

# Supporto trasfusionale nelle talassemie

Gianluca Lodi

*SIMT AOU S. Anna - Ferrara*

dichiaro che ...

... nell'esercizio della mia funzione e per l'evento in oggetto, non sono in alcun modo portatore di interessi commerciali propri o di terzi.



# Talassemie (V.Hoffbrand, Postgraduate Haematology. 2016)

*$\beta$ -Thalassaemia*

$\beta^0$

Deletion

Non-deletion

$\beta^+$

'Silent'

Normal HbA<sub>2</sub>

Dominant

*$\alpha$ -Thalassaemia*

$\alpha^0$

$\alpha^+$

Deletion ( $-\alpha$ )

Non-deletion ( $-\alpha^T\alpha$ )

*$\delta\beta$ -Thalassaemia*

G $\gamma$ <sup>A</sup> $\gamma$  ( $\delta\beta$ )<sup>0</sup>

G $\gamma$  (<sup>A</sup> $\gamma\delta\beta$ )<sup>0</sup>

( $\delta\beta$ )<sup>+</sup>

*$\gamma$ -Thalassaemia*

*$\delta$ -Thalassaemia*

*$\epsilon\gamma\delta\beta$ -Thalassaemia*

*Hereditary persistence of fetal haemoglobin*

Deletion

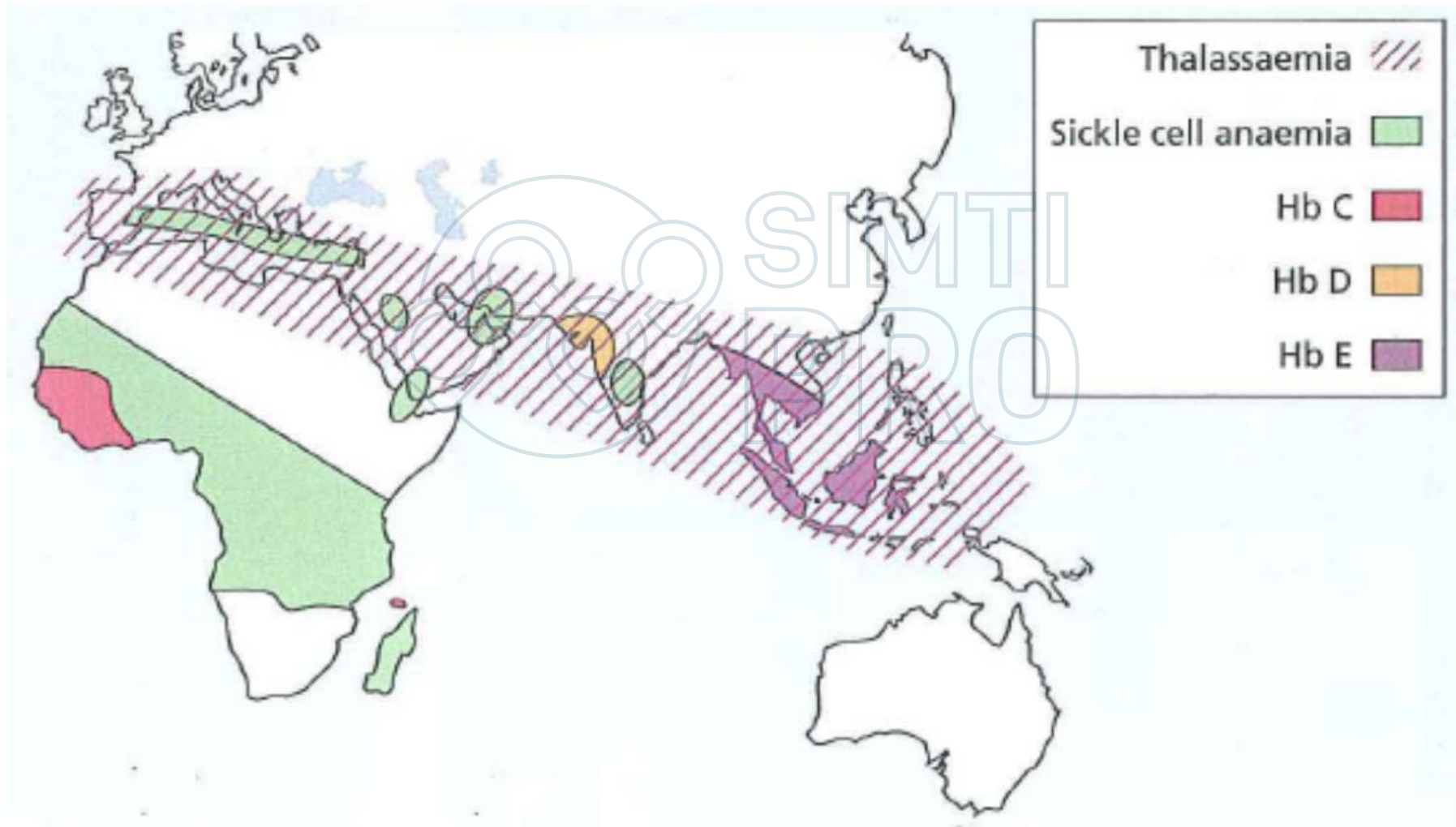
Non-deletion

<sup>A</sup> $\gamma$

G $\gamma$

SIMTI  
PRO

Difetto ereditario nella sintesi delle catene globiniche: anemia diseritropoietica (A. Baserga)  
Classificazione relata alla catena globinica difettosa (V.Hoffbrand, Postgraduate Haematology. 2016)



# β Talassemie

- Trait talassemico
- Talassemia intermedia
- Talassemia major

Condizione genetica (limitata alle forme più comuni)	Denominazioni italiane	Denominazioni anglosassoni
Eterozigosi	Talassemia minima Microcitemia costituzionale Disordine ematologico mediterraneo	Thalassemia minor Trait thalassemico
Omozigosi per geni talassemici lievi	Talassemia minor M. di Rieti-Greppi-Micheli Anemia microcitica costituzionale	Thalassemia intermedia
Omozigosi per geni talassemici gravi	Talassemia maior Morbo di Cooley	Thalassemia major Morbo di Cooley

G. Castaldi, Ematologia Clinica – A. Baserga

# $\beta$ Talassemie vs trasfusione emazie

Talassemia Major (TM)

