

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA”

FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

BETA-TALASEMIILE – OPȚIUNI TERAPEUTICE

ÎN ANEMIA COOLEY

REZUMAT

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:

PROFESOR DR. MIRCEA GEORMĂNEANU

DOCTORAND:

DR. BUJOR - EUGEN ALMĂȘAN

BUCUREȘTI

2007

PAR TEA GENERALA

1. Introducere

Sindroamele talasemice reprezintă un grup heterogen de anemii ereditare datorate sintezei anormale de hemoglobină făcând parte din grupul anemiilor hemolitice. Forma homozigotă (anemia Cooley) reprezintă forma severă de anemie congenitală hemolitică și ridică probleme de tratament și la ora actuală, pacienții având o durată de supraviețuire limitată.

2. Fiziopatologie

Fiziopatologic și patogenic, amprenta tuturor formelor de β -talasemie (inclusiv β -talasemia majoră sau boala Cooley) este sinteza nebalansată a lanțurilor de globină din Hb (fie a lanțurilor α , fie a lanțurilor β), sinteză de care sunt responsabile gene specifice (62). Genele care encodează sinteza lanțurilor α sunt localizate pe cromozomul 16, brațul scurt (16q13.3). Genele care encodează sinteza lanțurilor β sunt situate pe cromozomul 11, pe banda 11p15.5 (38).

Este o boală genetică cu transmitere autosomal recesivă (40). În cazul talasemiei majore există un exces important de lanțuri libere de tip α ceea ce duce și la distrugerea precursorilor hematiilor de la nivelul măduvei osoase și depunerea de fier la acest nivel. Eritropoieza este inefficientă prin afectarea precursorilor. Secreția crescută de eritropoietină duce la expansiunea focarelor suplimentare de eritropoieză la nivelul măduvei osoase, cu apariția modificărilor și deformărilor osoase. Distrucția în periferie a hematiilor duce la eliberarea atomilor de fier în exces cu depunerea acestora la nivelul variilor țesuturi (cord, plămân, glande endocrine, etc.) ducând la disfuncții ale acestora. Hiperhemoliza duce la apariția icterului, hiperbilirubinemiei neconjugate și eliberare de fier în exces.

3. Diagnostic pozitiv

Fizionomia β -talasemică (β -talasemic trait) - indivizii heterozigoți pentru mutații ale sintezei β globinei. Aspectul hematiilor poate fi normal.

Beta-talasemia majoră (anemia Cooley) este realizată de formele homozigote β^0 .

Beta-talasemia intermediară este forma realizată de homozigoții β^+ . Apare un tablou clinic mai atenuat față de forma majoră.

Beta-talasemia minoră este realizată cel mai frecvent de heterozigoții β^0 / β^+ sau deleții ale genelor pentru lanțurile γ - δ - β globinice.

3.1. Tablou clinic

Tabloul clinic este sugestiv în jurul vârstei de 13-15 luni (101). Tegumentele prezintă o culoare caracteristică dată de paliditatea datorată anemiei în combinație cu icterul datorat hiperbilirubinemiei. Examenul clinic cardiac evidențiază semne de insuficiență cardiacă. Examenul clinic al abdomenului evidențiază hepatomegalie și

splenomegalie constantă (109). Datorită focarelor de eritropoieză secundară cu hiperplazie eritroidă și expansiune intramedulară apar modificări la nivelul oaselor faciale cu hipertrofia oaselor zigomatice, craniu în turn, îngroșarea eminențelor malare dând un aspect caracteristic de facies mongoloid. Pacienții prezintă retard al creșterii și dezvoltării, asociat cu retard al maturării osoase (109).

3.2. Investigații

3.2.1 Investigații hematologice și biochimice

Hemograma evidențiază: anemie uneori severă, volum eritrocitar mediu, hemoglobină eritocitară medie și concentrație eritocitară medie de hemoglobină mult scăzute, leucocitoză neutrofilică moderată, reticulocitoză moderat crescută față de numărul de hematii, aparent normală sau chiar scăzută datorită gradului de severitate a insuficienței eritropoiezei cu hemoliză intramedulară, uneori sub 1%, trombocitoză moderată sau valori normale. Frotiul sanguin sugerează diagnosticul - hematii mici, hipocrome, anizocitoză marcată, anulocite, mari neregularități de formă eritocitară, hematii în semn de tras la țintă, virgulă, policromatofilie, eritroblaști în periferie. Frotiul medular evidențiază hiperproducție eritroblastică cu eritropoieză inefficientă. Raportul celule eritroide/mieloide este peste 20:1. Electroforeza hemoglobinei este elementul esențial pentru diagnosticul etiologic: HbF este mult crescută (20-98%, în raport cu gradul de sinteză reziduală a lanțurilor β), HbA este scăzută (80-0 %) iar HbA₂ are valori normale. Din punct de vedere biochimic se evidențiază: hiperbilirubinemie indirectă, hipersideremie, feritina crescută, capacitatea latentă de saturare cu fier a transferinei absentă, CTLF este scăzută, rezistența la alcaline este crescută datorită prezenței HbF, rezistența globulară osmotică este crescută urmare a slabei încărcări cu hemoglobină, scăderea rezistenței mecanice a hematiilor, LDH este uneori crescută, reflectând eritropoieza inefficientă.

3.2.2. Investigații radiologice

La nivelul craniului se evidențiază imaginea caracteristică „în perie”, cu aplatizarea occiputului (99). Densitatea osoasă este scăzută. La nivelul oaselor lungi se remarcă și fuziunea prematură a epifizelor, prezentă la 23 % dintre pacienții cu vârstă peste 10 ani (41). Radiografia pulmonară permite evaluarea cardiomegaliei.

3.2.3. Investigații complementare

Electrocardiografia și ecografia cardiacă permite evaluarea funcției cardiace. Ecografia abdominală evidențiază hepatomegalia, splenomegalia, litiaza biliară (19), etc. Pentru monitorizarea tratamentului cu desferioxamină se utilizează și examenul oftalmologic, audiograma și testele funcționale renale.

3.2.4. Diagnosticul prenatal

Dezvoltarea tehnologiei PCR (Polymerase-chain-reaction) a permis diagnosticul genetic prenatal și postnatal, pentru identificarea purtătorilor sănătoși (49).

4. Diagnostic diferențial

Pentru a permite diferențierea mai ușoară între anemia feriprivă și talasemie se pot folosi anumiți indici: Index Mentzer; Index Shane-Lane; Index Englasd-Fraser. Determinarea feritinei, saturației transferinei și protoporfirinei eritrocitare sunt folosite în diagnosticul diferențial al celor două afecțiuni. Studiarea frotiului sanguin permite adesea diferențierea între anemia feriprivă și talasemie. O altă afecțiune de care trebuie diferențiată talasemie este deficitul de piruvat kinază. Diferențierea se face prin determinarea enzimei prin metode imunoenzimatică și mai nou prin polymerase chain reaction a ADN-ului. Pe lângă anemia feriprivă trebuie excluse și alte cauze de anemii microcitare, ca anemia din inflamațiile cronice, anemia din intoxicația cu plumb, anemiile sideroblastice.

5. Tratament

5.1. Tratamentul substitutiv (transfuzia)

Transfuzarea cronică a pacienților cu β talasemie rămâne principalul tratament al acestora, capabil să prelungească durata de viață. Tratamentul transfuzional este precoce, individual, pentru a menține un nivel acceptabil al Hb între 10 și 12 mg/dl.

5.2. Tratamentul chelator

Desferioxamina (DFO) este o hidroxilamină hexavalentă cu afinitate crescută pentru fier, este activă când este administrată im, iv sau sc (141). Regimul obișnuit de administrare este de 30-40 mg/kg, pe durată de 10-12 ore, în regim de 5 zile pe săptămână, cu administrare în special pe durata nopții. Efectele secundare sunt date de toxicitatea desferoxaminei: reacții de tip anafilactic, de tip urticarian la locul de infuzare, reacțiile locale de tipul roșeață, durere și tumefacție, dezvoltarea de noduli subcutanați. La doze mari poate duce la afectare auditivă, a acuității vizuale.

Se utilizează actual pe plan mondial chelatori pe cale orală: Deferasirox (ICL670) la doze de 80 mg/kg, în doză unică, Deferiprone (L1,CP20 sau DMHP) - produce neutropenie severă sau agranulocitoză.

Ultimele studii privind terapia chelatoare apreciază utilitatea asocierii între 2 chelatori (subcutanat și oral).

5.3. Dieta și suplimentarea vitaminică

Se recomandă administrarea vitaminei E și acidului folic 1 mg/zi (90).

5.4. Splenectomia

Splenectomia se recomandă dacă necesarul de sânge depășește 200-250 ml/kg/an, pentru a menține nivelul Hb la 10 g/dl, dacă apar fenomene de hipersplenism. În mod curent, se realizează peste vârsta de 5 ani cu vaccinare în prealabil cu vaccin polivalent pneumococic, meningococic și H.influenzae. Se recomandă terapia cu peniciline postsplenectomie.

