



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Συσχέτιση φαινοτύπου με γονότυπο και δράση τροποποιητικών γονιδίων  
στις αιμοσφαιρινοπάθειες»**

**Μαργαρίτη Χρυσάνθη**

**Βιολόγος Α.Π.Θ.**

**ΛΑΡΙΣΑ**

**Ιούνιος, 2014**



**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF MEDICINE**



**LABORATORY OF CYTOGENETICS AND MOLECULAR GENETICS**

**MASTER PROGRAM IN  
«HUMAN GENETICS»**

**MASTER THESIS**

**«Genotype-phenotype association and modifier genes in  
hemoglobinopathies»**

**Margariti Chrysanthi**

Biologist A.U.Th.

Larisa

June, 2014

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ  
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Α. ΤΣΕΖΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Τσέζου Ασπασία (επιβλέπουσα)**

Καθηγήτρια ΠΘ

**Jan Traeger-Συνοδινού (συνεπιβλέπουσα)**

Αν. Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

**Κυριάκου Δέσποινα**

Αν. Καθηγήτρια ΠΘ

*Στην Μαρία, την Αλίκη και  
τον Πασχάλη*

## Πίνακας περιεχομένων

Ελληνική Περίληψη

Αγγλική Περίληψη

<b>1. Εισαγωγή</b> .....	<b>1</b>
1.1 Διαταραχές της αιμοσφαιρίνης .....	1
1.2 Το μόριο της αιμοσφαιρίνης .....	3
1.3 Μορφές της ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης .....	4
1.4 Η δομή και η οργάνωση των γονιδίων της αιμοσφαιρίνης .....	6
<b>2. Η Α Θαλασσαιμία</b> .....	<b>9</b>
2.1 Μοριακή βάση της α θαλασσαιμίας .....	9
2.1.1. α <sup>+</sup> θαλασσαιμία που οφείλεται σε ελλείμματα.....	10
2.1.2. α <sup>0</sup> θαλασσαιμία που οφείλεται σε ελλείμματα .....	12
2.1.3. α <sup>+</sup> θαλασσαιμία που οφείλεται σε σημειακές μεταλλάξεις ή μικρά ελλείμματα (non deletion) .....	15
2.1.4. α θαλασσαιμία που σχετίζεται με πνευματική καθυστέρηση .....	19
2.2 Φαινοτυπική ετερογένεια α- θαλασσαιμίας .....	20
<b>3. Η Β Θαλασσαιμία</b> .....	<b>24</b>
3.1 Μοριακή βάση της β θαλασσαιμίας .....	26
3.1.1. β θαλασσαιμία που οφείλεται σε σημειακές μεταλλάξεις .....	26
3.1.2. β θαλασσαιμία που οφείλεται σε ελλείμματα .....	34
3.1.3. Ασυνήθιστες αιτίες β θαλασσαιμίας .....	37
3.2 Φαινοτυπική ετερογένεια β- θαλασσαιμίας .....	39
3.3 Μηχανισμοί που ευθύνονται για την φαινοτυπική ετερογένεια της β θαλασσαιμίας- Τροποποιητικά γονίδια .....	42
3.3.1. Πρωτογενείς τροποποιητές .....	43
3.3.2. Δευτερογενείς τροποποιητές .....	44
3.3.3. Τριτογενείς τροποποιητές .....	47
<b>4. Δρεπανοκυτταρική Αναιμία</b> .....	<b>49</b>
4.1 Μοριακή βάση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας .....	50
4.2 Φαινότυποι της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας .....	50
<b>5. Συμπεράσματα</b> .....	<b>52</b>
<b>6. Βιβλιογραφία</b> .....	<b>54</b>

## Ελληνική Περίληψη

Οι αιμοσφαιρινοπάθειες είναι οι πιο κοινές μονογινιδιακές διαταραχές στον κόσμο και αποτελούν αυτοσωμικά υπολειπόμενα κληρονομικά νοσήματα. Περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα διαταραχών οι οποίες μπορεί να προκαλούν ποσοτικές (θαλασσαιμίες) ή ποιοτικές (δρεπανοκυτταρική αναιμία) αλλαγές στη σύνθεση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης. Κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η γονοτυπική και φαινοτυπική ποικιλομορφία, η οποία είναι αποτέλεσμα του μεγάλου αριθμού μεταλλάξεων στο σύμπλεγμα των α και β γονιδίων, αλλά και σε δευτερογενείς και τριτογενείς γενετικούς τροποποιητές.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη του γενότυπου και του φαινότυπου της α και β θαλασσαιμίας, καθώς και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους, αλλά και των γονιδίων που συμμετέχουν στην τροποποίηση της κλινικής εικόνας αυτών των νόσων.

## **Abstract**

Hemoglobinopathies are the most common monogenic disorders in the world. They are hereditary autosomal recessive diseases. They include a wide spectrum of disorders which can cause quantitative (thalassemias) or qualitative (sickle cell anemia) changes in the synthesis of the polypeptide chains of hemoglobin. Their main characteristic is the genotypic and phenotypic diversity, which is a result of the large number of mutations in cluster  $\alpha$  and  $\beta$  genes, but also in secondary and tertiary genetic modifiers.

The purpose of this study is to investigate the genotype and phenotype of alpha and beta thalassemia, and the interactions between them, but also to get an insight in the genes involved in the modification of clinical presentation of these diseases.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Διαταραχές της αιμοσφαιρίνης

Οι αιμοσφαιρινοπάθειες είναι μια ετερογενής ομάδα κληρονομικών διαταραχών που αφορούν στη δομή, σύνθεση και παραγωγή των πρωτεϊνικών αλυσίδων  $\alpha$  και  $\beta$  του μορίου της αιμοσφαιρίνης (Hb) και αντιπροσωπεύουν τα πιο συχνά μονογονιδιακά νοσήματα σε παγκόσμιο επίπεδο. Με ελάχιστες εξαιρέσεις, ακολουθούν ένα αυτοσωματικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

Εκτιμάται ότι περίπου το 7% του παγκόσμιου πληθυσμού φέρουν ένα ελαττωματικό γονίδιο σφαιρίνης και ότι περίπου 350.000 νέοι ασθενείς γεννιούνται κάθε χρόνο με κάποια από αυτές τις διαταραχές (Weatherall et al., 2010). Παρόλο που παραδοσιακά απαντώνται στη Μεσόγειο, τη Μέση Ανατολή, Αφρική, Δυτική και Νοτιοανατολική Ασία, Ινδία και Βιρμανία όπου η ελονοσία είναι ή ήταν ενδημική, τα τελευταία χρόνια εμφανίζουν παγκόσμια κατανομή λόγω της μετανάστευσης πληθυσμών σε όλο τον κόσμο (Weatherall and Clegg 2001a, Henderson et al. 2009).

Οι κληρονομικές διαταραχές της αιμοσφαιρίνης, σύμφωνα με τους Weatherall (1997a) και Steinberg et al. (2001), μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες ομάδες: τις θαλασσαιμίες και τις δομικές παραλλαγές της αιμοσφαιρίνης.

Στην πρώτη ομάδα ανήκουν τα θαλασσαιμικά σύνδρομα όπου παρατηρούνται ποσοτικές ελλείψεις, δηλαδή μειωμένη παραγωγή μίας ή παραπάνω από τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες της σφαιρίνης. Οι θαλασσαιμίες είναι κληρονομικές διαταραχές που χαρακτηρίζονται από μειωμένη σύνθεση μίας ή περισσότερων αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης και ανάλογα με το ποια αλυσίδα σφαιρίνης συντίθεται ανεπαρκώς ταξινομούνται σε  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta\beta$  και  $\epsilon\delta\beta$  (Weatherall 1997b, Weatherall and Clegg 2001b). Σπανιότερα συναντώνται οι  $\gamma$ ,  $\eta\gamma\delta\beta$ ,  $\eta\delta$  και  $\eta\epsilon\gamma\delta\beta$  (Traeger-Συνοδινού et al. 2011).

Στην δεύτερη ανήκουν τα δρεπανοκυτταρικά σύνδρομα που παρουσιάζουν ποιοτικές αλλοιώσεις στις πολυπεπτιδικές αλυσίδες των σφαιρινών. Οι δομικές παραλλαγές της αιμοσφαιρίνης ως επί το πλείστον είναι αποτέλεσμα αντικαταστάσεων σε ένα αμινοξύ στην  $\alpha$  ή  $\beta$  αλυσίδα. Σε πολλές περιπτώσεις αυτές είναι αβλαβείς, σε άλλες όμως μπορεί να μεταβάλλουν τη σταθερότητα ή τις λειτουργικές ιδιότητες της αιμοσφαιρίνης



οδηγώντας σε μια κλινική διαταραχή, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας.

Υπάρχει και μία τρίτη κατηγορία που περιλαμβάνει διαταραχές στις οποίες υπάρχει ελάττωμα στη φυσιολογική αλλαγή από την παραγωγή εμβρυικής στην παραγωγή ενήλικης αιμοσφαιρίνης και η οποία ονομάζεται κληρονομική παραμονή της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης (HPFH) (Weatherall 2001). Η εμφάνιση αυτού του φαινοτύπου οφείλεται σε μεταλλάξεις σε ρυθμιστικές περιοχές της αιμοσφαιρίνης που οδηγούν σε συνεχή έκφραση του γονιδίου της  $\gamma$  σφαιρίνης κατά την ενήλικη ζωή του ανθρώπου, ενώ φυσιολογικά εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα κατά την εμβρυική ζωή (Thompson and Thompson 2011). Η κληρονομική παραμονή της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης (HPFH) αν και δεν έχει κλινική σημασία αυτή καθαυτή, η συνκληρονόμηση ορισμένων μορφών της μπορεί να τροποποιήσει φαινότυπους που σχετίζονται με δομικές παραλλαγές της αιμοσφαιρίνης ή των θαλασσαιμιών (Weatherall 2001).

Η κλασική ταξινόμηση των αιμοσφαιρινοπαθειών βασίζεται στην εκτίμηση της βαρύτητας της νόσου διακρίνοντας μείζονες (major) μορφές με πλήρη συμπτωματολογία όπου οι ασθενείς εξαρτώνται από μεταγγίσεις αίματος και ελάσσονες (minor) μορφές χωρίς ιδιαίτερα συμπτώματα, οι οποίες μπορούν να διαγνωστούν αιματολογικά (Καλλέας 2010).

Στις μείζονες (major) μορφές περιλαμβάνονται ασθενείς με σημαντική μείωση ή πλήρης απουσία της σύνθεσης της  $\beta$ -σφαιρίνης, με αποτέλεσμα τα άτομα αυτά να εμφανίζουν σοβαρή αναιμία και να είναι εξαρτώμενα από μεταγγίσεις, και ασθενείς με πλήρη απουσία σύνθεσης της  $\alpha$ -σφαιρίνης. Τα άτομα αυτά έχουν πολύ σοβαρό κλινικό φαινότυπο, ο οποίος δεν είναι συμβατός με την επιβίωση και ονομάζεται σύνδρομο εμβρυικού ύδρωπα (Hb Bart's syndrome) (Weatherall 1997, Muncie and Campbell 2009).

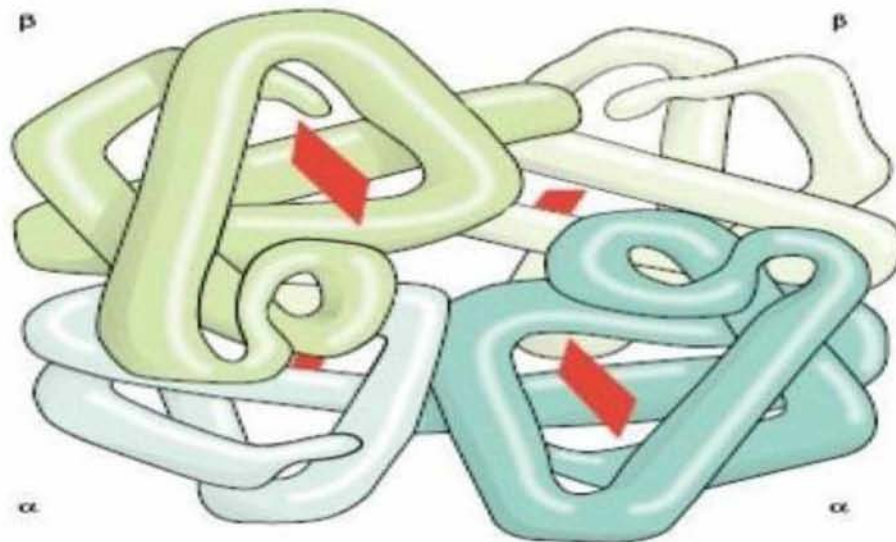
Επίσης, υπάρχει ένας φαινότυπος ενδιάμεσης κλινικής βαρύτητας μεταξύ του ασυμπτωματικού φορέα και του ομόζυγου ασθενή, κατάσταση η οποία αναφέρεται ως ενδιάμεση (intermedia) θαλασσαιμία (Weatherall and Clegg 1981). Γι αυτούς τους ασθενείς η ανάγκη μεταγγίσεων είναι απύσχα ή περιστασιακή (Munchie and Campbell 2009). Σ αυτή την κατηγορία ανήκουν η HbE- $\beta$ -θαλασσαιμία και η  $\alpha$ -αιμοσφαιρινοπάθεια που ονομάζεται αιμοσφαιρινοπάθεια H (HbH) (Galanello 2012).

## 1.2 Το μόριο της αιμοσφαιρίνης

Η φυσιολογική αιμοσφαιρίνη είναι ένα τετραμερές μόριο με σφαιρικό σχήμα. Το μόριο της αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, οι δύο από τις οποίες προέρχονται από τα γονίδια του συμπλέγματος των  $\alpha$  αλυσίδων αιμοσφαιρίνης και οι άλλες δύο από τα γονίδια των  $\beta$  γονιδίων αιμοσφαιρίνης (Σχήμα 1).

Η κάθε μία αλυσίδα συνδέεται με μια ομάδα αίμης, μια χρωστική που περιέχει σίδηρο και συνδέεται με το οξυγόνο, προσδίδοντας στο μόριο της αιμοσφαιρίνης την ικανότητα μεταφοράς του οξυγόνου (Weatherall 1997). Η δυνατότητα της αίμης να συνδέεται αντιστρεπτά με το οξυγόνο και να το μεταφέρει στους ιστούς οφείλεται στο ότι ο σίδηρος της υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι δισθενής.

Η οξυγονωμένη μορφή της αιμοσφαιρίνης ονομάζεται οξυαιμοσφαιρίνη. Η μετατροπή του δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή μέσω της οξείδωσης έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή της αίμης και κατεπέκταση της αιμοσφαιρίνης σε μεθαιμοσφαιρίνη, μια μορφή η οποία δεν μπορεί να συνδεθεί με το οξυγόνο (Καλλέας 2010).



**Σχήμα 1.** Τεταρτοταγής δομή του μορίου της αιμοσφαιρίνης που αποτελείται από δύο και δύο  $\beta$  αλυσίδες σφαιρίνης, κάθε μία από τις οποίες συνδέεται με μία ομάδα αίμης. Η κάθε ομάδα αίμης συμβολίζεται με κόκκινο ορθογώνιο. ( Alberts et al. 1997)

### 1.3 Μορφές της ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης

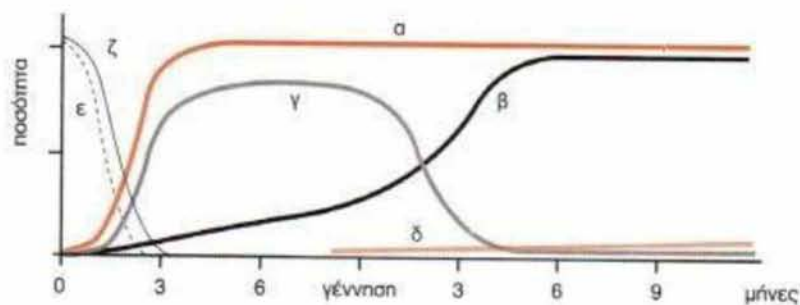
Οι μορφές της αιμοσφαιρίνης του ανθρώπου που συναντώνται στα διάφορα αναπτυξιακά στάδια της ζωής του παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στον πίνακα 1.

**Πίνακας 1.** Οι φυσιολογικές αιμοσφαιρίνες του ανθρώπου στα διάφορα στάδια της ζωής του. (Γεωργούλης 2005)

Εμβρυϊκές αιμοσφαιρίνες	Βρεφικές (Fetal), αιμοσφαιρίνες	Αιμοσφαιρίνες του ενήλικα
$\gamma_2 \epsilon_2$ $\gamma_1$ Haemoglobin Gower-1	$\alpha_2^G \gamma_2 \gamma_1$ Haemoglobin F	$\alpha_2 \beta_2$ $\gamma_1$ Haemoglobin A
$\zeta_2 \gamma_2$ $\gamma_1$ Haemoglobin Portland	$\alpha_2^A \gamma_2$ $\gamma_1$ Haemoglobin F	$\alpha_2 \delta_2$ $\gamma_1$ Haemoglobin A <sub>2</sub>
$\alpha_2 \epsilon_2$ $\gamma_1$ Haemoglobin Gower-2		

Η κύρια αιμοσφαιρίνη της ενήλικης ζωής του ανθρώπου είναι η αιμοσφαιρίνη A (HbA ( $\alpha_2\beta_2$ )) η οποία αποτελείται από δύο αλυσίδες α και δύο αλυσίδες β σφαιρίνης και αναλογεί στο 97.5% της ολικής αιμοσφαιρίνης των ερυθροκυττάρων. Επίσης, στους ενήλικες σε ποσοστό μικρότερο του 2.5% ανιχνεύεται η αιμοσφαιρίνη A<sub>2</sub> (HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ )) η οποία αποτελείται από δύο α και δύο δ αλυσίδες σφαιρίνης (Weatherall 1997a, Weatherall 1997b, Weatherall 2001, Weatherall and Clegg 2001a, Καναβάκη 2008, Καλλέας 2010, Galanello 2012)

Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής και της ενήλικου ζωής παρατηρείται μια αλλαγή στους τύπους της αιμοσφαιρίνης που συντίθενται λόγω της αλλαγής της έκφρασης των διαφόρων γονιδίων της σφαιρίνης. Οι αιμοσφαιρίνες, λοιπόν, εκφράζονται σε διαφορετικό χρόνο και από διαφορετικό ιστό ένα φαινόμενο το οποίο ονομάζεται μεταστροφή (Σχήμα 2) (Traeger et al. 2011).



**Σχήμα 2.** Οι αλλαγές στη σύνθεση των αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης κατά την εμβρυική, βρεφική και ενήλικη ζωή του ανθρώπου. (Καλλέας 2010)

Στο έμβρυο επικρατεί η αιμοσφαιρίνη F, η οποία αποτελείται από δύο α και δυο γ αλυσίδες (HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ )). Η σύνθεση της HbF ξεκινά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, όπου κατά την 12<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης αντικαθιστά τις εμβρυονικές αιμοσφαιρίνες, μειώνεται σημαντικά μετά τη γέννηση και περίπου τον 8ο μήνα μετά τη γέννηση τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης φθάνουν αυτά των ενηλίκων (Galanello 2012). Στην ενήλικη ζωή περιορίζεται σε ποσοστό 1-2% (Traeger et al. 2011).

Οι εμβρυονικές αιμοσφαιρίνες παράγονται στην πρώιμη ενδομήτρια περίοδο και είναι: η Hb Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ ), η οποία αποτελείται από 2 ζ και 2 γ αλυσίδες, η Hb Gower-1 ( $\zeta_2\varepsilon_2$ ), η οποία αποτελείται από 2 ζ και 2 ε αλυσίδες και η Hb Gower-2 ( $\alpha_2\varepsilon_2$ ), η οποία αποτελείται από 2 α και 2 ε αλυσίδες (Weatherall 1997b, Weatherall 2001, Weatherall and Clegg 2001a, Καναβάκη 2008, Καλλέας 2010, Galanello 2012). Η παραγωγή των εμβρυονικών αιμοσφαιρινών περιορίζεται στο αναπτυξιακό στάδιο του λεκιθικού σάκου και εν συνεχεία αυτές αντικαθίστανται από την HbF. Περίπου έξι μήνες μετά την γέννηση και πριν την ολοκλήρωση του ενός έτους, στα υγιή βρέφη η HbF αντικαθίσταται από την HbA και HbA<sub>2</sub>, αν και στους φυσιολογικούς ενήλικες μικρές ποσότητες HbF συνεχίζουν να παράγονται αποτελώντας το ~1% της συνολικής αιμοσφαιρίνης (Weatherall 2001, Weatherall and Clegg 2001a).

#### 1.4 Η δομή και η οργάνωση των γονιδίων της αιμοσφαιρίνης

Η βασική δομή όλων των λειτουργικών γονιδίων της αιμοσφαιρίνης του ανθρώπου είναι παρόμοια, δηλαδή αποτελούνται από περίπου 1500 νουκλεοτίδια και έχουν 3 εξώνια και 2 ιντρόνια (IVS- Intervening Sequence I και II). Τα ιντρόνια αποκόπτονται κατά την επεξεργασία του πρώιμου RNA κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (splicing) (Weatherall 1997b, Traeger-Synodinou et al. 2011).

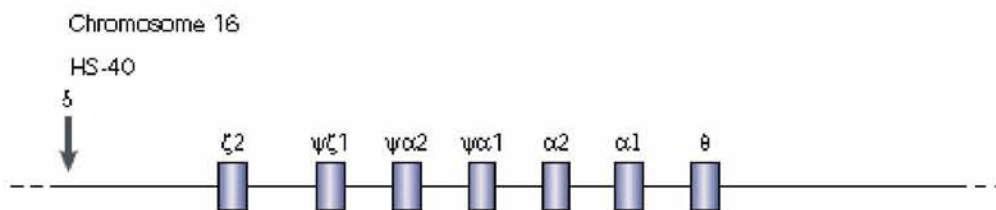
Στο εξώνιο 2 κωδικοποιούνται οι περιοχές των αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης οι οποίες συμμετέχουν στη σύνδεση με την αίμη ή στη σύνδεση μεταξύ των α και β αλυσίδων.

Στην περιοχή του υποκινητή, 200-300 bp πριν από τη «θέση κάλυψης», βρίσκονται οι αλληλουχίες «TATA box», «CCAAT box» και CACCC ή/και CCGCCC, οι οποίες ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων της αιμοσφαιρίνης. Αυτά τα στοιχεία, μέσω άμεσων αλληλεπιδράσεων με την LCR και διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες, δρουν σαν θετικοί ρυθμιστές και απαιτούνται για την βέλτιστη μεταγραφή. Σκοπός ενός τέτοιου αυστηρού ελέγχου είναι να εξασφαλιστεί ότι, σε οποιοδήποτε στάδιο της ανάπτυξης, η παραγωγή των α-αλυσίδων είναι ίση με εκείνη της β-αλυσίδων, για τη σωστή συναρμολόγηση της αιμοσφαιρίνης (Grosso et al. 2012).

Επιπλέον, στις θέσεις εξωνίου-ιντρονίου συγκεκριμένα διουκλεοτίδια, το GT στο 5' άκρο και το AG στο 3' άκρο κάθε ιντρονίου, καθορίζουν τη σωστή αποκοπή και επανασυγκόλληση του mRNA (Traeger-Synodinou et al. 2011).

Τα γονίδια των αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης οργανώνονται σε δύο γονιδιακά συγκροτήματα (clusters) (Traeger et al. 2011).

Το σύμπλεγμα των γονιδίων που κωδικοποιεί τις α αλυσίδες της αιμοσφαιρίνης εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 16 (16p13.3) (Weatherall and Clegg 2001a) και περιέχει δύο α γονίδια ( $\alpha_1$  και  $\alpha_2$ ) (*HBA1*, Ensembl:ENSG00000206172 και *HBA2*, Ensembl:ENSG00000188536), το γονίδιο που κωδικοποιεί τη ζ αλυσίδα (*HBZ*) (Atweg et al. 2003), τρία ψευδογονίδια ( $\psi\zeta_1$ ,  $\psi\alpha_2$ ,  $\psi\alpha_1$ ) και το γονίδιο της θ αλυσίδας (*HBQ1*) του οποίου η λειτουργικότητα δεν είναι γνωστή (Traeger et al. 2011). Η σειρά των γονιδίων στο σύμπλεγμα είναι η εξής: 5'-ζ<sub>2</sub>-ψζ<sub>1</sub>-ψα<sub>2</sub>-ψα<sub>1</sub>-α<sub>2</sub>-α<sub>1</sub>-θ-3' (Σχήμα 3) (Weatherall 2001).