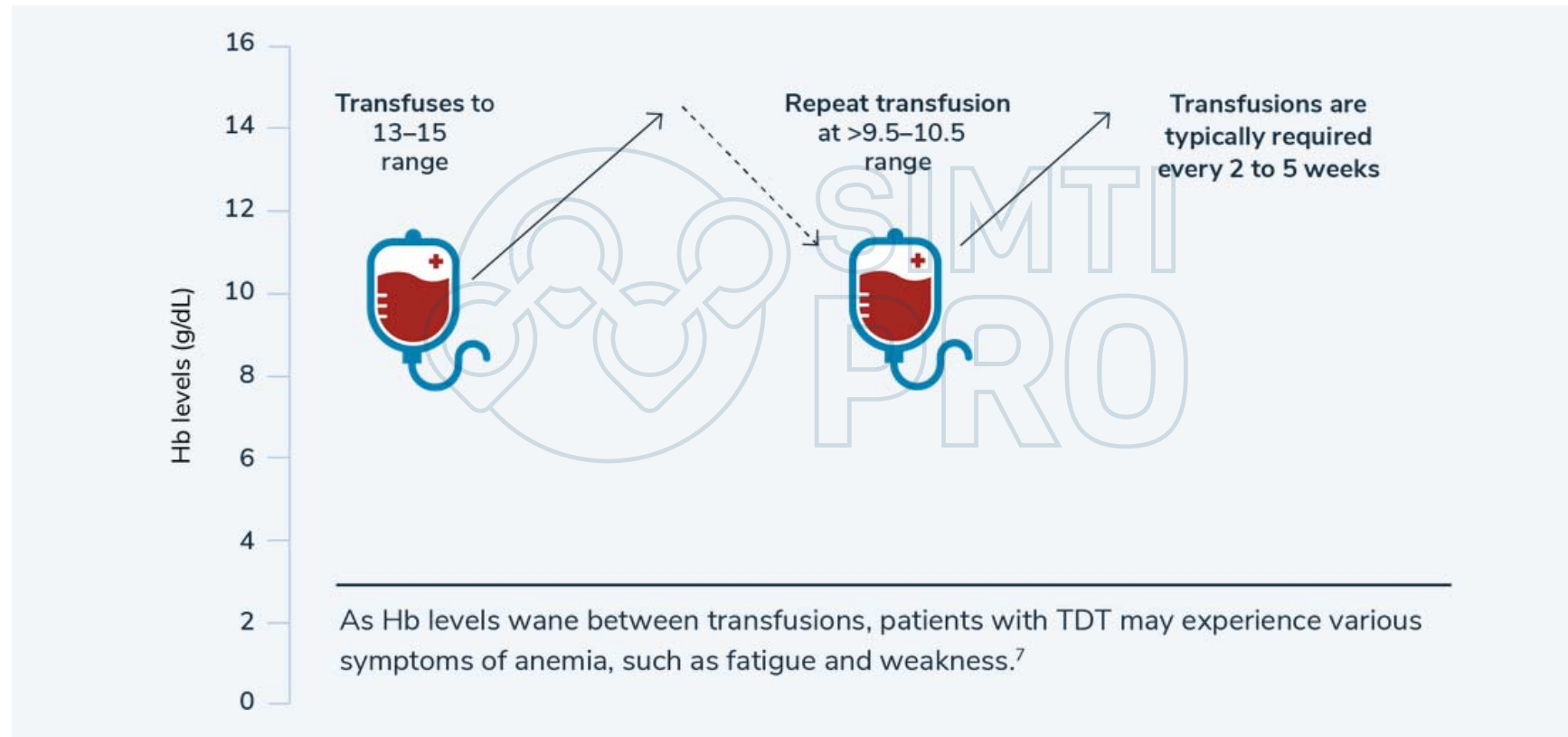
scelta terapeutica  
obbligata continua

Talassemia intermedia  
trasfusione dipendente (TITD)

scelta terapeutica  
obbligata dilazionabile

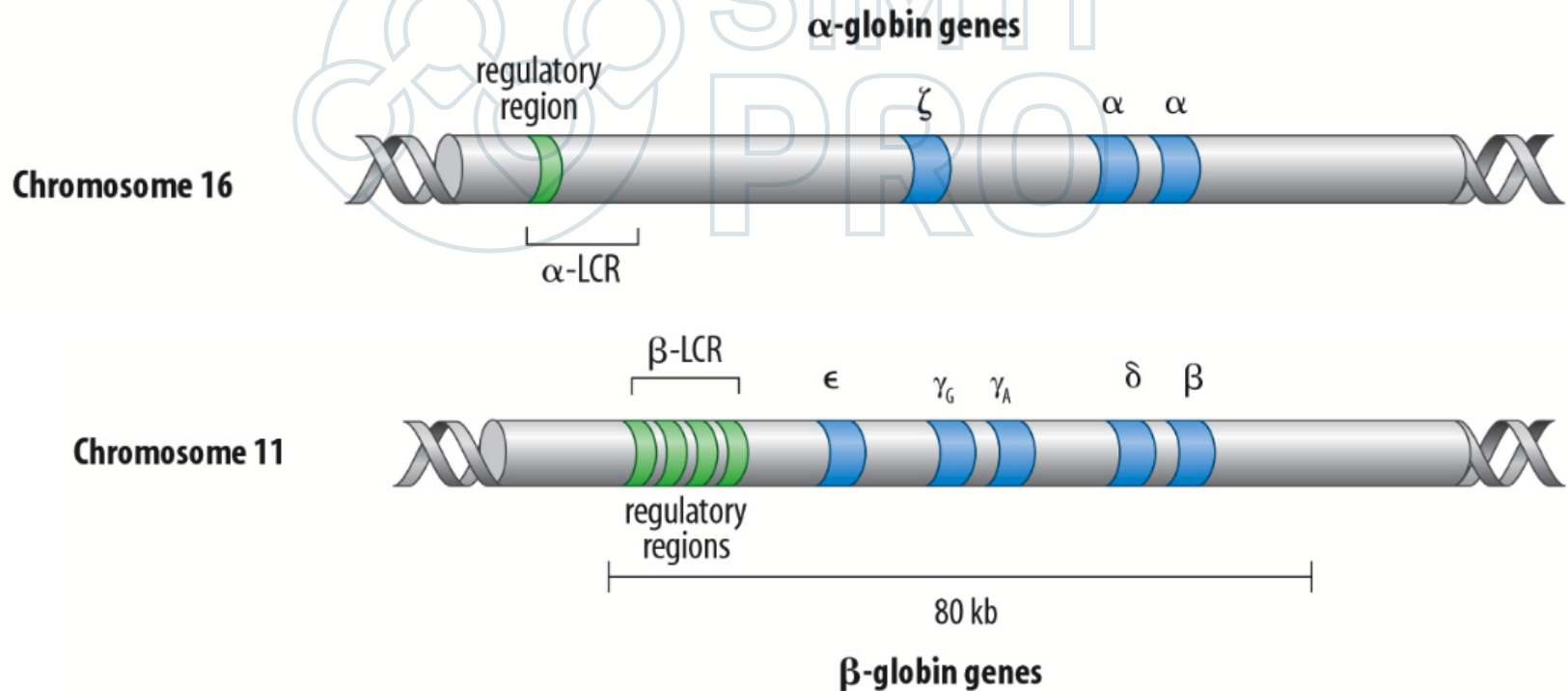


# Ritmo trasfusionale



# Nuovi orizzonti

- La comprensione della fine fisiopatologia del difetto genetico ha permesso nuove soluzioni terapeutiche che offrono la possibilità di
  - **modificare la necessità trasfusionale**







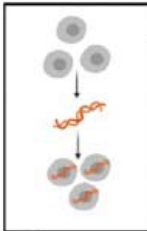
## RBC transfusions and ICT

- Conventional treatment to correct anemia and reduce iron accumulation



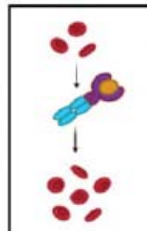
## Hematopoietic stem cell transplantation

- Curative option for young patients with HLA-matched donor



## Gene therapy (betibeglogene autotemcel)

- Corrects globin chain imbalance using genetically modified autologous stem cells