5.5.Noii metode terapeutice

5.5.1. Transplantul alogenic de măduvă

Transplantul de celule stem hematopoietice (HSCT) este recomandat doar anumitor pacienți și reprezintă singurul tratament curativ în talasemie.

5.5.2. Manipularea farmacologică a sintezei de HbF

Long-acting-darbepoetin-alfa crește nivelul hemoglobinei la pacienții cu HbE-talasemie.

5.5.3. Terapie genică

Corecția talasemiei presupune introducerea unei gene normale de β -globină în celula stem multipotentă.

6. Complicații

Complicațiile din talasemie sunt date de modificările datorate focarelor de eritropoieză secundare, hiperplaziei eritroide și toxicității fierului în exces. Cele mai importante și de temut sunt complicațiile cardiace și cele hepatice. Afectarea cardiacă reprezintă complicația asociată cu mortalitatea în talasemia majoră, mai ales prin tulburări severe de ritm cardiac (tahicardie ventriculară). Afectarea hepatică duce la apariția fibrozei portale cu dezvoltarea în timp a cirozei. Dacă se asociază și hepatită (virală), acest proces va fi accelerat. Complicații endocrine sunt: retardul creșterii, secreția inadecvată de hormon de creștere, nivelul scăzut de somatomedină, scăderea sintezei de androgeni, hipotiroidism, diabet zaharat. Dintre complicațiile regimului transfuzional cronic cele mai des întâlnite sunt infecțiile cu viruși hepatitici: B, C, D și infecția HIV.

PARTEA SPECIALĂ

1. Introducere

Conform studiilor și estimărilor actuale, prevalența talasemiei majore în România este de aproximativ 5%.

Scopul prezentei lucrări este aprecierea stadiului actual al tratamentului complex aplicat copiilor cu beta-talasemie și evidențierea posibilităților de ameliorare a tratamentului talasemiei majore, cu scăderea morbidității și mortalității legate de supraîncărcarea cu fier.

2. Obiectivele studiului

Principalul obiectiv este reprezentat de evaluarea celei mai importante opțiuni terapeutice în beta-talasemie: transfuzia de masă eritrocitară.

Un al doilea obiectiv important al lucrării este reprezentat de evaluarea comparativă a eficacității chelării intramusculare și subcutane cu desferioxamină.

Ca obiectiv secundar s-a dorit analiza celorlalte metode terapeutice amintite în cadrul opțiunilor terapeutice făcând comparație între tratamentul aplicat actual în România și pe plan internațional.

3. Material și metodă

Studiu preliminar (lotul A)

Înainte de începerea studiului propriu-zis și în vederea evaluării importanței problemei, am efectuat un studiu retrospectiv simplu (lotul A), în cadrul IOMC „A.Rusescu”, București. Au fost revăzute datele anamnestice, clinice și biologice ale copiilor cu talasemie majoră urmăriți în IOMC în perioada 1995-2000 (lotul A).

În această perioadă au fost urmăriți în IOMC 23 de copii cu talasemie majoră. Repartiția lor pe sexe a fost de 13:10 (fete:băieți), aspect prezentat în figura 1.

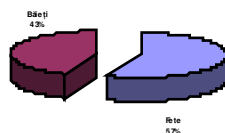


Figura 1. Repartiția pe sexe a lotului A.

Vârsta medie la momentul 0 al studiului a fost de 5 ani, cu limite de 1 – 16 ani și cu o distribuție prezentată în figura 2.

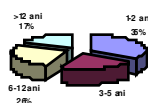


Figura 2. Repartiția pe grupe de vârstă a lotului A.

Terapia de substituție cu concentrate eritrocitare a fost începută la majoritatea copiilor din lotul A între vârstele de 1 an și 2 ani. Reprezentarea grafică a vârstei de debut a terapiei cu concentrate eritrocitare este realizată în figura 3.

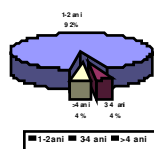


Figura 3. Momentul începerii terapiei cu concentrate eritrocitare la lotul A.

În cadrul acestui lot, am identificat un sublot cuprinzând 10 copii cu vârsta peste 5 ani. Acești 10 copii cu talasemie au primit tratament de substituție cu masă eritrocitară după un pattern neregulat.

Restul de 13 copii din cei 23 de copii cu beta-talasemie reprezintă al doilea sublot de studiu la care transfuzia de masă eritocitară s-a efectuat în regim regulat pe toată perioada de studiu.

În perioada 1990-1995, la copiii din primul sublot, intervalul între două transfuzii a fost variabil, între trei și șase săptămâni.

Ponderea intervalelor dintre transfuzii față de totalul lor este reprezentată grafic în figura 4.

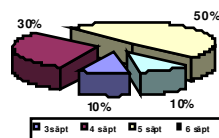


Figura 4. Ponderele intervalelor între transfuzii în anii 1990-1995.

Cei 13 copii cu regim transfuzional *regulat* au prezentat la internare următoarele: accentuarea palidității tegumentare (toți copiii); astenie marcată -60 % dintre copii; palpitații- 20 % dintre copii; dispnee la efort -10 % dintre copii.

Hemoglobina la internare, la copiii care au primit transfuzii *neregulate* a avut valori cuprinse între: 4-6 g/dl -10 % dintre copii; 6-7 g/dl-50 % dintre copii; 7-8 g /dl -30 % dintre copii; 8-9 g/ dl-10 % dintre copii.

Distribuția valorilor medii ale hemoglobinei la acest sublot este reprezentată comparativ în figura 5.

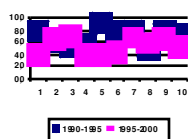


Figura 5. Valorile medii ale hemoglobinei la internare, comparație între perioadele 1990-1995 și 1995-2000.

Analizând datele cuprinse în foile de observație, se constată că pacienții care au primit *regulat* transfuzii la un interval de 3 săptămâni au avut valori la internare ale Hb de 8g/dl (la 60 % dintre aceștia) și 9 g/dl la 40 % dintre copii.

La lotul de copii transfuzați *neregulat*, complicațiile bolii au fost evidențiate mai ales la copiii cu vârstă de peste 12 ani. Astfel, afectarea cardiacă a fost prezentă la 6 copii, dintre care la 2 afectarea a fost severă, cu deces în această perioadă. Ambele decese au fost consecința tahicardiei ventriculare susținute.

În perioada 1995-2000, acest sublot a recuperat parțial *deficitul de dezvoltare*, însă influența pe termen lung a fost resimțită, atât în ceea ce privește parametrii antropometrici finali cât și prognosticul vital, singurele două decese înregistrate pe perioada de studiu fiind recutate din acest sublot.

Eșantionul luat în studiu cuprinde și un număr de cazuri de hepatită virală C (3 pacienți, adică 12%).

În cazul apariției hipersplenismului sau în cel al unei spline de dimensiuni extrem de mari, cu fenomene de compresiune loco-regională sau cu pericol de ruptură, o *opțiune terapeutică* este reprezentată de splenectomie (a treia opțiune terapeutică). La *lotul* 1995-2000, splenectomia a fost realizată la 12 dintre cei 23 de pacienți (52.17%), cu o distribuție a vârstelor ilustrată în figura 6.

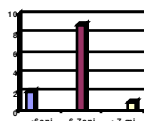


Figura 6. Repartiția pe grupe de vârstă în momentul splenectomiei
la lotul A.

În cadrul lotului A, hepatomegalia a fost prezentă la momentul 1995 la 17 pacienți (73.91%).

Gradul hepatomegaliei a fost după cum urmează:

- 1.00 - 1.25 – 9 pacienți;
- 1.25 - 1.50 – 4 pacienți;
- >1.50 – 4 pacienți, aspect reprezentat în figura 7.

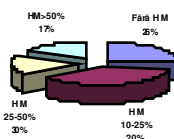


Figura 7. Prezența și gradul hepatomegaliei (HM) în lotul A.

A patra opțiune terapeutică este reprezentată de chelarea cu Desferal.

Majoritatea acestor pacienți primeau deja chelare în momentul includerii în studiu. Cei care nu primeau chelare au fost în număr de șapte și reprezintă cazurile nou diagnosticate pe perioada celor 5 ani (1995-2000); ne vom referi în continuare doar la cei 16 care primeau tratament chelator cu Desferal.

Vârsta de debut a tratamentului chelator a fost în medie de 4 ani și 11 luni, cu o distribuție reprezentată în figura 8.

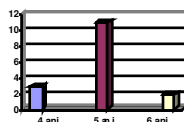


Figura 8. Vârsta de începere a chelării în lotul A (16 pacienți)

Privind evoluția pe parcursul celor cinci ani se remarcă prezenta indicilor ponderali scăzuți la peste 50% dintre copii (13 din 23).

Se remarcă, de asemenea, frecvența destul de mare a cazurilor de afectare hepatică secundară. Ne referim la prezența hepatitei cu virus C sau B, un număr de 7 copii din acest lot având AgHbS pozitiv (30%), și 3 copii fiind diagnosticați cu hepatită C (13 %).