**Σχήμα 3.** Η οργάνωση του συμπλέγματος των α γονιδίων της αιμοσφαιρίνης (Weatherall 2001).

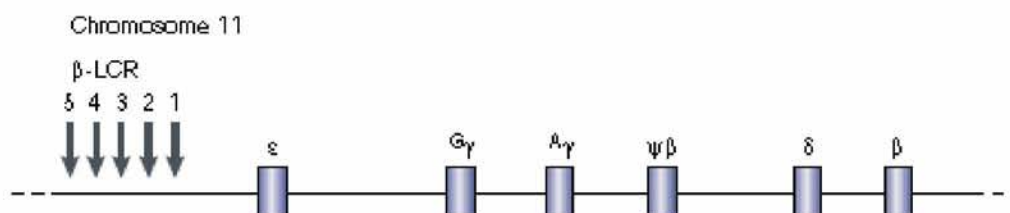
Τα γονίδια α1 και α2 εμφανίζουν ομολογία σε ποσοστό 98.5% παρόλα αυτά διαφέρουν στην προσθήκη επτά νουκλεοτιδίων κοντά στο τέλος του ιντρονίου 2 στο α2 γονίδιο, σε δύο αντικαταστάσεις στο ιντρόνιο 2 και σε αρκετές νουκλεοτιδικές αλλαγές μετά το 3΄ άκρο του εξωνίου 3. Επιπλέον, το γονίδιο α2 παράγει διπλάσια με τριπλάσια ποσότητα α αλυσίδας αιμοσφαιρίνης σε σχέση με το α1 γονίδιο (Benini and Harteveld 1998).

Κάθε σύμπλεγμα γονιδίων σφαιρίνης έχει μια σημαντική ρυθμιστική περιοχή που βρίσκεται σε θέση cis. Στο σύμπλεγμα των α γονιδίων η ρυθμιστική περιοχή ονομάζεται MRE (major regulator element) (Forrester et al. 1987, Grosveld et al. 1987, Higgs et al. 1990, Jarman et al. 1991) και σχετίζεται με τέσσερις υπερευαίσθητες θέσεις (HS, hypersensitive sites) για το ερυθροειδικό ένζυμο DNAση I που βρίσκονται 10 (HS-10), 33 (HS-33), 40 (HS-40), and 48 (HS-48) kb ανοδικά της θέσης καλύματος του mRNA της ζ σφαιρίνης (Higgs et al., 1998). Με διάφορες μελέτες αποδείχτηκε πως μόνο η ρυθμιστική περιοχή που βρίσκεται 40 kb ανοδικά του α συμπλέγματος (HS-40) έχει σημαντική επίδραση στην έκφραση των α γονιδίων (Hatton et al., 1990; Liebhaber et al., 1990; Wilkie et al., 1990; Romao et al., 1991, 1992; Sharpe et al., 1992; Flint et al., 1994, 1996; Higgs et al., 1998; Anguita et al., 2002; Harteveld et al., 2005; Viprakasit et al., 2003, 2006).

Το σύμπλεγμα των γονιδίων β, γ και δ αλυσίδων βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 11 (11p15.5) (Weatherall and Clegg 2001a) και περιλαμβάνει το γονίδιο της β αλυσίδας (*HBB*, Ensembl:ENSG00000244734), το εμβρυονικό γονίδιο της ε αλυσίδας (*HBE1*), τα δύο εμβρυϊκά γονίδια των γ αλυσίδων ( *Gγ*, *HBG2* και *Aγ*, *HBG1*), το γονίδιο της δ αλυσίδας (*HBD*), που εκφράζεται περιορισμένα στην ενήλικη ζωή, και ένα ψευδογονίδιο (Traeger et al. 2011). Η σειρά των γονιδίων στο σύμπλεγμα είναι η εξής: 5΄ - ε - *Gγ* - *Aγ* - *ψβ* - *δ* - *β* - 3΄ (Σχήμα 4). Στο σύμπλεγμα αυτό περιέχονται δύο ιντρόνια με 122-

130 και 850-900 bp μεταξύ των κωδικονίων 30 και 31 και 104 και 105 αντίστοιχα (Weatherall 2001).

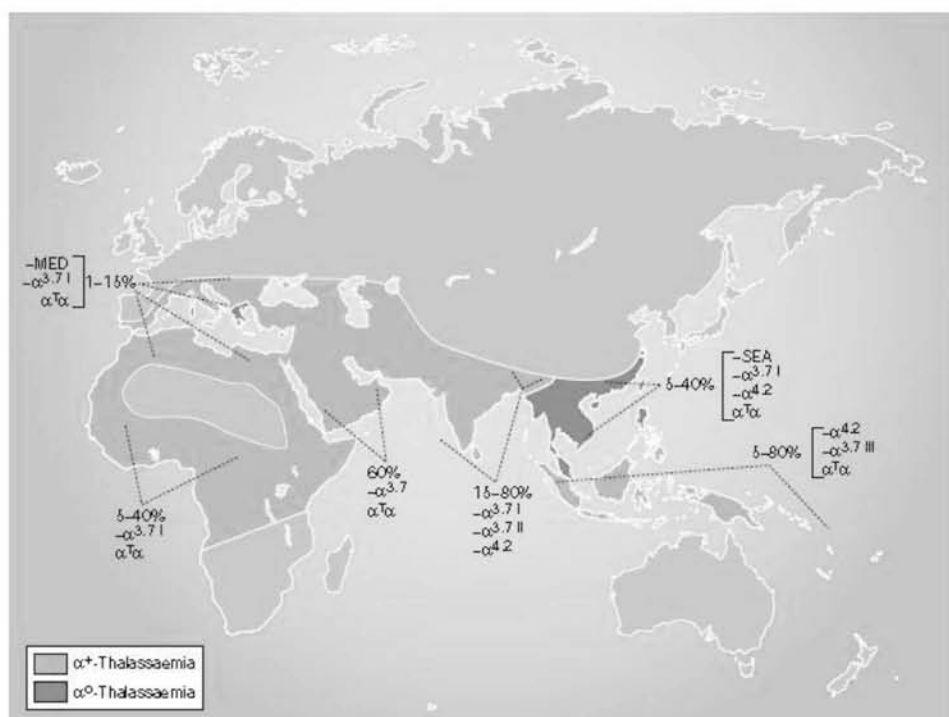
Όπως αναφέρθηκε παραπάνω κάθε σύμπλεγμα γονιδίων σφαιρίνης έχει μια σημαντική ρυθμιστική περιοχή που βρίσκεται σε θέση cis. Στο σύμπλεγμα των β γονιδίων η ρυθμιστική περιοχή ονομάζεται LCR (locus control region) (Forrester et al. 1987, Grosveld et al. 1987, Higgs et al. 1990, Jarman et al. 1991) και σχετίζεται με πέντε υπερευαίσθητες θέσεις (HS, hypersensitive sites) για το ερυθροειδικό ένζυμο DNase I με ονόματα HS-1 με HS-5 που βρίσκονται 4-20 kb προς το 5' άκρο ανοδικά του ε γονιδίου (Forrester et al., 1987; Grosveld et al., 1987). Αυτές οι περιοχές είναι απαραίτητες για τη διατήρηση μιας ανοιχτής χρωματινικής διαμόρφωσης στο γενετικό τόπο η οποία επιτρέπει την πρόσβαση των μεταγραφικών παραγόντων στις ρυθμιστικές αλληλουχίες των γονιδίων του συμπλέγματος της β-σφαιρίνης (Thompson and Thompson 2011). Ελλείμματα σε αυτές τις περιοχές οδηγούν σε σοβαρές μορφές β-θαλασσαιμίας ακόμα και σε ασθενείς με ανέπαφο αντίγραφο γονιδίου β σφαιρίνης (Van der Ploeg et al. 1980, Curtin et al. 1985, Driscoll et al 1989).



**Σχήμα 4.** Η οργάνωση του συμπλέγματος των β γονιδίων της αιμοσφαιρίνης (Weatherall 2001).

## 2. Η Α-Θαλασσαιμία

Η α-θαλασσαιμία είναι μια αυτοσωματική υπολειπόμενη διαταραχή, στην οποία υπάρχει μειωμένη παραγωγή των αλυσίδων α-σφαιρίνης της αιμοσφαιρίνης. Σχετίζεται με μικροκυτταρική υποχρωμική αναιμία, και έναν κλινικό φαινότυπο που κυμαίνεται από την σχεδόν ασυμπτωματική κατάσταση μέχρι τη θανατηφόρο αιμολυτική αναιμία. Είναι η πιο κοινή μονογονιδιακή διαταραχή παγκοσμίως και είναι ιδιαίτερα συχνή σε πληθυσμούς που προέρχονται από την περιοχή της Μεσογείου, ΝΑ Ασία, την Αφρική, τη Μέση Ανατολή και την Ινδική υποήπειρο (Traeger-Synodinos 2011).



Εικόνα 1. Γεωγραφική κατανομή των α-θαλασσαιμιών και παρουσίαση των πιο συχνών μεταλλάξεων ανά περιοχή καθώς και τα ποσοστά εμφάνισής τους (Weatherall 2001).

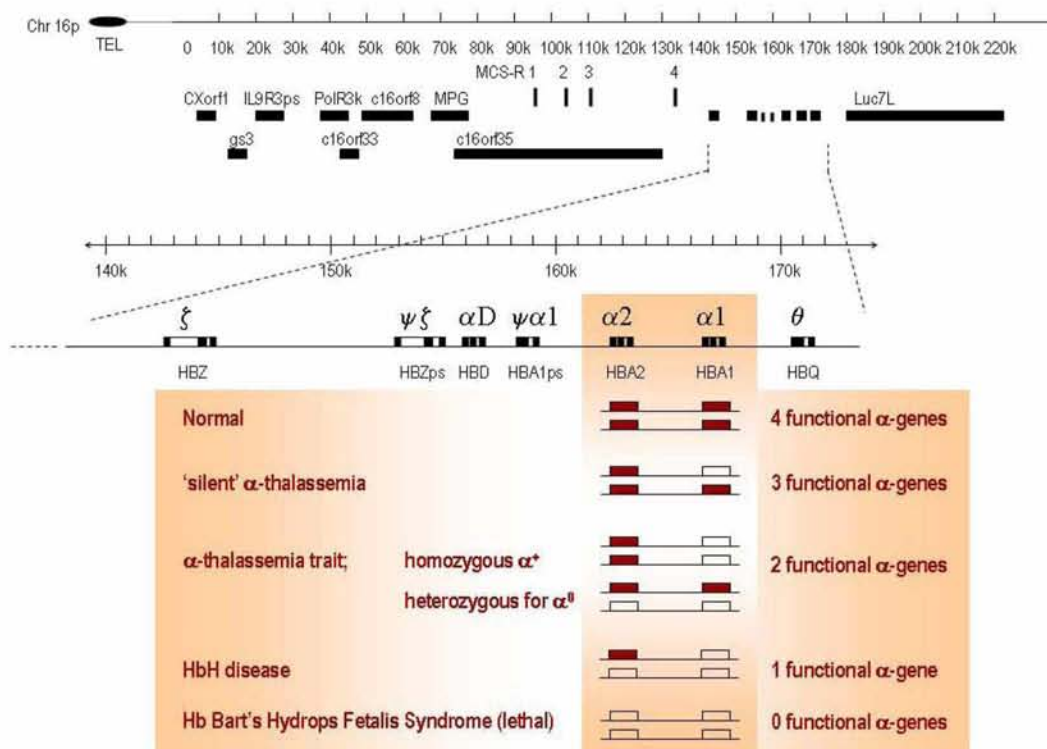
### 2.1 Μοριακή βάση της α θαλασσαιμίας

Η ελλιπής σύνθεση των αλυσίδων της α -σφαιρίνης στην α-θαλασσαιμία προκαλείται συνήθως από ελλείμματα στο σύμπλεγμα των γονιδίων της α-σφαιρίνης στο χρωμόσωμα 16. Περίπου 128 διαφορετικές διαταραχές είναι γνωστό ότι προκαλούν α-θαλασσαιμία (Higgs and Weatherall 2009, Harteveld and Higgs 2010) .

Τα α γονίδια είναι διπλασιασμένα, δηλαδή, κάθε φυσιολογικό άτομο έχει τέσσερα γονίδια α σφαιρίνης, δύο σε κάθε αντίγραφο του χρωμοσώματος 16 (16p13.3). Η γενετική σύσταση ενός φυσιολογικού ατόμου μπορεί να



γραφεί αα/αα. Η απώλεια και των δύο α γονιδίων σε ένα χρωμόσωμα ονομάζεται α<sup>0</sup> θαλασσαιμία και αναπαρίσταται --/αα. Η απώλεια ενός εκ των δύο γονιδίων α σε ένα χρωμόσωμα ονομάζεται α<sup>+</sup> θαλασσαιμία και αναπαρίσταται -α/αα (Σχήμα 5). Συνήθως η απώλεια των α γονιδίων οφείλεται σε ελλείμματα, και σε σπάνιες περιπτώσεις σε σημειακές μεταλλάξεις και μικρά ελλείμματα (Weatherall 1997a, Weatherall 1997b). Οι σημειακές μεταλλάξεις συμβολίζονται α<sup>T</sup>α ή αα<sup>T</sup> ανάλογα με το αν η σημειακή μετάλλαξη βρίσκεται στο α2 ή στο α1 γονίδιο αντίστοιχα (Kanavakis et al. 2000). Διάφοροι εκθέτες χρησιμοποιούνται για να δηλώσουν το μέγεθος του ελλείμματος, ή τη φύση της σημειακής μετάλλαξης ή τον πληθυσμό στον οποίο περιγράφηκε για πρώτη φορά η συγκεκριμένη μετάλλαξη (Traeger-Synodinos 2011, Traeger-Synodinos et al. 2011).

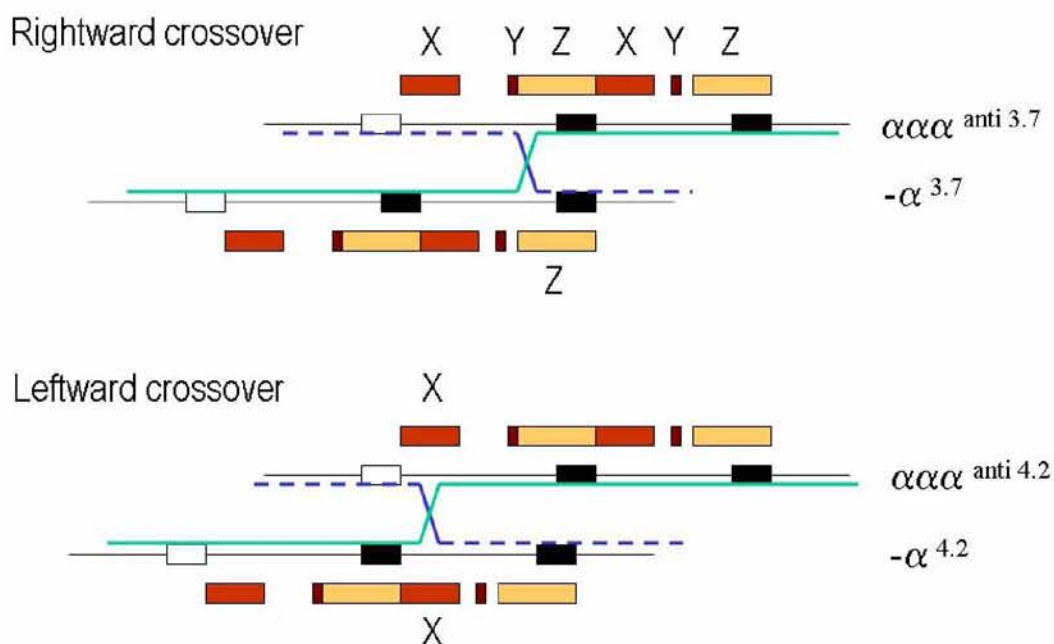


Σχήμα 5. Το σύμπλεγμα των γονιδίων της α σφαιρίνης και η κατάταξη των γενετικών διαταραχών καθώς και η φαινοτυπική τους έκφραση (Harteveld and Higgs 2010).

### 2.1.1. α<sup>+</sup> θαλασσαιμία που οφείλεται σε ελλείμματα

Τα γονίδια της α σφαιρίνης βρίσκονται μεταξύ δύο υψηλά ομόλογων, 4kb διπλασιασμένων περιοχών των οποίων η αλληλουχία εμφανίζεται συντηρημένη. Αυτές οι περιοχές χωρίζονται σε ομόλογες υποπεριοχές (X, Y

και Z) από μη ομόλογα στοιχεία (I, II και III) (Higgs 2014). Ένα από τα πιο κοινά ελλείμματα που προκαλούν  $\alpha^+$  θαλασσαιμία είναι το  $\alpha^{-3.7}$  (rightward deletion), ένα έλλειμμα 3.7 kb που προκαλείται από αμοιβαίο ανασυνδιασμό μεταξύ των Z τμημάτων. Αποτέλεσμα του αμοιβαίου ανασυνδιασμού αυτού είναι η δημιουργία ενός χρωμοσώματος με ένα λειτουργικό  $\alpha$  γονίδιο ( $-\alpha^{3.7}$ ) που προκαλεί  $\alpha$  θαλασσαιμία και ενός α τριπλασιασμένου αλληλίου ( $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti } 3.7}$ ) που δεν έχει θαλασσαιμική επίδραση (Σχήμα 6) (Harteveld and Higgs 2010, Traeger-Synodinos 2011, Traeger-Synodinos et al. 2011, Higgs 2014). Αυτό το γεγονός μπορεί να υποδιαιρεθεί περαιτέρω σε  $-\alpha^{3.7I}$ ,  $-\alpha^{3.7II}$ ,  $-\alpha^{3.7III}$  ανάλογα με το που ακριβώς μέσα στο πλαίσιο Z έγινε η ανταλλαγή (Higgs et al. 1984).



Σχήμα 6. Ελλείμματα που προκαλούν  $\alpha^+$ -θαλασσαιμία. Τα ομόλογα διπλασιασμένα τμήματα X, Y και Z στα οποία τα  $\alpha$ -γονίδια είναι ενσωματωμένα υποδεικνύονται με χρωματιστά κουτιά. Άνισος επιχιασμός μεταξύ των Z τμημάτων κατά τη διάρκεια της μείωσης οδηγεί στα  $-\alpha^{3.7}$  και  $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti } 3.7}$  χρωμοσώματα. Άνισος επιχιασμός μεταξύ των X τμημάτων δημιουργούν τα  $-\alpha^{4.2}$  και  $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti } 4.2}$  χρωμοσώματα (Harteveld and Higgs 2010).

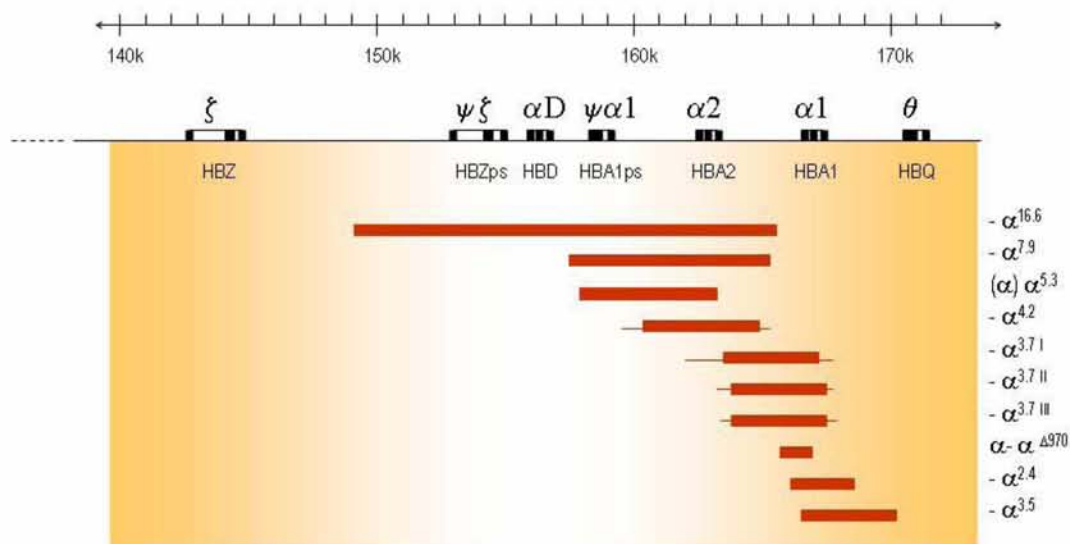
Ανασυνδιασμός μεταξύ των ομόλογων X τμημάτων, τα οποία απέχουν 4.2 kb είναι το έλλειμμα  $-\alpha^{4.2}$  (leftward deletion) (Embury et al. 1980) που οδηγεί σε  $\alpha^+$  θαλασσαιμία και ένα  $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti } 4.2}$  χρωμόσωμα (Σχήμα 6) (Trent et al. 1981). Περαιτέρω ανασυνδιαστικά γεγονότα μεταξύ των χρωμοσωμάτων που προκύπτουν ( $\alpha$ ,  $\alpha\alpha$ ,  $\alpha\alpha\alpha$ ) μπορεί να οδηγήσουν τετραπλασιασμένα  $\alpha$  γονίδια

(aaaa) (De Angioletti et al. 1992), ή πενταπλασιασμένα (aaaaa) (Cook et al. 2006), ή σε άλλες ασυνήθιστες σύνθετες ανακατατάξεις (Higgs 2014).

Ο αμοιβαίος ανασυνδιασμός συμβαίνει κατά την μίτωση (προμειωτικά) στη γαμετική σειρά. Οι εκτιμώμενες συχνότητες των  $\alpha$  και  $aa$  ανακατατάξεων στο σπέρμα είναι της τάξης του  $1-5 \times 10^5$  (Higgs 2014).

Επίσης, υπάρχει και ένας αυξανόμενος αριθμός ελλειμμάτων τα οποία οδηγούν στην απώλεια του  $\alpha 1$  ή του  $\alpha 2$  γονιδίου, και επομένως οδηγούν σε  $\alpha^+$  θαλασσαιμία, που οφείλονται σε μη ομόλογο ανασυνδιασμό και τα οποία είναι σπάνια και πολύ ειδικά ανά περιοχή (Harteveld and Higgs 2010, Higgs 2014).

Παρακάτω δίνεται ένα σχήμα (Σχήμα 7) με τα πιο συχνά ελλείμματα που προκαλούν  $\alpha^+$  θαλασσαιμία:



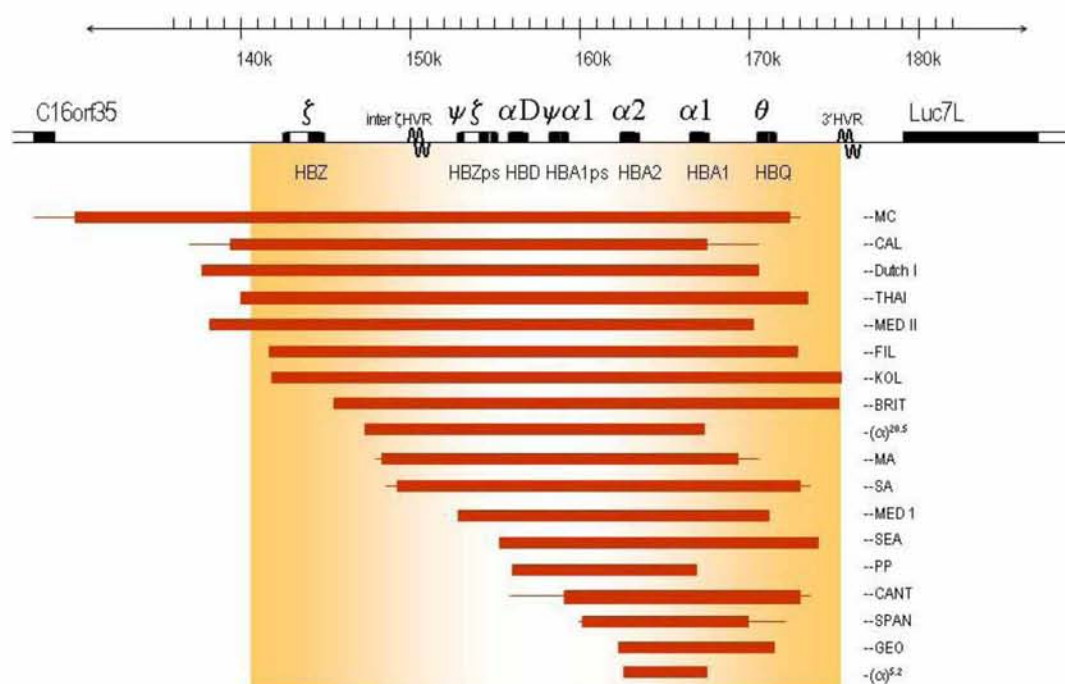
Σχήμα 7. Ελλείμματα ενός  $\alpha$  γονιδίου οδηγούν σε  $\alpha^+$  θαλασσαιμία. Η έκταση των ελλειμμάτων συμβολίζεται με κόκκινες μπάρες (Harteveld and Higgs 2010).

