

ГЕНЕТИКА / GENETICS

DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.9>

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ДИАГНОСТИКА ГЕМОГЛОБИНОПАТИЙ

Научная статья

Мамедова Р.Ф.^{1,*}¹ORCID : 0000-0002-0563-8906;¹Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан

* Корреспондирующий автор (rena.mamedova2015[at]mail.ru)

Аннотация

В статье рассмотрены генетические основы гемоглинопатий, методы и средства анализа для диагностики носителей гемоглинопатий, молекулярные причины α -талассемии, молекулярная основа и гетерогенность гемоглинопатий на примере β -талассемии, а также промежуточная β -талассемия, связанная с дополнительными генами α -глобина. Гемоглинопатии являются наиболее распространенными моногенными наследственными заболеваниями, создающими главную проблему здравоохранения во многих странах мира. Как показывает статистика, большинство гемоглинопатий, носители рецессивного наследования и они обычно клинически бессимптомны. Программы пре-концепционного и антенатального скрининга на носительство с возможностью пренатальной диагностики считаются результативными во многих эндемичных странах. С развитием генетических инструментов исследования следующего поколения, таких как матричный анализ и секвенирование, в дополнение к современному скринингу на гематологическом, биохимическом и генетическом уровне, было обнаружено все большее число редких перестроек и новых факторов, влияющих на тяжесть заболевания за последние годы. В обзоре обобщены основные требования к адекватному скрининговому анализу носителей болезни, важность корреляции генотип-фенотип и то, как это может привести к не выявленным исключительным взаимодействиям, вызывающим клинически более тяжелый фенотип у бессимптомных носителей.

Ключевые слова: талассемия, гемоглинопатии, секвенирование, диагностика, гемоглибин, ДНК.

MOLECULAR MECHANISMS AND DIAGNOSIS OF HAEMOGLOBINOPATHIES

Research article

Mamedova R.F.^{1,*}¹ORCID : 0000-0002-0563-8906;¹Baku State University, Baku, Azerbaijan

* Corresponding author (rena.mamedova2015[at]mail.ru)

Abstract

The article examines the genetic basis of haemoglobinopathies, methods and analysis tools for diagnosing carriers of haemoglobinopathies, molecular causes of α -thalassaemia, molecular basis and heterogeneity of haemoglobinopathies using β -thalassaemia as an example, as well as intermediate β -thalassaemia associated with additional α -globin genes. Haemoglobinopathies are the most common monogenic inherited diseases, creating a major public health problem in many countries of the world. Statistics show that most haemoglobinopathies, carriers of recessive inheritance, and they are usually clinically asymptomatic. Pre-conception and antenatal carrier screening programmes with the possibility of prenatal diagnosis are deemed to be effective in many endemic countries. With the development of next generation genetic research tools such as matrix analysis and sequencing, in addition to modern screening at haematological, biochemical and genetic level, an increasing number of rare rearrangements and novel factors influencing disease severity have been discovered in recent years. The review summarizes the basic requirements for adequate screening analysis of disease carriers, the importance of genotype-phenotype correlation and how this may lead to undetected exceptional interactions causing a clinically more severe phenotype in asymptomatic carriers.

Keywords: thalassaemia, haemoglobinopathies, sequencing, diagnosis, haemoglobin, DNA.**Введение**

Гемоглибин является основным белком, ответственным за транспортировку кислорода в организме человека и основным компонентом красных кровяных телец. Взрослый HbA ($\alpha_2\beta_2$) является тетрамерным белком, для которого кодирующие гены сгруппированы в два отдельных кластерных семейства глобиновых генов в разных местах генома. Гемоглинопатии, генетические заболевания, связанные с синтезом гемоглибина и представляют собой наиболее распространенные моногенные нарушения во всем мире. Генетической причиной этой группы заболеваний являются варианты ДНК в генах глобина или рядом с ними, кодирующие цепи глобина тетрамерного белка гемоглибина [1]. Эти варианты ДНК могут приводить к изменению синтеза α - или β -глобина (α - и синдромы β -талассемии соответственно) или структурные изменения гемоглибина, вызывающие такие заболевания, как серповидно-клеточная анемия, гемолитическая анемия, эритроцитоз или полицитемия.