La acest lot de copii, complicațiile bolii au fost evidențiate mai ales la copiii cu vârstă de peste 12 ani și la cei cu complianță scăzută la tratament (4 pacienți nu au respectat tratamentul de chelare i.m.). Astfel, afectarea cardiacă a fost prezentă la 6 copii, dintre care la 2 afectarea a fost severă, cu deces în această perioadă. Ambele decese au fost consecința tahicardiei ventriculare susținute.

Deoarece comparativ cu primele opțiuni terapeutice chelarea fierului a fost introdusă mai recent (în ultimele decenii) am considerat că evaluarea eficienței acestui tratament în funcție de modul de administrare se constituie în obiectiv secundar al lucrării de față.

Ipotezele de lucru privind metoda subcutană de chelare cu deferoxamină au fost următoarele: este mai eficientă comparativ cu cea intramusculară în ceea ce privește prevenirea/tratarea hemocromatozei; are mai puține efecte adverse; poate duce la creșterea complianței la tratament.

*

Primul lot de studiu (*lotul A*) este format din 23 de copii la care s-au aplicat metode de studiu retrospective, pe o durată de 5 ani, între 1995-2000. La acești pacienți terapia a fost reprezentată de transfuzii periodice sau neregulate și chelare cu Desferal i.m.

*

Al doilea lot de studiu (*lotul B*) este format din 25 de copii cu talasemie, la care s-au aplicat metode de studiu prospectiv. Unii dintre pacienții urmăriți în lotul studiat retrospectiv au participat și la urmărirea ulterioară făcând parte din lotul al doilea. S-a putut aprecia astfel mai bine evoluția acestor pacienți.

Acesta este un studiu prospectiv randomizat deschis. Studiul s-a desfășurat în cadrul Institutului pentru Ocrotirea Mamei și Copilului „Alfred Rusescu”, București, în perioada *ianuarie 2002 – ianuarie 2007*, pe un eșantion de 25 de copii diagnosticați cu talasemie majoră și urmăriți în cadrul IOMC, formând *lotul B*.

Design-ul selectării pacienților este prezentat în figura 9.

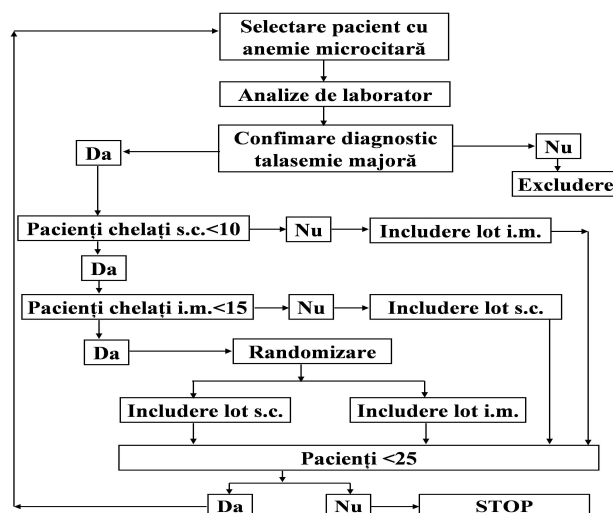


Figura 9. Design-ul selectării pacienților.

Copiii din eșantion au fost randomizați pentru a primi chelare subcutană – 10 copii (acesta fiind numărul de pompe disponibile inițial), respectiv intramusculară – 15 copii.

Lotul B a fost *subîmpărțit* în două subploturi subplotul 1 – chelare subcutană și subplotul 2 – chelare intramusculară.

Cele două subploturi au fost similare din punctul de vedere al sexului, vârstei și mediului de proveniență.

A fost evaluată comparativ eficiența chelării subcutane și intramusculare în ceea ce privește scăderea fentinemiei și a sideremiei, a hepatomegaliei și cardiomegaliei și din punctul de vedere al evoluției indicelui ponderal.

Efectele adverse care au fost căutate în mod specific au fost: durere la locul administrării; formarea de hematoame; infecții la locul administrării; reacții locale (eritem, edem); șoc/reacții anafilactic(e).

Pacienții din subplotul 1, în număr de 10, au primit câte o pompă specială pentru administrarea deferoxaminei, împreună cu consumabilele respective și flacoanele de desferioxamină.

4. Rezultate. Discuții

Vârsta medie de diagnostic a copiilor din lotul B fost de 27.56 luni (2 ani și 3 luni), cu limite între 12 și 35 de luni, aspect prezentat în figura 10.

Vârsta
în luni

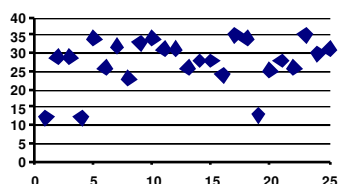


Figura 10. Distribuția vârstelor de diagnostic la eșantionul studiat (lotul B)

Se observă o grupare a vârstei de diagnostic între 2 și 3 ani.

Sublotul 1

Vârsta medie a subplotului 1 a fost de 8 ani și 11 luni, cel mai mic dintre copii având 1 an iar cel mai mare, 17 ani și 8 luni, cu o mediană de 8 ani și 4 luni. Distribuția pe grupe de vârstă este reprezentată în figura 11.

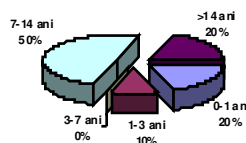


Figura 11. Repartiția pe grupe de vârstă a pacienților din subplotul 1.

Sublotul 1 a fost egal repartizat pe sexe, cuprinzând 5 băieți și 5 fete. Acest aspect este prezentat în figura 12.



Figura 12. Repartiția pe sexe a sublotului cu chelare subcutanată.

Dintre cei zece copii, trei aveau antecedente heredo colaterale de talasemie.

Splenectomia a fost realizată la 5 dintre cei 10 pacienți din sublotul 1, în toate cazurile fiind anterioară intrării în studiu. Vârsta medie de efectuare a splenectomiei a fost de 7 ani și 10 luni, cu limite între 4 ani și 10 ani 8 luni.

Semnele de hemocromatoză erau prezente la intrarea în studiu la 6 pacienți din cei 10. Toți cei șase aveau hepatomegalie, cu raport față de valoarea maximă pe vârstă pentru diametrul longitudinal în linia medioclaviculară (DL) după cum urmează :

- 1.00 - 1.25 – 2 pacienți;
- 1.25 - 1.50 – 3 pacienți;
- >1.50 – 1 pacient, aspect reprezentat în figura 13.

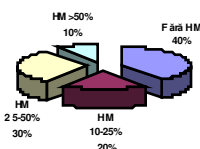


Figura 13. Prezența și gradul hepatomegaliei (HM) în sublotul 1.

Dintre cei șase pacienți cu hepatomegalie, doi prezentau și splenomegalie, ceea ce, alături de cei cinci pacienți splenectomizați, demonstrează un procent ridicat al suferinței splenice, adică 70% în sublotul 1, aspect ilustrat în figura 14.

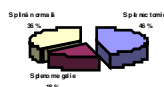


Figura 14. Afecțarea splenică în sublotul 1.

În momentul internării, valorile medii ale hemoglobinei pe pacient s-au situat între 5.96 g/dl și 7.22 g/dl, cu limite între 5 g/dl și 9.5 g/dl și cu o distribuție reprezentată în figura 15.

Hb g/dl

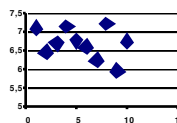


Figura 15. Valorile medii ale hemoglobinei în subplotul 1.

La extemare, hemoglobina a avut valori medii pe pacient în cazuri g/dl și 12.54 g/dl, cu limite de 10 g/dl și 13.9 g/dl și cu distribuția reprezentată în figura 16.

Hb g/dl

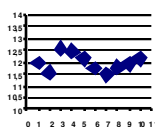


Figura 16. Distribuția valorilor medii pe pacient ale hemoglobinei la extemare la subplotul 1.

Nr.crt.
pacient

Sublotul 2

Grupul care a primit *chelare intramusculară* a avut o vârstă medie de 7 ani și 11 luni, cel mai mic dintre copii având 3 ani și 7 luni iar cel mai mare, 15 ani și 10 luni, cu o mediană de 9 ani și 8 luni. Distribuția pe grupe de vârstă este reprezentată în figura 17.

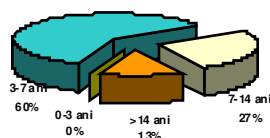


Figura 17. Distribuția pe grupe de vârstă a subplotului 2.

Din punctul de vedere al repartizării pe sexe, subplotul cu *chelare intramusculară* a cuprins 10 băieți și 5 fete, aspect reprezentat în figura 18.



Figura 18. Repartiția pe sexe a subplotului 2.