### 2.1.2. $\alpha^0$ θαλασσαιμία που οφείλεται σε ελλείμματα

Η ολοκληρωτική ή μερική έλλειψη και των δύο  $\alpha$  γονιδίων *in cis* οδηγεί σε απουσία σύνθεσης  $\alpha$  αλυσίδων από αυτό το χρωμόσωμα *in vivo*. Ομοζυγώτες για τέτοια ελλείμματα έχουν σύνδρομο εμβρυικού ύδρωπα (HB Bart's Syndrome) και δεν επιβιώνουν κατά τα πρώιμα στάδια της κύησης (Harteveld and Higgs 2010).

Σήμερα υπάρχουν περίπου 50 ελλείμματα στο σύμπλεγμα των α γονιδίων που οδηγούν είτε εξολοκλήρου ή εν μέρει στη διαγραφή και των δύο α γονιδίων με αποτέλεσμα την α<sup>ο</sup> θαλασσαιμία. Τα πιο κοινά από αυτά τα ελλείμματα είναι τα --<sup>MED</sup> και --<sup>SEA</sup> (Higgs 2014).

Παρακάτω παρουσιάζονται σχηματικά (Σχήμα 8) τα πιο συχνά ελλείμματα που προκαλούν α<sup>ο</sup> θαλασσαιμία:



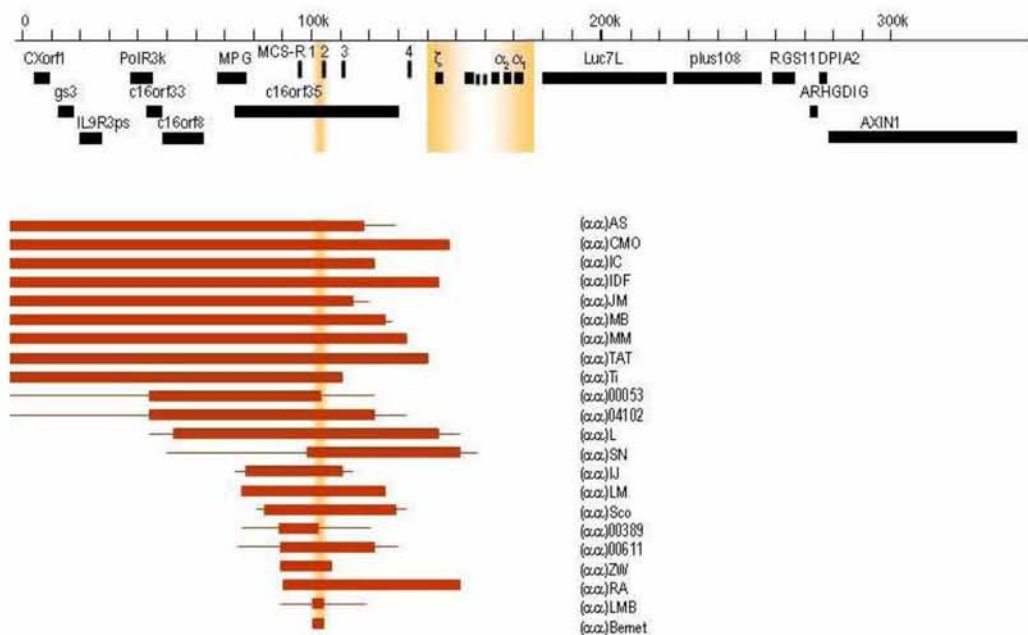
Σχήμα 8. Ελλείμματα και των δυο α γονιδίων οδηγούν σε α<sup>ο</sup> θαλασσαιμία. Η έκταση των ελλειμμάτων συμβολίζεται με κόκκινες μπάρες (Harteveld and Higgs 2010).

Τα ελλείμματα αυτά μπορεί να προέρχονται από γεγονότα μη ομόλογου ανασυνδιασμού όπως από επανασύνδεση μη ομόλογων θραυσμάτων, ή από ανασυνδιασμό μεταξύ επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών Alu, ή τελομερική σταθεροποίηση τμημάτων στα οποία αποκόπηκε το τελικό άκρο του χρωμοσώματος 16 (Traeger-Synodinos 2011, Traeger-Συνοδινού et al. 2011).

Σπάνια ελλείμματα που προκαλούν α<sup>ο</sup> θαλασσαιμία αφαιρούν την ρυθμιστική περιοχή, η οποία βρίσκεται 40-50 kb ανοδικά του συμπλέγματος των γονιδίων της α-σφαιρίνης, αφήνοντας ανέπαφα τα γονίδια α. Αυτή η περιοχή η οποία αποτελείται από τέσσερις συντηρημένες αλληλουχίες (MCS), που ονομάζονται MCS-R1 έως R4, αντιστοιχούν στις προηγουμένως αναγνωρισμένες ερυθροειδικές για την DNAάση 1 θέσεις υπερευαισθησίας

που αναφέρονται ως HS-48, HS-40, HS-33 και HS-10. Από τα στοιχεία αυτά, μόνο το MCS-R2 (HS-40), 40 kb ανοδικά από την θέση κάλυψης του mRNA του ζ γονιδίου έχει δείχθει ότι είναι απαραίτητο για την έκφραση των α γονιδίων (Harteveld and Higgs 2010). Στις περιπτώσεις αυτές ενώ τα α γονίδια υπάρχουν δεν εκφράζονται προκαλώντας φαινότυπο α θαλασσαιμίας (Traeger-Synodinos 2011, Traeger-Συνοδινού et al. 2011).

Τα μέχρι σήμερα γνωστά ελλείμματα που συμβαίνουν στην ρυθμιστική περιοχή των α γονιδίων και αφήνουν ανέπαφα τα α γονίδια παρουσιάζονται στο σχήμα 9:



Σχήμα 9. Ελλείμματα στην ρυθμιστική περιοχή των α γονιδίων. Η έκταση των ελλειμμάτων συμβολίζεται με κόκκινες μπάρες (Harteveld and Higgs 2010).

### 2.1.3. α<sup>+</sup> θαλασσαιμία που οφείλεται σε σημειακές μεταλλάξεις ή μικρά ελλείμματα (non deletion)

Η α<sup>+</sup> θαλασσαιμία πιο συχνά προκαλείται από ελλείμματα, έχουν όμως παρατηρηθεί παραπάνω από 40 μορφές α<sup>+</sup> θαλασσαιμίας που οφείλονται σε σημειακές μεταλλάξεις, αντικαταστάσεις και μικρά ελλείμματα (non deletional mutations). Οι μεταλλάξεις αυτές εντοπίζονται συχνότερα στο α2 γονίδιο από ότι στο α1. Σε γενικές γραμμές οι μεταλλάξεις οδηγούν σε σημαντικότερη μείωση της σύνθεσης των α αλυσίδων και σχετίζονται με πιο σοβαρό φαινότυπο από αυτόν που δημιουργούν τα ελλείμματα. Οι μεταλλάξεις που έχουν περιγραφεί επηρεάζουν την επεξεργασία του mRNA, τη μετάφραση του mRNA, και τη σταθερότητα της α-σφαιρίνης μετα- μεταφραστικά (Higgs 1993, Harteveld and Higgs 2010, Traeger-Synodinos 2011, Traeger-Συνοδινού et al. 2011, Galanello 2012, Grosso et al. 2012). Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται όλες οι μέχρι σήμερα γνωστές μεταλλάξεις.

Οι πιο κοινές μεταλλάξεις κατά την επεξεργασία του RNA είναι η α<sup>IVSI(-5nt)</sup>α στους Μεσογειακούς πληθυσμούς, και οι μεταλλάξεις σε θέσεις πολυαδενυλίωσης α<sub>2</sub><sup>AATAAG</sup>, α<sub>2</sub><sup>AATGAA</sup> και α<sub>2</sub><sup>AATA-</sup> στους Μεσογειακούς λαούς επίσης (Higgs et al. 1983, Yuregir et al. 1992, Harteveld et al. 1994). Οι μεταλλάξεις στο κωδικώνιο τερματισμού οδηγούν σε επιμηκυμένες α αλυσίδες είναι οι Hb Constant Spring (HbCS), Hb Icaria, Hb Koya Dora, Hb Seal Rock, Hb Pakse (Clegg et al. 1971, Clegg et al 1974, De Jong et al. 1975, Bradley et al. 1975, Waye et al. 1994). Όλες οι μεταλλάξεις στο κωδικώνιο τερματισμού έχουν σαν αποτέλεσμα αντί για τον τερματισμό της μεταγραφής, την ενσωμάτωση ενός αμινοξέος και την παραγωγή μιας παθολογικής α αλυσίδας αιμοσφαιρίνης (από 31 αμινοξέα). Αυτές οι επιμηκυμένες α αλυσίδες συντίθενται σε χαμηλότερα επίπεδα αλλά έχουν την τάση να κατακρημνίζονται στα ερυθροκύτταρα προκαλώντας διαταραχές στη λειτουργία των ερυθροκυττάρων και των κυτταρικών μεμβρανών (Traeger-Συνοδινού et al. 2011). Οι δομικές μεταλλάξεις προκαλούν ασταθείς α αλυσίδες όπως οι Hb Quong, Sze, Hb Suan Dok, Hb Petah Tikvah (Sanguansermisri et al. 1979, Honig et al. 1981, Goossens et al. 1982, Traeger-Synodinos et al. 1999). Στην Ελλάδα και στην Αλβανία έχουν παρατηρηθεί 4 μεταλλάξεις που οδηγούν σε ασταθείς αλυσίδες της αιμοσφαιρίνης, δύο που αφορούν το α2 γονίδιο: η Hb Agrinio και η Hb Adana και δύο το α1 γονίδιο: η Hb Aghia Sophia και η Hb

Heraklion (Traeger-Synodinos et al. 2000). Οι παθολογικές αυτές αλυσίδες είναι τόσο ασταθείς που δεν ανιχνεύονται καν σε πρωτεϊνικό επίπεδο και γίνονται αντιληπτές έμμεσα, μόνο στην αλληλουχία του DNA του γονιδίου. Οι παθολογικές αυτές αλυσίδες είναι αιματολογικά «σιωπηρές» στους φορείς, όταν όμως συνδυαστούν με άλλες μεταλλάξεις α θαλασσαιμίας μπορεί να προκαλέσουν ένα μεγάλο εύρος φαινοτύπων όπως αιμοσφαιρινοπάθεια Η ή ενδιάμεση MA. Σε σπάνιες περιπτώσεις οι μεταλλάξεις αυτές σε ομόζυγη κατάσταση ή σε συνδυασμό με ελλείμματα  $\alpha^0$  μπορεί να προκαλέσουν εμβρυϊκό ύδρωπα (Traeger-Συνοδινού et al. 2011).

Πίνακας 2. Σημειακές μεταλλάξεις ή μικρά ελλείμματα (non deletion) που οδηγούν σε α-θαλασσαιμία (Harteveld and Higgs 2010).

Affected sequence	Affected gene *	Mutation(s)	HGV5	Synonym Hb- name	Distribution	Phenotype
<b>mRNA processing</b>						
Cryptic splicing	α2	Cd22 C>T	c.69C>T p.Gly23Gly		Surinamese	α*
IVS(donor)	α2	IVS I(-5 nt)	c.95+2_95+6delTGAGG		Mediterranean	α*
	α1	IVS I-1(g>a)	c.95+1G>A		Thai	α*
	α2	IVS II-2 (t>a)	c.300+2T>A		North-European	α* - α <sup>0</sup>
IVS(acceptor)	α2	IVS I-116 (a>g)	c.96-2A>G		Dutch	α*
	α1	IVS I-117 (g>a)	c.96-1G>A		Asian Indian	α*
	α2	IVS II-142 (g>a)	c.301-1G>A		Argentinian	α* - α <sup>0</sup>
	α1	IVS II-148 (a>g)	c.301-2A>G		Iranian	α*
Poly A signal	α2	PA del 16 bp	c.*74_*89delCCTTCCTGGTCTTT GA		Arab	α* - α <sup>0</sup>
	α2	PA1 (AATAAG)	c.*94A>G		Middle East, Med	α* - α <sup>0</sup>
	α2	PA2 (AATGAA)	c.*92A>G		Med, Chinese	α* - α <sup>0</sup>
	α2	PA3 (AATA-)	c.*93_*94delAA		Asian Indian	α* - α <sup>0</sup>
	α2	PA4 (AATAAC)	c.*94A>C			α* - α <sup>0</sup>
<b>mRNA translation</b>						
Initiation codon	- α <sup>37</sup>	init ATG>GTG	c.1A>G p.Met1Val		African	α <sup>0</sup>
	- α <sup>37</sup> II	init (-2 bp)	c.-2_-3delAC		N-African, Med	α* - α <sup>0</sup>
	α2	init ATG>ACG	c.2T>C p.Met1Thr		Med	α*
	α2	init ATG>A-G	c.2delT p.Met1fs		Vietnam	α*
	α1	init ATG>GTG	c.1A>G p.Met1Val		Med	α*
	α2	init ATG>-TG	c.1delA p.Met1fs		South-East Asian	α*
Exon I	α1	Cd14 G>A	c.44G>A p.Trp15X		Iranian	α <sup>0</sup>
	α2	Cd19 (-G)	c.60delG p.His21fs		Iranian	α*
	α2	Cd22 (-C)	c.69delC p.Gly23fs		African	
	α2	Cd23 (G>T)	c.70G>T p.Glu24X		Tunesian	α <sup>0</sup>
	- α	Cd30/31(-2 bp)	c.94_95delAG		African	α <sup>0</sup>
Exon II	α2	Cd39/41(del/ins)	c.118_126delACCAAGACC dup TACTTCCC p,Thr40fs		Yemenite-Jewish	α*
	α1	Cd51-55(-13 bp)	c.155_167delGCTCTGCCAGG T p.Gly52fs		Spanish	α*
	α1	Cd62(-G)	c.187delG p.Val63fs		African	
	α1	Cd78(-C)	c.237delC p.Asn79fs		Black/Chinese	
Exon III	α2	Cd90 A>T	c.271A>T p.Lys91X		Middle Eastern	α*
	α1	Cd108(-C)	c.326delC p.Thr109fs		Jewish	α* - α <sup>0</sup>
	α2	Cd113/114(-C)	c.342_343delC p.Leu114fs		Unknown	
	α2	Cd113-116(-12 bp)	c.[339C>G;340_351delCTCCCC GCCGAG]	Leida	Spanish	α* - α <sup>0</sup>
	α2	Cd116 G>T	c.349G>T p.Glu117X		African	α*
	α1	Cd131(+T)	c.396_397insT	Pak Num Po	Thai	α <sup>0</sup>
Termination codon	α2	Term Cd TAA>CAA	c.427T>C p.X143Gln	Constant Spring	South-East Asian	α*
	α2	Term Cd TAA>AAA	c.427T>A p.X143Lys	Icaria	Med	α*



Πίνακας 2. Σημειακές μεταλλάξεις ή μικρά ελλείμματα (non deletion) που οδηγούν σε α<sup>+</sup> θαλασσαιμία (Harteveld and Higgs 2010).

	a2	Term Cd TAA>TCA	c.428A>C p.X143Ser	Koya Dora	Indian	α <sup>+</sup>
	a2	Term Cd TAA>GAA	c.427T>G p.X143Glu	Seal Rock	African	α <sup>+</sup>
	a2	Term Cd TAA>TAT	c.429A>T p.X143Leu	Pakse	Laotian, Thai	α <sup>+</sup>
			<b>Post translational</b>			
Exon I	- a	Cd14 T>G	c.43T>G p.Trp15Gly	Evanston	African	α <sup>+</sup>
	a2	Cd21 G>T	c.64G>T p.Ala22Ser	Zoetermeer	Dutch	α <sup>+</sup>
	a2	Cd21 G>C	c.64G>C p.Ala22Pro	Fontaine-bleau	French	α <sup>+</sup>
	a2	Cd29 T>C	c.89T>C p.Leu30Pro	Agrinio	Med	α <sup>+</sup>
	a2	Cd30(-3 bp)	c.91_93delGAG p.Glu31del		Chinese	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
	a2	Cd31 G>A	c.95G>A		Chinese	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
Exon II	a2	Cd32 G>A	c.99G>A p.Met33Ile	Amsterdam	Surinamese black	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
	a2	Cd33 T>C	c.101T>C p.Phe34Ser	Chartres	French	α <sup>+</sup>
	a2	Cd35 T>C	c.106T>C p.Ser36Pro	Evora	Filipino, Portugese	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
	a1	Cd37(-3 bp)	c.112_114delCCC	Heraklion	Greece	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
	a2	Cd59 G>A	c.179G>A p.Gly60Asp	Adana	Chinese	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
	a1	Cd60/61(-3 bp)	c.184_186delAAG	Clinic	Spanish	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
	a2	Cd62(-3 bp)	c.187_189delGTG	Aghia Sophia	Greek	α <sup>0</sup>
	a1	Cd64-74(-33 bp)	c.196_228delGCGCTGACCAAG GCCGTGGCGCACGTGGAC		Greek	α <sup>0</sup>
	a2	Cd66 T>C	c.200T>C p.Leu67Pro	Dartmouth	Caucasian	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
	a2	Cd93 T>G	c.281T>G p.Val94Gly	Bronte	Italian	α <sup>+</sup>
	a1	Cd93-99(dup21 bp)	c.280_300dupGTGGACCCGGT CAACTTCAAG		Iranian	α <sup>+</sup> - α <sup>0</sup>
Exon III	a2	Cd103 A>T	c.311A>T p.His104Leu	Bronovo	Turkish	α <sup>+</sup>
	a2	Cd104 G>A	c.314G>A Cys105Tyr	Sallanches	French/Pakistani	α <sup>+</sup>
	a1	Cd104 T>A	c.313T>A p.Cys105Ser	Oegstgeest	Surinamese	α <sup>+</sup>
	a2	Cd108 C>A	c.326C>A p.Thr109Asn	Bleuland	Surinamese	α <sup>+</sup>
	a2	Cd109 T>G	c.329T>G p.Leu110Arg	Suan Dok	Thai	α <sup>+</sup>
	a	Cd110 C>A	c.332C>A Ala111Asp	Petah Tikva	Middle East	α <sup>+</sup>
	a1	Cd119 C>T	c.358C>T p.Pro120Ser	Groene Hart or Bernalda	Moroccan	α <sup>+</sup>
	a2	Cd125 T>G	c.377T>G p.Leu126Arg	Plasencia	Spanish	α <sup>+</sup>
	a2	Cd125 T>C	c.377T>C p.Leu126Pro	Quong Sze	Chinese	α <sup>+</sup>
	- α <sup>37</sup>	Cd125 T>A	c.377T>A p.Leu126Gln	Westeinde	Jewish	α <sup>0</sup>
	a1	Cd129 T>C	c.389T>C p.Leu130Pro	Tunis-Bizerte	Tunisian	α <sup>+</sup>
	a2	Cd129 T>C	c.389T>C p.Leu130Pro	Utrecht	Dutch	α <sup>+</sup>
	a2	Cd130 G>C	c.391G>C p.Ala131Pro	Sun Prairie	Asian Indian	α <sup>+</sup>
	a2	Cd131 T>C	c.394T>C p.Ser132Pro	Questembert	French/ Yugoslavian	α <sup>+</sup>
	a2	Cd132 T>G	c.398T>G p.Val133Gly	Caen	Caucasian	α <sup>+</sup>
	a2	Cd136 T>C	c.410T>C p.Leu137Pro	Bibba	Caucasian	α <sup>+</sup>

#### 2.1.4. α θαλασσαιμία που σχετίζεται με πνευματική καθυστέρηση

Το 1981 είχαν περιγραφεί τρεις βόρειες ευρωπαϊκές οικογένειες στις οποίες ένας σοβαρά διανοητικά καθυστερημένος γιο είχε επίσης και τη νόσο HbH (Weatherall et al, 1981). Παρόλο που οι κοινές μορφές της νόσου HbH κληρονομούνται πάντα με ένα μεντελικό τρόπο, σε αυτές τις οικογένειες αυτό φαίνεται ότι δεν ίσχυε. Μέχρι το 1990, συνολικά 13 ασθενείς με διάφορες μορφές α-θαλασσαιμίας και διανοητικής καθυστέρησης (ATR) είχαν εντοπιστεί και δύο διακριτά σύνδρομα περιγράφηκαν (Wilkie et al, 1990α, Wilkie et al, 1990c). Μία ομάδα ασθενών είχε μεγάλα (1-2 μεγαβάσεων) ελλείμματα στο άκρο του χρωμοσώματος 16, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων του συμπλέγματος α. Τα κλινικά χαρακτηριστικά του λεγόμενου ATR-16 συνδρόμου είναι ποικίλα, εν μέρει επειδή ορισμένοι ασθενείς έχουν επιπλέον χρωμοσωμική ανευπλοειδία. Για παράδειγμα, ένα παιδί με το ATR-16 σύνδρομο είχε κληρονομήσει μια μη ισορροπημένη υπομικροσκοπική 16: 1 χρωμοσωμική μετατόπιση από έναν από τους γονείς του (Lamb et al, 1989). Έτσι, αυτό το παιδί ήταν μονοσωμικό για το άκρο του χρωμοσώματος 16p, εμφανίζοντας α-θαλασσαιμία, και τρισωμικό για την άκρη του χρωμοσώματος 1. Ορισμένες περιπτώσεις του ATR-16 συνδρόμου εμφανίζουν καθαρή μονοσωμία για την άκρη του 16p. Αυτό υποδηλώνει ότι υπάρχουν και άλλα γονίδια, κρίσιμης σημασίας για την φυσιολογική ανάπτυξη, στην περιοχή των α-γονιδίων στο άκρο του χρωμοσώματος 16. Ελλείμματα σε αυτά τα γονίδια μαζί με τα γονίδια α-σφαιρίνης μπορεί να οδηγήσουν σε συνδυασμό νοητικής υστέρησης και α-θαλασσαιμίας (Higgs 1993).

Αντίθετα, μια δεύτερη ομάδα από ασθενείς με α-θαλασσαιμία και νοητική υστέρηση δεν εμφανίζονται ελλείμματα ή οποιεσδήποτε άλλες προφανείς ανωμαλίες του συμπλέγματος της α-σφαιρίνης. Αυτοί οι ασθενείς έχουν αξιοσημείωτα ομοιόμορφο φαινότυπο, που περιλαμβάνει σοβαρή διανοητική καθυστέρηση, χαρακτηριστικό δύσμορφο πρόσωπο, ανωμαλίες των γεννητικών οργάνων και μια ασυνήθιστα ήπια μορφή της νόσου HbH. Σήμερα πάνω από 180 οικογένειες με αυτό το σύνδρομο έχουν εντοπιστεί. Έχειδειχθεί ότι αυτή η διαταραχή χαρτογραφείται στο χρωμόσωμα X (Gibbons, 1992) και αναφέρεται ως σύνδρομο ATR-X. Ως εκ τούτου, φαίνεται να υπάρχει μια trans-δραστική επίδραση κωδικοποιημένη στο χρωμόσωμα X η οποία όταν μεταλλάσσεται είναι ικανή να ρυθμίσει

αρνητικά την έκφραση των α-γονιδίων (στο χρωμόσωμα 16) σε συνδυασμό με επιπλέον πλειοτροπικές επιδράσεις σε ολόκληρη την ανάπτυξη που οδηγούν σε νοητική υστέρηση και δυσμορφία (Higgs 1993).

