

Deficit di Piruvato Chinasi

Algoritmo diagnostico

Prima versione: maggio 2022

GRUPPO DI LAVORO

AUTORI

Maddalena Casale

Dipartimento della Donna, del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica,
Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli

Paolo Ricchi

Centro Malattie Rare Del Globulo Rosso, Ospedale Cardarelli, Napoli

Antonia Gigante

FONdazione per la Ricerca sulle Anemie ed EMoglobinopatie in ItaliA - For Anemia

REVISORI

Wilma Barcellini

Ematologia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Università degli Studi di Milano, Milano

Gian Luca Forni ^{IRCCS} _{ISSEP}

Centro della Microcitemia e Anemie Congenite, E.O. Ospedali Galliera, Genova

Nota per gli utilizzatori

Questo documento è una iniziativa della FONdazione per la Ricerca sulle Anemie ed EMoglobinopatie in ItaliA (ForAnemia) in collaborazione con la Società Italiana Talassemie ed Emoglobinopatie (SITE).

Conflitto di interessi: Gli eventuali conflitti sono stati risolti

Premessa

La Fondazione For Anemia ha risposto all'esigenza di sviluppare questo documento che è il risultato di una "Opinione di Esperti" per descrivere il processo di diagnosi del Deficit di Piruvato Chinasi (PKD).

La metodologia utilizzata è stata formulata sulla base di una valutazione delle evidenze scientifiche attualmente disponibili, utilizzando criteri validati che sono stati però interpretati con particolare cura data la limitata esperienza acquisita con le prove registrate.

L'obiettivo di questo documento è quello di fornire uno strumento alle parti interessate per facilitare la diagnosi del PKD.

Il contenuto è stato organizzato in modo tale da consentire la consultazione su diversi livelli: una figura interattiva, che evidenzia la correlazione tra i diversi steps della diagnosi, collegata a capitoli che forniscono informazioni dettagliate su ciascun aspetto dell'argomento.

Infine un algoritmo diagnostico che partendo dal quesito clinico specifica i percorsi delle diverse azioni diagnostiche e i loro possibili esiti.

Metodi

Il documento è stato sviluppato nell'ambito dell'attività scientifica di For Anemia che ha definito la fattibilità del progetto e in collaborazione con SITE (Società Italiana Talassemie ed Emoglobinopatie) ha selezionato il gruppo multidisciplinare di esperti in Anemie Congenite.

La revisione della letteratura si è concentrata su studi pertinenti pubblicati (Medline, PubMed, Embase, Cochrane Library) come articoli di riviste o abstract di conferenze fino ad aprile 2022.

Le parole chiave utilizzate sono state: Trasfusione di sangue, Gestione delle malattie, Terapia genetica, Trapianto di cellule staminali ematopoietiche, Piruvato chinasi/carenza, Piruvato chinasi/genetica, Metabolismo del piruvato, Errori congeniti/diagnosi, Metabolismo del piruvato, Metabolismo del piruvato, Splenectomia, Proteina PKLR umana, Piruvato Chinasi.

Sono state incluse revisioni sistematiche, tutti i progetti di studio sono stati inclusi purché contenessero informazioni cliniche.

Un revisore esperto ha esaminato in modo indipendente tutti i titoli e gli abstract risultanti dalla metodologia di ricerca per identificare gli articoli per la revisione full-text.

19 pubblicazioni soddisfacevano i criteri di inclusione.

Introduzione

Il Deficit di Piruvato Chinasi (PKD) è il difetto enzimatico della glicolisi più comune ed è la causa più frequente di **anemia emolitica cronica ereditaria non sferocitica**.

La PK catalizza la conversione del fosfoenolpiruvato (PEP) in piruvato, accoppiato con la sintesi di una molecola di ATP. Per i globuli rossi, la PK svolge un ruolo centrale nel metabolismo energetico cellulare perché catalizza una delle due fasi principali della produzione di ATP. Poiché i globuli rossi maturi mancano di mitocondri, sono completamente dipendenti dalla glicolisi per la produzione di ATP per mantenere l'integrità cellulare e le diverse proprietà reologiche. La carenza di PK determina un'inadeguata produzione ed esaurimento dell'ATP, che, come effetto finale, influisce sulla vitalità della cellula. Il PKD provoca anche l'accumulo di intermedi glicolitici prossimali al blocco metabolico, in particolare 2-fosfoglicerato, 3-fosfoglicerato e 2, 3-difosfoglicerato (2, 3-DPG), che possono aumentare fino a 3 volte e compromettere ulteriormente il flusso glicolitico¹. D'altra parte, l'aumento del 2,3-DPG riduce l'affinità dell'ossigeno per l'emoglobina, favorendone la cessione ai tessuti e rendendo l'anemia nel PKD più tollerata clinicamente rispetto ad altre forme di anemia.