Splenectomia a fost realizată la 2 dintre cei 15 pacienți din subplotul 2, în toate cazurile fiind efectuată, de asemenea, anterior intrării în studiu. Vârsta medie de efectuare a splenectomiei a fost de 8 ani și 5 luni, cu limite între 7 ani și 9 ani 11 luni.

Semnele de hemocromatoză erau prezente la intrarea în studiu la 9 pacienți din cei 15 (60%).

Hepatomegalia a fost prezentă la toți cei 9 pacienți, cu următorul raport față de valoarea maximă pe vârstă pentru diametrul longitudinal în linia medioclaviculară (DL):

- 1.00 - 1.25 – 3 pacienți;
- 1.25 - 1.50 – 5 pacienți;
- >1.50 – 1 pacient, aspect reprezentat în figura 19.

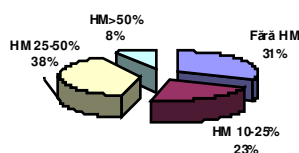


Figura 19. Prezența și gradul hepatomegaliei la sublotul 2.

Splenomegalia a fost prezentă la cinci dintre pacienții sublotului cu chelare intramusculară. Afectarea splenică este ilustrată în figura 20.

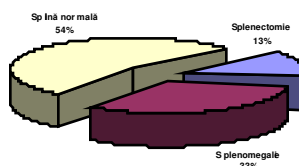


Figura 20. Afectarea splenică în sublotul 2.

În momentul internării, valorile medii ale hemoglobinei pe pacient s-au situat între 6.27 g/dl și 7.2 g/dl, cu limite între 5 g/dl și 8.5 g/dl și cu o distribuție reprezentată în figura 21.

Hb g/dl

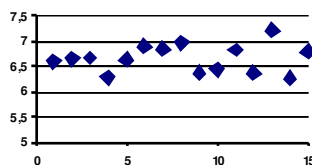


Figura 21. Valorile medii (pe pacient) ale hemoglobinei la internare în sublotul 2.

La extemare, hemoglobina a avut valori medii pe pacient între 10.92 g/dl și 12.28 g/dl, cu limite de 8.8 g/dl și 13.9 g/dl și cu distribuția reprezentată în figura 22.

Nr.crt.
pacient

Hb g/dl

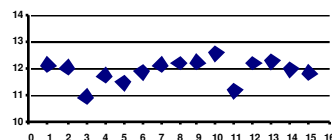


Figura 22. Distribuția valorilor medii (pe pacient) ale hemoglobinei la externare în sublotul 2.

Tipul și numărul evenimentelor de tip acut (pneumonie, traheobronșită, enterocolită) sunt reprezentate în figura 23 iar cele ale evenimentelor de tip cronic (disfuncție ventilatorie, hepatită, litiază veziculară, anemie hemolitică cu mecanism imun) sunt prezentate în fig. 24.

Nr. crt.
pacient

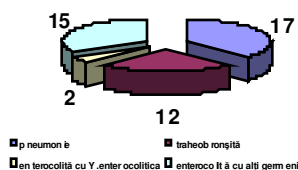


Figura 23. Evenimente de tip acut în eșantionul studiat.



Figura 24. Evenimente de tip cronic în eșantionul studiat.

Eșantionul luat în studiu cuprinde și un număr de cazuri de hepatită virală C (3 pacienți).

Pe eșantionul studiat am întâlnit trei cazuri de anemie hemolitică cu mecanism imun, care au pus, inițial, serioase probleme de diagnostic diferențial și, ulterior, probleme de tratament.

Din punctul de vedere al supraîncărcării marțiale, am urmărit valorile sideremiei și pe cele ale feritinemiei, la fiecare 6 luni.

Evoluția feritinemiei

După 6 luni, media feritinemiei în sublotul 1 a fost de 4318.6 $\mu\text{g/dl}$ (SE=337.003) iar în sublotul 2 de 4687.07 $\mu\text{g/dl}$ (SE=216.949).

La momentul următor (1 an), media feritinemiei era de 3572.8 $\mu\text{g/dl}$ (SE=284.8) în sublotul 1 și de 4429.13 $\mu\text{g/dl}$ (SE=192.455) în sublotul 2.

În acest moment, diferența devine semnificativă statistic, $p=0.016$ (test t).

Evoluția valorilor medii ale feritinemiei sunt reprezentate grafic în figura 25.

Valoarea
Feritinemiei
mg/L

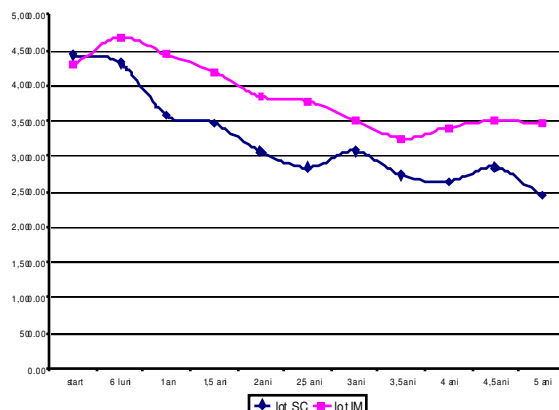


Figura 25. Evoluția feritinei comparativ între cele 2 loturi.

Evoluția sideremiei

La următorul moment (după 6 luni), media sideremiei a fost de 45.2 $\mu\text{mol/l}$ (SE=2.2667) în subplotul 1 și de 46.933 $\mu\text{mol/l}$ (SE=1.5102) în subplotul 2.

La 2 ani și șase luni de la debutul studiului, media sideremiei a fost de 38.6 $\mu\text{mol/l}$ (SE=1.579) în subplotul 1 și de 45.13 $\mu\text{mol/l}$ (SE=1.162) în subplotul 2. În acest moment, diferența devine semnificativă, atât din punct de vedere clinic (aproape 7 $\mu\text{mol/l}$), cât și din punct de vedere statistic, $p=0.002$ (test t).

Astfel, la ultima determinare, la 5 ani de la debutul studiului, media sideremiei era 28.8 $\mu\text{mol/l}$ (SE=1.526) pentru subplotul 1 și 41.07 $\mu\text{mol/l}$ (SE= 1.084) pentru subplotul 2.

Evoluția valorilor mediei sideremiei celor două subploturi de-a lungul perioadei de studiu este reprezentată în figura 26.

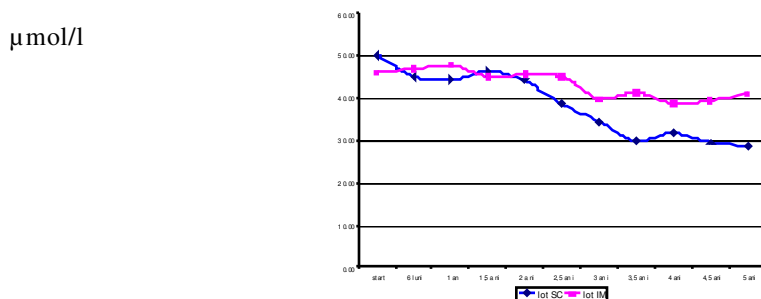


Figura 26. Evoluția sideremiei comparativ între cele 2 subploturi.

În concluzie, eficacitatea chelării subcutane este semnificativ statistic mai mare decât cea a chelării intramusculare, în ceea ce privește scăderea valorilor concentrației formelor solubile ale fierului în organism.

Această diferență este evidentă încă din al treilea an de tratament și se menține și în continuare, cel puțin pe durata a cinci ani.

Modificările sideremiei apar ulterior celor ale feritinemiei.

Hepatomegalia

După cum s-a arătat în partea de prezentare a loturilor, hepatomegal prezentată la șase pacienți (60%) din subplotul 1 și la 9 pacienți (60%) din subplotul 2.

Hepatomegalia a fost evaluată după indicii Hartnner, la 6 luni de la intrarea în studiu, apoi la fiecare 6 luni până la terminarea studiului. Evoluția parametrului studiat pe durata studiului este reprezentată în figura 27.

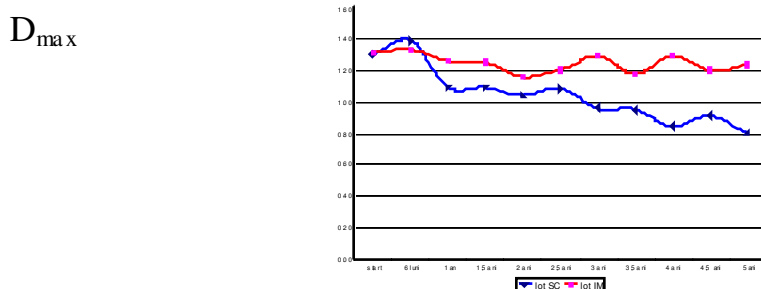


Figura 27. Evoluția hepatomegaliei comparativ între cele 2 subloturi.

În concluzie, chelarea subcutană este mult mai eficientă atât în scăderea formelor solubile (sideremia) și de depozit (feritinemia) ale fierului din organism, cât și în diminuarea/îndepărtarea efectelor acumulării de fier asupra unor organe țintă, unde este ficatul.