## 2.2 Φαινοτυπική ετερογένεια α-θαλασσαιμίας

Οι κλινικοί φαινότυποι της α-θαλασσαιμίας κατατάσσονται σε τέσσερις τύπους (σχήμα 5, πίνακας 3) που κυμαίνονται από ήπιες έως σοβαρές καταστάσεις, ανάλογα με τον αριθμό των ελαττωματικών γονιδίων α-σφαιρίνης. Η μεγάλη ετερογένεια στις κλινικές και αιματολογικές εικόνες σχετίζεται με το ευρύ φάσμα μοριακών διαταραχών που οδηγούν σε μια μεγάλη ποικιλία γενοτύπων η οποία χαρακτηρίζεται από την απώλεια του ενός, δύο, τριών ή και των τεσσάρων γονιδίων της α-σφαιρίνης. Σε γενικές γραμμές, η απώλεια ενός μόνο α-γονιδίου οδηγεί σε πολύ ήπιες κλινικές καταστάσεις, οι σημειακές μεταλλάξεις που περιλαμβάνουν το γονίδιο α2 είναι υπεύθυνες για πιο έντονο φαινότυπο, ενώ τα ελλείμματα και των δύο α γονιδίων οδηγούν σε ακόμη σοβαρότερες καταστάσεις (πίνακας 3) (Higgs & Gibbons, 2010, Weatherall, 2010).

Το έλλειμμα ενός γονιδίου (-α/α) συνδέεται με τις πιο ήπιες κλινικές μορφές θαλασσαιμίας, που αναφέρονται ως κατάσταση σιωπηλού φορέα (silent carrier), οι οποίες χαρακτηρίζονται από μικρή ανισορροπία στην παραγωγή α και μη α αλυσίδων σφαιρίνης, φυσιολογικές τιμές HbA<sub>2</sub> και ήπια μικροκυττάρωση (microcytosis), με ή χωρίς αναιμία.

Οι φορείς του στίγματος της α-θαλασσαιμίας (α-thalassaemia trait) χαρακτηρίζονται από ήπια ή μέτρια μικροκυτταρική και υποχρωμική αναιμία, η οποία είναι κλινικά ασυμπτωματική και γενικά διαγιγνώσκεται κατά τη διάρκεια ενός τακτικού ελέγχου της υγείας ή κατά τον προγεννητικό έλεγχο. Αυτή η κατάσταση συνήθως δημιουργείται από την απώλεια δύο α γονιδίων (-α/-α ή -/α).

Πίνακας 3. Φαινότυπος-Γονότυπος στην α θαλασσαιμία

ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ	ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ
Σιωπηλός Φορέας	-α/αα	Ασυμπτωματικός Χωρίς αιματολογικές ανωμαλίες
Στίγμα	-α/-α --/αα	Ασυμπτωματική αναιμία Μικροκυττάρωση και Υπερχρωμία
Αιμοσφαιρινοπάθεια Η (HbH)	--/-α	Ήπια-μέτρια αναιμία Ανεξάρτητη από μετάγγιση Η κλινική σοβαρότητα είναι μεταβλητή και κυμαίνεται από μικρή έως μεγάλη
Εμβρυικός ύδρωπας	--/--	Οι περισσότεροι αναπτύσσουν εμβρυικό ύδρωπα και πεθαίνουν στη μήτρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, ή λίγο μετά τη γέννηση Οι επιζώντες εξαρτώνται από μετάγγιση αίματος

Η ασθένεια HbH (--/-α) συχνότερα είναι το αποτέλεσμα της σύνθετης ετεροζυγωτίας για α<sup>+</sup> και α<sup>0</sup> μεταλλάξεις και ως εκ τούτου, κατά κύριο λόγο απαντάται στη Νοτιοανατολική Ασία και στην περιοχή της Μεσογείου, όπου αυτές οι διαταραχές είναι πιο συχνές. Οι μορφές της νόσου HbH που δημιουργούνται από σημειακές μεταλλάξεις είναι πιο σοβαρές από εκείνες που προκλήθηκαν από κοινά ελλείμματα α-θαλασσαιμικών τύπων. Η κλινική εικόνα παρομοιάζει αυτήν της ενδιάμεσης β-θαλασσαιμίας. Η νόσος HbH χαρακτηρίζεται από σημαντική ποικιλότητα στη σοβαρότητα των αιματολογικών συνθηκών. Τα κυρίαρχα χαρακτηριστικά: είναι διαφορετικός βαθμός αναιμίας, με τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης να κυμαίνονται από 2,6 έως 12,4 g/dl, και τα ποσά της HbH από 2 έως 40% της ολικής αιμοσφαιρίνης. Η Hb Bart's περιστασιακά ανιχνεύεται στο περιφερικό αίμα. Οι HbH ασθενείς συνήθως έχουν ηπατοσπληνομεγαλία, ίκτερο σε διαφορετικό βαθμό,

χολολιθίαση και οξεία αιμολυτικά επεισόδια που προκαλούνται από μολύνσεις ή φαρμακευτικές αγωγές. Ο κύριος μηχανισμός της αναιμίας οφείλεται σε αιμόλυση και δυσερυθροποίηση.

Οι πιο σοβαρές διαταραχές στη σύνθεση των αλυσίδων α-σφαιρίνης οδηγούν σε εμβρυικό ύδρωπα (Hb Bart's hydrops fetalis syndrome), το οποίο είναι συνήθως το αποτέλεσμα της κληρονόμησης δύο  $\alpha^0$  μεταλλάξεων, αν και μπορεί επίσης να προκύψει λόγω σύνθετης ετεροζυγωτίας για μια σημειακή μετάλλαξη και ένα έλλειμμα  $\alpha^0$ . Σε αυτό το σύνδρομο το μεγαλύτερο μέρος της κυκλοφοριακής αιμοσφαιρίνης αποτελείται από μη λειτουργικά ομοτετραμερή  $\gamma_4$  και  $\beta_4$ , με επίσης μεταβλητές ποσότητες της εμβρυϊκής Hb Portland, η οποία είναι ο μόνος λειτουργικός τύπος αιμοσφαιρίνης σε αυτούς τους ασθενείς. Η σοβαρότητα της αναιμίας και η καρδιακή ανεπάρκεια, μαζί με άλλα χαρακτηριστικά αυτού του συνδρόμου, είναι αυτά που συχνά οδηγούν σε θάνατο στη μήτρα (23-38 εβδομάδες κύησης) ή σύντομα μετά τη γέννηση (Higgs 1993, Weatherall & Clegg 2001, Grosso et al. 2012).

Γεγονός είναι ότι υπάρχουν πλέον περίπου 128 διαφορετικές μοριακές μεταλλάξεις που είναι γνωστό ότι προκαλούν α θαλασσαιμία και ένας συνεχώς αυξανόμενος αριθμός πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους. Οι κλινικοί φαινότυποι που προκύπτουν από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των διαφόρων μοριακών ελαττωμάτων συνοψίζονται στον Πίνακα 4. Η σοβαρότητα της κλινικής εικόνας σχετίζεται με τον βαθμό της ανεπάρκειας σύνθεσης της  $\alpha$  αλυσίδας (Harteveld and Higgs 2010).

Πίνακας 4. Αλληλεπιδράσεις στην α θαλασσαιμία (προσαρμοσμένο από Weatherall and Clegg 2001).

	α+				α0		
	α α	α αT	- α	αTα	- αT	--	(αα)
α <sup>0</sup>	--	T	H	H	H, Hy	H	Hy
	(αα)	T		H			
α <sup>+</sup>	- αT	T	Unk	H	T	H	
	αTα	T	Unk	T	T, H		
	- α	T	Unk	T			
	α αT	T	Unk				
	α α	N					

Abbreviations: (αα), non-deletion α<sup>0</sup> thalassaemia (due to upstream deletion); -, deletion α<sup>0</sup> thalassaemia; N, non-thalassaemic; T, α-thalassaemia trait; H, HbH disease; Hy, Bart's hydrops foetalis syndrome; Unk, unknown, not observed yet. The severity of the condition, thalassaemia trait or HbH disease is determined by the severity of down-regulation by the non-deletion mutant, this remains to be determined through further observation (adapted from Weatherall and Clegg 2001)[5].

### 3. Η Β-Θαλασσαιμία

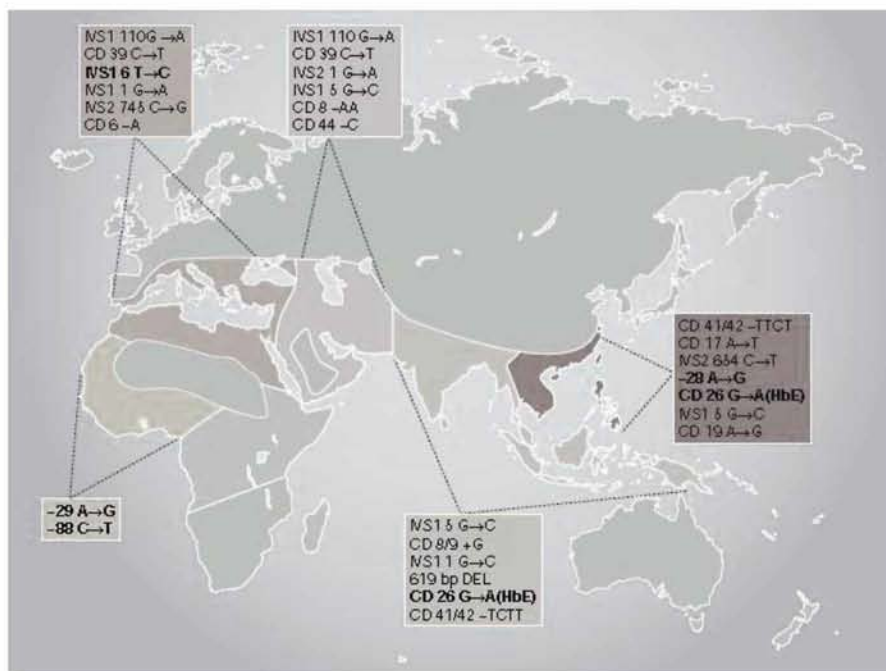
Η β-θαλασσαιμία είναι μια αυτοσωματική υπολειπόμενη διαταραχή, προκαλείται από την μείωση ( $\beta^+$  θαλασσαιμία) ή την πλήρη απουσία ( $\beta^0$  θαλασσαιμία) σύνθεσης των αλυσίδων της β-σφαιρίνης (Weatherall 1997a). Κάποιες μεταλλάξεις που επιτρέπουν σε έναν μεγάλο βαθμό τη σύνθεση των β αλυσίδων είναι γνωστές ως μεταλλάξεις  $\beta^{++}$  (Traeger et al 2011). Αυτό οδηγεί σε μη ισορροπημένη σύνθεση των αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης και την παραγωγή περίσσειας α αλυσίδων, οι οποίες συγκεντρώνονται στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα, οδηγώντας στην καταστροφή τους στον μυελό των οστών ή στο περιφερικό αίμα. Αυτή η διαδικασία προκαλεί σοβαρή αναιμία, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ερυθροποιητίνης και την διόγκωση του μυελού των οστών, παραμορφώσεις των οστών, σπληνομεγαλία, και καθυστέρηση της ανάπτυξης. Η θεραπεία με τακτικές μεταγγίσεις αίματος μπορεί να αντιστρέψει αυτούς τους παθολογικούς μηχανισμούς έτσι ώστε η ανάπτυξη να είναι φυσιολογική (Weatherall 1998). Αν όμως δεν αφαιρεθεί η περίσσεια σιδήρου που προέρχεται από τη μετάγγιση, οι ασθενείς πεθαίνουν κατά τη δεύτερη ή τρίτη δεκαετία της ζωής τους από υπερφόρτωση σιδήρου στο μυοκάρδιο, το ήπαρ και τους ενδοκρινείς αδένες (Weatherall 1997b).

Η κλινική εικόνα της ανεπαρκούς αντιμετώπισης της β θαλασσαιμίας χαρακτηρίζεται από σοβαρή αναιμία, σπληνομεγαλία, αλλαγές οστών, και επιρρέπεια σε λοιμώξεις. Ωστόσο, η σοβαρότητα της νόσου ποικίλει εξαιρετικά και οι λεγόμενες σοβαρές μορφές της ασθένειας αντανakλούν το σοβαρό άκρο ενός φάσματος που εκτείνεται από τις λιγότερο σοβαρές αναιμίες, οι οποίες δεν χρειάζονται μετάγγιση, στις ενδιάμεσες μορφές της β θαλασσαιμίας μέχρι τις εντελώς ασυμπτωματικές μορφές που αναγνωρίζονται μόνο κατά τύχη (Σχήμα 10). Οι λόγοι για αυτή την κλινική ετερογένεια δεν είναι εντελώς σαφείς, παρόλα αυτά η συνύπαρξη της α θαλασσαιμίας, η οποία μειώνει την περίσσεια των αλυσίδων της α σφαιρίνης που παράγονται, και η γενετικά καθορισμένη ικανότητα για παραγωγή υψηλών επιπέδων εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες προς την κατεύθυνση αυτή (Weatherall 1996).



Σχήμα 10. Ανάγκη για μετάγγιση στις διάφορες μορφές θαλασσαιμίας (τροποποιημένο από Mussalam et al. 2013).

Η β-θαλασσαιμία είναι συχνότερη σε άτομα που κατάγονται από τη Μεσόγειο, την Αφρική, τη Μέση Ανατολή, την Ινδία, την Κίνα και τη Νοτιο-Ανατολική Ασία (Εικόνα 2).



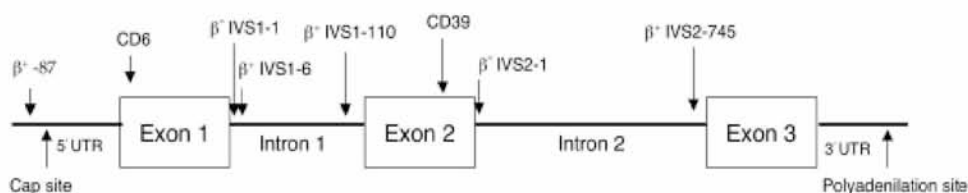
Εικόνα 2. Γεωγραφική κατανομή των β-θαλασσαιμιών και παρουσίαση των πιο συχνών μεταλλάξεων ανά περιοχή. Με πιο έντονα γράμματα συμβολίζονται οι πιο κοινές ήπιες μεταλλάξεις (Weatherall 2001).



### 3.1 Μοριακή βάση της β θαλασσαιμίας

Περισσότερες από 300 διαφορετικές μεταλλάξεις έχουν συσχετιστεί με τη β-θαλασσαιμία, οι οποίες επηρεάζουν διαφορετικά επίπεδα της γονιδιακής ρύθμισης και έκφρασης (Hardison et al.1998, Giardine et al. 2007, Muncie and Campbell 2009, Thein 2013). Η πλειοψηφία των μεταλλάξεων είναι σημειακές νουκλεοτιδικές αλλαγές (αντικαταστάσεις μιας βάσης, ελλείμματα ή ενθέσεις λίγων νουκλεοτιδίων) σε λειτουργικά σημαντικές περιοχές του γονιδίου της β-σφαιρίνης. Σε αντίθεση με την α θαλασσαιμία, τα ελλείμματα στο γονίδιο της β-σφαιρίνης είναι ασυνήθιστα. (Traeger-Synodinos 2011, Galanello 2012, Grosso et al. 2012).

Οι μεταλλάξεις που προκαλούν β-θαλασσαιμία μπορεί να συμβούν σε αλληλουχίες εξωνίου ή ιντρονίου, καθώς επίσης και στον υποκινητή ή την 5' και 3' αμετάφραστη περιοχή (UTR) (Σχήμα 11) και ομαδοποιούνται με βάση το μηχανισμό που τροποποιούν τη σύνθεση των β αλυσίδων δηλαδή τη μεταγραφή, την επεξεργασία του RNA ή την μετάφραση του mRNA της β σφαιρίνης (Traeger et al. 2011, Thein 2013).



Σχήμα 11. Σχηματική αναπαράσταση του γονιδίου β-σφαιρίνης. Τα βέλη δείχνουν τις θέσεις των πιο συχνών μεταλλάξεων που προκαλούν β-θαλασσαιμία στην περιοχή της Μεσογείου (Rosatelli et al., 1992).

#### 3.1.1. β θαλασσαιμία που οφείλεται σε σημειακές μεταλλάξεις

Ως συνέπεια του τύπου και της θέσης των μεταλλάξεων, έχουν αναφερθεί να επηρεάζουν την έκφραση του γονιδίου β-σφαιρίνης στα ακόλουθα στάδια της μεταγραφής, της επεξεργασίας ή της μετάφρασης του RNA.

##### • Μεταλλάξεις που αφορούν στη μεταγραφή,

Τέτοιες μεταλλάξεις που συμβαίνουν στην περιοχή του υποκινητή, δηλαδή, στις αλληλουχίες που αναγνωρίζουν οι πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε μεταγραφικούς ή μετα-μεταγραφικούς μηχανισμούς όπως οι συντηρημένες

αλληλουχίες TATA, CCAAT και CACCC. Γενικώς, τέτοιες μεταλλάξεις προκαλούν ήπιες μορφές β-θαλασσαιμίας, δηλαδή είναι  $\beta^+$  ή  $\beta^{++}$  (Grosso et al. 2012). Μερικά από τα αλληλόμορφα της β-θαλασσαιμίας είναι τόσο ήπια ώστε οι ετεροζυγώτες (φορείς) είναι «σιωπηλοί» με σχεδόν φυσιολογικούς δείκτες ερυθροκυττάρων και επιπέδων HbA<sub>2</sub>, με τη μόνη ανωμαλία να είναι η μη ισορροπημένη σύνθεση των αλυσίδων σφαιρίνης (Gonzalez-Redondo et al. 1989). Γενικά, τα «σιωπηλά» αλληλόμορφα της β-θαλασσαιμίας δεν είναι τόσο συχνά, εκτός από την -101 C → T μετάλλαξη, η οποία έχει παρατηρηθεί αρκετά συχνά στην περιοχή της Μεσογείου και αλληλεπιδρά με πλειονότητα από σοβαρότερες μεταλλάξεις β-θαλασσαιμίας για την παραγωγή ηπιότερων μορφών της β-θαλασσαιμίας (Maragoudaki et al. 1999). Στη Μεσόγειο επίσης συναντώνται οι μεταλλάξεις -92 (C → T) και -87 (C → G) που προκαλούν «σιωπηλή»  $\beta^{++}$  θαλασσαιμία (Thein 2013). Άλλες «σιωπηλές» μεταλλάξεις εντοπίζονται στην περιοχή των 50 νουκλεοτιδίων στην 5' μη μεταφραζόμενη περιοχή του γονιδίου (Traeger et al. 2011). Αυτές που εμφανίζονται στο Ελληνικό πληθυσμό είναι οι CAP + 10( -T ) και CAP + 33 (C → G) που οδηγούν σε «σιωπηλή»  $\beta^{++}$  θαλασσαιμία. Δεν είναι γνωστό εάν οι μεταλλάξεις στα σημεία CAP προκαλούν β-θαλασσαιμία μειώνοντας τη μεταγραφή του γονιδίου της β-σφαιρίνης ή μειώνοντας την αποτελεσματικότητα της επικάλυψης (μετα-μεταγραφική προσθήκη m<sup>7</sup>G) και της μετάφρασης του mRNA (Thein 2013).

#### • **Μεταλλάξεις που αφορούν στη επεξεργασία του RNA**

Αυτές μπορεί να συμβούν σε θέσεις ματίσματος ή πολυαδενυλίωσης. Οι μεταλλάξεις στις θέσεις ματίσματος του RNA είναι αρκετά κοινές και αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο τμήμα του συνόλου των μεταλλάξεων της β-θαλασσαιμίας. Οι μεταλλάξεις αυτές επηρεάζουν τη διαδικασία ματίσματος σε διαφορετικό βαθμό, ανάλογα με την θέση στην οποία λαμβάνει χώρα η μετάλλαξη (Grosso et al. 2012). Οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν οποιοδήποτε από τα αμετάβλητα δινουκλεοτίδια στη θέση ιντρονίου-εξωνίου ( GT στο 5' άκρο και AG στο 3' άκρο) καταργούν εντελώς το φυσιολογικό μάτισμα και οδηγούν σε  $\beta^0$  θαλασσαιμία (Thein 2013). Παράδειγμα τέτοιων μεταλλάξεων είναι η IVS 1-1 (G→A) η οποία είναι πολύ κοινή στις μεσογειακές χώρες (Traeger et al. 2011). Επίσης, μεταλλάξεις συμβαίνουν και μέσα στις

συντηρημένες περιοχές στα άκρα των ιντρονίων (consensus sequences at the splice junctions) με αποτέλεσμα τη μείωση της αποτελεσματικότητας του φυσιολογικού ματίσματος σε διαφορετικό βαθμό και πρόκληση φαινοτύπων β-θαλασσαιμίας που κυμαίνονται από ήπιοι έως πιο σοβαροί. Στους μεσογειακούς πληθυσμούς οι πιο κοινές μεταλλάξεις τέτοιου τύπου είναι η IVS 1-5 (G→A) που οδηγεί σε β<sup>+</sup> θαλασσαιμία και η IVS 1-6 (T→C) που οδηγεί σε β<sup>++</sup> θαλασσαιμία (Thein 2013). Άλλες μεταλλάξεις που συμβαίνουν σε αλληλουχίες εξωνίου ή ιντρονίου μπορούν να ενεργοποιήσουν μια εναλλακτική θέση ματίσματος του RNA, οδηγώντας έτσι σε ανώμαλη επεξεργασία του mRNA. Οι εναλλακτικές θέσεις ματίσματος του RNA ανταγωνίζονται τις φυσιολογικές κατά τη διαδικασία της επεξεργασίας του πρώιμου RNA. Ακόμη και σε αυτές τις περιπτώσεις το ελαττωματικό μάτισμα συμβαίνει σε ποικίλο βαθμό, με αποτέλεσμα φαινοτύπους που κυμαίνονται από ήπιους έως σοβαρούς. Η βαρύτητα τους εξαρτάται από τη σχετική ποσότητα του φυσιολογικού σε σχέση με το παθολογικό RNA. Στο μεσογειακό πληθυσμό τέτοια μετάλλαξη είναι η IVS-110 (G→A) η οποία οδηγεί σε β<sup>+</sup> θαλασσαιμία (Traeger et al. 2011, Grosso et al. 2012, Thein 2013). Μεταλλάξεις συμβαίνουν και στη θέση πολυαδενυλίωσης ή στο 3' UTR. Αυτές οι μεταλλάξεις συνδέονται γενικά με ήπιους φαινοτύπους β-θαλασσαιμίας. Παραδείγματα αποτελούν η AATAAA→AATGAA που εντοπίζεται στην πολύ-A ουρά και οδηγεί σε β<sup>++</sup> θαλασσαιμία στη Μεσόγειο, και η Term CD +6, C→G στην 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή του γονιδίου που οδηγεί σε «σιωπηλή» β<sup>++</sup> θαλασσαιμία στους Έλληνες (Thein 2013).

#### • **Μεταλλάξεις που αφορούν στη μετάφραση του mRNA**

Οι μεταλλάξεις αυτές επηρεάζουν είτε την έναρξη της μεταγραφής με αλλαγές στο κωδικόνιο έναρξης (ATG) είτε δημιουργώντας πρόωρα κωδικόνια τερματισμού ή μετατοπίζοντας το πλαίσιο ανάγνωσης να δημιουργούν κωδικόνιο τερματισμού. Οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν το κωδικόνιο έναρξης (ATG) οδηγούν όλες σε β<sup>0</sup>-θαλασσαιμία. Μία μετάλλαξη περιλαμβάνει μια προσθήκη 45 bp μεταξύ των θέσεων -22 και +23, επηρεάζοντας έτσι το κωδικόνιο έναρξης. Οι υπόλοιπες μεταλλάξεις είναι απλές σημειακές αντικαταστάσεις βάσεων, δύο επηρεάζουν το πρώτο (A),

τρεις το δεύτερο (T) και τρεις το τρίτο (G) νουκλεοτιδίο του ATG (Jankovic et al. 1990, Lam et al. 1990, Hattori et al. 1991, Saba et al. 1992, Ohba et al. 1997, Forget 2001, Blacklock et al. 2005, Thein and Wood 2009). Είναι θεωρητικά δυνατό τα μεταλλαγμένα β mRNAs να ξεκινήσουν να παράγονται από τα επόμενα κωδικόνια έναρξης, τα οποία βρίσκονται στα κωδικόνια 21 και 22, ή στο κωδικόνιο 55. Εντούτοις, προβλέπεται ότι αυτά τα εναλλακτικά κωδικόνια έναρξης θα οδηγήσουν σε πρόωρο τερματισμό, και ότι τα μεταλλαγμένα mRNAs θα είναι μη λειτουργικά και υποβάλλονται «nonsense mediated decay» (NMD) (Thein 2013).