La PK è regolata attraverso l'espressione di quattro isoenzimi e la PK dei globuli rossi è limitata all'isoenzima di tipo R. Sia la piruvato chinasi epatica che quella eritrocitaria sono espressi sotto il controllo di un gene di 9,5 kilobasi, il gene PK-LR, situato sul cromosoma 1q21². Con oltre 300 mutazioni descritte in omozigosi o, nella maggior parte dei pazienti, in eterozigosi composte, la relazione tra genotipo e sintomi clinici nella PKD è difficile da determinare.

La correlazione genotipo-fenotipo è stata studiata in pazienti arruolati in uno studio sulla storia naturale del Deficit di Piruvato Chinasi³. I pazienti sono stati raggruppati in base alla presenza di due mutazioni missenso (M/M), una missenso/una non-missenso (M/NM) o due mutazioni non missenso (NM/NM); le mutazioni non missenso includevano nonsense, frameshift, mutazioni inframe splicing e altre varianti di mutazioni dirompenti. Le più comunemente riportate sono mutazioni missenso, tra cui 1529G→A negli Stati Uniti e in Europa, 1456C→T nell'Europa meridionale e 1468C→T in Asia.

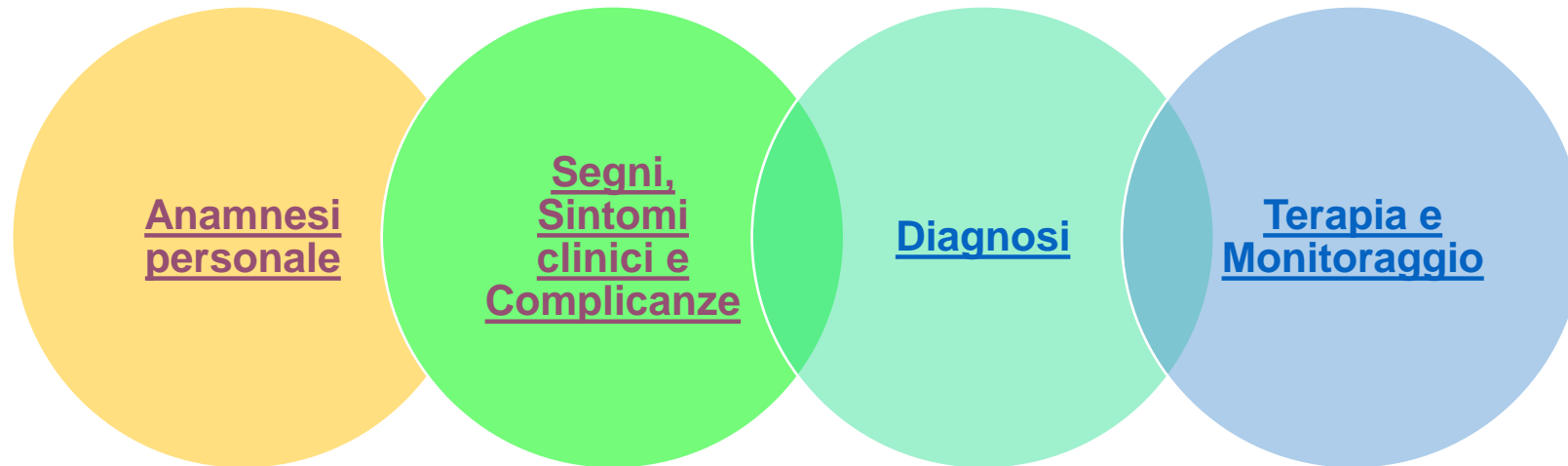
Il gruppo NM/NM presentava un fenotipo peggiore, caratterizzato da sintomatologia più grave che portava a diagnosi più precoce, livelli di emoglobina più bassi, ricorso più frequente alla splenectomia, maggiore richiesta trasfusionale e livelli più elevati di ferritina. Questi risultati suggeriscono che i test genetici possono anche essere utili per discutere la prognosi e stabilire un piano di monitoraggio con i pazienti. Tuttavia, il livello dell'emoglobina si sovrappone tra i vari genotipi e la frequenza delle complicanze è elevata tra tutti i genotipi, suggerendo che è necessario un attento monitoraggio in tutti i pazienti, indipendentemente del genotipo.

Prevalenza

Il PKD è una malattia rara causata da mutazioni nel gene PKLR in omozigosi o eterozigosi composta. Una recente revisione sistematica⁴ della letteratura riporta che la prevalenza del PKD clinicamente diagnosticato è probabilmente compresa tra 3,2 e 8,5 per milione nelle popolazioni occidentali, ma, data la rarità della condizione e le difficoltà diagnostiche, questi dati sottostimano la reale prevalenza della malattia, che raggiungerebbe stime di 51 casi per milione.