## Activin ligand trap (luspatercept)

- Recombinant fusion protein that promotes late-stage erythropoiesis

EXPERT REVIEW OF HEMATOLOGY  
2021, VOL. 14, NO. 10, 897–909  
<https://doi.org/10.1080/17474086.2021.1977116>



REVIEW

OPEN ACCESS Check for updates

Improving outcomes and quality of life for patients with transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia: recommendations for best clinical practice and the use of novel treatment strategies

Ali T. Taher , Rayan Bou-Fakhredin , Antonis Kattamis , Vip Viprakasit<sup>c</sup> and Maria Domenica Cappellini

# Nuovi farmaci

- Promotori dell'eritropoiesi:  
**Luspatercept**

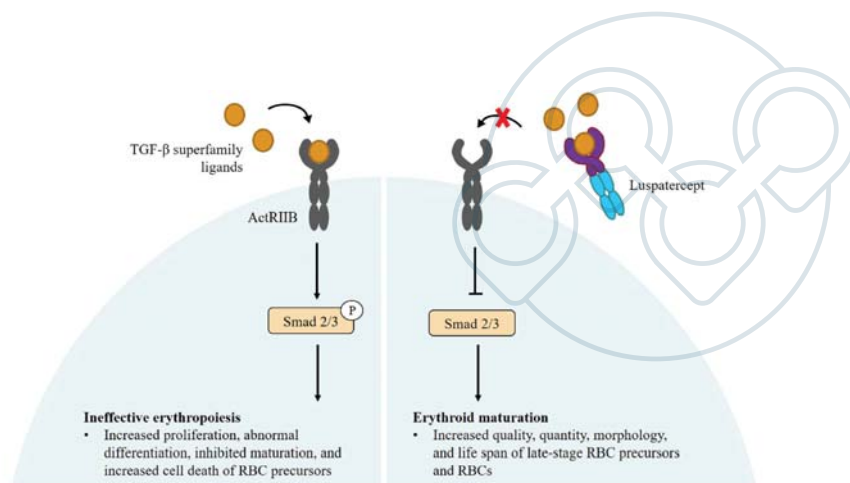
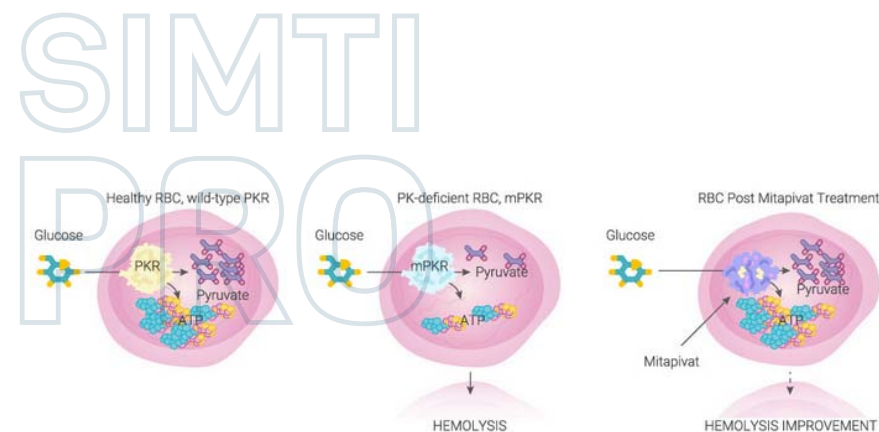


Figure 3. Schematic representation of the mechanism of action of luspatercept. In the absence of luspatercept treatment (left panel), TGF- $\beta$  superfamily ligands bind the ActRIIB and drive ineffective erythropoiesis. Luspatercept competes with the extracellular domain of the activin receptor to act as a ligand trap for TGF- $\beta$  (right panel), reducing Smad 2/3 signaling, improving erythrocyte maturation, and reducing ineffective erythropoiesis. ActRIIB, activin b receptor type 2; RBC, red blood cell; TGF- $\beta$ , transforming growth factor beta.

- Attivatori della piruvato chinasi:  
**Mitapivat / Etavopivat**



# Towards manufactured red blood cells for the treatment of inherited anemia

Stephanie Pellegrin,<sup>1,2</sup> Charlotte E. Severn<sup>1,2</sup> and Ashley M. Toye<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>School of Biochemistry, Biomedical Sciences Building; <sup>2</sup>National Institute for Health Research (NIHR) Blood and Transplant Research Unit in Red Blood Cell Products, University of Bristol and <sup>3</sup>Bristol Institute of Transfusion Sciences, NHSBT Filton, Bristol, UK

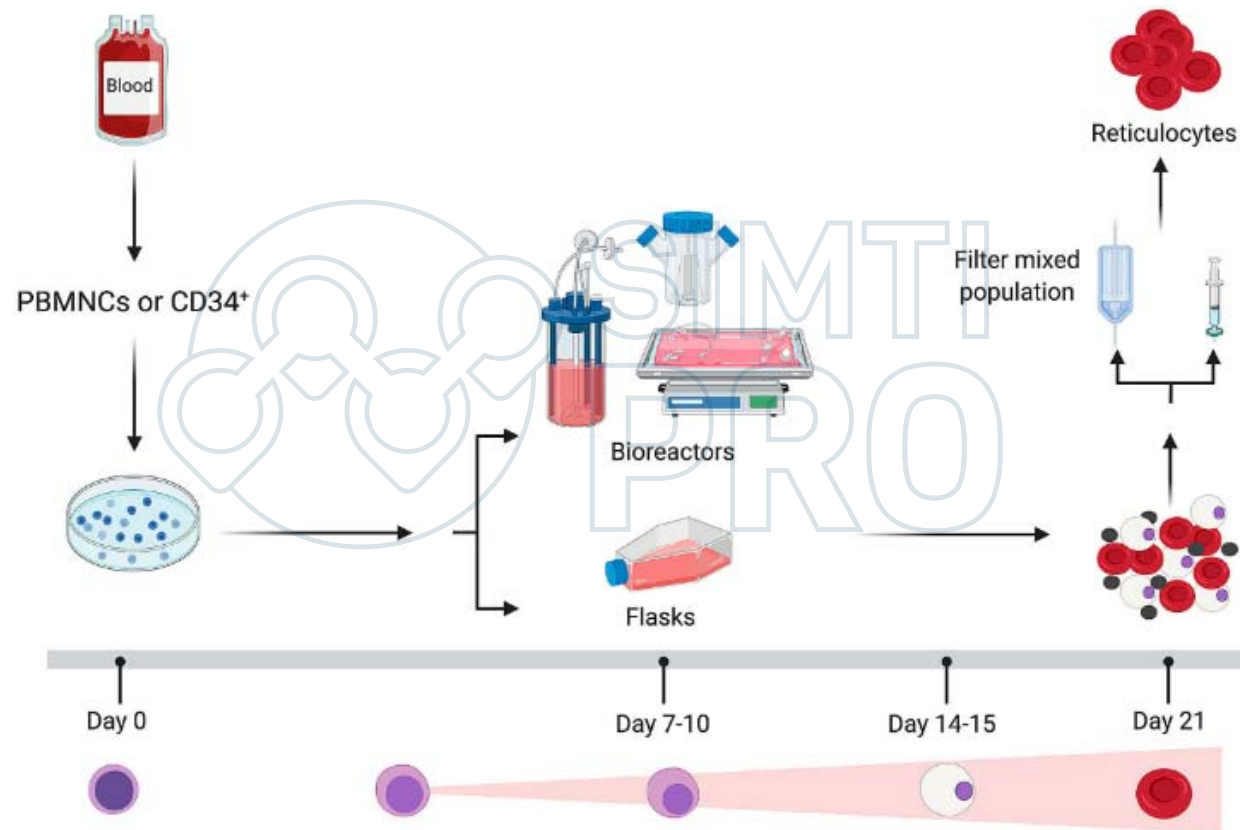


Figure 1. Overview of the erythroid culture process. *Ex vivo* culture systems require the isolation of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) or magnetic sorting of the CD34<sup>+</sup> cells as starting material. Culture systems then employ either flasks, spinner flasks or a bioreactor system depending on scale. The volume of the culture will increase dramatically as the cells expand and differentiate through days 7-14. Upon generation of a mixed population of reticulocytes, nucleated cells and pyrenocytes at day 21, cells then require filtration using either a syringe (small scale) or multiple leukocyte filters (large scale) depending on volume to give a pure reticulocyte population. Diagram made using biorender.com.

