

© 2021 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 05.06.2020
Принята к печати 05.07.2021

Контактная информация:

Красильникова Марина Владимировна,
врач-педиатр приемного отделения ФГБУ
«НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: marina.krasilnikova@fccho-moscow.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-3-102-107

Первые случаи Hb Lepore в России

M.V. Красильникова, Н.А. Карамян, Е.А. Литвин, С.Г. Манн

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Hb Lepore как результат слияния фрагментов β - и δ -глобиновых генов приводит к снижению продукции не- α -глобиновых цепей, участвующих в образовании гемоглобина. До настоящего времени случаев Hb Lepore в России описано не было. Мы приводим описание двух случаев, один из них семейный, Hb Lepore Boston–Washington. Незначительное количество аномального гемоглобина обнаружено при капиллярном электрофорезе, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии цепей гемоглобина показано наличие аномальной глобиновой цепи, окончательный диагноз: Hb Lepore Boston–Washington был установлен после молекулярно-биологического анализа глобиновых генов. У всех носителей выявлены аномалии в периферической крови. Родители пациентов дали согласие на использование информации, в том числе фотографий детей, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: гипохромия микроцитоз эритроцитов, гемоглобинопатия, Hb Lepore Boston–Washington

Красильникова М.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2021; 20 (3): 102–107. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-3-102-107

© 2021 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 05.06.2020
Accepted 05.07.2021

First cases of Hb Lepore in the Russian Federation

M.V. Krasilnikova, N.A. Karamyan, E.A. Litvin, S.G. Mann

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Hb Lepore, as the result of fusion of the β - and δ -globin genes, leads to decreased amount of non- α -globin chains availability for hemoglobin formation. Hb Lepore, up to now, was not identified among Russian patients. We provide clinical and laboratory information on Hb Lepore Boston–Washington in two cases, one of them familial. A small amount of abnormal Hb was detected by capillary electrophoresis, an abnormal globin chain was shown by HPLC, and the final diagnosis of Hb Lepore Boston–Washington was made by molecular biological analysis of globin genes. Peripheral blood for all affected people revealed RBC's hypochromia microcytosis and normal Hb concentration. The parents of the patients agreed to use the information, including photos of children, in scientific research and publications.

Key words: erythrocyte's hypochromia microcytosis, hemoglobinopathy, Hb Lepore Boston–Washington

Krasilnikova M.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2021; 20 (3): 102–107. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-3-102-107

Correspondence:
Marina V. Krasilnikova,
a Pediatrician at the Admissions
Department, Dmitry Rogachev National
Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology,
Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: marina.krasilnikova@fccho-moscow.ru

Последние десятилетия показали рост гемоглобинопатий в России, что традиционно связывается с миграционными процессами на постсоветском пространстве. В основном это касается β - и α -талассемий, серповидноклеточной болезни (гемоглобинопатии S, C, D) и гемоглобинопатии E, распространенных среди этнических групп, проживающих в южных регионах страны.

Hb Lepore – гибридный гемоглобин, содержащий измененные не- α -глобиновые цепи, представляющие собой результат неравного кроссинговера – аминокислотную последовательность, имеющую C-терминальный фрагмент β -глобина и N-терминальный фрагмент, идентичный δ -глобину [1]. В настоящее

время описано 5 вариантов Hb Lepore, отличающихся по месту разрыва при кроссинговере позиции не- α -глобиновой цепи: Hb Lepore Boston–Washington ($\delta 87/\beta 116$), Hb Lepore Baltimore ($\delta 50/\beta 86$), Hb Lepore Hollandia ($\delta 22/\beta 50$), Hb Lepore ARUP ($\delta 31/\beta 50$) и Hb Lepore–Leiden (complex rearrangement) [2–7]. Hb Lepore Boston–Washington является наиболее распространенным вариантом этого аномального гемоглобина [8]. Пациенты с Hb Lepore, как правило, имеют гипохромия, микроцитоз эритроцитов при не измененной концентрации гемоглобина в крови, что затрудняет диагностику данной формы количественной гемоглобинопатии [9]. При использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии

(ВЭЖХ) глобиновых цепей удается выявить около 10% гибридной $\delta\beta$ -глобиновой цепи [9].

