων με πιθανό κίνδυνο να φέρουν στον κόσμο ένα πάσχον παιδί από Μεσογειακή Αναιμία, απαιτεί εξαιρετική ευαισθησία. Μέσω της γενετικής συμβουλευτικής, πραγματοποιήθηκε μια διακοπή κήσεως που θα οδηγούσε σε έμβρυο με σύνθετη ετερόζυγη δρεπανοκυτταρική αναιμία και β -MA αλλά και μια διακοπή δίδυμης κήσης καθώς οι γονείς ήταν και οι δυο φορείς της MA.

Παρόλη την επιτυχία των επεμβατικών μεθόδων της προγεννητικής διάγνωσης για τις θαλασσαιμίες και αιμοσφαιρινοπάθειες, καθώς και των λιγότερο επεμβατικών μεθόδων (εμβρυικό DNA μητρικού πλάσματος, εμβρυικά κύτταρα στην μητρική κυκλοφορία), η

ευαισθητοποίηση των ομάδων του πληθυσμού, ειδικά εκείνων που βρίσκονται σε κίνδυνο, κρίνεται απαραίτητη.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ.* 2001;79(8):704-712, 847-849
2. Williams TN, Weatherall DJ (2012) World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2(9):a011692. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011692>
3. C. Tegos, A. Voutsadakis, N. Paleologou, et al., The incidence and distribution of thalasseмии in Greece (a study on 64.814 recruits), *Hell. Armed Forces Med. Rev.* 21 (1987) 27–36.
4. Muncie HL Jr, Campbell J. Alpha and beta thalassemia. *Am Fam Physician.* 2009;80(4):339-44.
5. Cooley TB, Lee P. Series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. *Tr Am Pediatr Soc.* 1925;37:19. 14.
6. Aguilar Martinez P, Angastiniotis M, Eleftheriou A, Gulbis B, Manu Pereira Mdel M, Petrova-Benedict R, Corrons JL (2014) Haemoglobinopathies in Europe: health & migration policy perspectives. *Orphanet J Rare Dis* 9:97. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-9-97>
7. Cappellini M-D, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A, Taher A. Επιμέλεια : Συντακτική Ομάδα του Ελληνικού Περιοδικού για την Θαλασσαιμία και τη Δρεπανοκυτταρική νόσο. Εκδ., Πλέτσας Κ, Κάρδαρη Ζ, ΟΕ, Αθήνα, 2010.
8. Mostafa H. Ahmed, Mohini S. Ghatge, Martin K. Safo, Hemoglobin: Structure, Function and Allostery, *Subcell Biochem.* 2020 ; 94: 345–382. doi:10.1007/978-3-030-41769-7_14
9. Richardson M. Microcytic anemia [published corrections appear in *Pediatr Rev.* 2007;28(4):151, and *Pediatr Rev.* 2007;28(7):275]. *Pediatr Rev.* 2007;28(1):5-14
10. Samaneh Farashi, Cornelis L. Harteveld, Molecular basis of α -thalassemia, *Blood Cells, Molecules and Diseases* 70 (2018) 43-53.