Diagnosi

La diagnosi di PKD si basa sulla presenza di segni e sintomi clinici e di marcatori di laboratorio di anemia emolitica cronica, sulla ridotta attività enzimatica della PK nel sangue periferico e sulla rilevazione di mutazioni in eterozigosi composta o in omozigosi nel gene PKLR⁵.





Anamnesi personale

Per un corretto percorso diagnostico, è fondamentale conoscere la storia clinica pregressa dei soggetti, con particolare attenzione alla storia di precedenti trasfusioni. Essendo una malattia autosomica recessiva, la storia familiare è spesso non indicativa per patologia ematologica.

Per escludere possibili cause immunitarie, meccaniche, infettive o iatrogene, il paziente va interrogato su:

- presenza di valvole cardiache protesiche,
- storia infettiva (storia di epatite virale, polmonite da micoplasma, virus di Epstein-Barr, citomegalovirus, varicella, parotite, morbillo, legionellosi, leishmaniosi viscerale e sifilide secondaria),
- terapie farmacologiche (alcuni farmaci possono essere responsabili dell'emolisi immunitaria mediante un meccanismo farmaco-indipendente, come metildopa, procainamide, ibuprofene, diclofenac, fludarabina e cladribina; o farmaco-dipendente, come ceftriaxone, cefotetan, penicillina, piperacillina, inibitori della β -lattamasi)⁶,
- altre patologie sottostanti, soprattutto autoimmuni,

Vanno escluse, altresì, con altri tests specifici: carenza di vitamina B12 e/o acido folico, anemie amolitiche autoimmuni (test di Coombs), emoglobinopatie, anemie emolitiche da difetto della membrana eritrocitaria, anemie emolitiche microangiopatiche (Emoglobinuria Parassositica Notturna (EPN), Sindrome Emolitica Uremica atipica (SEUa), Shiga Toxin Escherichia Coli-SEU (STEC-SEU), l'anemia diseritropoietica congenita (CDA), caratterizzata dagli stessi segni, sintomi e complicanze del PKD, ma da ridotta reticolocitosi (figura diapo n. 14).



Segni, Sintomi clinici e complicanze

I segni e sintomi predominanti sono quelli legati all'emolisi cronica:

- anemia (presente nel 90-95% dei casi, da lieve a trasfusione-dipendente),
- reticolocitosi,
- splenomegalia (80-85%, di grado variabile),
- ittero (40-70%),
- calcoli biliari (30-45%).

Tuttavia, la sintomatologia è variabile nelle diverse fasce d'età, con peculiarità tipiche dell'età neonatale, dell'infanzia/adolescenza e dell'età adulta, anche se tende generalmente a migliorare passando dall'infanzia all'età adulta⁷.

Età neonatale

Il sintomo più comune presente in epoca neonatale è l'ittero, precoce e grave, che può richiedere exanguinotrasfusione, fino a circa il 50% dei casi insorti alla nascita³. Successivamente, il bambino può presentare anemia emolitica e necessitare di trasfusioni croniche.

Nei casi meno gravi, può essere presente solo una lieve anemia, che diventa più marcata fino ad una franca anemizzazione attorno all'ottava settimana di vita, in concomitanza con il fisiologico calo dell'emoglobina del lattante, oppure nelle epoche successive dell'infanzia o in età adulta.

Nei casi più gravi, ma fortunatamente più rari, i primi segni possono comparire già in utero, con idrope fetale, ritardo di crescita intrauterina e prematurità. Raramente, alla nascita può essere presente grave ipertransaminasemia e iperbilirubinemia, espressione del deficit dell'isoenzima epatico, associato a quello eritrocitario, che può progredire fino all'insufficienza epatica acuta, gravata da alta mortalità nei casi non sottoposti a trapianto di fegato⁷.



Nei bambini prevalgono i segni e sintomi dell'anemia emolitica, con valori medi di Hb pari a 9 g/dL (range tra 6-12.5) e di bilirubina tra 2 e 6 mg/dL o anche più elevati in caso di compresenza di sindrome di Gilbert⁷.

A differenza di altre anemie croniche, l'anemia da PKD è meglio tollerata, con segni e sintomi più sfumati e maggiore resistenza all'esercizio fisico, grazie al già citato incremento del 2,3-DPG, che determina una maggiore cessione di ossigeno ai tessuti. Tuttavia, data l'ampia variabilità dei sintomi legati all'anemia da deficit di PK, l'aumento del 2,3-DPG è probabilmente solo uno dei fattori implicati. Infatti, lattanti con anemia di pari gravità possono presentare espressione clinica molto sfumata oppure sviluppare sintomi rilevanti, come disturbi della crescita, bozze frontali prominenti, difficoltà nell'alimentazione e irritabilità. Nei bambini più grandi i sintomi legati all'anemia possono essere molto scarsi o includere ridotte performance scolastiche, astenia e scarsa partecipazione alle attività fisiche.