Cardiomegalia

Datorită acumulării fierului în miocardul de lucru, funcția contractilă a acestuia este afectată în diverse grade. Aceasta duce la instalarea cardiomegaliei, cu modificarea indicelui cardio-toracic.

Pentru a testa din acest punct de vedere diferența statistică între cele două loturi, am calculat mediile indexului cardio-toracic (ICT) la fiecare internare și am efectuat testul t, din 6 în 6 luni. La 3 ani și 6 luni, ICT mediu avea valori de 0.6719 (SE=0.0091) pentru sublotul 1 și 0.6958 (SE=0.0056), diferență semnificativă clinic dar și statistic, $p=0.027$ (test t).

Din acest moment și până la finalul studiului, diferența se menține semnificativă, atât clinic cât și statistic, la ultima determinare fiind chiar înalt semnificativă statistic, $p<0.001$ (test t).

Aspectul grafic al evoluției mediei ICT la cele două subloturi este prezentat în figura 28.



Figura 28. Evoluția mediei indicelui cardiororacic la cele două subloturi.

În concluzie, chelarea subcutană își dovedește superioritatea și în ceea ce privește efectele asupra dimensiunilor și funcției contractile ale cordului.

Aritmii cardiace

În cadrul lotului studiat, aceste evenimente au fost reprezentate de extrasistole supraventriculare, perioade de tahicardie ectopică supraventriculară, extrasistole ventriculare și două episoade de tahicardie ventriculară. Acestea din urmă, evenimente potențial amenințătoare de viață, au apărut la pacienți din subplotul 2 și au necesitat oprirea electrică a accesului (cardioversie asincronă) la un pacient și cardioversie chimică la un pacient.

Frecvența acestor evenimente în cadrul subplotului 1 a fost după cum urmează:

- Extrasistolie supraventriculară: 2 pacienți (20%)
- Tahicardie ectopică supraventriculară: 1 pacient (10%)
- Extrasistolie ventriculară: 1 pacient (10%)

Aceste aspecte strâns legate de severitatea hemocromatozei și eficiența chelării sunt prezentate pentru lotul 1 în figura 29.

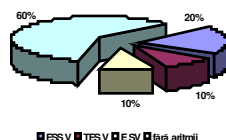


Figura 29. Frecvența și tipul aritmiilor cardiace în subplotul 1.

În ceea ce privește aritmiile apărute la pacienții din lotul 2, acestea au fost următoarele:

- extrasistolie supraventriculară: 4 pacienți (26.66%);
- tahicardie ectopică supraventriculară: 2 pacienți (13.33%);
- extrasistolie ventriculară: 5 pacienți (33.33%);
- tahicardie ventriculară: 2 pacienți (13.33%).

Aceste aspecte sunt prezentate în figura 30.

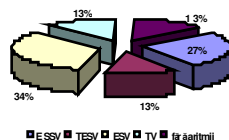


Figura 30. Frecvența și tipul aritmiilor cardiace în subplotul 2.

Indicele ponderal

Ca măsură generală a eficienței tratamentului, am studiat evoluția indicelui ponderal prin măsuri antropometrice din 6 în 6 luni.

După doi ani de tratament, însă, valorile medii ale IP au fost de 0.6981 (SE=0.0096) pentru subplotul 1 și 0.6508 (SE=0.0076) pentru subplotul 2, diferența fiind înalt semnificativă, atât clinic (aproape 0.05), cât și statistic, $p=0.001$. Reprezentarea grafică a evoluției mediei indicelui ponderal la cele două grupuri studiate este prezentată în figura 31.

IP

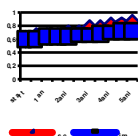


Figura 31. Evoluția mediei indicelui ponderal la cele două subloturi.

În concluzie, chelarea subcutană este clinic și statistic semnificativ mai eficientă în influențarea pozitivă a indicelui ponderal al copiilor cu talasemie majoră.

Efecte adverse locale

În ceea ce privește efectele adverse locale, acestea pot : Vârsta în ani în cazul administrării subcutane cât și în al celei intramusculare.

Pentru *sublotul 1*, reacțiile locale au apărut într-un număr total de 1332, adică la 7.29% din totalul administrărilor. În cazul *sublotului 2*, efectele adverse locale înregistrate au fost prezente la 2533 de administrări, adică la 9.25% din total.

Efecte adverse sistemice

Unul din efectele adverse sistemice întâlnite pe eșantionul studiat a fost afectarea vederii la un caz (4%), detectată la 3 ani de la începerea tratamentului. Au fost detectate două cazuri (8%) de scădere a acuității auditive pentru sunete de înaltă frecvență.

În România, la momentul actual, nu sunt disponibile alte opțiuni terapeutice (chelarea fierului cu preparate orale, transplantul medular, terapia genică).

5. Concluzii

1. Se remarcă evoluția - din punct de vedere al indicilor ponderali - mai bună la cei transfuzați *regulat* ca și apariția complicațiilor mai puțin frecventă decât la cei transfuzați *neregulat*.
2. Curba de distribuție a vârstei de diagnostic poate sugera un diagnostic relativ tardiv.
3. Chelarea *subcutană* cu desferioxamină este mai eficientă decât cea intramusculară din punctul de vedere al scăderii concentrației sanguine a *feritinei*.
4. Din punctul de vedere al modificării *sideremiei*, chelarea subcutană este, de asemenea, mai eficientă decât cea intramusculară.
5. Chelarea cu desferioxamină poate să ducă la scăderea dimensiunilor relative ale *ficatului* sau la scăderea ritmului de progresie a hepatomegaliei.
6. În ceea ce privește influențarea funcției contractile a cordului, chelarea subcutană a avut o eficiență semnificativ mai mare în scăderea indicelui cardio-toracic, în comparație cu administrarea intramusculară.
7. Modificările acestor *patru parametri* au survenit în următoarea ordine: feritinemie, sideremie, cardio megalie, hepatomegalie.
8. Indicator general al stării de sănătate, *indicele ponderal* a avut o tendință semnificativ mai mare de ameliorare în sublotul cu chelare subcutană.
9. *Efectele adverse locale* au fost prezente (procentual) la mai puține administrări în cazul administrării subcutane decât la administrarea intramusculară.

10. Pentru toți parametri enumerați, chelarea subcutană a fost mai eficientă decât cea intramusculară.

6. Propuneri

Date fiind rezultatele prezentului studiu, considerăm utile următoarele propuneri:

- Promovarea tratamentului substitutiv *regulat* prin orice metodă, superioritatea acestui tip de tratament fiind indiscutabilă.
- Promovarea la nivelul Casei Naționale de Asigurări de Sănătate și al Ministerului Sănătății Publice din România a metodei de chelare subcutană cu deferoxamină.
- Renunțarea la vechea metodă de chelare pe cale intramusculară.
- Promovarea introducerii chelării combinate (per os și subcutane) în cadrul Programului Național pentru talasemie majoră.
- Continuarea eforturilor, mai ales financiare pentru introducerea în cazuri atent selecționate a *transplantului medular* ca tratament în talasemia majoră, pe termen lung costul unui transplant medular fiind mult mai mic decât costul tratamentului *substitutiv* și *chelator*.

Bibliografie

1. Adams JG, Coleman MB et al: Modulation of fetal hemoglobin synthesis by iron deficiency. *N Engl J Med* 1985; 313:1402
2. Adams JG, Coleman MB: Structural hemoglobin variants that produce the phenotype of thalassemia. *Semin Hematol* 1990; 27:229
3. Advani R, Sorenson S, Shinar E, Lande W, Rachmilewitz E, Schrier SL: Characterization and comparison of the red blood cell membrane damage in severe human α - and β -thalassemia. *Blood* 1992; 79:1058-1063
4. Almășan BE: Genetica sindroamelor talasemice, *Medicina Modernă*, vol VIII, nr.7, 2001, 366-369
5. Almășan BE: Tratatamentul sindroamelor beta-talasemice, *Medicina Modernă*, vol.VIII, nr.8, 2001, 425-427
6. Almășan BE, Geomăneanu Mircea: Metode standard și noi perspective în tratamentul sindroamelor beta- talasemice severe, *Medicina Modernă*, 2003,vol.X, 245-248
7. Alter BP: Prenatal diagnosis: general introduction, methodology and review. *Hemoglobin* 1988;12:763
8. Amer J, Fibach E: Oxidative status of platelets in normal and thalassemic blood. *Thromb Haemost* 2004; 92:1052-1059.
9. Anderson WF: Prospects for human gene therapy. *Science* 1984;226:401
10. Anderson LJ, Wonke B, Prescott E, Holden S, Walker JM, Pennell DJ: Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in beta-thalassemia. *Lancet* 2002; 360:516-520
11. Andreani M, Nesi S, Lucarelli G, et al.: Long-term survival of ex-thalassemic patients with persistent mixed chimerism after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:401-404.
12. Antonarakis SE, Kazakian HH Jr et al: DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene cluster. *Hum Genet* 1985; 69:1
13. Angastiniotis M, Modell B.: Global epidemiology of hemoglobin disorders. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850:251-259.
14. Apperley JF: Bone marrow transplant for the haemoglobinopathies: Past, present and future. *Baillieres Clin Haematol* 1993; 299
15. Arion Constantin: Sindroame talasemice. *Tratat de Pediatrie*, sub redacția E. P. Gofu și C. Gofu, ediția I, Editura Medicală, 2001, 803-811
16. Atichartakarn V, Angchaisuksiri P, Aryurachai K, et al: In vivo platelet activation and hyperaggregation in hemoglobin E/beta-thalassemia: a consequence of splenectomy. *Int J Hematol* 2003 Apr; 77(3): 299-303
17. Beutler E, Hoffbrand AV, Cook JD: Iron deficiency and overload. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2003; 40-61
18. Bhanu NV, Trice TA, Lee YT, Miller JL: A signaling mechanism for growth-related expression of fetal hemoglobin. *Blood* 2004; 103:1929-1933.
19. Blau CA, Constantoulakis P et al: Fetal hemoglobin induction with butyric acids: Efficacy and toxicity. *Blood* 1993;81:529
20. Borgna-Pignatti C, Vergine G, Lombardo T, et al: Hepatocellular carcinoma in the thalassaemia syndromes. *Br J Haematol* 2004 Jan; 124(1): 114-7
21. Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P, et al: Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica* 2004; 89:1187-1193.
22. Borgna-Pignatti C, De Stefano P, Pajno D: Cholelithiasis in children with thalassemia major: an ultrasonographic study. *J Pediatr* 1981 Aug; 99(2): 243-244