Взаимодействие между вариантами талассемии и различными структурными вариантами гемоглибина вызывает широкий спектр нарушений различной клинической тяжести. Наиболее важными категориями, для которых показано генетическое консультирование с возможностью пренатальной диагностики, являются большая талассемия, серповидно-клеточные синдромы, комбинации HbE/ β -талассемии и синдромы α -талассемии, такие, как летальный

гемоглобин. Клиническая значимость этих форм может различаться в разных популяциях, поскольку заболеваемость в значительной степени зависит от популяции. Большая β -талассемия представляет собой серьезную проблему для здоровья населения в странах Средиземноморья, Ближнего и Дальнего Востока, что приводит к программам скрининга носителей для предотвращения рождения больных детей. Синдромы HbE/ β -талассемии, а также синдромы, связанные с α^0 -талассемией, чаще встречаются в Юго-Восточной Азии, в то время как HbS чаще встречается в странах Африки югу от Сахары, Индии и на Ближнем Востоке [2].

Многочисленные исследования показали, что 7% населения мира являются носителями варианта ДНК, вызывающего нарушение синтеза гемоглобина, что приводит к заболеванию примерно от 300000 до 400000 новорожденных детей, из которых у большинства наблюдаются синдромы серповидно-клеточной анемии, а у незначительной части (примерно 40 000) зависимость от трансфузии большая β -талассемия [3]. В большинстве популяций, где гемоглинопатии являются эндемичными, α - и β -талассемия сосуществует вместе с различными аномальными гемоглобинами. Исторически гемоглинопатии наиболее эндемичны в субтропических регионах мира из-за присутствия малярии, распространяющейся от Средиземноморья, Ближнего Востока и Индии до Юго-Восточной Азии. Все больше данных свидетельствует о том, что естественный отбор благоприятствует состоянию носителя, поскольку носители, как правило, лучше переносят инфекцию, вызванную тропической малярией, вызванной *Plasmodium falciparum*, чем неносители. Вследствие многовековой миграции гемоглинопатии получили широкое распространение и в ранее эндемичных регионах, таких как Северная и Южная Америка, и Северная Европа.

Несколько исследований показали, что влияние гемоглинопатий на глобальное бремя болезней увеличивается с каждым годом. Пациенты с промежуточной или большой β -талассемией, а также пациенты с серповидно-клеточной анемией требуют пожизненного лечения. Это включает в себя регулярные переливания крови и хелаторную терапию железом в случае синдромов β -талассемии и лечение для уменьшения болезненного вазоокклюзионного криза, анемии, легочной гипертензии и инфекций, среди прочего, у пациентов с серповидноклеточной анемией. Хотя существует перспектива других методов лечения, таких как трансплантация гемопоэтических стволовых клеток и, в последнее время, генная терапия с использованием лентивирусных векторов. Отсутствие подходящих доноров в первом и высокая стоимость или отсутствие подходящей инфраструктуры для лечения во втором предотвращает широкая применимость во всем мире.

Из-за воздействия этих наследственных заболеваний, во многих эндемичных странах были разработаны программы скрининга носительства до зачатия, до брака и/или дородового периода, чтобы свести к минимуму частоту новых случаев. Парам-носителям, если они выявлены предпочтительно до рождения больного ребенка, могут быть предложены репродуктивные варианты в рамках правового поля и принятых местных практик и законодательства. Скрининг на носительство и профилактика пораженных новорожденных были наиболее эффективными в нескольких средиземноморских странах, таких как Кипр, Италия и Греция, которые внедрили это уже с начала 70-х годов.

Хотя тяжелые формы гемоглинопатий редко ускользают от предварительного клинического диагноза, носителей легко не заметить. Носительство обычно протекает бессимптомно и выявляется только во время семейного анализа из-за больного члена семьи, при участии в программах скрининга гемоглинопатии или случайно во время рутинных гематологических или биохимических анализов, таких как анализ HbA1c, связанный с диабетом. Молекулярный анализ генов гемоглинопатии поможет поставить окончательный диагноз пациентам, носителям и пациентам с атипичными гематологическими параметрами для использования в сочетании с другими руководствами и рекомендациями.

В связи с тем, что гемоглинопатии очень гетерогенны, окончательный диагноз носителей и пациентов, скрининг, консультирование и пренатальная диагностика затруднены не только для клиницистов, но и для сотрудников лабораторий, которым приходится использовать широкий спектр методологий для постановки окончательного диагноза. С появлением новых инструментов секвенирования следующего поколения были пересмотрены ранее неполные диагностируемые случаи, что привело к открытию новых механизмов, участвующих в модуляции тяжести заболевания [4]. Этот обзор направлен на то, чтобы осветить проблемы, связанные с новыми техническими разработками в обнаружении носителей, и некоторыми необычными механизмами, ведущими к промежуточным фенотипам заболевания у носителей одного варианта β -талассемии.