L'emolisi cronica e l'iperbilirubinemia, accompagnate all'ittero sclerale e cutaneo, presente pressochè in tutti i pazienti, si associa ad un rischio di calcolosi della colecisti, con tassi progressivamente crescenti nelle varie età, dal 12% nell'età scolare (5-12 anni), fino al 64% dell'età adolescenziale.

La splenomegalia è presente in quasi la totalità dei bambini (80-85%), con segni di ipersplenismo in un gruppo di essi³.

Il sovraccarico di ferro è un'altra manifestazione della malattia, presente mediamente nel 50% dei pazienti in età pediatrica, anche in soggetti mai trasfusi, per l'incrementato assorbimento intestinale di ferro e l'eritropoiesi inefficace⁷.

Adulti

Mediamente, alla diagnosi, gli adulti non trasfusi e non splenectomizzati hanno anemia meno marcata rispetto ai bambini, con Hb di circa 11 g/dL (range da 7.6 a 14.2 g/dL). A parità di gravità dell'anemia, anche nell'età adulta la sintomatologia è estremamente variabile, andando da sintomi molto sfumati a sintomi limitanti la qualità di vita⁸, come astenia, dispnea, disturbi della memoria, difficoltà di concentrazione e dolore osseo.

Splenomegalia, iperbilirubinemia e ittero sono gli altri due elementi clinici quasi invariabilmente correlati alla malattia dell'adulto, con tassi di calcolosi della colecisti che raggiungono il 70%.

Il sovraccarico di ferro è presente in oltre la metà dei soggetti adulti, anche non regolarmente trasfusioni o mai trasfusi.

In età adulta, compaiono o diventano più frequenti diversi altri sintomi e complicanze associate alla malattia, come fratture ossee, endocrinopatie, eritropoiesi extramidollare, cirrosi epatica, ipertensione polmonare, ulcere cutanee, che vanno monitorati attentamente.

Diagnosi



La diagnosi è generalmente eseguita con la determinazione dell'attività enzimatica di PK attraverso metodiche spettrofotometriche. I limiti di questa metodica risiedono nell'interferenza di trasfusioni recenti (per la presenza delle emazie del donatore) o di inadeguata rimozione di globuli bianchi e piastrine dal campione analizzato.

La maggiore interferenza sull'analisi dell'attività enzimatica PK è comunque data dalla reticolocitosi, in quanto i reticolociti hanno una attività enzimatica più alta degli eritrociti maturi. Pertanto è necessario confrontare l'attività della piruvato chinasi con quella di altri enzimi della via glicolitica ed un valore ridotto rispetto agli altri enzimi, sebbene ancora normale, è indice di malattia. Inoltre, non è stata osservata una correlazione tra la gravità del deficit di attività enzimatica in vitro e la gravità clinica della malattia in vivo.

I test molecolari offrono evidenti vantaggi rispetto ai test biochimici, come la necessità di volumi di campioni più piccoli, nessuna interferenza di globuli rossi trasfusi, idoneità per la diagnosi prenatale, e più facile gestione e spedizione dei campioni. Tuttavia, non tutte le mutazioni rilevate possono essere immediatamente classificate come causative fino a quando la loro patogenicità non viene confermata da altri test funzionali, inoltre ampie delezioni o mutazioni introniche possono essere di difficile identificazione e fino al 10% dei soggetti con PKD presenta una sola mutazione identificata all'analisi molecolare⁹.

Pertanto, sia l'attività enzimatica che i test molecolari sono raccomandati per la diagnosi di PKD.

Attualmente sono adottati due approcci:

- la maggior parte dei centri di riferimento esegue lo screening PKD misurando l'attività enzimatica della PK e conferma un paziente sospetto con PKD mediante analisi delle mutazioni del gene PKLR,
- alcuni centri sequenziano prima il gene PKLR mediante pannelli di Next Generation Sequencing (NGS) e poi se viene trovata una nuova mutazione confermano la diagnosi mediante attività enzimatica PK¹⁰⁻¹².

Terapia di supporto

- Supporto trasfusionale

Il supporto trasfusionale è necessario in caso di anemizzazione acuta, tanto più frequente quanto minore è l'età del paziente, a causa delle infezioni virali ricorrenti, tipiche dell'età infantile. Solo poco più del 10% dei pazienti <18 anni e circa 1 su 4 degli adulti con diagnosi di PKD non ha mai ricevuto una trasfusione, mentre la stragrande maggioranza dei pazienti fa esperienza di anemizzazione acuta e trasfusioni occasionali.