Внедрение высокотехнологичной лабораторной диагностики (биохимический скрининг с помощью капиллярного электрофореза, разделение цепей глобина с помощью ВЭЖХ, молекулярно-генетические исследования) позволило выявить редкие формы гемоглобинопатий с неярко выраженной клинической картиной, ранее не описанные в России.

Приводим описание двух хорошо документированных наблюдений: семейного и спорадического случаев носительства аномального Hb Lepore, в России ранее не представленного. В первом случае носительство аномального Hb Lepore Boston–Washington было выявлено в семье, проживающей на востоке Западной Сибири, все члены семьи этнически русские. Во втором случае Hb Lepore Boston–Washington был выявлен у жительницы Москвы, молдаванки по национальности. Родители подписали информированное согласие на проведение молекулярно-генетического исследования и дали разрешение на использование персональных данных (своих и ребенка) в научных исследованиях и публикациях.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №1

Пациент ЛВВ, 32 года, летом 2018 г. проходил плановое медицинское обследование по месту работы. В общем анализе крови, выполненном на гематологическом автоматическом анализаторе, выявлены повышение числа эритроцитов (RBC) (до $5,61 \times 10^{12}/л$), гипохромия (среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) до 21,5 пг), микроцитоз (средний объем эритроцитов (MCV) до 59,5 фл) и пойкилоцитоз (ширина распределения эритроцитов по объему (RDW) до 19,3%) эритроцитов при нормальной средней концентрации гемоглобина в эритроците (MCHC) (309 г/л). Причем аналогичные изменения крови присутствовали в течение всей жизни пациента. Гемоглобин, со слов пациента, в течение всей жизни сохранялся в пределах нормы. Тщательно собранный анамнез при последнем диспансерном наблюдении показал необходимость обследования его сына (ЛГВ), так как в общем анализе крови ребенка отмечались аналогичные изменения.

Из анамнеза жизни мальчика известно, что в ранних исследованиях крови (до 4-летнего возраста) на фоне заболеваний отмечалось небольшое снижение гемоглобина (минимально 98 г/л), в здоровом состоянии его уровень сохранялся выше 100 г/л. В более старшем возрасте гемоглобин ребенка соответствовал возрастной норме. При этом в течение всей жизни мальчика в гемограммах отмечались повышенное количество эритроцитов,

гипохромия, микроцитоз и анизопойкилоцитоз эритроцитов.

По месту жительства было проведено обследование ребенка и его родителей. В гемограмме мальчика от августа 2018 г. (возраст 6 лет): число лейкоцитов (WBC) $7,2 \times 10^9/л$, гемоглобин 121 г/л, RBC $6,12 \times 10^{12}/л$, число тромбоцитов (PLT) $234 \times 10^9/л$, MCV 61 фл, MCH 19,7 пг, MCHC 300 г/л, RDW 18,8%, нейтрофилы палочкоядерные 6%, нейтрофилы сегментоядерные 54%, эозинофилы 1%, моноциты 13%, лимфоциты 26%, скорость оседания эритроцитов 5 мм/ч. По данным исследования обмена железа: сывороточное железо 19 мкмоль/л, ферритин сыворотки 28,6 нг/мл. При исследовании фракций гемоглобина от 11.07.2018 обнаружена аномальная фракция HbX 10,3% (HbA 84,2%, HbF 2,8%, HbA2 2,7%). По результатам обследования отца в биохимическом анализе крови от 11.07.2018: сывороточное железо 27,5 мкмоль/л, латентная железосвязывающая способность 21 мкмоль/л, общая железосвязывающая способность 48,5%, ферритин сыворотки 174 нг/мл. При исследовании гемоглобина отца (29.11.2018) также выявлена аномальная фракция HbX 11,2% (HbA 86,2%, HbA2 2,6%). Обследование матери ребенка патологии не выявило.