Генетические основы гемоглинопатий

Гемоглобин представляет собой тетрамерный белок, состоящий из двух α -подобных и двух β -подобных глобиновых цепей. Гены α - и β -глобина расположены в двух отдельных кластерах на разных хромосомах. Дублированные гены α -глобина (HBA1 и HBA2) расположены на хромосоме 16p в кластере генов α -глобина вместе с эмбрионально экспрессируемым HBZ1. Кластер генов β -глобина, расположенный на хромосоме 11p, содержит пренатально экспрессируемые гены HBE, HBG1 и HBG2, а также постнатально экспрессируемые гены HBD и HBV [5].

Эмбриональные, фетальные и взрослые глобиновые гены организованы вдоль генома в порядке экспрессии и регулируются в зависимости от стадии развития и ткани, что приводит к различным типам гемоглобина, также называемому “переключателем гемоглобина”. На эмбриональной стадии гены HBZ1 и HBE экспрессируют Hb Gower I ($\zeta\epsilon\epsilon 2$), II ($\alpha 2\epsilon 2$) и Hb Portland ($\zeta\gamma 2$), в последующие 6 недель гены HBZ1 и HBE отключаются и экспрессируется HbF ($\alpha 2\gamma 2$). При рождении наблюдается резкая репрессия экспрессии гена γ в пользу экспрессируемого гена β -глобина, что приводит к снижению уровня HbF менее чем до 0,5% и увеличению синтеза HbA ($\alpha 2\beta 2$) (до приблизительно 97–98%), что завершается через около 6 месяцев после рождения. При этом экспрессируется HBD и синтезируется HbA2 ($\alpha 2\delta 2$) (2–3%), что имеет диагностическое значение при выявлении носителей β -талассемии, у которых уровень HbA2 повышен на 4–8%. Фенотипы заболевания, связанные с вариантами, влияющими на целостность гена β -глобина, проявляются примерно через 6 месяцев после рождения, что также является временем, когда повышенный уровень HbA2 у носителей β -талассемии может быть адекватно измерен [6].

Геномные варианты включают делеции, удаление функциональных генов или регуляторных элементов, или варианты нуклеотидов в глобиновых генах или рядом с ними, которые мешают правильной трансляции, транскрипции или экспрессии генов. Большинство дефектов α -талассемии (примерно 80% всех молекулярных причин), объясняются делециями, затрагивающими один или оба HBA1 и HBA2, реже встречаются делеции вышележащих основных консервативных последовательностей, также называемых HS-40. Остальные (около 20%) связаны с недеletionными дефектами в генах HBA1 и HBA2 или редкими делециями. Возникновение конкретных вариантов в значительной степени зависит от популяции, однако определенные делеции, такие как $-\alpha^{3,7}$, можно найти почти в каждой популяции. Мутации β -талассемии включают в основном нуклеотидные варианты (более 95%), в то время как частичные делеции гена β -глобина с или без вышеназванных генов глобина и области контроля локуса β встречаются гораздо реже (около 5%) [6], [7].

Существуют многочисленные потенциальные взаимодействия между различными вариантами, приводящие к различным, а иногда и неожиданным или необъяснимым фенотипам. Полезный инструмент предоставляется порталом Ithabet, базами данных и инструментами под названием Ithaphen на веб-сайте Ithabet. Одной из основных проблем при применении скрининга наиболее распространенных вариантов является сравнение результатов с гематологическими и биохимическими результатами для полного объяснения фенотипа. Если есть противоречивые результаты или генотип не объясняет тяжесть фенотипа, необходимы дополнительные исследования. Эти исключительные случаи могут раскрыть новые механизмы перестройки или болезни, объясняющие фенотип болезни для достижения окончательного диагноза.

Заключение

Из-за чрезвычайной гетерогенности, характерной для гемоглобинопатий, скрининг и окончательный диагноз могут быть сложными для лабораторий. Им необходимо применить широкий спектр хорошо проверенных тестов при помощи опытной команды генетиков, гематологов и лабораторного персонала. Кроме того, клиническая информация, полученная из семейного анамнеза и родословных, является обязательной при поиске геномных ассоциаций, связанных с фенотипом заболевания. Важное значение имеет международное сотрудничество, международные инициативы по созданию сети специалистов, работающих над конкретным редким заболеванием, а также установить тесные контакты между специалистами-профессионалами в области гематологии при тесном сотрудничестве с Европейской справочной сетью по редким гематологическим заболеваниям (EuroBloodNet) и Европейской Ассоциацией Гематологии (EHA).