La decisione di intraprendere un regime trasfusionale regolare dipende dalla presenza di segni e sintomi rilevanti o limitanti la qualità di vita e dallo sviluppo di complicanze secondarie all'anemia cronica, più che dal valore di Hb in sé⁹. Infatti, vi è scarsa correlazione tra gravità dell'anemia e sintomatologia clinica e un regime trasfusionale regolare è più frequentemente necessario durante la prima infanzia, superando il 50% dei casi nei primi 5 anni, scendendo a circa il 30% dei casi tra i 5-12 anni, e al 14% e 11% dei casi nell'adolescenza e nell'età adulta, rispettivamente. Questa riduzione della necessità trasfusionale è anche ascrivibile al ricorso alla splenectomia, che inizia tipicamente dopo i 5 anni d'età e alla riduzione degli eventi di anemizzazione acuta, maggiormente legati alle infezioni virali della prima infanzia. Comunque, anche negli adulti possono comparire segni e sintomi che indicano il ricorso al regime trasfusionale regolare. E' utile ricordare, anche al paziente, la possibilità dell'insorgenza di crisi aplastiche indotte da parvovirus, che possono richiedere elevato fabbisogno trasfusionale e diverse settimane per una ripresa completa; in pazienti con reticolocitopenia le IgM anti-parvovirus andrebbero ricercate.

- Supporto con acido folico

In relazione all'incremento dell'attività eritropoietica risulta fondamentale il supporto con acido folico che deve essere, pressochè continuativo nell'infanzia/adolescenza e nei periodi di aumentato fabbisogno (crisi emolitiche, stress, gravidanza, interventi chirurgici, etc), e a cicli/al bisogno nell'adulto, ove è opportuno effettuare anche un monitoraggio dei livelli di folatemia.

- Gestione del sovraccarico di ferro

Il sovraccarico di ferro può far parte del corteo di segni già presenti alla diagnosi di malattia, soprattutto nei casi di diagnosi tardiva, oppure essere la conseguenza diretta di un regime trasfusionale regolare, già a partire dai primi anni di vita. In ogni caso, la gestione del sovraccarico di ferro è parte integrante della terapia convenzionale della malattia. E' indicato il monitoraggio della ferritina sierica e dell'indice di saturazione della transferrina ogni anno in adulti e bambini che non ricevono trasfusioni regolari, ogni 3-6 mesi in soggetti che sono in regime trasfusionale regolare e ogni 1-3 mesi in soggetti che sono in trattamento ferrochelante. La risonanza magnetica (RM) per la valutazione della concentrazione epatica di ferro (LIC, liver iron concentration) va eseguita ogni anno nei soggetti in regime trasfusionale regolare e nei soggetti che hanno un valore patologico (LIC >5 mgFe/g dw), anche se non sono in regime trasfusionale cronico. Diversamente il monitoraggio con RM può essere eseguito ogni 5 anni in soggetti non in regime trasfusionale regolare che hanno una LIC <5 mg/g. L'inizio della terapia chelante, indipendentemente dal regime trasfusionale regolare, va indicato quando ferritina sierica è >800 mg/L e la saturazione della transferrina > 60% oppure quando la LIC > 5 mg/g⁷.

- Splenectomia

La splenectomia è una strategia terapeutica da considerare in caso di necessità di regime trasfusionale regolare o sintomi clinici limitanti la qualità di vita. Complessivamente l'incremento medio di emoglobine è 1.6 g/d, con un range da 0.5 a 3 g/dL. Se l'approccio generale è di evitare la splenectomia nei primi 5 anni di vita e dopo i 65, per ridurre il rischio di complicanze età-correlate, tipicamente la splenectomia viene indicata dai 5 ai 18 anni. Infatti, il 50% dei pazienti risulta splenectomizzato entro i 12 anni di vita e il 70% entro i 18 anni di vita. Tuttavia, il rischio di infezioni gravi da capsulati o di trombosi permane per tutta la vita del paziente splenectomizzato, per tale ragione, uno stretto monitoraggio delle complicanze post-splenectomia è richiesto in tutti i pazienti. Purtroppo, non tutti i pazienti rispondono alla splenectomia con un soddisfacente incremento dell'Hb e circa il 15% dei soggetti splenectomizzati continua ad essere trasfusione-dipendente³.

Sebbene sia noto che due mutazioni missenso o grave fenotipo emolitico siano fattori associati a ridotta efficacia della splenectomia, ancora oggi non sono disponibili fattori predittivi affidabili, che possano migliorare l'indicazione a questa procedura⁷.

