

1. Quali sono gli effetti del deficit di PK sul cuore? Puo' determinare l'aumento delle dimensioni cardiache?

In generale, l'anemia emolitica cronica causa una ipo-ossigenazione dei tessuti, un aumento della frequenza cardiaca e della gittata cardiaca (che svolge un ruolo importante nella compensazione dell'anemia), e una ridotta tolleranza all'esercizio fisico. Questi effetti sono più o meno marcati a seconda dei livelli di emoglobina (Hb). Nel deficit di PK, come conseguenza dell'aumento della concentrazione del 2,3-DPG dovuta al blocco metabolico, l'emoglobina cede più ossigeno ai tessuti e gli effetti negativi dell'anemia sono pertanto ridotti. Infatti i soggetti PK carenti hanno maggiore tolleranza allo sforzo di quanto atteso in base al loro grado di anemia e possono anche non presentare nessuno dei sintomi dell'anemia. Per quanto riguarda il coinvolgimento cardiaco, non abbiamo osservato evidenze di un significativo aumento di dimensioni del cuore in nessuno dei nostri pazienti adulti con anemia lieve (Hb > 10 g/dL) o moderata (Hb 8-10 g/dL). L'anemia grave può associarsi ad un certo grado di ipertrofia miocardica. In rari casi l'anemia può essere così grave da causare cardiomegalia, insufficienza cardiaca e morte intrauterina del feto.

2. Quali sono i sintomi che possono comparire nell'anziano affetto da PKD? Problemi di cuore?

Il deficit di PK è stato scoperto circa 50 anni fa, dunque la storia naturale di questa malattia non è ancora completamente nota. Per rispondere correttamente a questa domanda sarebbero necessari studi prospettici a lungo termine su un elevato numero di pazienti. Va ricordato che il grado di anemia è estremamente variabile, andando da forme molto lievi o completamente compensate rilevate per caso solo in età adulta, a forme neonatali molto gravi di ittero e anemia, che richiedono exsanguinotrasfusione, o addirittura casi di idrope fetale che necessitano trasfusioni in utero. Questo dipende in parte dalla grande eterogeneità delle mutazioni nel gene PK-LR che possono esitare in una compromissione più o meno grave della struttura e della funzione enzimatica. Nella maggior parte dei casi, tuttavia, l'anemia è moderata o lieve e piuttosto costante in età adulta, anche se occasionali esacerbazioni si possono verificare in caso di infezioni, gravidanza, o condizioni di stress (ad esempio interventi chirurgici). Inoltre, con l'avanzare dell'età possono comparire complicanze dipendenti dall'intensità dell'emolisi, dall'apporto trasfusionale, dalla splenectomia, e dalla copresenza di difetti genetici addizionali. I calcoli biliari, più frequentemente presenti nella seconda/terza fino alla quinta decade di vita, possono anche manifestarsi durante l'infanzia e l'adolescenza, e sono una causa comune di morbilità: circa il 25% dei nostri pazienti adulti sono stati sottoposti a colecistectomia. I calcoli biliari sono più frequenti in presenza di una concomitante sindrome di Gilbert. Il sovraccarico di ferro è una complicanza piuttosto comune (più di 1/3 dei pazienti) e può diventare più frequente, evidente e dannoso col passare degli anni. Può verificarsi anche in pazienti mai trasfusi, come conseguenza dell'emolisi o, in alcuni casi, di una eritropoiesi inefficace. Il sovraccarico di ferro può essere inoltre accresciuto dalla presenza di mutazioni del gene HFE associate ad emocromatosi ereditaria. In assenza di sovraccarico di ferro, che coinvolge soprattutto il fegato e il cuore, i problemi cardiaci non sono di solito rilevanti in questa malattia. Ovviamente, un deficit di PK non trattato può aggravare durante l'invecchiamento una sottostante patologia miocardica, e causare un'insufficienza cardiaca. Nella nostra esperienza, non abbiamo osservato alcuna complicanza cardiologica, tranne in due casi con grave sovraccarico di ferro a causa della coesistenza di PKD e emocromatosi ereditaria. La complicanza più temuta in pazienti splenectomizzati è la sepsi dovuta a batteri capsulati, con un rischio del 3,3% -5% anche dopo l'introduzione della vaccinazione pre-operatoria contro pneumococco, meningococco, e haemophilus influenzae. È stato recentemente pubblicato uno studio sul rischio longitudinale in una coorte di pazienti Amish con PKD, caratterizzati da un'unica grave mutazione nel gene PK-LR che causa anemia neonatale grave con