11. D.J. Weatherall, J.B. Clegg, *The Thalassemia Syndromes*, 4th ed., (2001) Ref Type: Generic).
12. Saxena R, Banerjee T, Aniyery RB. Thalassemia and its Management during Pregnancy. *World J Anemia* 2017;1(1):5-17.
13. M.H. Steinberg, B.G. Forget, D.R. Higgs, R.L. Nagel, *Disorders of hemoglobin*, 2nd ed., Genetics, Pathophysiology and Clinical Management, 2009 (Ref Type: Generic)
14. Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia. *N. Engl. J. Med.* 2005;353(11):1135–1146.
15. . Olivieri NF. The beta-thalassemias [published correction appears in *N Engl J Med.* 1999;341(18):1407]. *N Engl J Med.* 1999;341(2):99-109
16. Cohen AR, Galanello R, Pennell DJ, Cunningham MJ, Vichinsky E. Thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2004:14-34.
17. Marengo-Rowe AJ. The thalassemias and related disorders. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*2007 Jan;20(1):27-31
18. Mentzer WC Jr. Differentiation of iron deficiency from thalassaemia trait. *Lancet.* 1973;1(7808):882
19. Flynn MM, Reppun TS, Bhagavan NV. Limitations of red blood cell distribution width (RDW) in evaluation of microcytosis. *Am J Clin Pathol.* 1986;85(4):445-449
20. Guyatt GH, Oxman AD, Ali M, Willan A, McIlroy W, Patterson C. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview [published correction appears in *J Gen Intern Med.* 1992;7(4):423]. *J Gen Intern Med.* 1992;7(2):145-153
21. Olivieri NF. The beta-thalassemias [published correction appears in *N Engl J Med.* 1999;341(18):1407]. *N Engl J Med.* 1999;341(2):99-109.
22. Galanello R, Melis MA, Ruggeri R, et al. Beta 0 thalassemia trait in Sardinia. *Hemoglobin* 1979;3:33–46.
23. Raffaella Origa. B-Thalassemia. *Genet Med* 2017 Jun;19(6):609-619

24. Zeynep Karakaş, Begüm Koç, Sonay Temurhan, Tuğba Elgün, Serap Karaman,1 Gamze Asker, Genco Gençay, Çetin Timur, Zeynep Yıldız Yıldırım, Tiraje Celkan, Ömer Devecioğlu, Filiz Aydın, Evaluation of Alpha-Thalassemia Mutations in Cases with Hypochromic Microcytic Anemia: The İstanbul Perspective, Turk J Haematol. 2015 Dec; 32(4): 344–350.
25. Marina Boussiou, Photini Karababa, Klio Sinopoulou, Panagiotis Tsaftaridis, Eleni Plata, Aphrodite Loutradi-Anagnostou, The molecular heterogeneity of β -thalassemia in Greece, Blood Cells, Molecules, and Diseases 40 (2008) 317–319
26. Ersi Voskaridou, Antonis Kattamis, Christina Fragodimitri, Alexandra Kourakli, Panagiota Chalkia, Michael Diamantidis, Efthymia Vlachaki, Marouso Drosou, Stilianos Lafioniatis Konstantinos Maragkos, Fotini Petropoulou, Eftihios Eftihiadis, Marina Economou, Evangelos Klironomos, Freideriki Koutsouka, Konstantina Nestora, Ioanna Tzoumari, Ourania Papageorgiou, Artemis Basileiadi, Ioannis Lafiatis, Efthymia Dimitriadou, Anastasia Kalpaka, Chrysoula Kalkana, Georgios Xanthopoulidis, Ioannis Adamopoulos, Panagiotis Kaiafas, Aikaterini Mpitziou, Anastasia Goula, Ioannis Kontonis, Chrisoula Alepi, Athanasios Anastasiadis, Margarita Papadopoulou, Polixeni Maili, Dionisia Dionisopoulou, Antigoni Tsirka, Alexandros Makis, Stavroula Kostaridou, Marianna Politou, Ioannis Papassotiriou, National registry of hemoglobinopathies in Greece: updated demographics, current trends in affected births, and causes of mortality, 2019, Annals of Hematology 98(9)
27. Loukopoulos D. Haemoglobinopathies in Greece: prevention program over the past 35 years. Indian J Med Res. 2011; 134(4): 572–576.
28. George Vassilopoulos, Ioannis Papassotiriou, Ersi Voskaridou, Alexandra Stamoulakatou, Evangelos Premetis, Jean Kister, Michael Marden, Nathalie Griffon, Claude Poyart, Henri Wajcman, Frederic Galacteros and Dimitris Loukopoulos, Hb Arta [p45 (CD4) Phe-Cys]: A new unstable haemoglobin with reduced oxygen affinity in trans with α -thalassaemia, British Journal of Haematology. 1995, 91. 595-601

29. Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia. *N Engl J Med*. 2005;353(11): 1135-1146
30. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2010; 5: 11.
31. World Health Organization (WHO). Global epidemiology of hemoglobin disorders and derived service indicators. Available from: <https://www.who.int/bulletin/volumes/86/6/06-036673/en/>. Accessed 11 January 2020.
32. Loutradi-Anagnostou A. Prevention of thalassaemia in Greece: 25 year experience. The 8th International Conference on Thalassaemia and Haemoglobinopathies, held in Athens, Greece, October 18-21, 2001. Abstract Book: 16–18.
33. Maria Samara, Ioanna Chiotoglou, Angelos Kalamaras, Sophia Likousi, Christos Chassanidis, Andromahi Vagena, Christos Vagenas, Eftichios Eftichiadis, Nikolaos Vamvakopoulos, George P. Patrinos, Panagoula Kollia. Large-scale population genetic analysis for hemoglobinopathies reveals different mutation spectra in central Greece compared to the rest of the country. *Am J Hematol*. 2007;82(7):634–636.
34. Boussiou Marina, Photini Karababa, Klio Sinopoulou, Panagiotis Tsafaridis, Eleni Plata, Aphrodite Loutradi-Anagnostou. The molecular heterogeneity of b-thalassemia in Greece. *Blood Cells Mol Dis*. 2008;40(3):317–319.
35. Stamatia Theodoridou, Nikolaos Prapas, Angeliki Balassopoulou, Effrossyni Boutou, Timoleon-Achilleas Vyzantiadis, Despoina Adamidou, Evangelia-Eleni Delaki, Eleni Yfanti, Marina Economou, Aikaterini Teli, Olga Karakasidou, Evangelia Skatharoudi, Theodoros Theodoridis & Ersi Voskaridou (2018): Efficacy of the National Thalassaemia and Sickle Cell Disease Prevention Programme in Northern Greece: 15-Year Experience, Practice and Policy Gaps for Natives and Migrants, *Hemoglobin*, Volume 42, issue 4.
36. Κουτελέκος Ι. Παράγοντες που σχετίζονται με ψυχιατρικές διαταραχές ατόμων με μεσογειακή αναιμία. *Το Βήμα του Ασκληπιού*. 2013;12(2):167- 174

37. Richard Treisman, Stuard H. Orkin, Tom Maniatis, Specific transcription and RNA splicing defects in five cloned β -Thalassemia genes, *Nature* vol.302,1983
38. Thein SL. The molecular basis of β -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* v.3(5); 2013 May
39. Faten Moassas, Mohamad Sayah Nweder and Hossam Murad, Hb Knossos (HBB: c.82G > T), [beta]-globin CD 5 (-CT) (HBB: c.17_18delCT) and [delta]-globin CD 59 (-a) (HBD: c.179delA) mutations in a Syrian patient with [beta]-thalassemia intermedia, 2019, *Pediatrics*(Vol. 19, Issue1).
40. Petros Patsali, Giandomenico Turchiano, Panayiota Papasavva, Marianna Romito, Constantinos C. Loucari, Coralea Stephanou, Soteroulla Christou, Maria Sitarou, Claudio Mussolino, Tatjana I. Cornu, Michael N. Antoniou, Carsten W. Lederer, Toni Cathomen, Marina Kleanthous, Correction of IVS I-110(G>A) β -thalassemia by CRISPR/Cas-and TALEN-mediated disruption of aberrant regulatory elements in human hematopoietic stem and progenitor cells, *Haematologica*, Vol. 104 No. 11 (2019)
41. Signor SA, Nuzhdin SV. The Evolution of Gene Expression in cis and trans. *Trends Genet.* 2018 Jul;34(7):532-544.
42. S. Murru, M.C. Pischedda, A. Cao, M.C. Rosatelli, M. Pirastu, G.V. Sciarratta, I. Manca, D. Gallisai, C. Toffoli, A Promoter Mutation Of The B-Globin Gene (-101 C \rightarrow T) Has An Age-Related Expression Pattern, *Blood*, Volume 81, Issue 10, 1993, Pages 2818-2819
43. Willian R. Gomes, Raquel A. Santos, Juçara G. Cominal, Cristiane F. F. Tavares, Frequencies of CD39, IVS1-1, IVS1-6 and IVS1-110 mutations in beta-thalassemia carriers and their influence on hematimetric indices, *J Bras Patol Med Lab*, v. 53, n. 6, p. 362-367, December 2017
44. Rooks H, Bergounioux J, Game L, et al. Heterogeneity of the epsilon gamma delta beta-thalassaemias: characterization of three novel English deletions. *Br J Haematol.* 2005; 128:722-729.