# Strategie Trasfusionali

- **Miglioramento dell'anemia**
  - **Buona crescita**
  - **Buona energia**
- **Soppressione dell'eritropoiesi inefficace intra & extramidollare**
- **Riduzione dell'assorbimento del ferro intestinale**



# Soglia trasfusionale & Volume da infondere

Generalmente accettata Hb/pre tra **9/9,5 – 10,5 gr/dl Hb** per

- garantire equilibrio tra **inibizione dell'eritropoiesi & sovraccarico marziale**  
Hb/pre più alte sono riservate a pazienti con cardiopia ischemica

Volumi da **10 a 15 ml/Kg** ... se pz cardiopatico da **5 a 6 ml/Kg**





F. CORELLI E. PULITANÒ  
DELLA CLINICA MEDICA DELL'UNIVERSITÀ DI ROMA

# LA TRASFUSIONE DI SANGUE E DI PLASMA

Con 98 illustrazioni ed 1 tavola a colori

*Chini Gatto*

Prefazione del Prof. G. Di Guglielmo

SOCIETÀ EDITRICE UNIVERSO - ROMA 1951



## 5) MORBO DI COOLEY E SINDROMI AFFINI (talassemia)

Si sa che l'anemia del m. di Cooley prima o poi raggiunge gradi estremi, incompatibili con la vita e che di rado permette di superare la pubertà. Questa anemia si è dimostrata finora resistente ad ogni cura. Anche la splenectomia (Chini, Gatto, ecc) non ha dato risultati soddisfacenti. L'unica terapia, sia essa pure sintomatica, che permette di prolungare la vita, in discrete, talora buone, condizioni sta nelle trasfusioni di sangue normale, oppure, come noi (C.) da anni andiamo facendo, di sangue fresco concentrato.

Nature Reviews | Genetics

# Note storiche (I)

- **1955/60** trasfusioni occasionali (solo con Hb<6 gr/dl) ... che non prevengono complicanze maggiori (ritardo crescita, organomegalia)
- **1961 Orsini e Coll.** ... trasfusioni periodiche al fine di mantenere Hb>8 gr/dl e **Wolman** in seguito descrive con questi ritmi una migliore crescita e minore incidenza di complicanze maggiori
- **1961 Menini e Vullo** presentano al X Congresso della Società Italiana di Trasfusione (SIdT) di Firenze lo studio relativo all'impiego di globuli rossi concentrati nella Talassemia Major... e ne descrivono:
  - vantaggi ... minor volume infuso e pochi leucociti contaminanti
  - svantaggi ... grado di alloimmunizzazione e sovraccarico marziale

## Note storiche (II)

- **1962 Greenwalt** pubblica un lavoro sull'utilizzo di filtri contenenti fibre di *nylon* nella preparazione di sangue povero di leucociti (raccolto con eparina)
- **1972 Diepenhorst** descrive l'impiego di filtri di cotone la cui efficacia non dipendeva: dall'anticoagulante usato nella raccolta / dalla T° di conservazione
- **1980 Propper** propone il regime "super-trasfusionale" (Hb pre = 11,5-12 gr/dl)
- **1990 Gabutti e Rebulla** dimostrano che il consumo di sangue è correlato con il livello medio di Hb mantenuto nel tempo dal regime trasfusionale
- **1995 Cazzola** dimostra che l'aumentato consumo di sangue è presente con livelli di Hb < 9 gr/dl ... e che con Hb pretrasfusionali di  $9.4 \pm 0.4$  gr/dl si ottiene ... una ridotta espansione midollare e un minor sovraccarico marziale



# Scelta dell'emocomponente

- **Emazie leucodeplete (DM 02/11/2015)**
  - da **filtrazione in linea prestorage del sangue intero** e quindi centrifugazione e rimozione del plasma, con mantenimento del *buffy coat*
  - da **filtrazione in linea prestorage delle emazie** e rimozione del *buffy coat*
  - da **aferesi (*multicomponent* / doppia di rossi)**



# Scelta del donatore

- Valore minimo Hb donatore sangue intero (!?)
- Nella raccolta *multicomponent* / doppia di rossi (DM 02/11/2015)
  - peso  $\geq 70$ kg, Hb  $> 15$ gr/dl, volume non  $> 700$  ml al netto della soluzione anticoagulante, intervallo 180 gg



# Tempo di conservazione e tipologia del concentrato eritrocitario

- Non oltre i **14 gg** ... e preferibilmente non oltre **10 gg** ...
  - ... scelta della lavorazione impiegata per la produzione delle emazie
    - **filtrazione sangue intero e quindi separazione, con mantenimento del buffy coat**
    - **filtrazione del concentrato eritrocitario dopo separazione, con rimozione del buffy coat**

la valutazione dell'utilizzo delle emazie prodotte con i due metodi:

CdQ prodotti trasfusionali, monitoraggio lesioni da conservazione, reazioni trasfusionali, intervalli trasfusionali, alloimmunizzazione e sovraccarico marziale sono stati valutati ...

- ***Crossover Ferrara (Transfusion 2021)***
- ***Biomolecules (MDPI 2021) Pievesestina/Reggio Emilia***



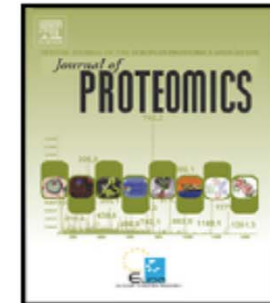
ELSEVIER

available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)



ScienceDirect

[www.elsevier.com/locate/jprot](http://www.elsevier.com/locate/jprot)