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Evan M. Braunstein. Обзор гемоглобинопатий / Evan M. Braunstein // Справочник MSD, Медицинский обзор, июнь. — 2022.
2. Талассемия. — URL: <https://spizhenko.clinic/blog/talassemiya> (дата обращения: 15.01.2023)
3. Koza Katarzyna. Hemoglobinopathies and Thalasemias – Genetic Basis and Molecular Diagnosis / Katarzyna Koza [et al.]. — URL: <https://publisherspanel.com/api/files/view/8711.pdf> (accessed: 01/05/2023)
4. Cornelis L. Hartevelde. The Hemoglobinopathies, Molecular Disease Mechanisms and Diagnostics / Cornelis L. Hartevelde [et al.]. — URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijlh.13885> (accessed: 01/15/2023)
5. Бабаев М.Ш. Генетический скрининг новорожденных г. Баку на наследственные гемоглобинопатии / М.Ш. Бабаев, К.А. Алиева, Р.Ф. Мамедова // Журнал «Медицинская генетика». — том 19. — № 12. — Москва, 2020
6. HandWiki encyclopedia Medicine: Hemoglobinopathy. — URL: <https://handwiki.org/wiki/Medicine:Hemoglobinopathy> (accessed: 11.02.2023)
7. Jaing T.H. Molecular Genetics of β -thalassemia: A narrative review / T.H. Jaing. — URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34766559/> (accessed: 19.11.2022)
8. Stuppia Liborio. Use of the MLPA Assay in the Molecular Diagnosis of Gene Copy Number Alterations in Human Genetic Diseases / Liborio Stuppia [et al.]. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3317712/> (accessed: 15.02.2021)
9. Koutsis Aikaterini. Diagnostic Molecular Techniques in Haematology: recent advances / Aikaterini Koutsis, Elisavet Christine Vervesou. — URL: <https://www.researchgate.net/> (accessed: 15.02.2021)
10. Tamary Hannah. Alpha-Thalassemia October 1, 2020 / Hannah Tamary. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1435/> (accessed: 10.12.2022)
11. Fernández-Marmiesse Ana. NGS Technologies as a Turning Point in Rare Disease Research, Diagnosis and Treatment / Ana Fernández-Marmiesse [et al.]. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5815091/> (accessed: 12.10.2022)

Список литературы на английском языке / References in English

1. Evan M. Braunstein. [Obzor gemoglobinopatij] Review of Hemoglobinopathies] / Evan M. Braunstein // Spravochnik MSD, Medicinskij obzor [MSD Manual, Medical Review], June. — 2022. [in Russian]
2. Talassemiya [Thalassemia]. — URL: <https://spizhenko.clinic/blog/talassemija> (accessed: 01/15/2023) [in Russian]
3. Koza Katarzyna. Hemoglobinopathies and Thalassemias – Genetic Basis and Molecular Diagnosis / Katarzyna Koza [et al.]. — URL: <https://publisherspanel.com/api/files/view/8711.pdf> (accessed: 01/05/2023)
4. Cornelis L. Harteveld. The Hemoglobinopathies, Molecular Disease Mechanisms and Diagnostics / Cornelis L. Harteveld [et al.]. — URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijlh.13885> (accessed: 01/15/2023)
5. Babaev M.Sh. Geneticheskij skrining novorozhdennyh g. Baku na nasledstvennye gemoglobinopatii [Genetic Screening of Newborns in Baku for Hereditary Hemoglobinopathies] / M.Sh. Babaev, K.A. Lalieva, R.F. Mamedova // ZHurnal «Medicinskaya genetika» [Journal “Medical Genetics”]. — volume 19. — no. 12. — Moscow, 2020 [in Russian]
6. HandWiki encyclopedia Medicine: Hemoglobinopathy. — URL: <https://handwiki.org/wiki/Medicine:Hemoglobinopathy> (accessed: 11.02.2023)
7. Jaing T.H. Molecular Genetics of β -thalassemia: A narrative review / T.H. Jaing. — URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34766559/> (accessed: 19.11.2022)
8. Stuppia Liborio. Use of the MLPA Assay in the Molecular Diagnosis of Gene Copy Number Alterations in Human Genetic Diseases / Liborio Stuppia [et al.]. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3317712/> (accessed: 15.02.2021)
9. Koutsi Aikaterini. Diagnostic Molecular Techniques in Haematology: recent advances / Aikaterini Koutsi, Elisavet Christine Vervesou. — URL: <https://www.researchgate.net/> (accessed: 15.02.2021)
10. Tamary Hannah. Alpha-Thalassemia October 1, 2020 / Hannah Tamary. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1435/> (accessed: 10.12.2022)
11. Fernández-Marmiesse Ana. NGS Technologies as a Turning Point in Rare Disease Research, Diagnosis and Treatment / Ana Fernández-Marmiesse [et al.] — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5815091/> (accessed: 12.10.2022)