- Monitoraggio delle altre complicanze

Essendo il PKD una malattia ad andamento cronico, con progressiva comparsa di complicanze, è necessario avere un programma di monitoraggio che includa:

- ecografia addominale ogni 2-3 anni per valutare la presenza di calcolosi della colecisti o più frequentemente se sospetto di colestasi intraepatica;
- esame DEXA (Dual-energy x-ray absorptiometry) a partire dall'età adulta per valutare perdita di massa ossea;
- screening ormonale, per escludere l'insorgenza delle più frequenti complicanze endocrinologiche, come indicato in altre forme di anemie croniche trasfusione-dipendenti e non¹³;
- ecocardiogramma con valutazione della pressione polmonare, per escludere insorgenza di ipertensione polmonare in soggetti con più di 30 anni o con sintomi clinici o disfunzione cardiaca; con valutazione delle dimensioni dell'atrio sinistro, per escludere dilatazioni legate all'anemia cronica nei soggetti adulti non trasfusi o non adeguatamente trasfusi.

Terapia innovative

- Attivatori di PK

L'utilizzo di farmaci attivatori di PK è, al momento, la frontiera più promettente per la gestione della malattia. Già utilizzato in adulti con PKD, il Mitavipat è la molecola attivatrice di PK in fase di sperimentazione più avanzata, dimostratasi sicura ed efficace nell'indurre aumento dell'Hb, negli studi di fase 2. Lo studio di fase 3, in i pazienti non trasfusione dipendenti, dimostra l'efficacia della molecola nell'indurre un aumento dell'Hb di almeno 1.5 gr/dl rispetto al placebo nel 40% dei pazienti trattati e nel ridurre l'emolisi, con un profilo di sicurezza simile a quanto riportato nello studio di fase 2 (nausea, cefalea, ipertrigliceridemia, generalmente di lieve entità e transitori)¹⁴.

Sono in corso studi nella popolazione pediatrica.

La Federal Drug Administration (FDA) ha reso disponibile la terapia con [mitavipat](#), mentre l' Agenzia Europea per il Farmaco (EMA) non ha ancora approvato la sua commercializzazione in Europa.

- Trapianto di cellule staminali

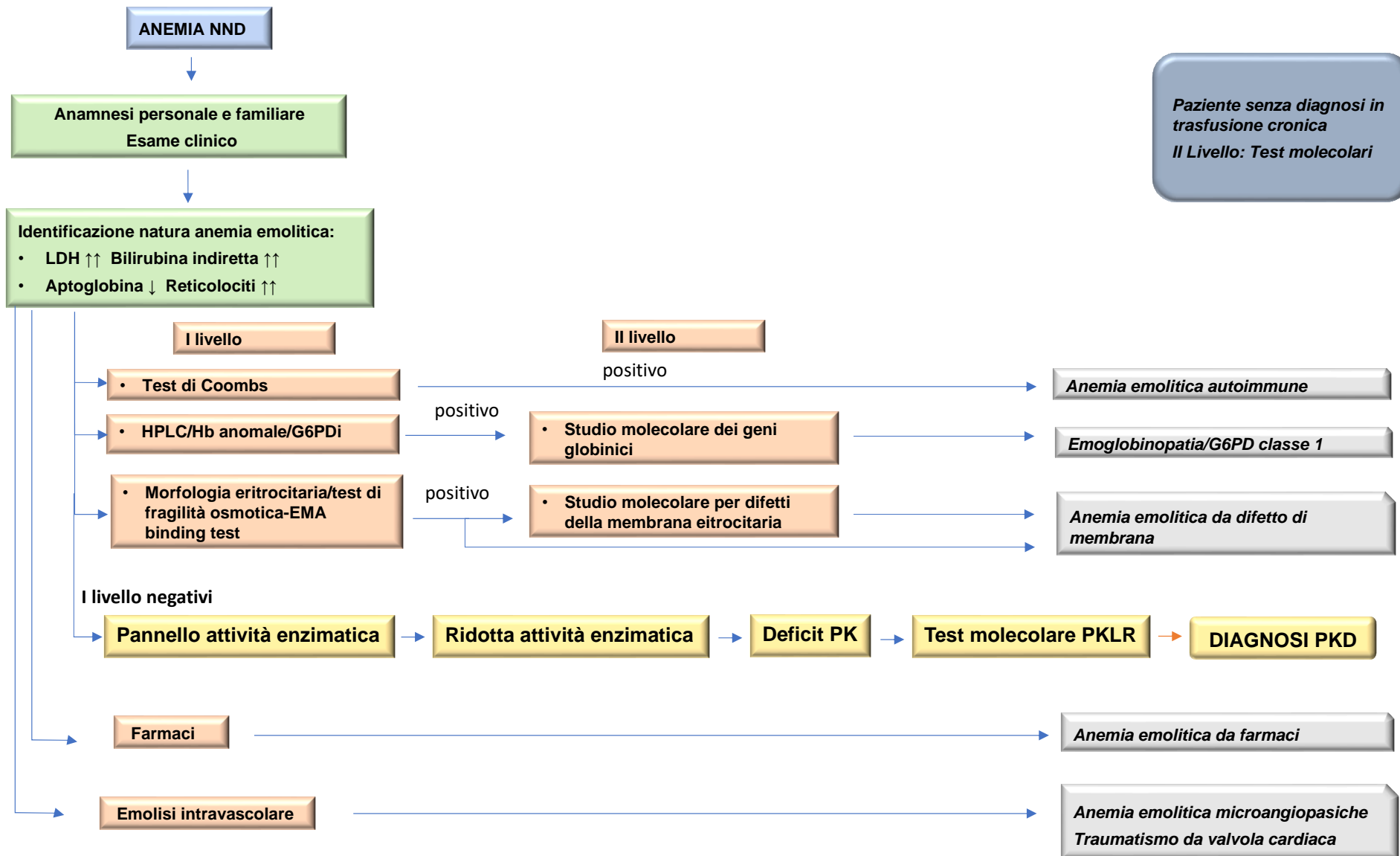
Sebbene il trapianto di cellule staminali (HSCT) sia l'unica terapia definitiva per la PKD, esso è gravato da mortalità e complicanze trapianto-correlate eccessivamente alte rispetto alla terapia convenzionale. Infatti, nel 2018 è stato pubblicato uno studio multicentrico internazionale che riportava i risultati del trapianto di midollo allogenico su 16 pazienti affetti da PKD trasfusione-dipendente con età media di 6.5 anni: la procedura era gravata da un elevato numero di complicanze infettive, da numerose GVHD e da elevata mortalità (31%, sopravvivenza mediana 13 mesi)¹⁵.