Review

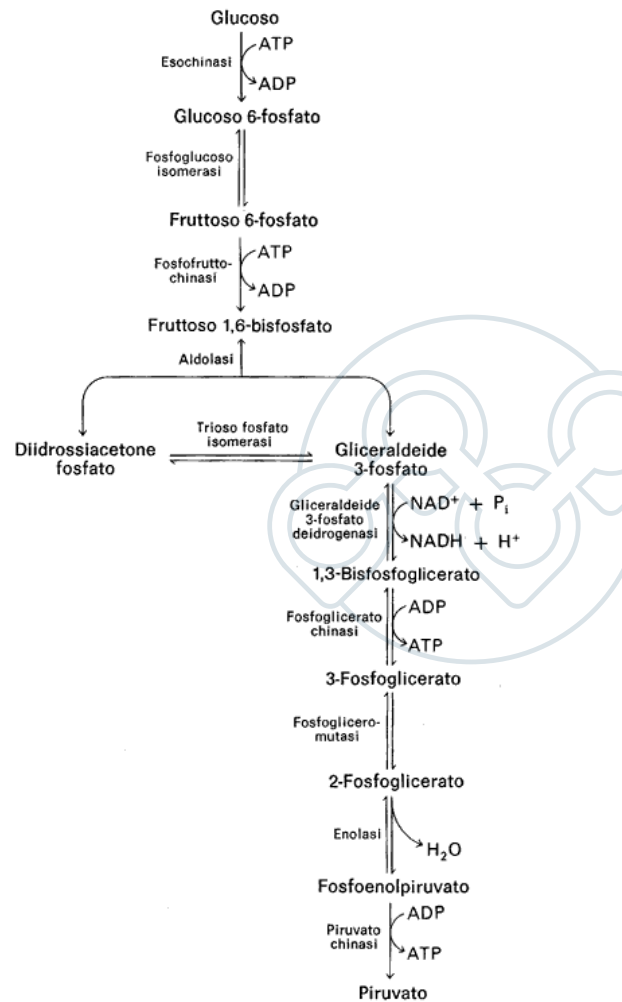
## Red cell storage<sup>☆</sup>

John R. Hess\*

University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA



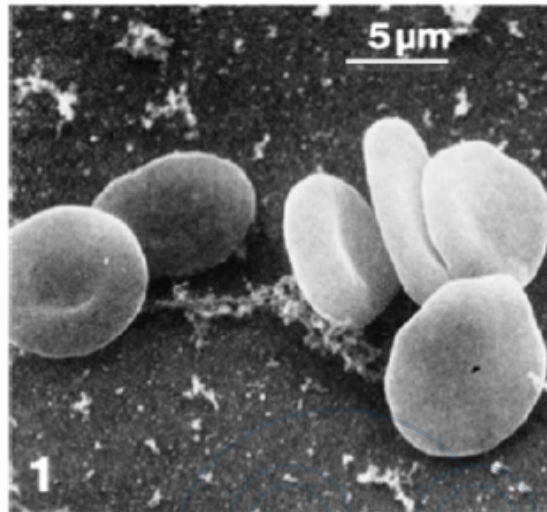




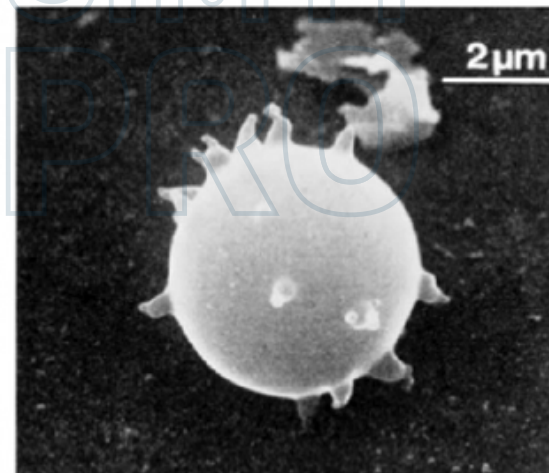
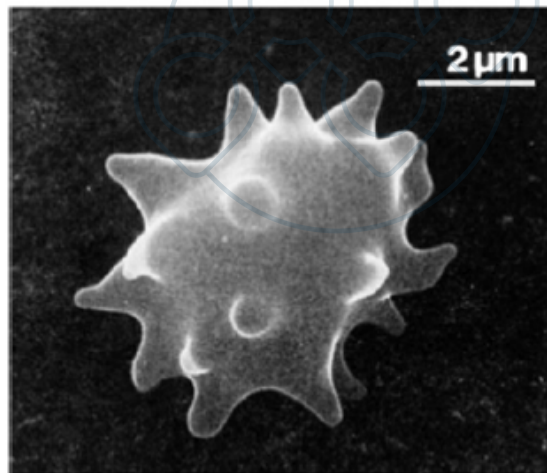
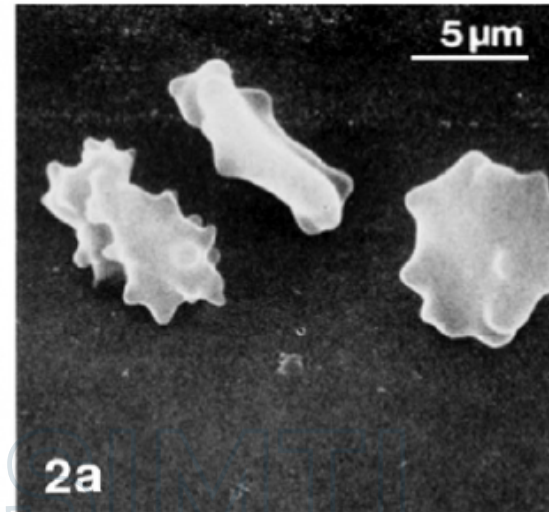
# Emazie: lesioni da conservazione

- **Perdita di energia (ATP)** ... indispensabile per:
  - mantenimento della forma biconcava della cellula
  - garantire la necessaria flessibilità di membrana
- 1. **Danni reversibili** appena infuse le emazie rapidamente recuperano energia, in presenza di sufficienti quantità di AMP/ADP
- 2. **Danni irreversibili** le modificazioni strutturali che si presentano dopo prolungata conservazione non possono essere recuperate anche dopo il ripristino di ATP

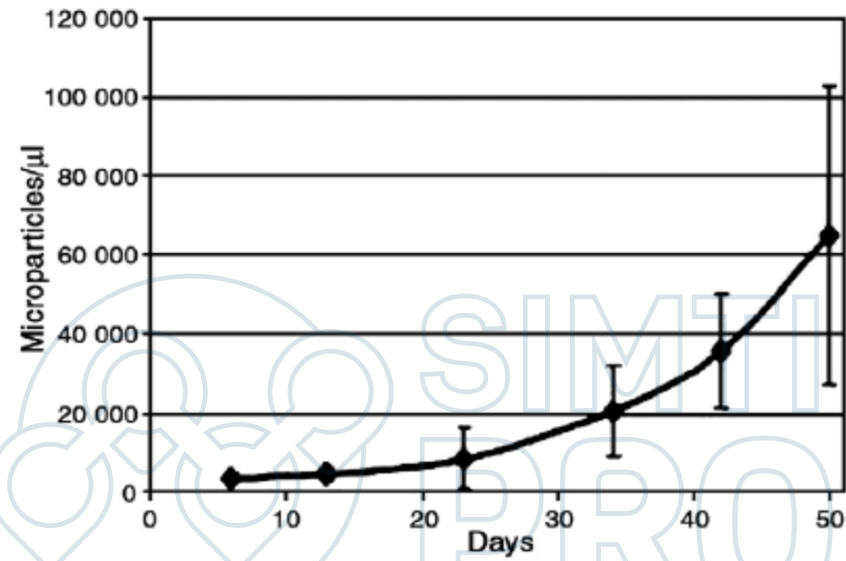
**Discocita**



**Echinocita**



**Sferoechinocita (microvescicole)**



Fenomeno di **microvescicolazione**  
(emazie in SAGM a 4°C)