necessità di trasfusioni e di splenectomia: questo studio ha confermato che i maggiori rischi in pazienti adulti riguardano la sepsi, l'aggravarsi dell'anemia, l'aborto spontaneo durante la gravidanza, e la tossicità dovuta al sovraccarico di ferro. Solo un paziente all'interno di questa coorte è stato segnalato per avere una cardiomiopatia riferibile al sovraccarico di ferro. Complicazioni rare, non strettamente legate all'età, comprendono ulcere croniche degli arti inferiori, crisi aplastiche in seguito a infezione da parvovirus B19, pancreatite acuta secondaria a ostruzione del dotto biliare e pancreatico, ascessi splenici, compressione del midollo spinale da tessuto emopoietico extramidollare.

3. Perché si verificano dolori ossei in presenza di bassi livelli emoglobinici?

Una marcata iperplasia midollare può esercitare pressione sulla corticale ossea e causare dolore nei pazienti gravemente anemici non trasfusi. Nessuno dei nostri pazienti con PKD ha mai lamentato dolori ossei.

4. Esiste qualche correlazione tra sovraccarico di ferro e dolori addominali, e se sì perché?

I dolori addominali possono dipendere da una varietà di cause e, in assenza di calcoli alla colecisti, non sono un sintomo comune della PKD. Dolori addominali (a volte nella regione dello stomaco o all'addome superiore, a volte diffusi) sono stati riportati in una parte di pazienti con emocromatosi ereditaria, e correlati al grave sovraccarico di ferro, anche se la loro patogenesi non è ancora chiara; nella vecchia letteratura, il dolore addominale nei pazienti con emocromatosi era stato attribuito, in base ai risultati autopsici, ad un certo grado di infiammazione peritoneale causata dai depositi di ferro.

5. Quali sono gli effetti del sovraccarico di ferro? Quali sono i livelli di ferritina adeguati e quali richiedono terapia chelante?

Il sovraccarico di ferro è piuttosto frequente nel deficit di PK anche in assenza di trasfusioni. Nei pazienti non trasfusi il sovraccarico è dovuto all'emolisi, al maggiore assorbimento di ferro causato dall'anemia, e in alcuni casi a un ridotto utilizzo di ferro (diseritropoiesi); la copresenza di emocromatosi ereditaria (causata da mutazioni nel gene HFE) può incrementare il sovraccarico. L'eccesso di ferro circolante porta ad un aumento del deposito di ferro nei tessuti, e promuove la formazione di radicali liberi che danneggiano le cellule parenchimali. Il sovraccarico di ferro coinvolge quasi tutti i tessuti e gli organi, e può risultare in una malattia sistemica che colpisce principalmente il fegato, il cuore e il sistema endocrino. L'avvio della terapia chelante dipende da diversi fattori: lo stato generale del paziente, i valori ematologici (in particolare emoglobina ed ematocrito), e i livelli di deposito di ferro nei tessuti. La prassi attuale è quella di avviare la chelazione quando il livello di ferritina sierica supera i 1.000 ng/mL. Recenti linee guida sulla talassemia intermedia fissano però a 800 ng/mL il valore soglia di ferritina oltre il quale i pazienti sono a rischio di complicanze. Livelli compresi tra 300 e 800 ng/mL rappresenterebbero una "zona grigia". In effetti le biopsie epatiche di alcuni nostri pazienti con deficit di PK hanno evidenziato la presenza di siderosi epatica e segni istologici di fibrosi anche a livelli di ferritina di 500 o addirittura più bassi. Dato che il 90% del ferro in eccesso si deposita nel fegato, la valutazione della concentrazione di ferro epatico (LIC) fornisce una misura accurata dei livelli di ferro di tutto il corpo. La LIC è inversamente correlata alla prognosi ed è quindi ampiamente utilizzata per determinare la dose necessaria e l'efficacia di un regime di chelazione. Inoltre, la risonanza magnetica nucleare (RMN) si è dimostrata essere un metodo utile per rilevare il ferro nei tessuti (deposizione miocardica in particolare).