23. Bradai M, Abad MT, Pissard S, Lanraoui F, Skopinski L, de Montalembert M: Hydroxyurea can eliminate transfusion requirements in children with severe β -thalassemia. *Blood* 2003;102:1529-1530
24. Bridges KR, Hoffman KE: The effects of ascorbic acid on the intracellular metabolism of iron and ferritin. *J Biol Chem* 1986;261:1437
25. Brittenham GM, Cohen AR, McLaren CE, et al.: Hepatic iron stores and plasma ferritin concentration in patients with sickle cell anemia and thalassemia major. *Am J Hematol* 1993; 42:81-85.
26. Bunn HF: Subunit assembly of hemoglobin; An important determinant of hematologic phenotype. *Blood* 1987; 69:1
27. Caffey J: Cooley's anemia: a review of the roentgenographic findings in the skeleton. *AJR Am J Roentgenol* 1957; 78:381
28. Cai SP, Zhang JZ et al: A simple approach to prenatal diagnosis of beta-thalassemia in a geographic area where multiple mutation occur. *Blood* 1988; 71:1357
29. Cai SP, Chang Ca et al: Rapid prenatal diagnosis of beta-thalassemia using DNA amplification and non-reactive probes. *Blood* 1989;73:372
30. Cao A, Rosatelli C, Galanello R, et al: The prevention of thalassemia in Sardinia. *Clin Genet* 1989 Nov; 36(5): 277-85
31. Cao A, Galanello R: Effect of consanguinity on screening for thalassemia. *N Engl J Med* 2002; 347:1200-1202.
32. Cappellini, M. D et al: A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood* 2006 107: 3455-3462
33. Cappellini MD, Robbiolo L, Bottasso BM, Coppola R, Fiorelli G, Mannucci AP: Venous thromboembolism and hypercoagulability in splenectomized patients with thalassaemia intermedia. *Br J Haematol* 2000; 111:467-473.
34. Cappellini M, Bejaoui M, Perrotta S, et al.: Phase III evaluation of once-daily, oral therapy with ICL670 (Exjade) versus deferoxamine in patients with β -thalassemia and transfusional hemosiderosis. *Blood* 2004; 104:984a
35. Centis F, Tabellini L, Lucarelli G, et al: The importance of erythroid expansion in determining the extent of apoptosis in erythroid precursors in patients with beta-thalassemia major. *Blood* 2000 Nov 15; 96(10): 3624-9
36. Chakravarti A, Buetow KH et al: Nonuniform recombination within the human beta-globin gene cluster. *Am J Hum Genet* 1984; 36:1239
37. Chakravarti A, Venna V, Kumaria R, Dubey AP: Anti HCV seropositivity among multi transfused patients with beta-thalassemia. *J Indian Med Assoc* 2005; 103(2): 64-66
38. Choi OR, Engel JD: Developmental regulation of beta globin gene switching. *Cell* 1988; 55:17
39. Chui, D. H. K., Cunningham, M. J., Luo H, Wolfe, L. C., Neufeld, E. J., Steinberg, M. H.: Screening and counseling for thalassemia. *Blood* 2006, 107: 1735-1737
40. Cohen AR, Galanello R, Pennell DJ, et al: Thalassemia. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2004; 14-34
41. Craig JE, Rochette J et al.: Dissecting the loci controlling fetal haemoglobin production on chromosomes 11p and 6q by the regressive approach. *Nat. Genet* 1996; 12:58
42. Cooley TB, Witwer ER, Lee P: Anemia in children with splenomegaly and peculiar changes in the bones. *Am J Dis Child* 1927; 34: 347.
43. Cournoyer D, Caskey CT: Gene transfer into humans: A first step. *N Engl J Med*, 1990;323:601
44. Cunningham MJ, Macklin EA, Neufeld EJ, et al: Complications of beta-thalassemia major in North America. *Blood* 2004 Jul 1; 104(1): 34-9

45. Currarino G, Erlandson ME: Premature fusion of the epiphyses in Cooley's anemia. *Radiology* 1964; 83: 656.
46. Daffos F, Capella-Pavlovsky M et al: Fetal blood sampling via the umbilical cord using needle guided by ultrasound. *Prenat Diagn* 1983; 3: 271
47. De Sanctis V: Growth and puberty and its management in thalassemia. *Horm Res* 2002; 58: Suppl 1:72-79.
48. De Virgiliis S, Cossu P, Toccafondi C et al: Effect of subcutaneous desferrioxamine on iron balance in young thalassemia major patients. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1983 Spring; 5(1): 73-7.
49. Dewey KW, Grossman H, Canale VC: Cholelithiasis in thalassemia major. *Radiology* 1970 Aug; 96(2): 385-8.
50. Dos Santos CO, Costa FF: AHSP and beta-thalassemia: a possible genetic modifier. *Hematology* 2005; 10(2): 57-61.
51. Dunbar C, Travis W et al: 5-Azacytidine treatment in a beta⁰-thalassemic patient unable to be transfused due to multiple alloantibodies. *Br J Haematol* 1989; 72:467
52. Eisenstein BI: The polymerase chain reaction: A new method of using molecular genetics for medical diagnosis. *N Eng J Med* 1990;322:178
53. Eldor A, Rachmilewitz EA. The hypercoagulable state in thalassemia. *Blood* 2002; 99:36-43.
54. Fang J, Huang S, Chen C, et al. Umbilical cord blood transplantation in Chinese children with beta-thalassemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26: 185-189.
55. Flavell RA, Bernards R et al: The structure of the human beta-globin gene in beta-thalassemia. *Nucleic Acids Res* , 1979; 6:2794
56. Forget BG: Thalassemia Syndromes. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*. 2000 485-509.
57. Franchini M, Veneri D: Iron-chelation therapy: an update. *Hematol J* 2004; 5:287-292.
58. Friedmann T: Progress toward human gene therapy. *Science* 1989; 244:1275
59. Friedmann T: The promise and overpromise of human gene therapy. *Gene Ther* 1994; 1:217
60. Fritsch EF, Lawn RM et al: Molecular cloning and characterization of the human beta-like globin gene cluster. *Cell* 1980;19:959
61. Fucharoen S, Sritanaratkul N, Winichagoon P, et al.: Hydroxyurea increases hemoglobin F levels and improves the effectiveness of erythropoiesis in β^0 -thalassemia/hemoglobin E disease. *Blood* 1996;87: 887 -892.
62. Fucharoen S, Winichagoon P: Clinical and hematologic aspects of hemoglobin E beta-thalassemia. *Current Opinion in Hematology* 2000; 7: 106-112
63. Fucharoen S, Ketvichit P, Pootrakul P, et al: Clinical manifestation of beta-thalassemia/hemoglobin E disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2000 Nov-Dec; 22(6):552-7
64. Galanello R, Piga A, Alberti D, Rouan MC, Bigler H, Sechaud R. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of ICL670, a new orally active iron-chelating agent in patients with transfusion-dependent iron overload due to β^0 -thalassemia. *J Clin Pharmacol* 2003;43:565-572
65. Geomăneanu M, Almaşan BE.: Genetica sindroamelor talasemice, *Medicina moderna*, vol.8, nr.7, 366-368
66. Geomăneanu M, Almaşan BE.: Actualităţi în unele boli hematologice şi hemato-oncologice la copil, *Medicina Modernă*, 2002, Vol. IX, nr.4, 206-209
67. Geomăneanu M: Şapte opţiuni terapeutice în anemia Cooley. *Medicina Modernă*, 2006, vol.XIII, nr 12,648-650