## Strategie di miglioramento nella scelta delle emazie da utilizzare nei Talassemici

1. Rigorosa selezione del donatore
2. Centralizzazione delle lavorazioni (GMP-GPGs)
3. **Preferire filtrazione in linea del sangue intero, con mantenimento del *buffy coat***
4. Migliorare gli attuali **sistemi di conservazione**
  - **SAGM** (ipertonico = 376 mOsm/L)

# Proteomica



## Applicazioni della proteomica nello studio delle lesioni da conservazione emazie

Responsabile: **Lello Zolla (Università della Tuscia)**

Convenzionato con il **Centro Nazionale Sangue**

studio dei fenomeni di ***stress ossidativo*** subiti dalle proteine della membrana eritrocitaria durante la conservazione dopo leucodeplezione e risospensione in SAGM

 **haematologica**  
Journal of the Ferrata Storti Foundation

[Haematologica](#). 2012 Jan; 97(1): 107–115.

doi: [10.3324/haematol.2011.051789](https://doi.org/10.3324/haematol.2011.051789)

PMCID: PMC3248938

PMID: [21993682](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21993682/)

Time-course investigation of SAGM-stored leukocyte-filtered red blood cell concentrates: from metabolism to proteomics

[Angelo D'Alessandro](#),<sup>1,\*</sup> [Gian Maria D'Amici](#),<sup>1,\*</sup> [Stefania Vaglio](#),<sup>2</sup> and [Lello Zolla](#)<sup>1</sup>

## Extended storage of red blood cells under anaerobic conditions

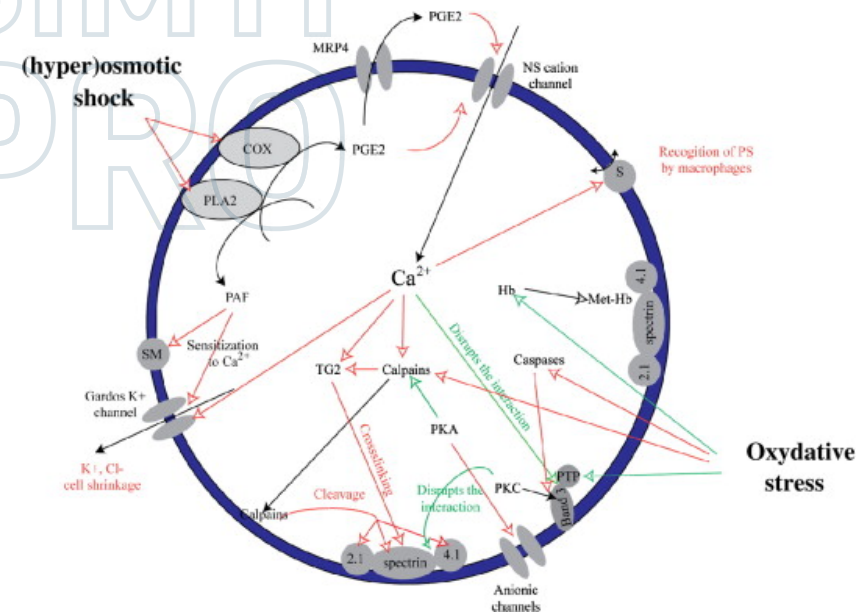
T. Yoshida,<sup>1</sup> J. P. AuBuchon,<sup>2</sup> L. Tryzelaar,<sup>1</sup> K. Y. Foster<sup>1</sup> & M. W. Bitensky<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biomedical Engineering Department, Boston University College of Engineering, Boston, MA, USA

<sup>2</sup>Cell Labeling Laboratory, Department of Pathology, Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, NH, USA



**Conservazione emazie in  
atmosfera di gas inerti a  
saturazione di O<sub>2</sub> < 4%  
... fino a 9 settimane!!**



## Research Article

# An Efficient Apparatus for Rapid Deoxygenation of Erythrocyte Concentrates for Alternative Banking Strategies

Lello Zolla and Angelo D'Alessandro

Department of Ecological and Biological Sciences, Tuscia University, Largo dell'Università, snc, 01100 Viterbo, Italy

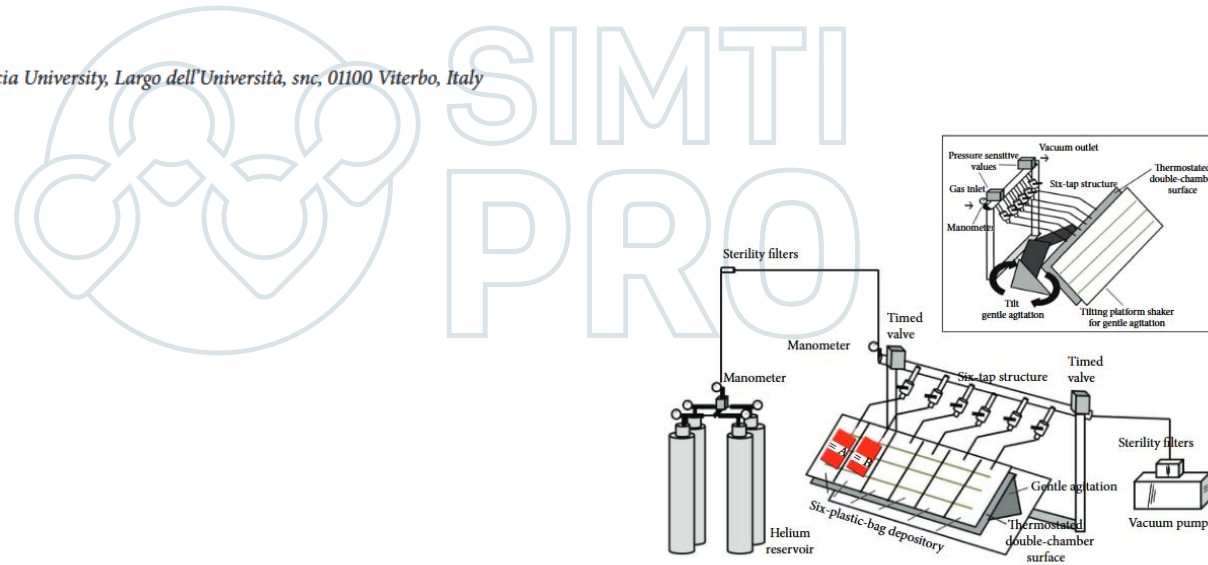


FIGURE 1: A schematization of the blood deoxygenation apparatus. Gas cylinders provide highest purity helium whose pressure is controlled through a manometer. Gas inlet is regulated in a closed system through a time valve which temporizes inlet and outlet towards a vacuum pump after 5 minutes of gas exchange within the plastic bag. Plastic bags are blocked almost horizontally as to favour gas exchange, through gentle agitation and temperature modulation. Sterility filters ensure the sterility of the whole system, either in the gas inlet or outlet tubing.