Ο πρόωρος τερματισμός της σύνθεσης της αλυσίδας της σφαιρίνης οδηγεί στην παραγωγή βραχέων, μη βιώσιμων β αλυσίδων ή σε ένα φαινόμενο γνωστό ως «nonsense mediated decay» (NMD) των ανώμαλων mRNA (Grosso et al. 2012). Περίπου οι μισές μεταλλάξεις της β θαλασσαιμίας προκαλούνται από πρόωρα κωδικόνια τερματισμού που δημιουργούνται είτε λόγω άμεσων μεταλλάξεων που δημιουργούν ένα κωδικόνιο λήξης ή μέσω της αλλαγής στο πλαίσιο ανάγνωσης με προσθήκη ή έλλειμμα ενός ή μερικών νουκλεοτιδίων (Thein 2013). Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις, οι μεταλλάξεις είναι β<sup>0</sup> τύπου και οδηγούν σε σοβαρή αναιμία (Grosso et al. 2012). Μία από τις πρώτες nonsense μεταλλάξεις που χαρακτηρίστηκαν και να μελετήθηκαν εκτενώς ήταν η μετάλλαξη στο κωδικόνιο 39 (CAG προς TAG) (Humphries et al. 1984, Takeshita et al. 1984, Huang and Benz 2001). Αυτή η μετάλλαξη είναι η δεύτερη πιο κοινή αιτία της β-θαλασσαιμίας στους Μεσογειακούς πληθυσμούς και ευθύνεται για τις περισσότερες από τις περιπτώσεις β-θαλασσαιμίας στη Σαρδηνία (Thein 2013). Παράδειγμα μετάλλαξης που προκαλεί πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού μέσω της αλλαγής αναγνωστικού πλαισίου είναι αυτή της προσθήκης T στο εξώνιο 1 (CD 9/10 (+T)) η οποία εμφανίζεται στον ελληνικό πληθυσμό και προκαλεί β<sup>0</sup> θαλασσαιμία (<http://www.ithanet.eu/db>).

Το σύνολο των σημειακών μεταλλάξεων που οδηγούν στη β θαλασσαιμία παρουσιάζεται στον πίνακα 5.

Πίνακας 5. Σημειακές μεταλλάξεις που προκαλούν β θαλασσαιμία (Thein 2013).

Mutation	Type	Distribution
<b>I. Transcriptional mutations</b>		
<i>Promoter regulatory elements</i>		
1) -101 (C → T)	β <sup>++</sup> (silent)	Mediterranean
2) -101 (C → G)	β <sup>++</sup> (silent)	Ashkenazi Jew
3) -92 (C → T)	β <sup>++</sup> (silent)	Mediterranean
4) -90 (C → T)	β <sup>+</sup>	Portuguese
5) -88 (C → T)	β <sup>++</sup>	U.S. Blacks, Asian Indians
6) -88 (C → A)	β <sup>+</sup>	Kurds
7) -87 (C → G)	β <sup>++</sup>	Mediterranean
8) -87 (C → T)	β <sup>++</sup>	German, Italian
9) -87 (C → A)	β <sup>++</sup>	U.S. Blacks
10) -86 (C → G)	β <sup>+</sup>	Thai, Lebanese
11) -86 (C → A)	β <sup>++</sup>	Italian
12) -73 (A → T)	β <sup>++</sup>	Chinese
13) -32 (C → A)	β <sup>+</sup>	Taiwanese
14) -32 (C → T)	β <sup>+</sup>	Hispanic
15) -31 (A → G)	β <sup>+</sup>	Japanese
16) -31 (A → C)	β <sup>+</sup>	Italian
17) -30 (T → A)	β <sup>+</sup>	Mediterranean, Bulgarian
18) -30 (T → C)	β <sup>+</sup>	Chinese
19) -29 (A → G)	β <sup>+</sup>	U.S. Blacks, Chinese
20) -29 (A → C)	β <sup>+</sup>	Jordanian
21) -29 (G → A)	β <sup>+</sup>	Turkish
22) -28 (A → C)	β <sup>+</sup>	Kurds
23) -28 (A → G)	β <sup>+</sup>	Blacks, SE Asians
24) -27 (A → T)	β <sup>+</sup>	Corsican
25) -27 to -26 (-AA)	β <sup>+</sup>	African American
26) -25 (G → C)	β <sup>+</sup>	African American
<i>5' UTR</i>		
27) CAP +1 (A → C)	β <sup>++</sup> (silent)	Asian Indian
28) CAP +8 (C → T)	β <sup>++</sup> (silent)	Chinese
29) CAP +10 (-T)	β <sup>++</sup> (silent)	Greeks
30) CAP +20 (C → T) <sup>a</sup>	?	Bulgarian
31) CAP +22 (G → A)	β <sup>++</sup>	Mediterranean, Bulgarian
32) CAP +33 (C → G)	β <sup>++</sup> (silent)	Greek Cypriot
33) CAP +40 to +43 (-AAAC)	β <sup>+</sup>	Chinese
34) CAP +45 (G → C)	β <sup>+</sup>	Italian
<b>II. RNA processing</b>		
<i>Splice junction</i>		
1) IVS1-(-2) CD30 (AGG → GGG)	β <sup>0</sup>	Sephardic Jews
2) IVS1-(-2) CD30 (AGG → CGG)	β <sup>0</sup>	Italian Canadian
3) IVS1-(-1) CD30 (AGG → ACG) (Arg → Thr)	β <sup>0</sup>	Mediterranean, U.S. Blacks, N. African, Kurds, UAE
4) IVS1-(-1) CD30 (AGG → AAG)	β <sup>0</sup>	Bulgaria, UAE
5) IVS1-1 (G → A)	β <sup>0</sup>	Mediterranean
6) IVS1-1 (G → T)	β <sup>0</sup>	Asian Indian, SE Asian, Chinese
7) IVS1-1 (G → C)	β <sup>0</sup>	Italian Canadian, Japanese
8) IVS1-2 (T → G)	β <sup>0</sup>	Tunisian
9) IVS1-2 (T → C)	β <sup>0</sup>	U.S. Blacks

Πίνακας 5. Συνέχεια

Mutation	Type	Distribution
10) IVS1-2 (T → A)	β <sup>o</sup>	Algerian, Italian
11) IVS2-1 (G → A)	β <sup>o</sup>	Mediterranean, U.S. Blacks
12) IVS2-1 (G → C)	β <sup>o</sup>	Iranian
13) IVS2-2 (T → A)	? β <sup>o</sup>	Turkish
14) IVS2-2 (-T)	β <sup>o</sup>	Chinese
15) IVS1-3' del 17 bp	β <sup>o</sup>	Kuwaiti
16) IVS1-3' end del 25 bp	β <sup>o</sup>	Asian Indian, UAE
17) IVS1-3' end del 44 bp	β <sup>o</sup>	Mediterranean
18) IVS1-3' end duplication 22 bp	β <sup>o</sup>	Thai
19) IVS1-130 (G → C)	β <sup>o</sup>	Italian, Japanese, UAE
20) IVS1-130 G → A	β <sup>o</sup>	Egyptian
21) IVS1-130 (+1) CD30 (AGG → AGC) (Arg → Ser)	β <sup>o</sup>	Middle East
22) IVS2-849 (A → G)	β <sup>o</sup>	U.S. Blacks
23) IVS2-849 (A → C)	β <sup>o</sup>	U.S. Blacks
24) IVS2-850 (G → C)	β <sup>o</sup>	Yugoslavian
25) IVS2-850 (G → A)	β <sup>o</sup>	N. European
26) IVS2-850 (G → T)	β <sup>o</sup>	Japanese
27) IVS2-850 (-G)	β <sup>o</sup>	Italian
<i>Consensus splice sites</i>		
28) IVS1-5 (G → C)	β <sup>o</sup>	Asian Indian, SE Asian, Melanesian
29) IVS1-5 (G → T)	β <sup>+</sup>	Mediterranean, N. European
30) IVS1-5 (G → A) <sup>b</sup>	β <sup>+</sup>	Mediterranean, Algerian
31) IVS1-6 (T → C)	β <sup>++</sup>	Mediterranean
32) IVS1- (-3) CD29 (GGC → GGT)	β <sup>+</sup>	Lebanese
33) IVS1-128 (T → G)	β <sup>+</sup>	Saudi Arabian
34) IVS1-129 (A → G)		German
35) IVS2-5 (G → C)	β <sup>+</sup>	Chinese
36) IVS2-843 (T → G)	β <sup>+</sup>	Algerian
37) IVS2-844 (C → G)	β <sup>++</sup> (silent)	Italian
38) IVS2-844 (C → A)	β <sup>++</sup> (silent)	Ghanaian
39) IVS2-848 (C → A)	β <sup>+</sup>	UB Blacks, Egyptian, Iranian
40) IVS2-848 (C → G)	β <sup>+</sup>	Japanese
<i>Cryptic splice sites</i>		
41) IVS1-110 (G → A)	β <sup>+</sup>	Mediterranean
42) IVS1-116 (T → G)	β <sup>o</sup>	Mediterranean
43) IVS2-654 (C → T)	β <sup>o</sup> /β <sup>+</sup>	Chinese, SE Asians, Japanese
44) IVS2-705 (T → G)	β <sup>+</sup>	Mediterranean
45) IVS2-745 (C → G)	β <sup>+</sup>	Mediterranean
46) IVS2-837 (T → G)	?	Asian Indian
47) CD10 (GCC → GCA)		Asian Indian
48) CD19 (AAC → AGC) Hb Malay (Asn → Ser)	β <sup>++</sup>	SE Asian
49) CD24 (GGT → GGA)	β <sup>++</sup>	U.S. Black, Japanese
50) CD26 (GAG → AAG) (Glu → Lys, Hb E)	β <sup>+</sup>	SE Asian, European
51) CD26 (GAG → GCG) (Glu → Ala, Hb Tripoli)	β <sup>+</sup>	Libyan

Πίνακας 5. Συνέχεια

Mutation	Type	Distribution
52) CD27 (GCC → TCC) (Ala → Ser, Knossos) <sup>c</sup>	$\beta^+$	Mediterranean
<i>RNA cleavage—Poly A signal</i>		
53) AATAAA → AACAAA	$\beta^{++}$	U.S. Blacks
54) AATAAA → AATGAA	$\beta^{++}$	Mediterranean
55) AATAAA → AATAGA	$\beta^{++}$	Malay
56) AATAAA → AATAAG	$\beta^{++}$	Kurd
57) AATAAA → AA AA	$\beta^+$	French, U.S. Blacks
58) AATAAA → A	$\beta^+$	Kurd, UAE
59) AATAAA → AAAAAA	$\beta^+$	Tunisian
60) AATAAA → CATAAA	$\beta^{++}$ (silent)	Chinese
61) AATAAA → GATAAA	$\beta^+$	Czechoslovakian, Mediterranean Yugoslavian, Canadian
62) AATAAA →	$\beta^+$	Nigerian
<i>Others in 3' UTR</i>		
63) Term CD +6, C → G	$\beta^{++}$ (silent)	Greek
64) Term CD +90, del 13 bp	$\beta^{++}$ (silent)	Turkish, Persian (Hamid and Akbari 2011)
65) Term CD +47 (C → G)	$\beta^{++}$	Armenian
<b>III. RNA translation</b>		
<i>Initiation codon</i>		
1) ATG → GTG	$\beta^0$	Japanese
2) ATG → CTG	$\beta^0$	Northern Irish
3) ATG → ACG	$\beta^0$	Yugoslavian
4) ATG → AGG	$\beta^0$	Chinese
5) ATG → AAG	$\beta^0$	N. European
6) ATG → ATC	$\beta^0$	Japanese
7) ATG → ATA	$\beta^0$	Italian, Swedish
8) ATG → ATT	$\beta^0$	Iranian
9) 45 bp insertion (-22 to +23)	?	Maori, Polynesian
<i>Nonsense codons</i>		
1) CD6 GAG → TAG	$\beta^0$	Brazilian
2) CD7 GAG → TAG	$\beta^0$	English
3) CD15 TGG → TAG	$\beta^0$	Asian Indian, Japanese
4) CD15 TGG → TGA	$\beta^0$	Portuguese, Japanese
5) CD17 AAG → TAG	$\beta^0$	Chinese, Japanese
6) CD22 GAA → TAA	$\beta^0$	Reunion Island
7) CD26 GAG → TAG	$\beta^0$	Thai
8) CD35 TAC → TAA	$\beta^0$	Thai
9) CD37 TGG → TGA	$\beta^0$	Saudi Arabian
10) CD39 CAG → TAG	$\beta^0$	Mediterranean
11) CD43 GAG → TAG	$\beta^0$	Chinese, Thai
12) CD59 AAG → TAG	$\beta^0$	Italian-American
13) CD61 AAG → TAG	$\beta^0$	Black
14) CD90 GAG → TAG	$\beta^0$	Japanese
15) CD112 TGT → TGA	$\beta^0$	Slovenian
16) CD121 GAA → TAA	$\beta^0$	Czechoslovakian

Πίνακας 5. Συνέχεια

Mutation	Type	Distribution
<i>Frameshift</i>		
1) CD1 -G	$\beta^{\circ}$	Mediterranean
2) CD2/3/4 (-9 bp, +31 bp)	$\beta^{\circ}$	Algerian
3) CD2-4, 5-9, 7, 10	$\beta^{\circ}$	Algerian
4) CD5-CT	$\beta^{\circ}$	Mediterranean
5) CD6 -A	$\beta^{\circ}$	Mediterranean, U.S. Blacks
6) CD8 -AA	$\beta^{\circ}$	Mediterranean
7) CD8/9 +G	$\beta^{\circ}$	Asian Indian, Japanese
8) CD9 +TA	? $\beta^{\circ}$	Tunisian
9) CD9/10 +T	$\beta^{\circ}$	Greek, Arab
10) CD11 -T	$\beta^{\circ}$	Mexican
11) CD14/15 +G	$\beta^{\circ}$	Chinese
12) CD15 -T	$\beta^{\circ}$	Malay
13) CD15/16 -G	$\beta^{\circ}$	German
14) CD15/16 +G	$\beta^{\circ}$	Chinese
15) CD16 -C	$\beta^{\circ}$	Asian Indian
16) CD22/23/24 -7 bp (-AAGTTGG)	$\beta^{\circ}$	Turkish
17) CD24 -G; +CAC	$\beta^{\circ}$	Egyptian
18) CD24/25 -GGT	?	No additional information
19) CD25/26 +T	$\beta^{\circ}$	Tunisian
20) CD26 +T	$\beta^{\circ}$	Japanese
21) CD27/28 +C	$\beta^{\circ}$	Chinese, Thai
22) CD28 -C	$\beta^{\circ}$	Egyptian
23) CD28/29 -G	$\beta^{\circ}$	Japanese, Egyptian
24) CD31 -C	$\beta^{\circ}$	Chinese
25) CD35 -C	$\beta^{\circ}$	Malay
26) CD36/37 -T	$\beta^{\circ}$	Kurd, Iranian
27) CD37/38/39 del 7 bp (-GACCCAG)	$\beta^{\circ}$	Turkish
28) CD38/39 -C	$\beta^{\circ}$	Czechoslovakian
29) CD38/39 -CC	$\beta^{\circ}$	Belgian
30) CD40 -G	$\beta^{\circ}$	Japanese
31) CD40/41 +T	$\beta^{\circ}$	Chinese
32) CD41 -C	$\beta^{\circ}$	Thai
33) CD41/42 -TTCT	$\beta^{\circ}$	Chinese, SE Asian, Indian
34) CD42/43 +T	$\beta^{\circ}$	Japanese
35) CD42/43 +G	$\beta^{\circ}$	Japanese
36) CD44 -C	$\beta^{\circ}$	Kurdish
37) CD45 -T	$\beta^{\circ}$	Pakistani
38) CD45 +T	$\beta^{\circ}$	Turkish
39) CD47 +A	$\beta^{\circ}$	Surinamese
40) CD47/48 +ATCT	$\beta^{\circ}$	Asian Indian
41) CD49 -C	$\beta^{\circ}$	Jordanian
42) CD51 -C	$\beta^{\circ}$	Hungarian
43) CD53/54 +G	$\beta^{\circ}$	Japanese
44) CD54 -T	$\beta^{\circ}$	Swedish
45) CD54/58 (-T ATG GGC AAC CCT)	$\beta^{\circ}$	Chinese (Li et al. 2009)
46) CD55 -A	$\beta^{\circ}$	Asian Indian



Πίνακας 5. Συνέχεια

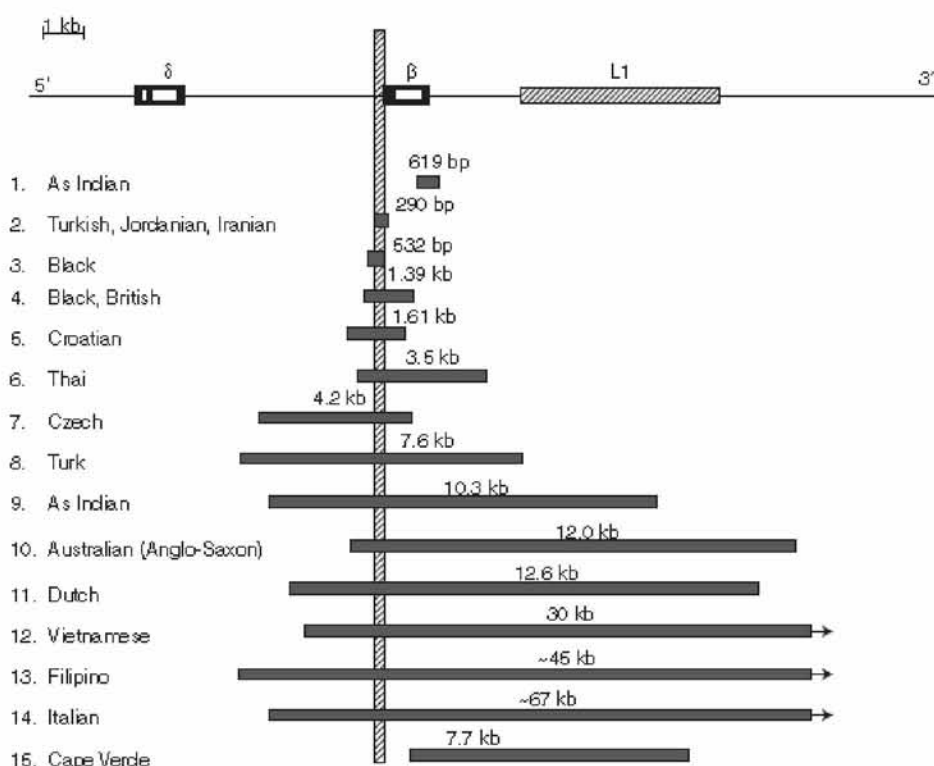
Mutation	Type	Distribution
47) CD54/55 +A	$\beta^0$	Asian Indian
48) CD56-60 +14 bp	$\beta^0$	Iranian
49) CD57/58 +C	$\beta^0$	Asian Indian
50) CD59 -A	$\beta^0$	Italian
51) CD62/63/64 del 7 bp (-TCATGGC)	$\beta^0$	Asian Indian
52) CD64 -G	$\beta^0$	Swiss
53) CD67 -TG	$\beta^0$	Filipino
54) CD71/72 +T	$\beta^0$	Chinese
55) CD71/72 +A	$\beta^0$	Chinese
56) CD72/73 -AGTGA, +T	$\beta^0$	British
57) CD74/75 -C	$\beta^0$	Turkish
58) CD76 GCT → T	$\beta^0$	North African
59) CD76 -C	$\beta^0$	Italian
60) CD82/83 -G	$\beta^0$	Czech, Azerbaijani
61) CD81-87 (-22 bp)	$\beta^0$	Asian Indian
62) CD83-86 del 8 bp (-CACCTTTG)	$\beta^0$	Japanese
63) CD84/85 +C	$\beta^0$	Japanese
64) CD84/85/86 +T	$\beta^0$	Japanese
65) CD88 +T	$\beta^0$	Asian Indian
66) CD88 -TG	$\beta^0$	Japanese
67) CD89/90 -GT	$\beta^0$	Japanese
68) CD95 +A	$\beta^0$	SE Asian
69) CD106/107 +G	$\beta^0$	U.S. Black, Egyptian
70) CD109 (GTG → GT-)	?	Irish
71) CD120/121 +A <sup>d</sup>	$\beta^0$	Philippino
72) CD130/131 +GCCT	? $\beta^0$	German
73) CD142/143 (-CC)	?	French Caucasian

### 3.1.2. $\beta$ θαλασσαιμία που οφείλεται σε ελλείμματα

Σε αντίθεση με την  $\alpha$  θαλασσαιμία, οι  $\beta$  θαλασσαιμίες σπάνια προκαλούνται από μεγάλα ελλείμματα με δύο εξαιρέσεις: μία ομάδα από ελλείμματα που περιορίζονται στο γονίδιο της  $\beta$ -σφαιρίνης και μία δεύτερη ομάδα από μεγαλύτερα ελλείμματα που επηρεάζουν την περιοχή LCR με ή χωρίς το  $\beta$  γονίδιο (Traeger et al. 2012, Thein 2013).

Οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν μόνο το γονίδιο της  $\beta$  σφαιρίνης (Σχήμα 12) ποικίλουν σε μέγεθος από 105 bp σε ~67 kb. Οι φαινότυποι που προκαλούνται από αυτά τα ελλείμματα είναι αυτοί της  $\beta^0$  θαλασσαιμίας (Thein and Wood 2009). Από αυτά τα ελλείμματα ένα τμήμα 619 bp στο 3' άκρο του  $\beta$  γονιδίου είναι κοινό για όλα και εντοπίζεται σε περιορισμένους πληθυσμούς στο Πακιστάν και την Ινδία. Τα υπόλοιπα ελλείμματα είναι πολύ σπάνια (Traeger et al. 2011). Ελλείμματα στην περιοχή του υποκινητή του  $\beta$  γονιδίου, από τη θέση -125 έως την +78, τα οποία περιλαμβάνουν και τα στοιχεία

CACCC, CCAAT και TATA έχουν σχετιστεί με ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα HbA<sub>2</sub> και ποικίλη αύξηση της HbF στους ετεροζυγώτες. Έχει προταθεί ότι η αφαίρεση του υποκινητή του β γονιδίου καταργεί τον ανταγωνισμό για την περιοχή LCR και τους περιορισμένους μεταγραφικούς παράγοντες, επιτρέποντας μεγαλύτερη αλληλεπίδραση του LCR με τα δ και γ γονίδια που βρίσκονται σε θέση cis αυξάνοντας έτσι την έκφραση τους (Traeger et al. 2012, Thein 2013).

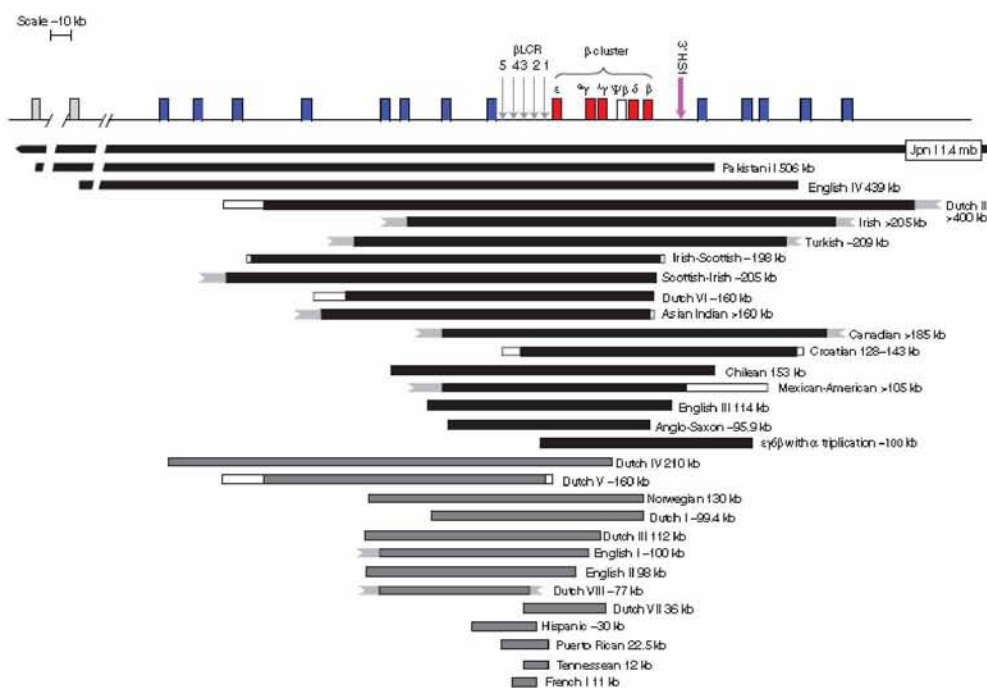


Σχήμα 12. Ελλείμματα β θαλασσαιμίας που περιορίζονται στο β γονίδιο (Thein, 2013).

Οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν την περιοχή LCR έχουν σαν αποτέλεσμα την καταστολή της έκφρασης τόσο του β γονιδίου όσο και των γονιδίων που βρίσκονται στο σύμπλεγμα β του χρωμοσώματος 11 και προκαλούν (εγδβ)<sup>0</sup> θαλασσαιμία (Σχήμα 13).

Τα ελλείμματα αυτά κατατάσσονται μοριακά σε δύο κατηγορίες: μια μεγαλύτερη ομάδα (I) που αφαιρεί το σύνολο ή το μεγαλύτερο μέρος του συμπλέγματος, συμπεριλαμβανομένου του γονιδίου της β-σφαιρίνης και του LCR, και μια ομάδας II που αφαιρεί το LCR, αλλά αφήνει το γονίδιο της β-σφαιρίνης άθικτο (Thein and Wood 2009, Rooks et al. 2012). Οι ενήλικες ετεροζυγώτες για αυτά τα ελλείμματα έχουν αιματολογικούς δείκτες

παρόμοιους με εκείνους της β-θαλασσαιμίας φορέα (trait), αλλά η HbA<sub>2</sub> και τα επίπεδα HbF είναι εντός των φυσιολογικών ορίων και τα ερυθρά αιμοσφαίρια τείνουν να είναι σχετικά πιο υποχρωμικά μικροκυτταρικά. Τα νεογέννητα εμφανίζουν αναιμία και αιμόλυση, ενώ μερικά έχουν ανάγκη ενδομήτριων και περιγεννητικών μεταγγίσεων αίματος για να επιβιώσουν κατά την περιγεννητική περίοδο. Η σοβαρότητα της αναιμίας και της αιμόλυσης ποικίλει ακόμη και μέσα σε μια οικογένεια με πανομοιότυπες μεταλλάξεις (Verhovek et al. 2012), και δεν φαίνεται να συσχετίζεται με τον τύπο (ομάδα I ή II) ή το μέγεθος των ελλειμμάτων. Μόνο ετεροζυγώτες έχουν εντοπιστεί γιατί μάλλον οι ομοζυγώτες δεν επιβιώνουν της πρώιμης κύησης. Τα ελλείμματα αυτά είναι σπάνια και μοναδικά για τις οικογένειες στις οποίες έχουν περιγραφεί (Thein 2013).



Σχήμα 13. Ελλείμματα β θαλασσαιμίας ως μέρος της (εγδβ)<sup>0</sup>-θαλασσαιμίας. Τα ελλείμματα μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες: ομάδα I ελλείμματα (μαύρο) που αφαιρούν το σύνολο ή το μεγαλύτερο μέρος του συμπλέγματος, συμπεριλαμβανομένου του LCR και του γονιδίου της β-σφαιρίνης, ενώ η ομάδα II ελλείμματα που αφαιρούν το σύνολο ή μέρος του LCR αφήνοντας το γονίδιο β ανέπαφο. (Thein, 2013).

### 3.1.3. Ασυνήθιστες αιτίες β θαλασσαιμίας

Η κληρονόμηση της β θαλασσαιμίας με επικρατή τρόπο είναι ένα σύνδρομο που περιλαμβάνει ένα ξεχωριστό σύνολο από μεταλλάξεις που επηρεάζουν το γονίδιο β και σχετίζονται με τυπικά αιματολογικά χαρακτηριστικά της β-θαλασσαιμίας (δηλαδή, αυξημένα επίπεδα HbA2 και μη ισορροπημένη σύνθεση α-/β- αλυσίδων στους ετεροζυγώτες), αλλά προκαλούν τον φαινότυπο της νόσου όταν βρίσκονται σε ένα απλό αντίγραφο (Thein 1999, 2001). Σε αντίθεση με τις κοινές υπολειπόμενες μορφές β-μεσογειακής αναιμίας, οι οποίες είναι διαδεδομένες στις περιοχές που η ελονοσία είναι ενδημική, η β θαλασσαιμία που κληρονομείται με επικρατή τρόπο έχει περιγραφεί σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, και ένας μεγάλος αριθμός των μεταλλάξεων είναι αυθόρμητες. Σοβαρή δυσερυθροποίηση που σχετίζεται με έγκλειστα στους ερυθροβλάστες του μυελού των οστών παρατηρήθηκαν συχνά στα άτομα που νοσούσαν (Weatherall et al. 1973, Fei et al. 1989). Οι μοριακές βλάβες που προκαλούν το σύνδρομο αυτό περιλαμβάνουν παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις, ελλείμματα ή προσθήκη κωδικονίων, ανερμηνεύσιμες μεταλλάξεις που προκαλούν πρόωρα κωδικόνια τερματισμού στο εξόνιο 3. Η μετατόπιση αναγνωστικού πλαισίου επίσης οδηγεί σε παρεκκλίνων μάτισμα που παράγει επιμηκυμένες ή κολοβές β- αλυσίδες σφαιρίνης με ανώμαλα καρβοξυ-τελικά άκρα (Weatherall et al. 1973).

Η εισαγωγή ενός μεταθετού στοιχείου μπορεί να προκαλέσει β-θαλασσαιμία. Τα μεταθετά στοιχεία μπορούν περιστασιακά να «διακόψουν» ανθρώπινα γονίδια και να οδηγήσουν σε απενεργοποίηση τους. Η εισαγωγή ενός τέτοιου στοιχείου, του ρετροτρανσποζονίου της οικογένειας L1 έχει αναφερθεί ότι προκαλεί φαινότυπο β<sup>+</sup>-θαλασσαιμίας (1999 Kimberland et al.). Παρά την εισαγωγή 6-7 kb DNA στο IVS2, το προσβεβλημένο γονίδιο εκφράζει πλήρους μήκους αντίγραφα β-σφαιρίνης σε ένα επίπεδο που αντιστοιχεί στο περίπου 15% της κανονικής mRNA β-σφαιρίνης (Thein 2013).

Επίσης, κατά τα τελευταία 10 χρόνια πολλές σπάνιες trans-δραστικές μεταλλάξεις που επηρεάζουν το *HBB* και το συνδεδεμένο με αυτό γονίδιο *HBD* έχουν εντοπιστεί. Οι μεταλλάξεις στο XPD που προκαλούν τριχοθειοδυστροφία (TTD) συχνά συνδέονται με τον φαινότυπο β-θαλασσαιμίας trait, γεγονός που υποστηρίζεται από τα μειωμένα επίπεδα της

σύνθεσης β-σφαιρίνης και του μειωμένου mRNA β-σφαιρίνης (Viprakasit et al. 2001). Η πρωτεΐνη XPD είναι μια υπομονάδα του γενικού μεταγραφικού παράγοντα TF11H, ο οποίος εμπλέκεται στην μεταγραφή και την επιδιόρθωση του DNA. Μερικές μεταλλάξεις στον ερυθροειδο-ειδικό παράγοντα μεταγραφής GATA-1 στο X χρωμόσωμα έχουν επίσης αναφερθεί ότι προκαλούν β-θαλασσαιμία σε συνδυασμό με θρομβοπενία (Yu et al. 2002). Σε άλλες περιπτώσεις β-θαλασσαιμίας, δεν έχουν ανιχνευθεί μεταλλάξεις στο γονίδιο *HBB* και η ανάλυση σύνδεσης οικογενειών έδειξε ότι εμπλέκονται trans-δραστικοί ρυθμιστικοί παράγοντες (Murru et al. 1992, Thein et al. 1993, Pacheco et al. 1995).

Ακόμη, πιο πρόσφατα, σπάνιες παραλλαγές του *KLF1*, ενός ερυθροειδικού παράγοντα μεταγραφής, έχουν περιγραφεί ότι σχετίζονται με οριακή αύξηση της *HbA<sub>2</sub>*, απουσία μεταλλάξεων στο γονίδιο *HBB* (Perseu et al. 2011). Έχει προταθεί ότι η αυξημένη έκφραση *HBD* είναι έμμεση, και οφείλεται στην εξασθενημένη αλληλεπίδραση της παραλλαγής *KLF1* με το γονίδιο *HBB*, ενισχύοντας την αλληλεπίδραση του *KLF1* με το γονίδιο *HBD* (Thein 2013).

Επιπλέον, έχουν περιγραφεί σωματικές μεταλλάξεις στο β γονίδιο σε τρεις οικογένειες γαλλικής (Badens et al. 2002) και ιταλικής (Galanello et al. 2004) καταγωγής που σχετίζονται με φαινότυπο ενδιάμεσης θαλασσαιμίας. Οι πάσχοντες εμφάνιζαν ενδιάμεση θαλασσαιμία με ηπατοσπληνομεγαλία και ήταν ετερόζυγοι για την β θαλασσαιμία και φυσιολογικό γονότυπο για την α θαλασσαιμία. Μεταγενέστερες έρευνες αποκάλυψαν έλλειμμα στο χρωμόσωμα 11p15, που συμπεριελάμβανε το σύμπλεγμα β-σφαιρίνης. Αυτό σημαίνει ότι στα περιστατικά αυτά κάποια σωματικά κύτταρα διέθεταν ένα β γονίδιο ενώ άλλα (με το έλλειμμα) κανένα. Σαν αποτέλεσμα, η συνολική ποσότητα του β γονιδίου που παράγονταν στον οργανισμό ήταν μικρότερη από αυτή ενός κοινού ετεροζυγώτη β θαλασσαιμίας (Galanello et al. 2004).

Τέλος, μονογονεϊκή δισωμία ενός τμήματος του χρωμοσώματος 11p που περιλαμβάνει το σύμπλεγμα β γονιδίων έχει επίσης περιγραφεί σε δύο περιπτώσεις. Σε μία οικογένεια κινεζικής προέλευσης (Chang et al. 2008), η μονογονεϊκή δισωμία σε έναν φορέα β-θαλασσαιμίας έχει οδηγήσει σε ομοζυγωτία για το αλληλόμορφο β-θαλασσαιμίας και σε μείζονα θαλασσαιμία. Σε μια άλλη οικογένεια, η πατρική δισωμία ενός τμήματος του χρωμοσώματος

11p σε έναν φορέα για την β<sup>S</sup> οδήγησε σε έναν υποπληθυσμό ερυθροειδικών κυττάρων ομόζυγων για HbS και δρεπανοκυτταρική αναιμία (Swensen et al. 2010).

### **3.2 Φαινοτυπική ετερογένεια β- θαλασσαιμίας**

Η βαρύτητα της κλινικής εικόνας της β θαλασσαιμίας σχετίζεται με το βαθμό της ανισορροπίας των αλυσίδων σφαιρίνης γεγονός το οποίο δημιουργεί μια μεγάλη ποικιλία από εξαιρετικά διαφορετικούς αιματολογικούς και κλινικούς φαινοτύπους (Weatherall 2001).

Οι πιο σοβαρές μορφές αντιπροσωπεύονται από την μείζονα β θαλασσαιμία (thalassaemia major), κατάσταση η οποία χαρακτηρίζεται από σοβαρή αναιμία που απαιτεί τακτικές μεταγγίσεις αίματος για την επιβίωση μέχρι την πρώιμη παιδική ηλικία. Αυτές οι μορφές πιο συχνά προκύπτουν από ομοζυγωτία ή σύνθετη ετεροζυγωτία μεταλλάξεων στο γονίδιο β-σφαιρίνης και, σε πιο σπάνιες περιπτώσεις, από ετεροζυγωτία για επικρατούσες μεταλλάξεις (Grosso et al. 2012). Οι ασθενείς συνήθως αναπτύσσουν σοβαρή αναιμία κατά το πρώτο έτος της ζωής τους. Αυτό προκύπτει από την ανεπάρκεια των β αλυσίδων σφαιρίνης και της περίσσειας α αλυσίδων η οποία προκαλεί βλάβες στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα και επιταχύνει την καταστροφή τους είτε στο μυελό των οστών ή το περιφερικό αίμα γεγονός που οδηγεί σε χρόνια αιμολυτική αναιμία. Η αναιμία οδηγεί σε χρόνια ιστική υποξία και υπολειπόμενη σωματική ανάπτυξη, ενώ λόγω της αιμόλυσης αυξάνονται σημαντικά τα επίπεδα σιδήρου και υπάρχει κίνδυνος εναπόθεσης του σε διάφορα όργανα όπως στο μυοκάρδιο, το πάγκρεας, ή το ήπαρ προκαλώντας βλάβες. Η υπερτροφία του μυελού των οστών οδηγεί σε σκελετικές αλλαγές, και υπάρχει μεταβλητή ηπατοσπληνομεγαλία. Τα επίπεδα HbF είναι ανεβασμένα. Οι ασθενείς είναι επίσης επιρρεπείς σε λοιμώξεις και ανεπάρκεια φολικού οξέος (Weatherall 1997a). Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, χωρίς μετάγγιση, ο θάνατος επέρχεται κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής (Weatherall and Clegg 2001). Με επαρκή μετάγγιση και παροχή φαρμάκων για αποσιδήρωση όπως του χηλικού παράγοντα, δεσφεριοξαμίνη, τα παιδιά μπορούν να μεγαλώσουν και να αναπτυχθούν καλά και να επιβιώσουν στην ενήλικη ζωή (Brittenham et al. 1994, Olivieri et al. 1994).

Σε ορισμένες περιπτώσεις, ωστόσο, οι ίδιοι γονότυποι μπορούν να οδηγήσουν σε ηπιότερες μορφές θαλασσαιμίας, που αναφέρονται ως ενδιάμεση θαλασσαιμία (*thalassaemia intermedia*). Αυτές οι ενδιάμεσες μορφές παρουσιάζουν πολύ ετερογενείς κλινικές εικόνες που κυμαίνονται σε σοβαρότητα από την ασυμπτωματική κατάσταση μέχρι την εξαρτώμενη από μετάγγιση αναιμία, η οποία είναι ελαφρώς λιγότερο σοβαρή από ό, τι η μείζονα θαλασσαιμία. Έτσι επειδή όπως συζητήθηκε παραπάνω η σοβαρότητα της νόσου σχετίζεται με το βαθμό της ανισορροπίας των αλυσίδων σφαιρίνης, η ηπιότερη κλινική εικόνα αυτών των καταστάσεων μπορεί να εξηγηθεί από την συνκληρονόμηση γενετικών παραγόντων που είναι ικανοί να μειώνουν την περίσσεια των αλυσίδων α-σφαιρίνης, όπως η α-θαλασσαιμία που μειώνει την παραγωγή της αλυσίδας α-σφαιρίνης, ή γενετικών καθοριστών που οδηγούν σε παραμονή των αλυσίδων γ-σφαιρίνης στην ενήλικη ζωή, αυξάνοντας έτσι την παραγωγή της β αλυσίδας σφαιρίνης. Εναλλακτικά, αυτοί οι φαινότυποι μπορεί να οφείλονται σε ομοζυγωτία για ήπιες μεταλλάξεις ή διπλή ετεροζυγωτία για μια ήπια ή σιωπηλή μετάλλαξη και μια πιο σοβαρή βλάβη στα γονίδια β-σφαιρίνης. Από την άλλη πλευρά, τριπλασιασμός ή τετραπλασιασμός στα α-γονίδια σφαιρίνης μπορεί να προκαλέσει μια πιο έντονη ανισορροπία στην παραγωγή των αλυσίδων σφαιρίνης οδηγώντας έτσι σε μια κλινική εικόνα ενδιάμεσης θαλασσαιμίας, ακόμη και σε απλούς ετεροζυγώτες για β-θαλασσαιμία, οι οποίοι είναι κατά τα άλλα κλινικά σιωπηλοί (Weatherall 2001, Cao and Moi 2002, Thein 2005, Wong et al, 2004).

Η ελάχιστη β θαλασσαιμία (*thalassaemia minor*), χαρακτηρίζεται από ήπια αναιμία και μορφολογικές αλλαγές των ερυθροκυττάρων, τα οποία είναι υποχρωμικά και μικροκυτταρικά. Άλλα χαρακτηριστικά γνωρίσματα είναι τα αυξημένα επίπεδα HbA<sub>2</sub> και η ελαφρά αύξηση της HbF ( Weatherall & Clegg, 2001).

Τέλος, μια σπανιότερη μορφή β-θαλασσαιμίας (*β thalassaemia trait*) χαρακτηρίζεται από κανονική τιμές HbA<sub>2</sub> και ερυθροκύτταρα που μοιάζουν θαλασσαιμικά (Moi et al., 1988). Αυτή η κατάσταση μπορεί να αντιπροσωπεύει συνκληρονόμηση μεταλλάξεων, που συνδέονται ή όχι στο ίδιο χρωμόσωμα και μειώνουν τη λειτουργία των γονιδίων τόσο της β

σφαιρίνης όσο και της δ-σφαιρίνης. Αυξημένα επίπεδα HbF συνήθως ανιχνεύονται στη δβ θαλασσαιμία η οποία χαρακτηρίζεται από ελλείμματα που αφορούν τόσο τα γονίδια της δ όσο και της β σφαιρίνης (Grosso et al. 2012).

Οι κλινικοί φαινότυποι της β-θαλασσαιμίας κατατάσσονται σε τέσσερις τύπους όπως φαίνεται στον Πίνακα 6:

Πίνακας 6. Φαινότυπος-Γονότυπος στην β θαλασσαιμίας

<b>ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ</b>	<b>ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ</b>	<b>ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ</b>
Σιωπηλός Φορέας	σιωπηλό β/β	Ασυμπτωματικός Χωρίς αιματολογικές ανωμαλίες
Ελάσσων (Minor)/Trait Θαλασσαιμία	$\beta^0/\beta$ $\beta^+/\beta$ ήπια $\beta^+/\beta$	Ασυμπτωματική αναιμία Μικροκυττάρωση και Υπερχρωμία
Ενδιάμεση Θαλασσαιμία		Αργεί να εμφανιστεί Ήπια-μέτρια αναιμία Ανεξάρτητη από μετάγγιση Η κλινική σοβαρότητα είναι μεταβλητή και κυμαίνεται από μικρή έως μεγάλη
Μείζων (Major) Θαλασσαιμία	$\beta^0/\beta^0$ $\beta^+/\beta^+$ $\beta^0/\beta^+$	Εμφανίζεται νωρίς στη ζωή Σοβαρή αναιμία Οι επιζώντες εξαρτώνται από μετάγγιση αίματος



### **3.3 Μηχανισμοί που ευθύνονται για την φαινοτυπική ετερογένεια της β-θαλασσαιμίας- Τροποποιητικά γονίδια**

Στην προσπάθεια συσχέτισης του φαινότυπου με το γονότυπο για οποιαδήποτε ασθένεια, είναι σημαντικό να έχουμε έναν συστηματικό ορισμό της σοβαρότητας του φαινότυπου. Επειδή σχεδόν όλες οι κλινικές εκδηλώσεις και οι επιπλοκές της β-θαλασσαιμίας σχετίζονται με το βαθμό της αναιμίας, τα επίπεδα της σταθερής αιμοσφαιρίνης θα πρέπει να είναι επαρκές στοιχείο για να συγκριθούν οι διάφοροι γονότυποι. Δυστυχώς, η κατάσταση δεν είναι τόσο απλή. Γιατί, αν και είναι εύκολο να καθοριστούν οι φαινότυποι στα μείζονα (major) και ελάσσονα (minor) άκρα του φάσματος της σοβαρότητας, οι μορφές που βρίσκονται στο ενδιάμεσο είναι πολύ πιο δύσκολο να ταξινομηθούν (Weatherall and Clegg, 2001). Λόγω αυτών των δυσκολιών, οι σχετικά λίγες μελέτες που έχουν επιχειρήσει να δώσουν έναν αυστηρό ορισμό της σχέσης φαινότυπου-γονότυπου της β θαλασσαιμίας (Wainscoat et al. 1987, Fiorelli et al. 1988, Cao et al. 1990, Rund et al. 1997, Ho et al. 1998) κατέφυγαν σε φαινοτυπικές ταξινομήσεις με βάση το επίπεδο της αιμοσφαιρίνης και το ιστορικό των μεταγγίσεων των ασθενών. Πιο συγκεκριμένα, χώρισαν τους ασθενείς σε εκείνους που είναι εξαρτώμενοι από μετάγγιση και εκείνους με ενδιάμεσες μορφές της νόσου, και έκαναν υποσύνολα ανάλογα με τα επίπεδα της σταθερής αιμοσφαιρίνης και τις απαιτήσεις των ασθενών για μη συνεχή μετάγγιση κατά τη διάρκεια μιας σχετικά μακράς περιόδου παρατήρησης (Rund et al. 1997, Ho et al. 1998).

Η αξιοσημείωτη διακύμανση στην κλινική σοβαρότητα της β-θαλασσαιμίας αντανακλά τη συνύπαρξη γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Γίνεται φανερό ότι ο γενετικός παράγοντας περιλαμβάνει πολλούς γενετικούς τόπους (loci), μερικοί από τους οποίους εμπλέκονται άμεσα με τη βασική διαταραχή στη σύνθεση της σφαιρίνης, ενώ άλλοι, οι οποίοι τροποποιούν τις διάφορες επιπλοκές της νόσου, δεν σχετίζονται με την σφαιρίνη. Για το λόγο αυτό, είναι βολικό να ταξινομηθούν αυτοί οι γενετικοί τροποποιητές στις ακόλουθες ομάδες: πρωτογενείς παράγοντες, που περιλαμβάνουν τις πολλές διαφορετικές μεταλλάξεις των γονιδίων β-σφαιρίνης που αποτελούν τη βάση της β-θαλασσαιμίας, δευτερογενείς παράγοντες, που περιλαμβάνουν γενετικούς τόπους (loci) που επίσης εμπλέκονται στη σύνθεση της σφαιρίνης, και τριτογενείς παράγοντες, που

περιλαμβάνουν γενετικούς τόπους (loci) που δεν εμπλέκονται στην παραγωγή της σφαιρίνης, αλλά τροποποιούν τις επιπλοκές της νόσου με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Η τελευταία ομάδα περιλαμβάνει τους πολλούς διαφορετικούς πολυμορφισμούς που έχουν επιλεγεί από κοινού με τις θαλασσαιμίας και θα μπορούσαν να τροποποιήσουν περαιτέρω τους φαινοτύπους τους (Weatherall 2001).

Οι πρωτογενείς διαταραχές στη σύνθεση της β-σφαιρίνης έχουν βαθιά επίδραση στο φαινότυπο. Παρόλα αυτά, γίνεται ολοένα και πιο σαφές ότι για ορισμένες τουλάχιστον μορφές της νόσου, οι περιβαλλοντικοί και κοινωνικοί παράγοντες παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην τροποποίηση μεμονωμένων αντιδράσεων στις διάφορες μορφές της θαλασσαιμίας (Weatherall 2001).

### **3.3.1 Πρωτογενείς τροποποιητές**

Οι πρωτογενείς τροποποιητές περιλαμβάνουν τις ποικίλες μεταλλάξεις που επηρεάζουν άμεσα την έκφραση του γονιδίου της β-σφαιρίνης. Σύνθετη ετεροζυγωτία για αυτές τις διάφορες μεταλλάξεις μπορεί να οδηγήσει σε ένα ευρύ φάσμα κλινικών φαινοτύπων. Επιπλέον, μεταλλάξεις που προκαλούν μειωμένη σύνθεση της β-σφαιρίνης, χωρίς να επηρεάζουν το γονίδιο της β-σφαιρίνης έχουν βρεθεί (Galanello 2012). Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν trans-δραστικοί ρυθμιστικούς παράγοντες. Παραδείγματα μειωμένης σύνθεσης β σφαιρίνης που προκαλείται από γενετικούς τόπους εκτός του συμπλέγματος της β σφαιρίνης αποτελούν μεταλλάξεις στον γενικό παράγοντα μεταγραφής TF11H14 και στον ερυθροειδικό μεταγραφικό παράγοντα GATA-1 (Yu et al 2002).