6. Molti pazienti PKD vengono colecistectomizzati. Perché?

I calcoli biliari sono una complicanza frequente nel deficit di PK, come in altre condizioni emolitiche ereditarie, a causa dell' aumento della bilirubina indiretta, che è di solito inferiore a 6 mg/dL; valori più alti suggeriscono la co-presenza di una sindrome di Gilbert che aumenta ulteriormente il rischio di colelitiasi. Un quarto dei nostri pazienti adulti sono stati sottoposti a colecistectomia per evitare il rischio di colecistite o pancreatite acuta secondaria a ostruzione dei dotti biliari e del pancreas. Tuttavia, non è noto quanti dei pazienti con colelitiasi potrebbero sviluppare una colecistite sintomatica o un ostruzione dei dotti. Dati più precisi sulle complicanze a lungo termine della colelitiasi sono necessari per valutare la opportunità' di sottoporsi ad intervento chirurgico in assenza di sintomi.

7. Quali effetti ha nei pazienti la splenectomia?

La rimozione della milza ha effetti positivi e negativi. La splenectomia riduce (ma non arresta completamente) l' emolisi, e risulta in un incremento medio di emoglobina di 1,8 g/dL (range 0,4-3,2). Nei pazienti trasfusione-dipendenti, la splenectomia riduce notevolmente o addirittura elimina il fabbisogno trasfusionale. Dal momento che la splenectomia è associata a una significativa morbidità, sia peri-operatoria che di lunga durata, di solito è riservata a giovani pazienti gravemente affetti che necessitano di regolari trasfusioni di sangue, e ai pazienti che non tollerano l'anemia. Crisi aplastiche o emolitiche possono ancora verificarsi dopo l'intervento chirurgico. La splenectomia può essere associata a complicanze chirurgiche (embolia polmonare, sanguinamento intra-addominale, ascesso addominale, ematoma della parete addominale), anche se la chirurgia per via laparoscopica ha abbassato il rischio rispetto alla chirurgia tradizionale (0,5-1,6% vs 6%). Come menzionato prima (vedi punto 2) la complicanza più temuta dopo splenectomia è la sepsi dovuta a batteri capsulati, con un alto tasso di mortalità.

8. Qual' è l'aspettativa di vita nei pazienti PKD? Ci sono casi di morte prematura nei pazienti PKD?

Non ci sono dati sull' aspettativa di vita nei pazienti con deficit di PK. La maggior parte dei soggetti PKD con anemia da moderata a lieve hanno una vita relativamente normale, senza apparente riduzione della vita media, a condizione che sia eseguito un attento monitoraggio dello stato del ferro. Il più anziano paziente con deficit di PK che sto seguendo è un uomo di 70 anni in ottime condizioni di salute con livelli di emoglobina di 10-11 g/dL, non trasfuso, eterozigote per l'emocromatosi ereditaria, che ha ricevuto tre cicli di chelazione (a circa 10-12 anni di intervallo) per un sovraccarico di ferro moderato. La PKD può essere fatale nella prima infanzia, come nel caso della mutazione prevalente fra gli Amish della Pennsylvania che produce una malattia particolarmente grave. Un esordio precoce del sovraccarico di ferro può essere una severa minaccia per la salute a lungo termine nei pazienti. La più grave complicanza, che può causare morte prematura in un paziente PKD è la sepsi post-splenectomia, con una mortalità più elevata nei bambini rispetto agli adulti (1,7% vs. 1,3%).

9. C'è un aumento di rischio durante la gravidanza? Qualche avvertimento durante la gravidanza?

Anche se i dati disponibili in letteratura sono pochi, la gravidanza di solito sembra essere molto ben tollerata e associata ad esito favorevole sia per la madre che per il bambino. A tutte le donne con PKD deve essere offerto un counselling preconcezionale che includa la determinazione

dell'attività enzimatica nel partner, per consentire una corretta consulenza sulle probabilità di nascita di un figlio affetto. Le donne dovrebbero anche essere informate della necessità di una stretta sorveglianza prenatale fetale e materna. La gestione di una donna con PKD in gravidanza richiede quindi una stretta collaborazione tra ginecologo ed ematologo, e deve essere affidata precocemente ad un centro specializzato in gravidanze a rischio. Durante la gravidanza, potrebbero essere necessarie regolari trasfusioni di globuli rossi per mantenere un livello di emoglobina superiore a 8 g/ dL. La somministrazione di acido folico deve continuare durante tutto il periodo a causa del possibile incremento dell' emolisi.