45. Kattamis C, Hu H, Cheng G, et al. Molecular characterization of beta-thalassaemia in 174 Greek patients with thalassaemia major. *Br J Haematol.* 1990; 74:342-6.
46. George V.Z. Dedoussis, Klio Sinopoulou, Marilena Gyparaki, and Aphrodit Loutradis Fetal Hemoglobin Expression in the Compound Heterozygous State for -117 (G→A) Ag HPFH and IVSII-745 (C→G) b+ Thalassaemia: A Case Study, *American Journal of Hematology* 61:139–143 (1999)
47. S. Fucharoen, Y. Changtrakun, S. Surapot, G. Fucharoen, K. Sanchaisuriya, Molecular characterization of Hb D-Punjab β 121(GH4)Glu→Gln in Thailand, *Hemoglobin*, 26 (3) (2002), pp. 261-269
48. Nader Rifai, Hemoglobin, Iron, Bilirubin, PhD in Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 2018
- 49.** Weatherall DJ, Clegg JB. *The Thalassaemia Syndromes.* 4th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 2001.
50. Walker HK, Hall WD, Hurst JW, *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations.* 3rd edition, Boston: Butterworths; 1990
51. Κατρίου Δ., Κρεμενόπουλος Γ., Παντελιάδης Χ., Γενετικά νοσήματα. Γενετική καθοδήγηση. Παιδιατρική β' έκδοση. Κεφάλαιο 6. Σελ.64-71. Εκδόσεις Γιαχούδη Γιαπούλη. Θεσσαλονίκη 2000.
52. Χαρίκλεια Χατζησεβαστού-Λουκίδου. Γενετική καθοδήγηση. Βασική παιδιατρική. Φ.Κανακούδη-Γσακαλίδου, Γ.Κατζός Κεφάλαιο 4. Σελ.79-102. University studio press. Θεσσαλονίκη 2005.
53. Ανδρούλλα Ελευθερίου. Θαλασσαιμία, 2007. Διεθνής ομοσπονδία θαλασσαιμίας. <http://www.thalassaemia.org.cy>
54. Ε. Ιωαννίδου-Παπαγιαννάκη. β-Θαλασσαιμία ή β-Μεσογειακή αναιμία. Εσωτερική Παθολογία. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, τμήμα Ιατρικής, τομέας Παθολογίας, καθηγητής Μ. Παπαδημητρίου, τόμος δεύτερος, δεύτερη έκδοση. Universitystudiopress.Κεφάλαιο 9. Αιμοποιητικό σύστημα-Αιμοποίηση. Σελ 1137-1140.

55. Modell, B. & Darlison, M. (2008) Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Bulletin of the World Health Organization, 86, 480–487.
56. Κληρονόμος Ευάγγελος, Δ/ντης Μονάδας Μεσογειακής Αναιμίας ΓΝΗ Βενιζέλειο. Η Μεσογειακή αναιμία και η πρόσληψή της. <https://www.venizeleio.gr/i-mesogiaki-anemia-ke-i-prolipsi-tis/>