В целях уточнения диагноза ребенок и его семья были направлены на обследование в консультативное отделение ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Результаты проведенного обследования представлены в *таблице*.

Таблица

Основные показатели крови общего анализа крови пациентов с Hb Lepore

Table

Key complete blood count parameters in the patients with Hb Lepore

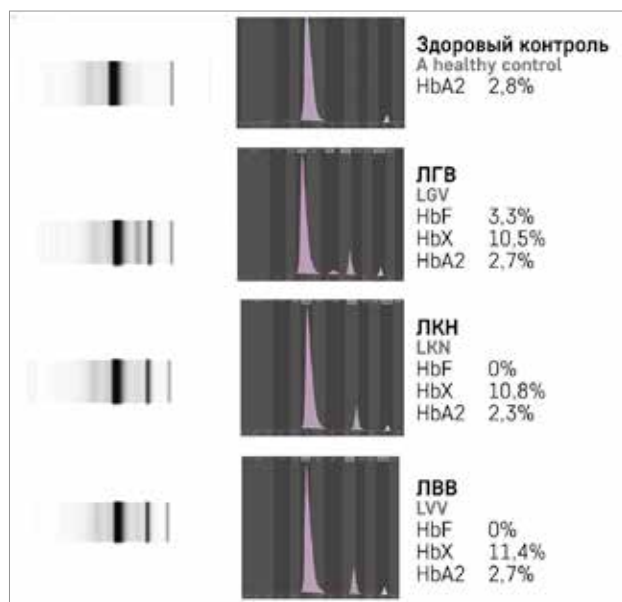
Показатель Parameter	Пациенты Patients		
	ЛВВ LVV	ЛГВ LGV	НЯП NYaP
WBC, $\times 10^9/л$ WBC, $\times 10^9/l$	6,5	4,36	13,31
PLT, $\times 10^9/л$ PLT, $\times 10^9/l$	247	269	174
RBC, $\times 10^{12}/л$ RBC, $\times 10^{12}/l$	5,61	5,64	5,65
Hb, г/л Hb, g/l	142	122	111
HCT, %	46	39,7	34,3
MCV, фл MCV, fL	59,5	63,5	60,7
MCH, пг MCH, pg	21,5	21,6	19,6
MCHC, г/л MCHC, g/l	309	341	324
RDW, %	19,3	15,9	17
Retic, %	Нет данных No data available	0,46	1,18
HbX, %	11,4	10,5	10,4
HbA2, %	2,7	2,7	2,3
HbF, %	0	3,3	0
Аномальная цепь, % Abnormal chain, %	5,90	4,68	4,72

Рисунок 1

Результаты капиллярного электрофореза гемоглобина семьи Л.

Figure 1

The results of capillary electrophoresis of hemoglobin in the L. family members



Присутствие структурно-аномального гемоглобина у ребенка (HbX 10,5%), его отца (HbX 11,4%) и бабушки по линии отца (HbX 11,8%) было выявлено с помощью современной техники капиллярного электрофореза на полностью автоматизированной системе нового поколения Capillarys Neonat Fast (Sebia S.A., Франция) с использованием набора реагентов Sebia Capillarys Hemoglobin (рисунки 1).

Для дальнейшей идентификации аномального гемоглобина пациенту и всем членам его семьи проведено исследование глобиновых цепей методом ВЭЖХ (УФ-хроматограф Waters ACQUITY UPLC H-Class system, США) и молекулярно-генетическое исследование глобиновых генов. Исследование глобиновых цепей показало наличие аномальной глобиновой цепи у пациента, его отца и бабушки (рисунки 2).