10. Ci sono nuove ricerche sulla PKD? Nuovi approcci farmacologici?

E' iniziato nel 2014 lo Studio internazionale " PKD Natural History" (Storia Naturale della PKD) promosso dal Boston Children's Hospital, con lo scopo di descrivere la storia naturale della malattia, l'incidenza e l'intensità dei sintomi, i trattamenti e le complicanze. Lo studio raccoglierà l'anamnesi retrospettiva e i dati clinici ed ematologici dei pazienti ad una visita basale e in tre monitoraggi a cadenza annuale. La comprensione della storia naturale della PKD può essere utile nella progettazione di futuri studi clinici e terapeutici. Vale la pena ricordare che durante l'ultima riunione della Società Americana di Ematologia è stato presentato un nuovo farmaco (AG-348), somministrabile per via orale, che in studi preclinici si è mostrato capace di aumentare notevolmente l'attività delle più comuni varianti di PK, e può pertanto rappresentare un potenziale trattamento per questa malattia. La terapia genica del deficit di PK si è dimostrata fattibile in modelli animali, ma la sua applicazione clinica è ancora lontana.

11. Il trattamento con eritropoietina può essere utile per i pazienti PKD?

L' eritropoietina (EPO) non è solitamente utilizzata nel trattamento delle anemie emolitiche ereditarie, ad eccezione dei neonati prematuri: ad esempio, l' EPO ha dimostrato di essere efficace nel ridurre o evitare trasfusioni in neonati con sferocitosi ereditaria nei primi mesi di vita. Non esistono dati sull'uso dell' EPO nel trattamento dell' anemia emolitica sintomatica da deficit di PK. L'EPO è stata utilizzata per un certo periodo in un paziente PKD con grave sovraccarico che non sopportava la terapia chelante per compensare parzialmente l'anemia e permettere salassi terapeutici per ridurre l'accumulo di ferro. Al contrario, il trattamento con EPO è stato utilizzato, anche se non comunemente, come misura temporanea in alcuni pazienti con anemia emolitica acuta acquisita, ad esempio in pazienti con anemia emolitica autoimmune, in particolare in presenza di reticolocitopenia, e anche in casi di anemia emolitica da danno meccanico causato dalle valvole cardiache artificiali.

12. L'esercizio fisico può essere dannoso quando si è stanchi o con bassi livelli emoglobinici?

In generale, basse concentrazioni di emoglobina provocano ipo-ossigenazione dei tessuti, e il consumo di ossigeno aumenta durante l'esercizio fisico. Finchè ci si trova in una situazione di equilibrio tra ossigeno ceduto e ossigeno consumato, l' esercizio non è pericoloso. Come detto prima, a causa dell'aumento dei livelli di 2,3-DPG, il rilascio di ossigeno ai tessuti è migliorato nei pazienti con deficit di PK, e gli effetti negativi dell'anemia sono quindi ridotti. Ogni singolo soggetto PK carente dovrebbe valutare attentamente la propria tolleranza allo sforzo fisico. La fatica, se causata da anemia e quindi segno di ipossia sintomatica, è una controindicazione all' esercizio fisico intenso.