68. Geomăneanu M: Genetica și o mai bună înțelegere a unor boli hematologice la copil, *Medicina Modernă*, 2006, vol XIII, nr.3, 143-146
69. Giardina P, Hilgartner M. Update on thalassemia. *Pediatr Rev* 1992; 13:55-62.
70. Gilman JG, Huisman TH, Abels J: Dutch beta 0-thalassaemia: a 10 kilobase DNA deletion associated with significant gamma-chain production. *Br J Haematol* 1984 Feb; 56(2): 339-48
71. Hershko C, Weatherall DJ: Iron-chelating therapy. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1988; 26(4): 303-45
72. Hershko C, Link GM, Konijn AM, Cabantchik ZI: Iron chelation therapy. *Curr Hematol Rep* 2005; 4:110-116.
73. Higgs DR, Wood WG et al: A major positive regulatory region is located far upstream of the human α -globin gene locus. *Genes Div* 1990; 4: 1588
74. Hoffbrand AV, AL-Refaie F, Davis B: Long-term trial of deferiprone in 51 transfusion-dependent iron overloaded patients. *Blood* 1998; 91: 295-300
75. Ikuta T, Atweh G, Boosalis V: Cellular and molecular effects of a pulse butyrate regimen and new inducers of globin gene expression and hematopoiesis. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 87-99.
76. Imren S, Fabry ME, Westerman KA, et al.: High-level beta-globin expression and preferred intragenic integration after lentiviral transduction of human cord blood stem cells. *J Clin Invest* 2004; 114:953-962
77. Karnon J, Zeuner D, Brown J, Ades AE, Wonke B, Modell B. Lifetime treatment costs of β -thalassaemia major. *Clin Lab Haematol* 1999; 21: 377-385.
78. Kazanian HH Jr, Boehm CD: Molecular basis and prenatal diagnosis of beta-thalassemia. *Blood* 1988 Oct; 72(4): 1107-16.
79. Kazanian HH Jr: The thalassemia syndromes: molecular basis and prenatal diagnosis in 1990. *Semin Hematol* 1990 Jul; 27(3): 209-28
80. Korsten J, Grossman H, Winchester PH: Extramedullary hematopoiesis in patients with thalassemia anemia. *Radiology* 1970 May; 95(2): 257-63
81. Koshy M, Dorn L, Bressler L: 2-deoxy 5-azacytidine and fetal hemoglobin induction in sickle cell anemia. *Blood* 2000; 96: 2379-238
82. Kuypers FA, de Jong K: The role of phosphatidylserine in recognition and removal of erythrocytes. *Cell Mol Biol* 2004; 50:147-158.
83. Lawson JP, Ablow RC, Pearson HA: Calvarial and phalangeal vascular impressions in thalassemia. *AJR Am J Roentgenol* 1984 Sep; 143(3): 641-5
84. Lawson JP, Ablow RC, Pearson HA: Premature fusion of the proximal humeral epiphyses in thalassemia. *AJR Am J Roentgenol* 1983 Feb; 140(2): 239-44.
85. Lawson JP, Ablow RC, Pearson HA: The ribs in thalassemia. I. The relationship to therapy. *Radiology* 1981 Sep; 140(3): 663-72.
86. Lawson JP, Ablow RC, Pearson HA: The ribs in thalassemia. II. The pathogenesis of the changes. *Radiology* 1981 Sep; 140(3): 673-9
87. Ley TJ, DeSimone J et al: 5-Azacytidine selectively increases gamma-globulin synthesis in a patient with beta-thalassemia. *N Engl J Med* 1982; 307: 1496
88. Lilleyman JS, Hann IM, Blanchette V: The thalassemia. *Pediatric Hematology* 2000; 307-327.

89. Link G, Konijn AM, Breuer W, Cabantchik ZI, Herskho C: Exploring the "iron shuttle" hypothesis in chelation therapy: effects of combined deferoxamine and deferiprone treatment in hypertransfused rats with labeled iron stores and in iron-loaded rat heart cells in culture. *J Lab Clin Med* 2001; 138:130-138.
90. Liu DP, Liang CC et al: Treatment of severe beta-thalassemia (patients) with Myleran. *Am J Hematol* 1990; 33:50
91. Long JA Jr, Doppman JL, Nienhuis AW: Computed tomographic studies of thoracic extramedullary hematopoiesis. *J Comput Assist Tomogr* 1980 Feb; 4(1): 67-70.
92. Long JA Jr, Doppman JL, Nienhuis AW: Computed tomographic analysis of beta-thalassemic syndromes with hemochromatosis: pathologic findings with clinical and laboratory correlations. *J Comput Assist Tomogr* 1980 Apr; 4(2): 159-65.
93. Loukopoulos D: Prenatal of thalassemia and the hemoglobinopathies; a review. *Hemoglobin* 1985; 9:435
94. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, et al: Marrow transplantation in patients with thalassemia responsive to iron chelation therapy. *N Engl J Med* 1993 Sep 16; 329(12): 840-4.
95. Lucarelli G, Clift RA, Galimberti M, et al.: Marrow transplantation for patients with thalassemia: results in class 3 patients. *Blood* 1996; 87: 2082-2088.
96. Lubhy AI, Cooperman JM et al: Folic acid deficiency as a limiting factor in the anemia of thalassemia major. *Blood* 1961; 18:786
97. Lucarelli G, Galimberti M et al: Marrow transplantation in patients with advanced thalassemia. *N Engl J Med* 1987; 316: 1050
98. Malik P, Arumugam PI: Gene Therapy for {beta}-Thalassemia. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2005; 45-50
99. Manodori AB, Barabino GA, Lubin BH, Kuypers FA.: Adherence of phosphatidylserine-exposing erythrocytes to endothelial matrix thrombospondin. *Blood* 2000; 95:1293-1300.
100. May C, Rivella S, Callegari J: Therapeutic haemoglobin synthesis in beta-thalassaemic mice expressing lentivirus-encoded human beta-globin. *Nature* 2000; 406: 82-86
101. Mentzer WC Jr: Differentiation of iron deficiency from thalassaemia trait *Lancet* 1973 Apr 21; 1(7808): 882
102. Miller DM, Aust SD: Studies of ascorbate-dependent, iron-catalyzed lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 1989; 271: 113
103. Miniero A, Rocha V et al: Cord blood transplantation in hemoglobinopathies. *Bone Marrow Transplant* 1999; 22:578.
104. MGH: Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 3-1968. *N Engl J Med* 1968 Apr 4; 278(14): 782-91 [Medline].
105. Modell B, Khan M, Darlison M: Survival in beta-thalassaemia major in the UK: data from the UK Thalassaemia Register. *Lancet* 2000; 355:2051-2052
106. Moseley JE: *Bone Changes in Hematologic Disorders (Roentgen Aspects)*. New York: Grune & Stratton; 1963: 26.
107. Mourad FH, Hoffbrand AV, Sheikh-Taha M, Koussa S, Khoriaty AI, Taher A. Comparison between desferrioxamine and combined therapy with desferrioxamine and deferiprone in iron overloaded thalassaemia patients. *Br J Haematol* 2003; 121:187-189.
108. Nathan DG, Oski FA: The thalassemia. In: *Hematology of Infancy and Childhood*. Vol 1. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1998: 783-879, 811-886.
109. Nathan DG, Gunn RB: Thalassemia: the consequences of unbalanced hemoglobin synthesis. *Am J Med* 1966 Nov; 41(5): 815-30.
110. Naylor CD: The deferiprone controversy: Time to move on. *Can Med Assoc J* 2002; 166: 452
111. Nienhuis AW, Aragnou NP et al: Advances in thalassemia research. *Blood* 1984; 11:2961