## Migliori condizioni delle emazie da trasfondere nei pazienti Talassemici

- Emazie prelevate non oltre i 14 gg dal prelievo
- Volume lordo (compreso additivo) = 300 ml +/- 20%
- Contenuto Hb > 56 g/unità & Hct 55-60%
- **Contenuto proteico < 0,5 g/unità**
- Contaminazione < 200.000 WBC/ unità
- Basso contenuto di citochine
- Assenza di microaggregati

	VOLUME	HCT	HB/unità	RBC	WBC	PLT
	(ML)	(%)	gr	( $\times 10^{12}$ )	( $\times 10^6$ )	( $10^9$ )
MEDIA	292	61,62	58,92	2,04	0,14	7,14
DEV. STD.	14	2,3	4,7	0,2	0,1	33,1
MAX	328	69,4	69,6	2,75	0,82	354,93
MIN	252	50	47,06	1,48	0	0,27

Valori ottenuti dai controlli di qualità eseguiti su 180 unità di emazie filtrate da sangue intero

	VOLUME	HCT	HB/unità	RBC	WBC	PLT
	(ML)	(%)	(g)	( $\times 10^{12}$ )	( $\times 10^6$ )	( $\times 10^9$ )
MEDIA	257	59	50,3	1,62	0,03	1,8
DEV. STD.	14,8	2,3	4,7	0,4	0,1	1,7
MAX	308	67	67,2	2,31	0,32	9,8
MIN	225	52	41	1,3	0	0

Valori ottenuti dai controlli di qualità eseguiti su 239 unità di emazie filtrate post scomposizione

Dati forniti dal polo di lavorazione  
Ospedale Maggiore – Bologna (2022)



## POLO DI LAVORAZIONE AVEC



# Contaminazione plasmatica

- Non sempre discriminante ... diventa necessario rimuovere il plasma residuo intrappolato tra le emazie ... nei casi di pazienti politrasfusi con
  - deficit di IgA
  - reazioni allergiche ricorrenti non sensibili agli anti-istaminici
  - reazioni febbrili ricorrenti nonostante l'impiego di emazie leucodeplete





## Lavorazioni post-filtrazione

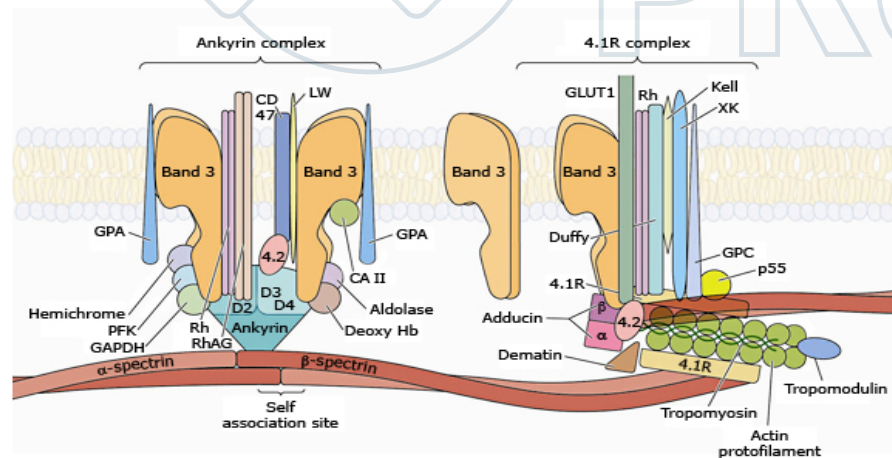


- **Lavaggio delle emazie** va eseguito utilizzando sistemi di connessione sicuri ... tuttavia l'interruzione del circuito chiuso e la perdita del conservante obbligano ad un loro utilizzo entro poche ore
- **Irradiazione** è prevista solo se il paziente è candidato a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche ... o già trapiantato (fegato, rene o altro)



# Assegnazione emazie

- Il fabbisogno trasfusionale continuativo espone al rischio di complicanze immunologiche (alloimmunizzazione) che si possono innescare in base
  - al grado di immunocompetenza del paziente
  - all'immunogenicità degli antigeni eritrocitari



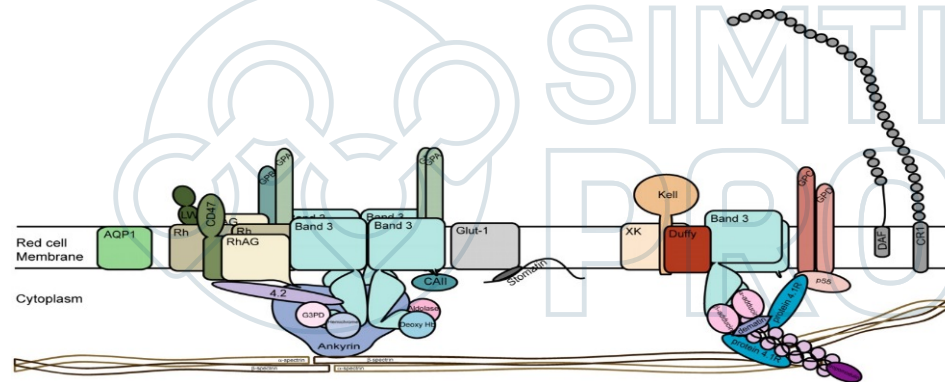
**TABELLA 164-8 Rischi di immunizzazione e successiva reazione trasfusionale quando donatori e riceventi sono testati solo per il fenotipo ABO**

Antigene	Sistema gruppo ematico	Immunogenicità, % <sup>a</sup>	Frequenza per 100 trasfusioni	
			Immunizzati dalla prima trasfusione <sup>b</sup>	Reazione alla seconda trasfusione <sup>c</sup>
D (Rh <sub>0</sub> )	Rh	50,00	69,88	58,14
K	Kell	5,00	4,10	0,37
c(hr')	Rh	2,05	3,12	2,54
E(rh'')	Rh	1,69	3,45	0,99
k	Kell	1,50	0,03	0,03
e(hr''')	Rh	0,56	0,13	0,13
Fy <sup>a</sup>	Duffy	0,23	0,52	0,34
C(rh')	Rh	0,11	0,24	0,16
Jk <sup>a</sup>	Kidd	0,07	0,13	0,10
S	MNSs	0,04	0,10	0,05
Jk <sup>b</sup>	Kidd	0,03	0,06	0,04
s	MNSs	0,03	0,03	0,03

# Assetto fenotipico emazie

- La specificità degli alloanticorpi è spesso legata a differenze di assetto donatore e paziente nei sistemi **Rh/Kell**

*limited phenotype matched vs extended phenotype matched*



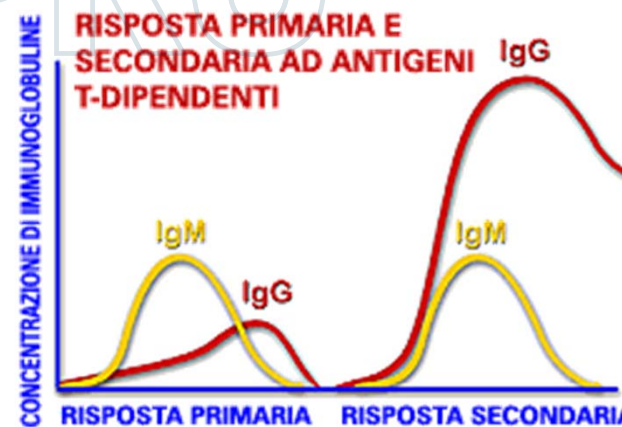
- Nelle talassemie intermedie NON trasfusione dipendenti
  - soprattutto negli **splenectomizzati**, che presentano una maggior predisposizione all'alloimmunizzazione sarebbe bene rispettare anche i sistemi
  - Fy/MNSs** (allo start e/o se già presente un alloanticorpo)

# Pazienti con alloanticorpi

- Fondamentale rispettare SEMPRE il **match** per l'antigene contro cui l'anticorpo è diretto ...