Μέρος της κλινικής ετερογένειας της β-θαλασσαιμίας μπορεί να εξηγηθεί από τη διαφορετική βαρύτητα συγκεκριμένων αλληλόμορφων της. Πιο συγκεκριμένα, η β<sup>0</sup>-θαλασσαιμία συνδέεται με ένα σοβαρό φαινότυπο, αν και αυτό δεν ισχύει πάντοτε. Τα αλληλόμορφα β<sup>+</sup> και β<sup>++</sup> έχουν εξαιρετικά ποικίλη επίδραση επί της παραγόμενης αλυσίδας β-σφαιρίνης και είναι πιο εύκολο να περιγράφονται από τα φαινοτυπικά αποτελέσματα τους σε ετεροζυγώτες (Weatherall 2001).

Μερικές μεταλλάξεις της β-θαλασσαιμίας είναι εντελώς «σιωπηλές»: δεν έχουν εμφανή επίδραση στους φορείς και συνήθως έχουν ταυτοποιηθεί με σε άτομα με ενδιάμεσες μορφές της β-θαλασσαιμίας, στους οποίους ο ένας

γονέας έχει τυπικά γνωρίσματα της β-θαλασσαιμίας και ο άλλος φαίνεται να είναι φυσιολογικός (Schwartz 1969, Gonzalez-Redondo et al.1989, Bianco et al 1997). Γενικά, είναι ασυνήθιστες μεταλλάξεις, εκτός από την  $-101 C \rightarrow T$ , η οποία έχει παρατηρηθεί συχνά στη Μεσόγειο, όπου, αλληλεπιδρά με ένα πλήθος από πιο σοβαρά αλληλόμορφα β-θαλασσαιμίας να παράγοντας ήπιες μορφές της ενδιάμεσης β-θαλασσαιμίας (Gonzalez-Redondo et al.1989, Bianco et al 1997).

Συνοψίζοντας, το ευρύ φάσμα των αλληλομόρφων της β-θαλασσαιμίας μπορεί να παράγει ένα ευρύ φάσμα διαφορετικών φαινοτύπων β-θαλασσαιμίας που κυμαίνεται από σιωπηλή φορεία σε ομόζυγη, ετερόζυγη ή διπλά ετερόζυγη κληρονόμηση των κυριότερων μορφών της νόσου (Weatherall 2001).

### **3.3.2 Δευτερογενείς τροποποιητές**

Μελέτες σε οικογένειες έχουν δείξει ότι υπάρχει μεγάλη φαινοτυπική ποικιλομορφία ακόμη και μεταξύ ατόμων με τον ίδιο γονότυπο β-θαλασσαιμίας. Ένα μέρος αυτής της αξιοσημείωτη φαινοτυπικής ποικιλομορφίας μπορεί να εξηγηθεί από την δράση των προϊόντων άλλων γενετικών τόπων που συμμετέχουν στη σύνθεση της σφαιρίνης. Επειδή η σοβαρότητα της αναιμίας της β-θαλασσαιμίας αντανακλά την ελαττωματική παραγωγή της αλυσίδας της β-σφαιρίνης, η οποία οδηγεί σε περίσσεια α-αλυσίδων με επιβλαβείς επιδράσεις στην παραγωγή και την επιβίωση των ερυθρών κυττάρων, συνεπάγεται ότι οτιδήποτε τροποποιεί το μέγεθος της περισσίας των α-αλυσίδων θα έχει σημαντική επίδραση στον φαινότυπο. Ποικιλομορφία σε δύο γενετικούς τόπους που έχουν αυτό το αποτέλεσμα έχει ταυτοποιηθεί στους γενετικούς τόπους της α και γ σφαιρίνης (Weatherall 2001).

Η συνκληρονόμηση της α θαλασσαιμίας μαζί με την β δεν αποτελεί σπάνιο φαινόμενο μιας και οι δύο ασθένειες συνυπάρχουν σε υψηλές συχνότητες σε πολλούς πληθυσμούς (Kan and Nathan 1970). Έτσι, ομοζυγώτες ή διπλοί ετεροζυγώτες για σοβαρά αλληλόμορφα β θαλασσαιμίας μπορούν επίσης να είναι ετερόζυγοι ή ομόζυγοι για την  $\alpha^+$  θαλασσαιμία, ή ετερόζυγοι για την  $\alpha^0$  θαλασσαιμία. Μελέτες έδειξαν ότι η συνκληρονόμηση της α θαλασσαιμίας μπορεί να ελαττώσει τη σοβαρότητα της β θαλασσαιμίας, και επειδή υπάρχει ένα ευρύ φάσμα φαινοτυπικής έκφρασης των διαφόρων

αλληλομόρφων της α θαλασσαιμίας (Higgs 1993, Weatherall and Clegg 2001), αυτό παρέχει ένα επιπλέον μηχανισμό για την εκτεταμένη κλινική ποικιλομορφία της β θαλασσαιμίας. Η συνκληρονόμηση των διαφόρων αλληλομόρφων α θαλασσαιμίας μπορεί να μειώσει τη σοβαρότητα των ομόζυγων ή ετερόζυγων καταστάσεων β<sup>0</sup> θαλασσαιμίας σε κάποιο βαθμό (Galanello et al. 1989) και μπορεί να μετατρέψει τις σοβαρές μορφές της β<sup>+</sup> θαλασσαιμίας σε πιο ήπιες, μη εξαρτώμενες από μεταγγίσεις καταστάσεις (Weatherall et al. 1981).

Ο βαθμός της βελτίωσης της κατάστασης εξαρτάται από τη σοβαρότητα των β αλληλομόρφων και τον αριθμό των λειτουργικών γονιδίων α σφαιρίνης. Οι ασθενείς οι οποίοι έχουν συνκληρονόμηση την HbH (που ισοδυναμεί με ένα μόνο λειτουργικό α γονίδιο) με ομόζυγη β θαλασσαιμία, εμφανίζουν φαινότυπο ενδιάμεσης θαλασσαιμίας (Kanavakis et al. 2004). Αντίθετα, η παρουσία αυξημένης α σφαιρίνης σε ετεροζυγώτες β θαλασσαιμίας, μεταβάλλει την ισορροπία των αλυσίδων σφαιρίνης μετατρέποντας μια τυπικά ασυμπτωματική κατάσταση σε εκείνη της ενδιάμεσης θαλασσαιμίας. Αυτό σχετίζεται με την συνκληρονόμηση τριπλασιασμένων ή τετραπλασιασμένων γονιδίων α σφαιρίνης. Η συνκληρονόμηση δύο επιπλέον γονιδίων α σφαιρίνης (ααα/ααα) ή (αααα/αα) με ετερόζυγη β θαλασσαιμία οδηγεί στην ενδιάμεση θαλασσαιμία. Ωστόσο, ο φαινότυπος ενός μόνο επιπλέον γονιδίου α (ααα /αα) με ετερόζυγη β θαλασσαιμία είναι περισσότερο μεταβλητός και εξαρτάται από τη σοβαρότητα του αλληλομόρφου της β θαλασσαιμίας (Traeger-Synodinos et al. 1996, Camaschella et al. 1997).

Το 2004 οι Kanavakis et al. περιέγραψαν ένα σπάνιο περιστατικό αλληλεπίδρασης θαλασσαιμικών γενοτύπων, την συνκληρονόμηση σοβαρών μορφών της α και β θαλασσαιμίας οι οποίες αλληλεπιδρούν με ένα «συνεργιστικό τρόπο» εξισορροπώντας τα συμπτώματα των θαλασσαιμικών συνδρόμων. Έναν ασθενή διπλό ετεροζυγώτη για β<sup>+</sup>/β<sup>0</sup> και α<sup>+</sup>/α<sup>0</sup> μεταλλάξεις. Στο περιστατικό αυτό η αναλογία των αλυσίδων σφαιρίνης ήταν απόλυτα ισοζυγισμένη, υποδηλώνοντας την ίση σύνθεση αλυσίδων σφαιρίνης από το μοναδικό β<sup>+</sup> αλληλόμορφο και το μοναδικό α γονίδιο. Η ηπιότητα της κλινικής κατάστασης του συγκεκριμένου ασθενή υπογραμμίζει το θεμελιώδη ρόλο που

παίζουν οι ελεύθερες α αλυσίδες σφαιρίνης στην έναρξη του επιζήμιου παθοφυσιολογικού καταρράκτη της β θαλασσαιμίας.

Η αυξημένη παραγωγή γ αλυσίδων και η αυξημένη παραγωγή της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης HbF κατά την ενήλικη ζωή, επίσης, είναι δυνατόν να μειώσουν την ανισορροπία των αλυσίδων της σφαιρίνης οδηγώντας σε τροποποίηση του φαινοτύπου, δηλαδή στην βελτίωση της κλινικής εικόνας των ασθενών. Τα φυσιολογικά παιδιά και οι ενήλικες παράγουν μικρές ποσότητες HbF που φαίνεται να περιορίζονται σε συγκεκριμένους πληθυσμούς ερυθρών αιμοσφαιρίων που ονομάζονται κύτταρα F (Boyer et al. 1975). Σε έναν ασθενή με β-θαλασσαιμία, οι γ αλυσίδες δεσμεύουν μέρος της περίσσειας των α αλυσίδων για την παραγωγή HbF, και έτσι τα πρόδρομα ερυθροκύτταρα που συνθέτουν γ αλυσίδες επιλέγονται, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα HbF στο αίμα των ασθενών με β θαλασσαιμία (Rees et al. 1999). Πολλά διαφορετικά γονίδια έχουν βρεθεί ότι συμμετέχουν στη διαμόρφωση των επιπέδων της HbF, κάποια από τα οποία βρίσκονται στο σύμπλεγμα των β γονιδίων και άλλα σε διαφορετικά χρωμοσώματα (Weatherall 2001).

Υπάρχουν διάφορες καθοριστικές αλληλουχίες εντός του συμπλέγματος των γονιδίων β-σφαιρίνης που εμπλέκονται στον καθορισμό του επιπέδου της HbF στη β θαλασσαιμία. Οι συνθήκες που επιτρέπουν την κληρονομική παραμονή της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης είναι αποτέλεσμα ελλειμμάτων που αφορούν το σύμπλεγμα των γονιδίων β σφαιρίνης ή σημειακές μεταλλάξεις στους υποκινητές του ενός ή του άλλου από τα δύο γονίδια γ σφαιρίνης. Παρόλα αυτά, αυτές οι γενετικές παραλλαγές είναι σπάνιες και παίζουν ένα σχετικά μικρό ρόλο στην τροποποίηση του φαινοτύπου της β θαλασσαιμίας. Αντίθετα, υπάρχει ένας σχετικά κοινός πολυμορφισμός στη θέση -158 στο <sup>γ</sup> γονίδιο, γνωστός και ως Xmn1-Gγ, ο οποίος περιλαμβάνει μια C → T αντικατάσταση (Gilman and Huisman, 1985). Αν και αυτό φαίνεται να έχει μικρή επίδραση στους φυσιολογικούς ανθρώπους, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι τα ομόζυγα άτομα για το Xmn1 C → T έχουν αυξημένη τάση να παράγουν HbF υπό συνθήκες αιμοποιητικού στρες, και αυτό έχει επίδραση στην αύξηση των επιπέδων της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία. Καθώς αυτός ο πολυμορφισμός είναι ευρέως διαδεδομένος, είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην

τροποποίηση των φαινοτύπων της β θαλασσαιμίας, ιδιαίτερα εκείνων με β<sup>0</sup> θαλασσαιμία ενδιάμεσης βαρύτητας (Labie et al. 1985, Thein et al. 1987, Galanello et al. 1989, Weatherall 1998).

Υπάρχουν επίσης γενετικοί καθοριστικές (QTLs, quantitative trait loci) υπεύθυνοι για την αύξηση της παραγωγής της HbF σε ασθενείς με β θαλασσαιμία που δεν βρίσκονται στο σύμπλεγμα των γονιδίων β-σφαιρίνης (Weatherall 2001). Όντως, μελέτες έδειξαν ότι πάνω από το 50% της διακύμανσης των επιπέδων των κυττάρων F στο γενικό πληθυσμό οφείλεται σε trans- δραστικούς παράγοντες (Garner et al. 2000). Μελέτες σύνδεσης έχουν χαρτογραφήσει QTLs που επηρεάζουν τα επίπεδα των κυττάρων F σε διάφορα σημεία του γονιδιώματος (Thein 2005), όπως το *BCL11A* στο χρωμόσωμα 2p16 (Menzel et al. 2007, Uda et al. 2008), το *KLF1* (Thein 2013), το *HIMP* στο 6p23 (Wahlberg et al. 2009) και στα χρωμοσώματα 8q11 και Xp22 (Thein 2005). Το το *BCL11A* δρα σαν καταστολέας του γ γονιδίου, μέσω της αναδιαμόρφωσης του β γονιδίου διαμέσου αλληλεπιδράσεων με τα GATA-1 και SOX 6 τα οποία προσδένονται στον εκκινητή του γ γονιδίου (Sankaran et al. 2008, Xu et al. 2010). Συνοψίζοντας, τα QTLs δρουν κωδικοποιώντας μεταγραφικούς παράγοντες που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση ή την καταστολή της σύνθεσης των γ αλυσίδων, ή ρυθμίζοντας την κινητική της ανάπτυξης των αιμοποιητικών κυττάρων για να κάνουν πιο πιθανή την σύνθεση των γ αλυσίδων σε συνθήκες αιμοποιητικού στρες (Weatherall 2001).

### 3.3.3 Τριτογενείς τροποποιητές

Οι τριτογενείς τροποποιητές δεν σχετίζονται άμεσα με την παραγωγή των αλυσίδων σφαιρίνης, αλλά να εμφανίζουν σημαντική επίδραση στην ασθένεια. Περιλαμβάνουν γονίδια που εμπλέκονται στην απορρόφηση του σιδήρου, στο μεταβολισμό της χολερυθρίνης, στο μεταβολισμό των οστών, στις καρδιαγγειακές νόσους, και την επιδεκτικότητα σε μολύνσεις (Weatherall 2004, Taher et al. 2011).

Για παράδειγμα, έχει βρεθεί ότι το επίπεδο της χολερυθρίνης στους ετεροζυγώτες της β θαλασσαιμίας σχετίζεται με ένα πολυμορφισμό στον εκκινητή του γονιδίου που εμπλέκεται στην ηπατική γλυκουρονίδωση της χολερυθρίνης, UDP-γλυκοσυλτρανσφεράση (UGT1). Σε φυσιολογικά άτομα, ο εκκινητής έχει μια σειρά από έξι TA επαναλήψεις (TA)<sub>6</sub>. Τα άτομα που είναι

ομόζυγα για μια επιπλέον επανάληψη, (TA)<sub>7</sub>, τείνουν να έχουν ήπια υπερχολερυθριναιμία. Οι ετεροζυγώτες β θαλασσαιμίας με την (TA)<sub>7</sub> διαμόρφωση μπορεί να έχουν πιο επίμονο ίκτερο (Galanello et al. 1997, Sampietro et al.1997).

Η καρδιακή και η ηπατική βλάβη καθώς και ο διαβήτης αποτελούν σημαντικές επιπλοκές της β θαλασσαιμίας που αντικατοπτρίζουν τις συνέπειες της υπερφόρτωσης του σιδήρου, όχι μόνο από μετάγγιση, αλλά και από την αυξημένη εντερική απορρόφηση. Αν και έχουν υπάρξει λίγες μελέτες μέχρι σήμερα, τα αρχικά στοιχεία δείχνουν ότι η κοινή μετάλλαξη HFE που προκαλεί κληρονομική αιμοχρωμάτωση, C282Y, μπορεί να εμπλέκεται στη διαφορετική απορρόφηση σιδήρου σε ορισμένους ασθενείς με ενδιάμεσες μορφές της β θαλασσαιμίας (Rees et al. 1998).

Ένα άλλο κοινό πρόβλημα ολοένα σε νέους ενήλικες με β θαλασσαιμία είναι η προοδευτική οστεοπόρωση, που συνδέεται με πόνο στα οστά και κατάγματα που μπορεί, εν μέρει, να οφείλονται σε δευτερογενή υπογοναδισμό, λόγω βλάβης στον άξονα υποθάλαμου-υπόφυσης. Υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι αυτές οι επιπλοκές μπορεί να τροποποιούνται από πολυμορφισμούς τόπους που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των οστών, συμπεριλαμβανομένων και των γονιδίων για τον υποδοχέα της βιταμίνης D, το κολλαγόνο, και τον υποδοχέα οιστρογόνου (Andrews 2000, Dresner et al. 2000).

#### 4. Δρεπανοκυτταρική αναιμία

Η δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι μια αυτοσωμική υπολειπόμενη διαταραχή της αιμοσφαιρίνης που οφείλεται σε μια παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη του γονιδίου της β σφαιρίνης κατά την οποία το 6<sup>ο</sup> αμινοξύ της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, που φυσιολογικά είναι γλουταμινικό οξύ, αντικαθίσταται από βαλίνη (GAG→GTG) με αποτέλεσμα την συνακόλουθη σύνθεση HbS ( $\alpha_2\beta\beta^S$  (Glu→Val)). Η νόσος οφείλεται στην ομοζυγωτία αυτής της μετάλλαξης αλλά υπάρχουν και περιπτώσεις ασθενών οι οποίοι είναι σύνθετοι ετεροζυγώτες για το αλληλόμορφο HbS και για ένα αλληλόμορφο είτε της αιμοσφαιρίνης C ή της β θαλασσαιμίας.

Το γονίδιο της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας είναι ευρέως εξαπλωμένο σε όλη την Αφρική και σε χώρες με αφρικανικούς πληθυσμούς μεταναστών, καθώς και σε Μεσογειακές χώρες, στη Μέση Ανατολή και σε διάφορα μέρη της Ινδίας (Weatherall 1997a). Η μετάλλαξη που σχετίζεται με την δρεπανοκυτταρική αναιμία φαίνεται ότι παρέχει κάποιου βαθμού αντίσταση στην ελονοσία και κατά συνέπεια προσφέρει επιλεκτικό πλεονέκτημα επιβίωσης σε άτομα που είναι ετερόζυγα για την μετάλλαξη.

Η υποκατάσταση του αμινοξέος στην β αλυσίδας της σφαιρίνης έχει ως αποτέλεσμα τα ερυθρά αιμοσφαίρια να παίρνουν χαρακτηριστικό δρεπανοειδές σχήμα κατά τη διάρκεια της αποοξυγόνωσης (Weatherall 1997a). Πιο συγκεκριμένα, η μετάλλαξη Glu6Val στην β σφαιρίνη έχει ως συνέπεια τη μείωση της διαλυτότητας της αποοξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης με αποτέλεσμα αυτή να καθίσταται ικανή να σχηματίσει ένα ζελατινώδες πλέγμα από δύσκαμπτα ινώδη πολυμερή τα οποία παραμορφώνουν το ερυθροκύτταρο, δίνοντας του σχήμα δρεπάνου. Το σχήμα αυτό εμποδίζει τη φυσιολογική κυκλοφορία του αίματος στα τριχοειδή αγγεία δημιουργώντας προβλήματα σε διάφορα όργανα όπως στο σπλήνα και τους πνεύμονες, αποφράσσοντας τα τριχοειδή και προκαλώντας εμφρακτά (Thompson and Thompson 2011). Τα δρεπανοκύτταρα καταστρέφονται ταχύτερα με φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα του σπλήνα (εξαγγειακή αιμόλυση) με συνέπεια την εμφάνιση συμπτωμάτων αναιμίας.



#### 4.1. Μοριακή βάση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας

Τα άτομα που εμφανίζουν την νόσο είναι συνήθως ομόζυγα για το μεταλλαγμένο γονίδιο της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας και έχουν γονότυπο  $\beta^S/\beta^S$  και η κατάσταση τους αναφέρεται ως Hb SS.

Επίσης, οι ασθενείς μπορεί να είναι σύνθετοι ετεροζυγώτες, δηλαδή, να φέρουν ένα μεταλλαγμένο HbS αλληλόμορφο και ένα αλληλόμορφο είτε της αιμοσφαιρίνης C είτε της  $\beta$  θαλασσαιμίας. Στην πρώτη περίπτωση η νόσος συμβολίζεται HbSC. Στην δεύτερη περίπτωση η νόσος ονομάζεται μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία, και οι ασθενείς έχουν γονότυπο  $\beta^S/\beta^0$  ή  $\beta^S/\beta^+$ .

Τέλος, οι ετερόζυγοι για την δρεπανοκυτταρική αναιμία, οι οποίοι ονομάζονται φορείς, έχουν ένα φυσιολογικό  $\beta$  αλληλόμορφο και ένα  $\beta^S$  μεταλλαγμένο. Ο γονότυπος τους είναι  $\beta/\beta^S$  (Weatherall 1997a).

#### 4.2. Φαινότυποι της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας

Οι ομόζυγοι ασθενείς παράγουν κυρίως HbS σε ποσοστό 70-90% και μικρές ποσότητες HbF. Τα νεογνά είναι ασυμπτωματικά λόγω της παραγωγής HbF, και τα πρώτα συμπτώματα αρχίζουν να εμφανίζονται από τον 6<sup>ο</sup> μήνα και οφείλονται στην ελάττωση της HbF και την σχετική αύξηση της HbS. Οι ασθενείς εμφανίζουν αναιμία, μειωμένο βάρος, σπληνομεγαλία, επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις και δαχτυλίτιδα. Αγγειοαποφρακτικά εμφρακτά συμβαίνουν σε πολλούς ιστούς προκαλώντας αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, σύνδρομο οξείας θωρακαλγίας, νέκρωση νεφρικών θηλών, αυτοσπληνεκτομή, έλκη των κάτω άκρων, πριαπισμό, άσηπτη νέκρωση των οστών και απώλεια όρασης. Η απόφραξη των αγγείων προκαλεί επώδυνες κρίσεις. Η λοίμωξη αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου σε όλες τις ηλικίες. Οι ασθενείς έχουν υψηλό κίνδυνο να αναπτύξουν απειλητική για τη ζωή τους απλαστική αναιμία μετά από λοίμωξη από παρβοϊό.

Οι σύνθετοι ετεροζυγώτες για την HbS και HbC παράγουν περίπου ίδια ποσότητα και των δύο ειδών αλυσίδων. Η HbSC νόσος χαρακτηρίζεται από ήπια αναιμία και λιγότερες κρίσεις. Ωστόσο, σημαντικές μικροαγγειακές επιπλοκές, περιλαμβάνουν βλάβη του αμφιβληστροειδούς και τύφλωση, άσηπτη νέκρωση των μηνιαίων κεφαλών, και υποτροπιάζουσα αιματοουρία. Η νόσος περιστασιακά περιπλέκεται από πνευμονική εμβολική ασθένεια,

ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια ή και μετά την εγκυμοσύνη. Αυτά τα επεισόδια θα πρέπει να αντιμετωπίζονται με την άμεση μετάγγιση. Οι ασθενείς με HbSC θα πρέπει να κάνουν ετήσιο οφθαλμολογικό έλεγχο (Weatherall 1997a).

Τα άτομα με μικροδρεπανοκυτταρική νόσο είναι σύνθετοι ετεροζυγώτες για την HbS και τη β θαλασσαιμία ( $\beta^0$  ή  $\beta^+$ ) και παράγουν HbS σε υψηλά ποσοστά. Τα άτομα με γονότυπο  $\beta^s/\beta^+$  εμφανίζουν μέτρια αναιμία και σπάνιες επώδυνες αιμολυτικές κρίσεις. Παράγουν HbS σε ποσοστό 55-75, HbA σε ποσοστό 10-30%, HbA<sub>2</sub>>3.5% και HbF σε ποσοστό 5-30%. Τα άτομα με γονότυπο  $\beta^s/\beta^0$  εμφανίζουν αναιμία, υπίκτηρο, σπληνομεγαλία και επώδυνες αιμολυτικές κρίσεις. Παράγουν HbS σε ποσοστό πάνω από 85% και καθόλου HbA.

Οι φορείς της δρεπανοκυτταρικής νόσου, ετεροζυγώτες της μετάλλαξης είναι άτομα ασυμπτωματικά και δεν εμφανίζουν αναιμία. Σε συνθήκες υποξίας όμως, όπως σε υψηλό υψόμετρο 3,000m, σε αεροπορικά ταξίδια, σε έντονη άσκηση, ή υψηλό πυρετό τα ερυθροκύτταρα μπορεί να λάβουν δρεπανοειδές σχήμα προκαλώντας μικροέφρακτα στο μυελό των νεφρών και αιματοουρία (Weatherall 1997a).