Pertanto il trapianto di cellule staminali non è una alternativa terapeutica contemplabile al momento. La disponibilità di nuovi farmaci ha il potenziale di ampliare le opzioni terapeutiche per i soggetti con malattia grave (trasfusione- dipendenza nonostante la splenectomia), riducendo rischi e complicanze secondari a trapianto.

- Terapia Genica

Come in altre malattie monogeniche, la terapia genica è una promettente terapia curativa anche per la PKD. Uno studio preclinico su un modello murino di PKD ha mostrato la fattibilità e la sicurezza della terapia genica legata all'utilizzo di un vettore lentivirale che transducendo la PK murina determinava la reversione biochimica e fenotipica della patologia nel topo. Tali risultati promettenti hanno portato all'avvio di uno studio di terapia genica sull'uomo (sigla NCT04105166¹⁶); lo studio, iniziato nel Giugno 2020, prevede l'arruolamento di 6 pazienti e dovrebbe concludersi nel 2023 . Quando, questa terapia sarà disponibile nella pratica clinica, potrebbe posizionarsi come scelta terapeutica alternativa nei casi gravi, non responsivi alle terapie convenzionali e innovative.

Algoritmo diagnostico



HPLC = High Performance Liquid Chromatography; G6PD= glucosio 6 fosfato deidrogenasi; EMA binding test= eosin-5'-maleimide-binding test

Per orientarsi verso la diagnosi di deficit di PK e procedere ad effettuare i relativi tests suggeriti (serie in box gialla) occorrerà in prima battuta effettuare un' anamnesi personale e familiare, riconoscere la natura emolitica/cronica dell'anemia, escludere quelle su base meccanica, carenziale, iatrogena o da emolisi intravascolare precedentemente ricordate. Quindi si suggerisce di effettuare alcuni tests di I livello (serie in box arancione) per escludere le altre anemie emolitiche di origine autoimmune (tests di Coombs), quelle legate alle emoglobinopatie (HPLC hb per ricerca talassemia/emoglobine instabili), al deficit di G6PD ed ai difetti di membrana eritrocitaria (esame striscio periferico/fragilità osmotica-EMA binding test). La presenza delle su menzionate anemie di natura emolitica andrà comunque confermata con una diagnostica di II livello. Se vi è storia di trasfusione recente (entro 90 gg) occorrerà procedere solo con i test molecolari/II livello.