... anche a distanza di tempo!!

**attenzione agli spostamenti dei pazienti in diverse sedi trasfusionali**



## Better match ... mail

Ente di provenienza ...

Storia trasfusionale ...

Storia clinica ...

Terapie in corso ...

Regards ...

24/01/2014  
Medical Treatment Unit  
Monash Medical Centre  
246 Clayton Road  
Clayton 3168  
Australia

Tel: 03 9594 8088  
Fax: 03 9594 8111

MonashHealth

To whom it may concern,

RE: [REDACTED]  
D.O.B: 20/11/1980  
1/236 Old Burke Rd, EAST KEW, VIC, 3102  
UR: 419452

This is letter to certify that [REDACTED] is a patient of the Medical Therapy Unit at Monash Medical Centre for management of her transfusion dependent Beta Thalassemia Major. She is currently receiving 3 weekly blood transfusions of 2 units of leucocyte depleted washed in SA (LDWS) red blood cells. Her blood type is O negative.

Her past history is also significant for:

- Splenectomy
- Osteoporosis
- Cardiomyopathy
- Type 1 Diabetes
- Hypothyroidism
- Fibromyalgia
- Cholecystectomy
- Oesophageal Spasms, requiring dilation
- Hepatitis C, transfusion related with undetectable viral load since 2013


Her current medications are taken in a dosette box and include:

- (Deferasirox) Ekiade 2g daily
- Insulin (Lantus and Actrapid)
- Amoxicillin 250mg daily, and 3g PRN as emergency prophylaxis
- Folate 5mg: 3 times per week
- Sotolol 40mg daily
- Digoxin 250 micrograms daily
- Perindopril 2.5mg daily
- Thyroxine 75 micrograms daily
- Calcium carbonate 1500mg daily
- Cholecalciferol 50 micrograms daily
- Enaseamide 20mg as needed
- Esomeprazole 40mg as needed
- Ascorbic Acid 250mg - ¼ tablet daily
- Paracetamol PRN

She is well to travel and has been advised to seek medical attention if she becomes symptomatic/unwell. Should you have any queries regarding this matter, please don't hesitate to contact us at 461 3 9594 2756.

We wish Louisa all the best for her travels and look forward to seeing her on her return.

Regards,



Dr [REDACTED]  
MBBS BBioMedSci  
(On behalf of Prof. DK Bowden)  
Thalassaemia/MTU Resident  
Provider No. 2962289F

Medical Therapy Unit  
Monash Medical Centre

Monash Medical Centre 246 Clayton Road Clayton Tel: 03 9594 8088	Moorabbin Hospital Clayton Road East Bentleigh Tel: 9528 8111	Kingsway Centre 950 High Street Cheltenham Tel: 9585 1000	Dandenong Hospital David Street Dandenong Tel: 9554 1000	Geelong Hospital Rangon Drive Geelong Tel: 5148 1200	Cheltenham Integrated Care Centre 142 - 154 Shalton Street Tel: 9561 6700	Community based services Tel: 03 9594 2388 Tel: 03 9594 2388
---	--	--	---	---	--	---



# Test pre-trasfusionali

- **Crossmatch** per ogni unità trasfusa
- Verifica del gruppo sanguigno del paziente (ABD) e ricerca anticorpi irregolari prima di ogni seduta trasfusionale
- Verifica grado del **match** (Rh, Kell)
  - ... se presenti anticorpi irregolari alloimmuni assicurarsi SEMPRE dell'assenza dell'antigene corrispondente su ogni unità trasfusa
  - ... se il paziente arriva da altra sede verificare SEMPRE la presenza dell'anticorpo segnalato e annotarlo sulla documentazione sanitaria



## Esperienza di Ferrara

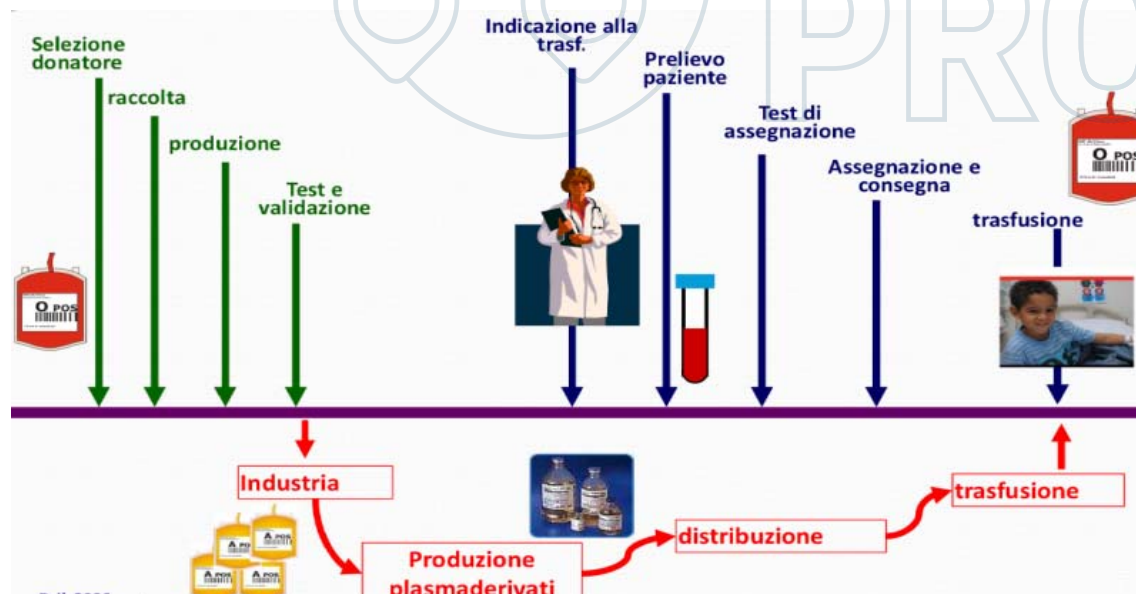
- **1955** nasce il Centro Trasfusionale ed Emodiagnostico (direttore: Cesare Menini)
- **1961** nasce il Centro per la Microcitemia - Istituto per l'Infanzia (direttore: Marino Ortolani) ... prende in carico (circa) 300 pz affetti da malattia di Cooley con un consumo medio/anno di 6000 unità di sangue
- **1972** la Divisione Pediatrica di Ferrara viene affidata a Calogero Rino Vullo
  - prevenzione con l'azzeramento dei nuovi nati con talassemia dal 1983
  - miglioramento della qualità di vita (ottimizzazione regime trasfusionale)
  - integrazione nel sociale dei pazienti con patologie croniche
- **1992** (gennaio) Cesare Menini lascia la direzione del SIMT Ferrara
- **2022** (dicembre) il SIMT Ferrara ha in carico 224 TTD // 54 immunizzati (24%)





# Emovigilanza

- Insieme di azioni essenziali per la sicurezza della catena trasfusionale
- Fondamentale la reportistica degli eventi avversi / *near miss*
- Possibili variazioni degli standard di percorso, derivate dalle azioni correttive incrementano i livelli di sicurezza (WHO 2021)





***Grazie***