Всем членам семьи проведено молекулярно-генетическое исследование методом мультиплексной амплификации лигазно-связанных проб (MLPA), разработанным голландской компанией MRC Holland, с помощью набора Product Description SALSA® MLPA® Probemix P102-D1 HbV. У ребенка (ЛГВ), его отца (ЛВВ) и бабушки по линии отца (ЛКН) обнаружен Hb Lepore Boston–Washington в гетерозиготном состоянии (рисунки 3). Молекулярно-генетическое исследование, проведенное матери мальчика и его бабушке по линии отца, изменений не выявили.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ №2

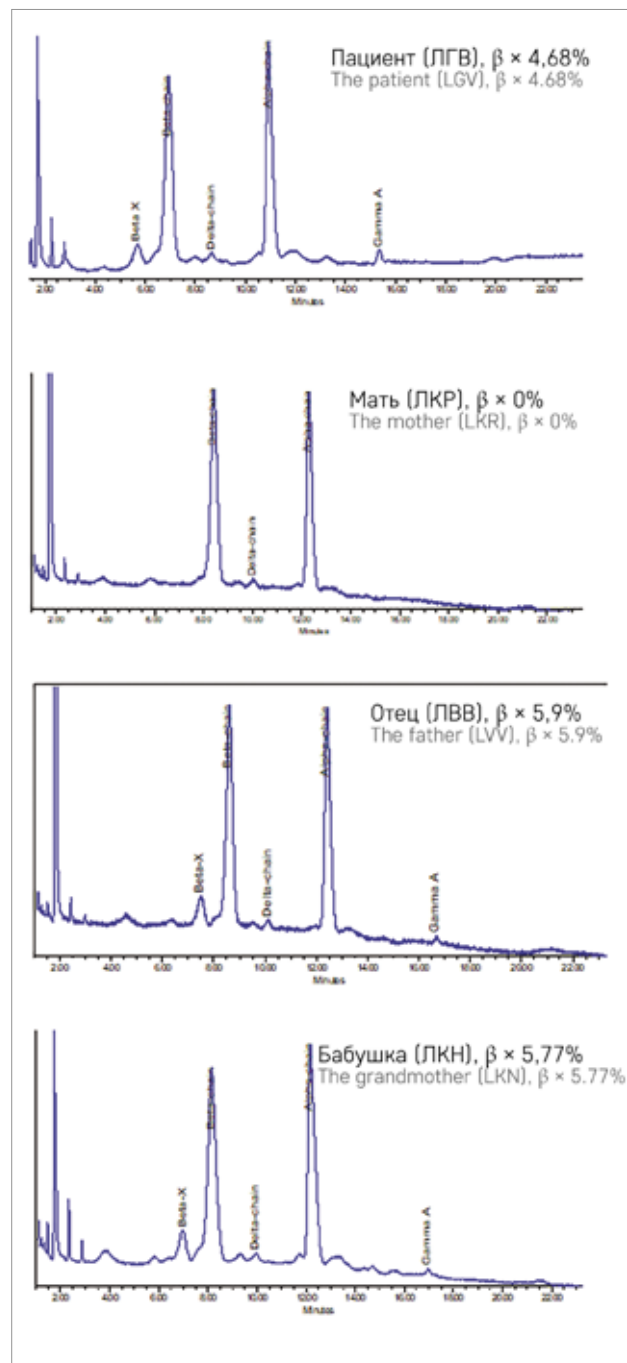
Пациентка НЯП, 32 года, впервые обратилась в Центр им. Дмитрия Рогачева в декабре 2019 г.

Рисунок 2

ВЭЖХ глобиновых цепей семьи Л.

Figure 2

High-performance liquid chromatography (HPLC) of globin chains in the L. family members



Из анамнеза известно, что до этого у нее была диагностирована железодефицитная анемия и проведен курс ферротерапии, дефицит железа купирован. Однако лечащий врач пациентки обратил внимание на сохраняющийся эритроцитоз, гипохромия и микроцитоз эритроцитов в общем анализе крови после нормализации параметров обмена железа и содержания гемоглобина. Пациентка была направлена на консультацию к гематологу. Результаты обследования представлены в таблице.