CONCLUSIONI



Il PKD è una anemia emolitica cronica clinicamente molto eterogenea, tuttavia, i pazienti, anche quelli con manifestazioni cliniche più lievi, possono sviluppare nel corso della vita complicanze secondarie alla malattia o alla diagnosi tardiva. Pertanto, un tempestivo inquadramento diagnostico, seguito dal monitoraggio clinico, sono fondamentali per la corretta gestione della malattia, soprattutto alla luce dei futuri scenari terapeutici con nuovi farmaci attivatori di PK o su potenziali terapie curative, come la terapia genica, che hanno il potenziale di cambiare la storia naturale di questa condizione.

Punti chiave

Il PKD deve essere considerato nei pazienti con segni/sintomi di anemia emolitica cronica (compresi i pazienti con anemia lieve): reticolocitosi, ittero, iperbilirubinemia non coniugata, calcoli biliari e splenomegalia.

La diagnosi di PKD viene eseguita misurando l'attività enzimatica della PK nei lisati eritrocitari mediante test spettrofotometrico.

La diagnosi di PKD deve essere confermata dall'identificazione di mutazioni causative nel gene PKLR in in omozigosi o eterozigosi composta.

BIBLIOGRAFIA

1. Zanella, A. & Bianchi, P. Red cell pyruvate kinase deficiency: from genetics to clinical manifestations. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* **13**, 57–81 (2000).
2. Grace, R. F. *et al.* Erythrocyte pyruvate kinase deficiency: 2015 status report. *Am. J. Hematol.* **90**, 825–830 (2015).
3. Grace, R. F. *et al.* Clinical spectrum of pyruvate kinase deficiency: data from the Pyruvate Kinase Deficiency Natural History Study. *Blood* **131**, 2183–2192 (2018).
4. Secrest, M. H. *et al.* Prevalence of pyruvate kinase deficiency: A systematic literature review. *Eur. J. Haematol.* **105**, 173–184 (2020).
5. Grace, R. F., Mark Layton, D. & Barcellini, W. How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. *Br. J. Haematol.* **184**, 721–734 (2019).
6. Zanella, A., Fermo, E., Bianchi, P. & Valentini, G. Red cell pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects. *Br. J. Haematol.* **130**, 11–25 (2005).
7. Grace, R. F. & Barcellini, W. Management of pyruvate kinase deficiency in children and adults. *Blood* **136**, 1241–1249 (2020).
8. Al-Samkari, H. *et al.* The variable manifestations of disease in pyruvate kinase deficiency and their management. *Haematologica* **105**, 2229–2239 (2020).
9. Gallagher, P. G. & Glader, B. Diagnosis of Pyruvate Kinase Deficiency: Gallagher and Glader. *Pediatr. Blood Cancer* **63**, 771–772 (2016).
10. Bianchi, P. *et al.* Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency: Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *Am. J. Hematol.* **94**, 149–161 (2019).
11. Zanella, A., Fermo, E., Bianchi, P., Chiarelli, L. R. & Valentini, G. Pyruvate kinase deficiency: The genotype-phenotype association. *Blood Rev.* **21**, 217–231 (2007).
12. van Beers, E. J. *et al.* Prevalence and management of iron overload in pyruvate kinase deficiency: report from the Pyruvate Kinase Deficiency Natural History Study. *Haematologica* **104**, e51–e53 (2019).
13. Casale, M. *et al.* Good Clinical Practice of the Italian Society of Thalassemia and Haemoglobinopathies (SITE) for the Management of Endocrine Complications in Patients with Haemoglobinopathies. *J. Clin. Med.* **11**, 1826 (2022).
14. Grace, R. F. *et al.* Safety and Efficacy of Mitapivat in Pyruvate Kinase Deficiency. *N. Engl. J. Med.* **381**, 933–944 (2019).
15. Al-Samkari, H. *et al.* Mitapivat versus Placebo for Pyruvate Kinase Deficiency. *N. Engl. J. Med.* **386**, 1432–1442 (2022).
16. van Straaten, S. *et al.* Worldwide study of hematopoietic allogeneic stem cell transplantation in pyruvate kinase deficiency. *Haematologica* **103**, e82–e86 (2018).
17. A Phase I Clinical Trial to Evaluate the Safety of the Infusion of Autologous CD34+ Cells Transduced With a Lentiviral Vector Carrying the Codon Optimized Red Cell Pyruvate Kinase (coRPK) Gene in Adult and Pediatric Subjects With PKD. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04105166>.
18. Schwartz, J. D. *et al.* Who should be eligible for gene therapy clinical trials in red blood cell pyruvate kinase deficiency (PKD)? Toward an expanded definition of severe PKD. *Am. J. Hematol.* **97**, E120–E125 (2022).
19. Bianchi, P. *et al.* Genotype-phenotype correlation and molecular heterogeneity in pyruvate kinase deficiency. *Am. J. Hematol.* **95**, 472–482 (2020).