13. Esiste un tipo di esercizio che è meglio di un altro?

L'esercizio fisico è importante per il mantenimento di una buona salute a qualsiasi età, anche in presenza di anemia cronica. In particolare nelle persone anziane, il tipo e la durata dell'attività fisica deve essere concordato con il proprio medico, il quale dovrebbe tenere in considerazione, oltre all'anemia, eventuali comorbidità che possono insorgere con l'età. Anche se nell'anemia cronica il sangue trasporta meno ossigeno ai muscoli, l'esercizio fisico regolare può sensibilmente migliorare la resistenza e il livello di forma fisica generale. Si dovrebbero scegliere delle attività gradite, e praticarle in modo regolare, a partire da sessioni più brevi, facendo pause frequenti durante l'attività se necessario. Bisogna essere sicuri di rimanere adeguatamente idratati, e monitorare attentamente il livello di intensità di esercizio rimanendo all'interno dell'area di riferimento della frequenza cardiaca. Non direi che ci sono esercizi migliori di altri. Esercizi aerobici come camminare, andare in bicicletta, nuoto, corsi di ginnastica possono essere tranquillamente effettuati a condizione di non superare i limiti di tolleranza all'esercizio fisico individuale. Conosco alcuni pazienti con Hb di 7-8 g/dL che giocano a tennis o nuotano per 2 ore consecutive senza molto sforzo.

14. È vero che i globuli rossi si possono rompere più facilmente durante un allenamento intensivo?

È vero, ma si verifica raramente. In realtà i globuli rossi, pur essendo flessibili, possono in alcune circostanze rompersi per danno meccanico causando emolisi ed emoglobinuria. Questo tipo di emolisi è provocato da ripetute lesioni meccaniche subite dai globuli rossi che si trovano nei piccoli vasi sanguigni sovrastanti le ossa delle mani e piedi, e può essere a volte osservato nel caso di marce o corse prolungate (soldati, maratoneti), o nella pratica del karate. Un tasso minimo di emolisi è stato riportato anche dopo lunghe gare ciclistiche.

15. Ci sono delle allergie di cui i pazienti con PKD soffrono più spesso? E' più facile avere allergie se si è un paziente PKD?

I pazienti PKD, come i soggetti affetti da anemie emolitiche croniche in generale, non sono più sensibili alle allergie rispetto agli individui normali

16. Ci sono delle differenze nel modo in cui la PKD colpisce maschi e femmine?

No. Come detto prima, le donne possono subire un peggioramento dell'anemia emolitica durante la gravidanza.

17. Quali sono i sintomi di una reazione allergica durante una trasfusione di sangue? Perché il corpo reagisce in questo modo? Come si può evitarlo?

La trasfusione di sangue ed emocomponenti comporta sempre un rischio, anche se piccolo, di effetti avversi. Ci sono diversi tipi di reazioni trasfusionali: reazioni trasfusionali emolitiche (HTR), reazioni trasfusionali febbrili non emolitiche (FNHTRs) e reazioni allergiche. Le più comuni sono le FNHTRs e le reazioni allergiche. Reazioni "allergiche" si verificano durante o subito dopo la trasfusione di emocomponenti contenenti plasma, e sono causate da una risposta di ipersensibilità immediata con conseguente secrezione di istamina: i sintomi sono orticaria transitoria localizzata o generalizzata, eritema e prurito, a volte ipotensione, e si risolvono subito dopo la somministrazione di antistaminici. Le reazioni più gravi, con coinvolgimento di altri organi (sistema cardiovascolare, respiratorio, o gastrointestinale), vengono definite "anafilattiche" o "anafilattoidi". Reazioni allergiche ed anafilattiche sono, tuttavia, parte di un continuum. Si ritiene che le reazioni allergiche/anafilattiche siano dovute alla presenza nel siero del ricevente di un preesistente

anticorpo IgE diretto contro una proteina presente nel plasma del donatore. In verità i meccanismi sono probabilmente diversi e più complessi. In riceventi sensibilizzati, le reazioni allergiche possono essere evitate mediante appropriato pretrattamento con prednisone e antistaminici. Le "FNHTRs" sono caratterizzate da febbre e brividi, più raramente mal di testa, nausea e vomito, che compaiono verso la fine della trasfusione o quando la trasfusione è stata completata. Esse sono dovute principalmente alla presenza nel ricevente di anticorpi anti-leucociti (stimolati da trasfusioni o gravidanze precedenti) che reagiscono contro i leucociti del donatore. Queste reazioni possono essere prevenute con la rimozione dei leucociti dal componente del sangue da trasfondere. Le "HTR" sono dovute alla presenza di alloanticorpi contro i globuli rossi e possono provocare episodi emolitici acuti o ritardati.