112. Nienhuis AW, McDonagh KT et al: Gene transfer into hematopoietic stem cell. *Cancer* 1991;67:2700
113. Nick H, Acklin P, Lattmann R, et al: Development of tridentate iron chelators: from desferriethiocin to ICL670. *Curr Med Chem* 2003 Jun; 10(12): 1065-76.
114. Nisbet-Brown E, Olivieri NF, Giardina PJ, et al: Effectiveness and safety of ICL670 in iron-loaded patients with thalassaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Lancet* 2003; 361:1597-1602.
115. Olivieri NF, Brittenham GM, Matsui D, et al: Iron-chelation therapy with oral deferiprone in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 1995 Apr 6; 332(14): 918-22.
116. Olivieri NF, Brittenham GM, McLaren CE, et al: Long-term safety and effectiveness of iron-chelation therapy with deferiprone for thalassemia major. *N Engl J Med* 1998 Aug 13; 339(7): 417-23
117. Olivieri NF, Weatherall DJ: The therapeutic reactivation of fetal haemoglobin. *Hum Mol Genet* 1998;7:1655
118. Olivieri NF: The β -thalassemias. *N Engl J Med* 1999;341:1407
119. Orkin SH, Kazanian HH Jr: The mutation and polymorphism of the human beta-globin gene and its surrounding DNA. *Annu Rev Genet* 1984; 18: 131-71.
120. Orkin SH, Kazanian HH Jr: Mutation and polymorphism of the human beta-globin gene and its surrounding DNA. *Annu Rev Genet* 1984; 18: 131
121. Orkin SH: Regulation of globin gene expression in erythroid cells, *EUR J Biochem* 1995;231:217
122. Pak M, Lopez M A., Gabayan V., Ganz T., Rivera S: Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006 108: 3730-3735
123. Pakpaz FR, Fung E, Harmatz P: Serum ferritin underestimates the liver iron concentration. *Pediatric Blood and Cancer* 2004; 42: 497.
124. Perine SP: Fetal Globin Induction--Can It Cure β Thalassaemia?. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2005; 38-44[Medline].
125. Peters TJ, Raja KB, Simpson RJ, Snape S: Mechanisms and regulation of intestinal iron absorption. *Ann N Y Acad Sci* 1988; 526: 141-7[Medline].
126. Piga A, Gaglioti C, Fogliacco E, Tricta F: Comparative effects of deferiprone and deferoxamine on survival and cardiac disease in patients with thalassemia major: a retrospective analysis. *Haematologica* 2003; 88:489-496.
127. Piomelli S, Danoff SJ, Becler MH, et al: Prevention of bone malformations and cardiomegaly in Cooley's anemia by early hypertransfusion regimen. *Ann N Y Acad Sci* 1969 Nov 20; 165(1): 427-36
128. Piomelli S, Loew T. Management of thalassemia major (Cooley's anemia). *Hematol Oncol Clin North Am* 1991;5:557-69.
129. Piomelli S, Lerner N et al: Bone marrow transplantation for thalassemia. *N Engl J Med* 1987;317:964
130. Pippard MJ, Callender ST, Weatherall DJ: Intensive iron-chelation therapy with desferrioxamine in iron-loading anaemias. *Clin Sci Mol Med* 1978 Jan; 54(1): 99-106.
131. Pippard MJ, Weatherall DJ: Oral iron chelation therapy for thalassemia: an uncertain scene. *Br J Haematol* 2000; 111:2
132. Premawardhena A, Fisher CA, Fathi F, et al: Genetic determinants of jaundice and gallstones in haemoglobin E beta thalassaemia. *Lancet* 2001 Jun 16; 357(9272): 1945-6.
133. Puthenveetil G, Malik P. Gene therapy for hemoglobinopathies: are we there yet? *Curr Hematol Rep* 2004; 3:298-305.

134. Puthenveetil G, Scholes J, Carbonell D, et al. Successful correction of the human beta-thalassemia major phenotype using a lentiviral vector. *Blood* 2004; 104:3445-3453.
135. Rachmilewitz EA, Aker M, Perry D, Dover G: Sustained increase in haemoglobin and RBC following long-term administration of recombinant human erythropoietin to patients with homozygous β -thalassaemia. *Br J Haematol* 1995; 90:341-345.
136. Raiola G, Galati MC, De Sanctis V, et al: Growth and puberty in thalassemia major. *JPediatr Endocrinol Metab* 2003; 16: Suppl 2:259-266.
137. Reich S, Buhner C, Henze G, et al: Oral isobutyramide reduces transfusion requirements in some patients with homozygous beta-thalassemia. *Blood* 2000 Nov 15; 96(10): 3357-63.
138. Roesner HP: The role of ascorbic acid in the turnover of storage iron. *Hematol* 1983;20:91
139. Ross J, Pizarro A: Human beta and delta globin messenger RNAs turn over at different rates. *J Mol Biol* 1983 Jul 5; 167(3): 607-17.
140. Roy CN, Enns CA: Iron homeostasis: new takes from the crypt. *Blood* 2000 Dec 15;96(13): 4020-7
141. Rund D, Rachmilewitz E: Beta-thalassemia. *N Engl J Med* 2005 Sep 15;353(11): 1135-46.
142. Rund, D Rachmilewitz, E: Thalassemia major 1995: older patients, new therapies. *Blood Rev* 1995; 9:25-32
143. Saxon BR, Rees D et al: Regression of extramedullary haemopoiesis and augmentation of fetal haemoglobin concentration during hydroxyurea therapy in beta thalassemia. *Br J Haematol* 1998; 101:416
144. Schrier SL, Angelucci E: New strategies in the treatment of the thalassemias. *Annu Rev Med* 2005; 56: 157-71 [Medline].
145. Singer ST, Wu V, Mignacca R, et al: Alloimmunization and erythrocyte autoimmunization in transfusion - dependent thalassemia patients of predominantly asian descent. *Blood* 2000 Nov 15;96(10): 3369-73
146. Sodani P, Gaziev D, Polchi P, et al. New approach for bone marrow transplantation in patients with class β -thalassemia aged younger than 17 years. *Blood* 2004; 104:1201-1203.
147. Stamatoyannopoulos JA: Future prospects for treatment of hemoglobinopathies. *West J Med* 1992; 157:631
148. Stumpf, J. L.: Deferasirox. *Am J Health Syst Pharm.* 2007; 64:606-616
149. Swank RA, Stamatoyannopoulos G: Fetal gene reactivation. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8:366
150. Taher A, Sheikh-Taha M et al: Comparison between deferoxamine and deferiprone (L1) in iron loaded thalassemia patients. *Eur Haematol* 2001; 67: 30
151. Tan PH, Hwang WY, Goh YT, et al: Unrelated peripheral blood and cord blood hematopoietic stem cell transplants for thalassemia major. *Am J Hematol* 2004; 75:209-212.
152. Tavazzi D, Duca L, Graziadei G, Comino A, Fiorelli G, Cappellini MD: Membrane-bound iron contributes to oxidative damage of β -thalassemia intermediary erythrocytes. *Br J Haematol* 2001; 112:48-50.
153. Tesoriere L, D'Arpa D, Butera D, et al: Oral supplements of vitamin E improve measures of oxidative stress in plasma and reduce oxidative damage to LDL and erythrocytes in β -thalassemia intermediate patients. *Free Radic Res* 2001; 34:529-540.
154. Thein SL: Dominant beta thalassaemia: molecular basis and pathophysiology. *Br J Haematol* 1992; 80(3): 273-7.
155. Thein SL: Pathophysiology of {beta} Thalassemia-A Guide to Molecular Therapies. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2005; 31-7
156. Turcanu L, Șerban Margit: Hematologie pediatrică, Centrală industrială de medicamente și cosmetice, București, 1981, 226-228,241

157. Vacek MM, Ma H, Gemignani F, Laceria G, Kafi T, Kole R: High-level expression of hemoglobin A in human thalassemic erythroid progenitor cells following lentiviral vector delivery of an antisense snRNA. *Blood* 2003; 101:104-111.
158. Van de Velde H, Georgiou I, De Rycke M, et al: Novel universal approach for preimplantation genetic diagnosis of beta-thalassaemia in combination with HLA matching of embryos. *Hum Reprod* 2004; 19: 700-708.
159. Vâlcu AI: Seria eritocitară, în *Tratat de Medicină Internă, Hematologie*, partea I, sub redacția R.Păun, Ed. Medicală, 1984, 68-94
160. Vichinsky EP: Reports of proceedings: 1999 international conference on E-Beta thalassemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2000; 22:6: 550.
161. Voskaridou E, Terpos E, Spina G, et al: Pamidronate is an effective treatment for osteoporosis in patients with beta-thalassaemia. *Br J Haematol* 2003 Nov; 123(4): 730-7
162. Voskaridou E, Douskou M, Terpos E, et al: Magnetic resonance imaging in the evaluation of iron overload in patients with β -thalassaemia and sickle cell disease. *Br J Haematol* 2004; 126:736-742.
163. Voskaridou E, Terpos E: New insights into the pathophysiology and management of osteoporosis in patients with beta thalassaemia. *Br J Haematol* 2004; 127:127-139.
164. Wanless IR, Sweeney G, Dhillon AP, et al: Lack of progressive hepatic fibrosis during long-term therapy with deferiprone in subjects with transfusion-dependent β -thalassaemia. *Blood* 2003; 101:2460.
165. Weatherall DJ: Thalassemia. In: *The Thalassemia Syndromes*. 1981.
166. Weatherall DJ: Thalassemia. In: Stamatoyannopoulos G et al, eds. *The Molecular Basis of Blood Diseases*. 1944: 157-206
167. Weatherall DJ, Clegg JB: *The Thalassemia Syndrome*, 4th ed, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 2001
168. Weatherall DJ, Clegg JB: Genetic disorders of hemoglobin. *Semin Hematol* 1999 Oct; 36(4 Suppl 7): 24-37[Medline].
169. Wintrobe MM, Mathews E: Familial hematopoietic disorder in Italian adolescents and adults resembling Mediterranean disease (thalassaemia). *JAMA* 1940; 114: 1530-4.