Οι φαινότυποι αυτοί μπορεί να τροποποιούνται από την αύξηση της συγκέντρωσης της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης HbF και την συνκληρονόμηση της α θαλασσαιμίας (Steinberg and Sebastiani, 2012) όπως και στην περίπτωση της β θαλασσαιμίας. Ο πολυμερισμός της HbS είναι η κύρια αιτία της παθοφυσιολογίας της δρεπανοκυτταρικής νόσου, και η HbF είναι ο πιο σημαντικός τροποποιητής των κλινικών και αιματολογικών χαρακτηριστικών αυτής της νόσου, επειδή δεν είναι σε θέση να εισέλθει στο πολυμερές HbS και μειώνει επίσης τη μέση συγκέντρωση της HbS. Οι υψηλές συγκεντρώσεις της HbF στα δρεπανοκυτταρικά ερυθροκύτταρα μπορούν να αποτρέψουν τον πολυμερισμό της HbS βελτιώνοντας την κλινική εικόνα των ασθενών. Επίσης, η α θαλασσαιμία τροποποιεί την κλινική εικόνα των ασθενών με δρεπανοκυτταρική αναιμία, μειώνοντας την ενδοκυτταρική συγκέντρωση της HbS, η οποία με τη σειρά της μειώνει καταστροφή των κυττάρων, βελτιώνοντας την κατάσταση της αιμόλυσης.

## 5. Συμπεράσματα

- Οι θαλασσαιμίες είναι μια ομάδα κληρονομικών αυτοσωματικών υπολειπόμενων αιματολογικών διαταραχών που συμβαίνουν λόγω ελαττωμάτων στην άλφα (α) και βήτα (β) αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης των ενηλίκων (Hb).
- Μαζί με την δρεπανοκυτταρική αναιμία, αποτελούν την πιο κοινή ομάδα κληρονομικών μονογονιδιακών διαταραχών στον κόσμο.
- Η υψηλή συχνότητα τους σε ημιτροπικές περιοχές του κόσμου όπως στις Μεσογειακές χώρες σχετίζεται με το επιλεκτικό πλεονέκτημα έναντι της ελονοσίας που προσφέρουν στους φορείς.
- Οι διαταραχές αυτές εμφανίζουν μεγάλη γονοτυπική και φαινοτυπική ετερογένεια, η οποία οφείλεται στο μεγαλύτερο ποσοστό στις διάφορες μεταλλάξεις που συμβαίνουν στα α και β γονίδια, αλλά και σε τροποποιητικά γονίδια και το περιβάλλον.
- Πολλές φορές οι ασθένειες αυτές συνκληρονομούνται αυξάνοντας ακόμα περισσότερο την κλινική ετερογένεια.
- Η συνκληρονόμηση της α-θαλασσαιμίας οδηγεί σε βελτίωση της κλινικής εικόνας των ασθενών μειώνοντας την ανισορροπία στις αλυσίδες α / β-σφαιρίνης.
- Η αυξημένη παραγωγή των γ αλυσίδων της HbF μετά τη γέννηση (παραμονή της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης) μπορεί να μειώσει τον βαθμό της ανισορροπίας των αλυσίδων σφαιρίνης.
- Η μελέτη των τροποποιητικών γονιδίων κρίνεται απαραίτητη σε μεγαλύτερους πληθυσμούς ώστε να διευκρινιστούν περαιτέρω οι αλληλεπιδράσεις τους με το φαινότυπο των ασθενών.
- Η μελέτη των τροποποιητικών γονιδίων πιστεύεται ότι θα οδηγήσει σε πιο ακριβή διαγνωστικά τεστ και στην ανάπτυξη περισσότερο ειδικών και αποτελεσματικών θεραπειών.
- Στόχο αποτελεί η ανάπτυξη θεραπειών που θα στοχεύουν τους γενετικούς τροποποιητές, όπως η ενεργοποίηση του γονιδίου της γ αλυσίδας για την παραγωγή εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης.
- Οι μοριακές και κλινικές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έως τώρα παρέχουν σημαντική πληροφορία ως προς τη σχέση μεταξύ της

μοριακής βάσης των αιμοσφαιρινοπαθειών και την κλινική τους ποικιλομορφία και συνέβαλαν στο να διευκρινιστούν οι επιπτώσεις των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των διαφόρων γενετικών τροποποιητών και των θαλασσαιμικών φαινοτύπων, παρέχοντας εν τω μεταξύ τη βάση για σωστή γενετική συμβουλευτική και υπηρεσίες προληπτικής ιατρικής.

- Οι χώρες στις οποίες οι ασθένειες αυτές εμφανίζονται σε μεγαλύτερο ποσοστό οφείλουν να δημιουργήσουν προγράμματα πρόληψης που βασίζονται σε έλεγχο, γενετική συμβουλευτική και παροχή προγεννητικής διάγνωσης σε ζευγάρια που διατρέχουν κίνδυνο.

## 6.Βιβλιογραφία

- Andrews, N. C. Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. *Nature Rev. Genet.* 1: 208–217. 2000.
- Bianco, I. Cappabianca MP, Foglietta E, Lerone M, Deidda G, Morlupi L, Grisanti P, Ponzini D, Rinaldi S, Graziani B. Silent thalassemias: genotypes and phenotypes. *Haematologica.* 82: 269–280. 1997.
- Boyer, S. H., Belding, T. K., Margolet, L. & Noyes, A. N. Fetal hemoglobin restriction to a few erythrocytes (F cells) in normal human adults. *Science.* 188, 361–363. 1975.
- Bradley TB, Wohl RC, Smith GJ: Elongation of the alpha-globin chain in a black family:interaction with HbG Philadelphia. [abstract]. *Clinical research.* 1975
- Brittenham GM, Griffith PM, Nienhuis AW, McLaren CE, Young NS, Tucker EE, et al. Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *N Engl J Med.* 331:567-73. 1994.
- Cao, A., Gasperini, D., Podda, A. & Galanello, R.. Molecular pathology of thalassemia intermedia. *Eur. J. Int. Med.* 1, 227–236. 1990.
- Clegg JB, Weatherall DJ, Contopolou-Griva I, Caroutsos K, Pougouras P, Tsevrenis H: Haemoglobin Icaria, a new chain-termination mutant with causes alpha thalassaemia. *Nature.* 251:245-247. 1974.
- Clegg JB, Weatherall DJ, Milner PF: Haemoglobin Constant Spring—a chain termination mutant? *Nature.* 234:337-340. 1971.
- Curuk MA, Dimovski AJ, Baysal E, Gu LH, Kutlar F, Molchanova TP, Webber BB, Altay C, Gurgey A, Huisman TH: Hb Adana or alpha 2(59)(E8)Gly-->Asp beta 2, a severely unstable alpha 1-globin variant, observed in combination with the -(alpha)20.5 Kb alpha-thal-1 deletion in two Turkish patients. *Am J Hematol.* 44:270-275. 1993.
- De Jong WW, Meera KP, Bernini LF: Hemoglobin Koya Dora: high frequency of a chain termination mutant. *Am J Hum Genet.* 27:81-90. 1975.

- Dresner Pollak, R., Rachmilewitz, E., Blumenfeld, A., Idelson, M. & Goldfarb, A. W. Bone mineral metabolism in adults with  $\beta$ -thalassaemia major and intermedia. *Br. J. Haematol.* 111: 902–907. 2000.
- Fiorelli, G., Sampietro, M., Romano, M., Albano, M., Cappellini, M. D. Clinical features of thalassaemia intermedia in Italy. *Birth Defects: Original Articles Ser.* 23, 287–295. 1988.
- Galanello R, Origa R. Beta-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis.* 5:11. 2010.
- Galanello R, Perseu L, Perra C, , Maccioni L, Barella S, Longinotti M, Cao A, Cazzola M. Somatic deletion of the normal beta-globin gene leading to thalassaemia intermedia in heterozygous beta-thalassaemic patients. *BrJ Haematol.* 127, 604-606. 2004.
- Galanello R. Recent advances in the molecular understanding of non-transfusion-dependent thalassaemia. *Blood Rev.* 1:7-11. 2012.
- Galanello, R. et al. Hyperbilirubinaemia in heterozygous  $\beta$  thalassaemia is related to co-inherited Gilbert's syndrome. *Br. J. Haematol.* 99: 433–436. 1997.
- Galanello, R. et al. Molecular analysis of  $\beta$ o-thalassemiaintermedia in Sardinia. *Blood* 74, 823–827. 1989.
- Giardine B, Borg J, Higgs DR, Peterson KR, Philipson S, Maglott D, Singleton BK, Anstee DJ, Basak AN, Clark B, et al. Systemic documentation and analysis of human genetic variation in hemoglobinopathies using the microattribution approach. *Nat Genet* 43: 295–301. 2011.
- Giardine B, van Baal S, Kaimakis P, et al. HbVar database of human hemoglobin variants and thalassaemia mutations: 2007 update. *Hum Mutat.* 28:206. 2007.
- Gilman, J. G. & Huisman, T. H. J. DNA sequence variation associated with elevated fetal  $\gamma$  globin production. *Blood.* 66: 783–787. 1985.
- Gonzalez-Redondo, J. H. Stoming TA, Kutlar A, Kutlar F, Lanclos KD, Howard EF, Fei YJ, Aksoy M, Altay C, Gurgey A. A C-T substitution at nt- 101 in a conserved DNA sequence of the promoter region of the  $\beta$ -globin gene is associated with 'silent'  $\beta$ - thalassaemia. *Blood.* 73, 1705–1711. 1989.

- Goossens M, Lee KY, Liebhaber SA, Kan YW: Globin structural mutant alpha 125Leu leads to Pro is a novel cause of alpha-thalassaemia. *Nature*. 296:864-865. 1982.
- Grosso Michela, Raffaele Sessa, Stella Puzone, Maria Rosaria Storino, Paola Izzo. *Molecular Basis of Thalassaemia, Anemia*, Dr. Donald Silverberg (Ed.), 341-359. 2012.
- Hall GW, Higgs DR, Murphy P, Villegas A, de MA: A mutation in the polyadenylation signal of the alpha 2 globin gene (AATAAA-->AATA--) as a cause of alpha thalassaemia in Asian indians. *Br J Haematol*. 88:225-227. 1994.
- Hardison RC, Chui DH, Riemer CR, et al. Access to a syllabus of human hemoglobin variants (1996) via the World Wide Web. *Hemoglobin*. 22:113–27. 1998.
- Harteveld CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis*. 5:13. 2010.
- Harteveld CL, Losekoot M, Haak H, Heister GA, Giordano PC, Bernini LF: A novel polyadenylation signal mutation in the alpha 2-globin gene causing alpha thalassaemia. *Br J Haematol*. 87:139-143. 1994.
- Henderson S, Timbs A, McCarthy J et al. Incidence of haemoglobinopathies in various populations – the impact of immigration. *Clin. Biochem*. 42: 1745–1756. 2009.
- Higgs D.R. & Gibbons R.J. The molecular basis of  $\alpha$ -thalassemia: a model for understanding human molecular genetics. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 24: 1033-1054. 2010.
- Higgs D.R. The molecular basis of  $\alpha$ -Thalassaemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 3: 1-14. 2014.
- Higgs DR, Goodbourn SE, Lamb J, Clegg JB, Weatherall DJ, Proudfoot NJ: Alpha-thalassaemia caused by a polyadenylation signal mutation. *Nature*. 306:398-400. 1983.
- Higgs DR, Weatherall DJ. The alpha thalassaemias. *Cell Mol Life Sci* 66:1154–62. 2009.
- Higgs DR, Weatherall DJ. The alpha thalassaemias. *Cell Mol Life Sci*. 66:1154-62. 2009.

- Higgs DR. The molecular basis of a thalassemia. In Disorders of hemoglobin (ed. Steinberg MH, et al.). Cambridge University Press, Cambridge. 241–265. 2009a.
- Higgs DR. The pathophysiology and clinical features of a thalassemia. In Disorders of hemoglobin (ed. Steinberg MH, et al.). Cambridge University Press, Cambridge. 266–295. 2009b.
- Higgs, D. R. Practice and Research: The Haemoglobinopathies. Baillière's Clinical Haematology .117–150. 1993.
- Ho, P. J., Hall, G. W., Luo, L. Y., Weatherall, D. J. & Thein, S.L.  $\beta$  thalassaemia intermedia: is it possible to predict phenotype from genotype. Br. J. Haematol. 100, 70–78. 1998.
- Honig GR, Shamsuddin M, Zaizov R, Steinherz M, Solar I, Kirschmann C: Hemoglobin Petah Tikva (alpha 110 ala replaced by asp): a new unstable variant with alpha-thalassemia-like expression. Blood. 57:705-711. 1981.
- Joanne Traeger-Συνοδινού, Χριστίνα Βρεττού, Μανούσος Παπαδάκης, Εμμανουήλ Καναβάκης. Η μοριακή βάση των Μεσογειακών Συνδρόμων. Haema. 2, 225-234. 2011.
- Kan, Y. W. & Nathan, D. G. Mild thalassemia: the result of interactions of  $\alpha$  and  $\beta$  thalassemia genes. J. Clin. Invest. 49, 635–642. 1970.
- Kanavakis E, Papassotiriou I, Karagiorga M, Vrettou C, Metaxotou-Mavrommati A, Stamoulakatou A, Kattamis C, Traeger-Synodinos J. Phenotypic and molecular diversity of haemoglobin H disease: a Greek experience. Br J Haematol. 111:915-23. 2000.
- Kanavakis E, Traeger-Synodinos J, Lafioniatis S, Lazaropoulou C, Liakopoulou T, Paleologos G, Metaxotou-Mavrommati A, Stamoulakatou A, Papassotiriou I. A rare example that coinheritance of a severe form of beta-thalassemia and alpha-thalassemia interact in a "synergistic" manner to balance the phenotype of classic thalassaemic syndromes. Blood Cells Mol Dis. 32:319-24. 2004.
- Khaled M. Musallam, Stefano Rivella, Elliott Vichinsky, Eliezer A. Rachmilewitz. Non-transfusion-dependent thalassemiias. Haematologica. 98, 833-844. 2013.



- Labie, D. et al. Common haplotype dependency of high Gγ- globin gene expression and high Hb F levels in β- thalassemia and sickle cell anemia patients. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 82: 2111–2114. 1985.
- Lamb J, Wilkie AOM, Harris PC et al. Detection of breakpoints in submicroscopic chromosomal translocation, illustrating an important mechanism for genetic disease. *Lancet ii:* 819-824. 1989.
- Maragoudaki E, Kanavakis E, Traeger-Synodinos J, Vrettou C, Tzetis M, Metaxotou-Mavrommati A, Kattamis C. Molecular, haematological and clinical studies of the -101 C --> T substitution of the beta-globin gene promoter in 25 beta-thalassaemia intermedia patients and 45 heterozygotes. *Br J Haematol.* 107:699-706. 1999.
- Menzel S, Garner C, Gut I, et al. A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15. *Nat Genet.* 39:1197-1199. 2007.
- Muncie HL, Jr., Campbell J. Alpha and beta thalassemia. *Am Fam Physician.* 80:339–44. 2009.
- Olivieri NF, Nathan DG, MacMillan JH, et al. Survival in medically treated patients with homozygous  $\alpha^0$  thalassemia. *N Engl J Me.* 331:574-8. 1994.
- Olivieri NF, Pakbaz Z, Vichinsky E. HbE/beta-thalassemia: basis of marked clinical diversity. *Hematol Oncol Clin North Am.* 24:1055–70. 2010.
- Rees, D. C., Porter, J. B., Clegg, J. B. & Weatherall, D. J. Why are hemoglobin F levels increased in Hb E/β thalassemia? *Blood* 94, 3199–3204. 1999.
- Rees, D. C., Singh, B. M., Luo, L. Y., Wickramasinghe, S., Thein, S. L. Nontransfusional iron overload in thalassemia: association with hereditary hemochromatosis. *Ann. NY Acad. Sci.* 850: 490–494. 1998.
- Riberio D.M., Sonati M.F. Regulation of human alpha-globin gene expression and alpha thalassemia. *Genet. Mol. Res.* 7: 1045-53. 2008.
- Rugless MJ, Fisher CA, Old JM, Sloane-Stanley J, Ayyub H, Higgs DR, Garrick D. A large deletion in the human  $\alpha$ -globin cluster caused by a replication error is associated with an unexpectedly mild phenotype. *Hum Mol Genet.* 17: 3084–3093. 2008.

- Rund, D. Oron-Karni V, Filon D, Goldfarb A, Rachmilewitz E, Oppenheim A. Genetic analysis of  $\beta$ -thalassemia intermedia in Israel: diversity of mechanisms and unpredictability of phenotype. *Am. J. Hematol.* 54, 16–22. 1997.
- Sampietro, M. et al. The expression of uridine diphosphate glucuronosyltransferase gene is a major determinant of bilirubin level in heterozygous  $\beta$ -thalassaemia and in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Br. J. Haematol.* 99: 437–439. 1997.
- Sanguansermsri T, Matragoon S, Changloah L, Flatz G: Hemoglobin Suan- Dok (alpha 2 109 (G16) Leu replaced by Arg beta 2): an unstable variant associated with alpha-thalassemia. *Hemoglobin.* 3:161-174. 1979.
- Sankaran VG, Menne TF, Xu J, et al. Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor BCL11A. *Science.* 322:1839-1842. 2008.
- Schwartz, E. The silent carrier of  $\beta$  thalassemia. *N. Engl. J. Med.* 281, 1327–1333. 1969.
- Stamatoyannopoulos, G. & Grosfeld, F. *The Molecular Basis of Blood Disease.* Saunders, New York. 135–182. 2001.
- Stamatoyannopoulos, G., Woodson, R., Papayannopoulou, T., Heywood, D. & Kurachi, M. S. Inclusion-body  $\beta$ - thalassemia trait. A form of  $\beta$  thalassemia producing clinical manifestations in simple heterozygotes. *N. Engl. J. Med.* 290: 939–943. 1974.
- Steinberg M.H. et al. *Disorders of hemoglobin.* Cambridge University Press. 2001.
- Steinberg M.H., Sebastiani P. Genetic modifiers of sickle cell disease. *Am. J. Hematol.* 87: 795-803. 2012.
- Taher AT, Musallam KM, Cappellini MD, Weatherall DJ. Optimal management of beta thalassaemia intermedia. *Br J Haematol.* 152: 512–23. 2011.
- Thein S.L. *The Molecular Basis of  $\beta$  –Thalassemia.* Cold Spring Harbor Press. 3: 1-24. 2013.
- Thein SL. Genetic association studies in  $\beta$ -hemoglobinopathies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2013:354-61. 2013.

- Thein, S. L. et al. Association of thalassaemia intermedia with a  $\beta$ -globin gene haplotype. *Br. J. Haematol.* 65: 370–373. 1987.
- Traeger-Synodinos J, Hartevelde CL, Kanavakis E, Giordano PC, Kattamis C, Bernini LF: Hb Aghia Sophia [ $\alpha$ 62(E11)Val $\rightarrow$ 0 ( $\alpha$ 1)], an "inframe" deletion causing alpha-thalassemia. *Hemoglobin.* 23:317-324. 1999.
- Traeger-Synodinos J, Kanavakis E, Vrettou C, Maragoudaki E, Michael T, Metaxotou-Mavromati A, Kattamis C. The triplicated alpha-globin gene locus in beta-thalassaemia heterozygotes: clinical, haematological, biosynthetic and molecular studies. *Br J Haematol.* 95(3):467-71. 1996.
- Traeger-Synodinos J. Molecular basis of  $\alpha$ -thalassaemia. *Thalassemia Reports.* 1: 48-50. 2011.
- Traeger-Synodinos J<sup>1</sup>, Papassotiriou I, Metaxotou-Mavrommati A, Vrettou C, Stamoulakatou A, Kanavakis E. Distinct phenotypic expression associated with a new hyperunstable alpha globin variant (Hb heraklion,  $\alpha$ 1cd37(C2)Pro $\rightarrow$ 0): comparison to other alpha-thalassemic hemoglobinopathies. *Blood Cells Mol Dis.* 26: 276-84. 2000.
- Uda M, Galanello R, Sanna S, et al. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of beta-thalassemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105:1620-1625. 2008.
- Viprakasit V, Gibbons RJ, Broughton BC, et al. Mutations in the general transcription factor TFIIF result in beta-thalassaemia in individuals with trichothiodystrophy. *Hum Mol Genet.* 10:2797–2802. 2001
- Wahlberg K, Jiang J, Rooks H, et al. The HBS1L-MYB intergenic interval associated with elevated HbF levels shows characteristics of a distal regulatory region in erythroid cells. *Blood.* 114:1254-1262. 2009.
- Wainscoat, J. S., Thein, S. L. & Weatherall, D. J. Thalassaemia intermedia. *Blood Rev.* 1: 273–279. 1987.
- Waye JS, Eng B, Patterson M, Chui DH, Olivieri NF: Identification of a novel termination codon mutation (TAA $\rightarrow$ TAT, Term $\rightarrow$ Tyr) in the

- alpha 2 globin gene of a Laotian girl with hemoglobin H disease. *Blood*. 83:3418-3420. 1994.
- Weatherall D. 2003 William Allan Award address. The Thalassemias: the role of molecular genetics in an evolving global health problem. *Am J Hum Genet*. 74:385–92. 2004.
  - Weatherall D.J. Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nature Reviews Genetics*. 2: 245-255. 2001.
  - Weatherall D.J. Single gene disorders or complex traits: lessons from the thalassemias and other monogenic diseases, *Br. Med. J*. 321:1117–1120. 2000.
  - Weatherall D.J. The Hereditary anaemias. *BMJ*. 314: 492-497. 1997a.
  - Weatherall D.J. The Thalassaemias. *BMJ*. 314: 1675-8. 1997b.
  - Weatherall D.J., Clegg J.B. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bulletin of the World Health Organisation*. 79: 704-712. 2001.
  - Weatherall DJ, Clegg JB. *The Thalassemia Syndromes*. 4th ed. Oxford: Blackwell Science; 2001.
  - Weatherall DJ, Williams TN, Allen SJ, O'Donnell A. The population genetics and dynamics of the thalassemias. *Hematol. Oncol. Clin. North Am*. 24: 1021–1031. 2010.
  - Weatherall DJ. The molecular basis for phenotypic variability of the common thalassaemias. *Mol Med Today*. 1:15-20. 1996.
  - Weatherall, D. J. Clegg JB, Knox-Macaulay HH, Bunch C, Hopkins CR, Temperley IJ. A genetically determined disorder with features both of thalassaemia and congenital dyserythropoietic anaemia. *Br. J. Haematology*. 24: 681–702. 1973.
  - Weatherall, D. J. Pathophysiology of thalassaemia. *Clinical Haematology*. 11: 127–146. 1998.
  - Weatherall DJ & Clegg JB (1981) *The Thalassaemia Syndromes*. Oxford: Blackwell Scientific.
  - Wilkie AOM, Buckle V J, Harris PC et al. Clinical features and molecular analysis of the alpha thalassaemia/mental retardation syndromes.

- I. Cases due to deletions involving chromosome band 16p13.3. American Journal of Human Genetics 46: 1112-1126. 1990a.
- Wilkie AOM, Zeitlin HC, Lindenbaum RH et al. Clinical features and molecular analysis of the e-thalassemia/mental retardation syndromes. II. Cases without detectable abnormality of the  $\alpha$  globin complex. American Journal of Human Genetics 46:1127-1140. 1990c.
  - Xu J, Sankaran VG, Ni M, et al. Transcriptional silencing of {gamma}-globin by BCL11A involves long-range interactions and cooperation with SOX6. Genes Dev.24:783-798. 2010.
  - Yu C, Niakan KK, Matsushita M, Stamatoyannopoulos G, Orkin SH, Raskind WH. X-linked thrombocytopenia with thalassemia from a mutation in the amino finger of GATA-1 affecting DNA binding rather than FOG-1 interaction. Blood. 100: 2040–5. 2002.
  - Yuregir GT, Aksoy K, Curuk MA, Dikmen N, Fei YJ, Baysal E, Huisman TH: HbH disease in a Turkish family resulting from the interaction of a deletional alpha-thalassaemia-1 and a newly discovered poly A mutation. Br J Haematol. 80:527-532. 1992.