18. La conseguenza maggiormente nota del deficit di PK è l'anemia emolitica. Ma quali altre conseguenze ha una carenza di PK? Non i problemi causati dall'emocromatosi, ma quelli strettamente dovuti alla carenza di piruvato. Ad esempio, problemi a livello muscolare, ossa, cuore? Sappiamo che l'enzima influisce soprattutto sui globuli rossi perché dipendono totalmente da esso per la produzione di energia, mentre le altre cellule possono produrre energia attraverso i mitocondri e non sono influenzati tanto dalla mancanza dell'enzima. Ci potrebbero essere altre conseguenze?

Negli esseri umani la piruvato chinasi è presente in quattro diverse forme (isoenzimi) specifici per i vari tessuti: tipo PK-M1 (che predomina nel muscolo scheletrico, cuore e cervello), PK-M2 (rene, leucociti, piastrine, polmone, milza e tessuto adiposo), PK-L (fegato, corteccia renale e intestino tenue), e il tipo PK-R che viene espresso esclusivamente negli eritrociti. PK-M1 e M2 sono codificati dal gene PK-M, mentre PK-L e PK-R sono sotto il controllo del gene *PK-LR*. La carenza della PK eritrocitaria deriva da mutazioni nel gene *PK-LR*, mentre il gene *PK-M* è normale: di conseguenza, la maggior parte dei tessuti hanno un normale contenuto di PK. Poiché PK-L (fegato) e PK-R (eritrociti) sono controllati dallo stesso gene, nella PKD sia i globuli rossi che gli epatociti mostrano una diminuzione dell'attività enzimatica. Tuttavia il difetto enzimatico, pur essendo presente anche nel fegato, non provoca disfunzione epatica in quanto viene di solito parzialmente compensato dalla continua sintesi degli enzimi negli epatociti. In conclusione, a causa della presenza dei diversi isoenzimi tessuto-specifici, i sintomi sono solitamente limitati a quelli dell'anemia emolitica cronica.

19. Gran parte della ricerca indica che molti pazienti tollerano la grave anemia abbastanza bene. Con l'eccezione della complicanze da sovraccarico di ferro, livelli cronicamente bassi di emoglobina (Hb <8 g/dL) possono avere conseguenze a lungo termine? E' possibile che un paziente raggiunti i 50/60 anni di età possa tollerare meno l'anemia? E' possibile che inizi ad avere necessità di trasfusioni?

Nella mia esperienza non ho osservato alcun calo della tolleranza all'anemia con l'invecchiamento nei pazienti oltre i 50 anni. Lo Studio internazionale " PKD Natural History" di cui al punto 10 consentirà sicuramente di ampliare le nostre conoscenze su questa rara malattia congenita e permetterà una più adeguata risposta a questa domanda.

20. Esistono delle raccomandazioni/linee guida specifiche per i pazienti con PKD? Ad esempio, vaccinazioni, andare dal medico in presenza di febbre, assumere acido folico? Con che frequenza un paziente con PKD dovrebbe recarsi dal medico e fare un controllo dall'ematologo?

Non ci sono linee guida specifiche per la PKD; per quanto riguarda le anemie emolitiche congenite, le uniche linee guida disponibili sono quelli per sferocitosi ereditaria, la forma più

comune di anemia emolitica cronica. L'integrazione di acido folico è raccomandata nella PKD grave e moderata, mentre potrebbe non essere necessaria nelle forme lievi. Per i bambini con PKD una visita annuale è sufficiente, una volta stabilite le condizioni basali, e in assenza di sintomi l'analisi dell'emocromo può anche non essere necessaria. La crescita dovrebbe essere monitorata, e i genitori devono essere consapevoli del rischio di improvvisa anemia dovuta all'infezione da parvovirus. I bambini con grave anemia devono essere attentamente monitorati durante le infezioni. Gli adulti con malattia lieve, non sono di solito sotto regolare follow-up, anche se penso che una visita a un centro di riferimento ematologico ogni 2-4 anni possa contribuire a monitorare la situazione ematologica e lo stato del ferro in particolare, e ridurre il rischio di complicanze. E' necessario un più attento monitoraggio per i pazienti splenectomizzati, che dovrebbero andare dal medico e prendere antibiotici in presenza di febbre per il rischio (basso, ma reale) di sepsi grave.