Результаты капиллярного электрофореза и ВЭЖХ цепей глобина показали наличие аномального гемоглобина (рисунк 4), а проведенное молекулярно-генетическое исследование подтвердило наличие у пациентки Hb Lepore Boston–Washington (рисунк 5).

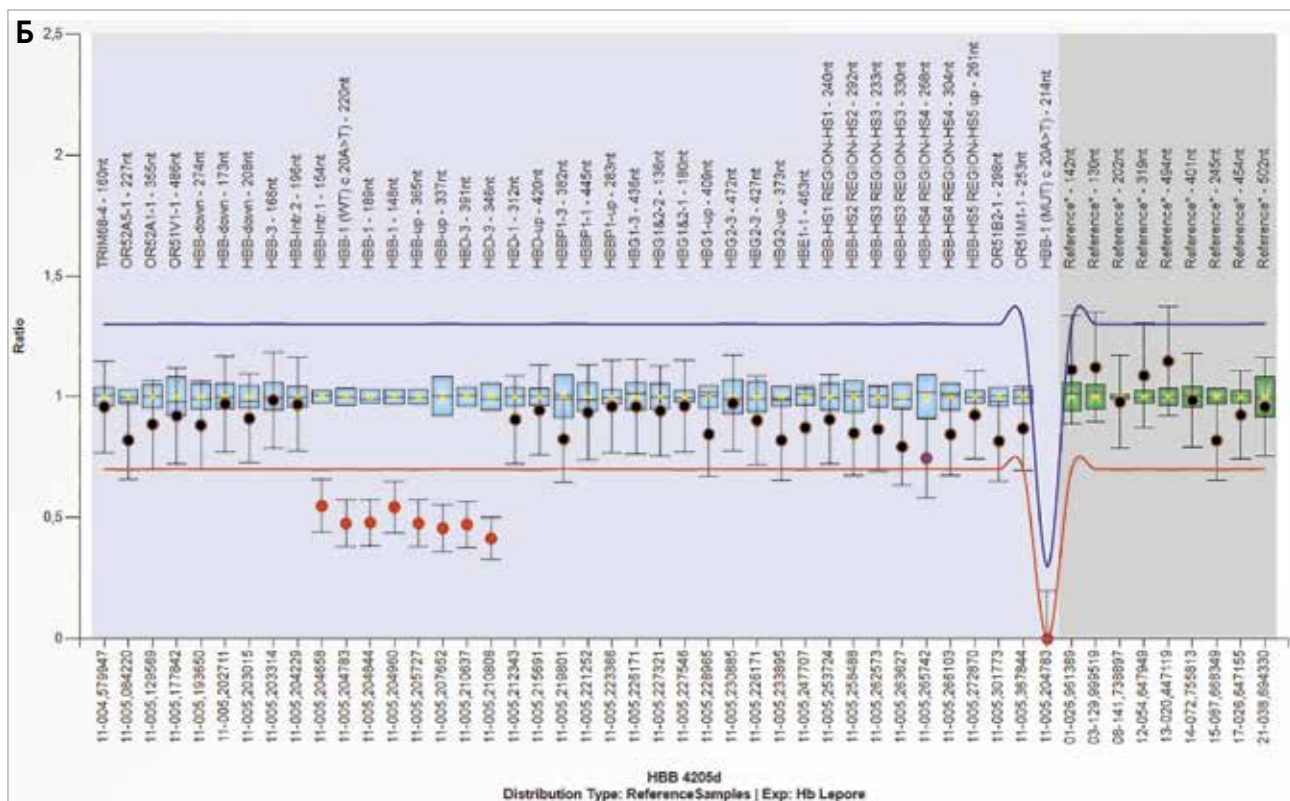
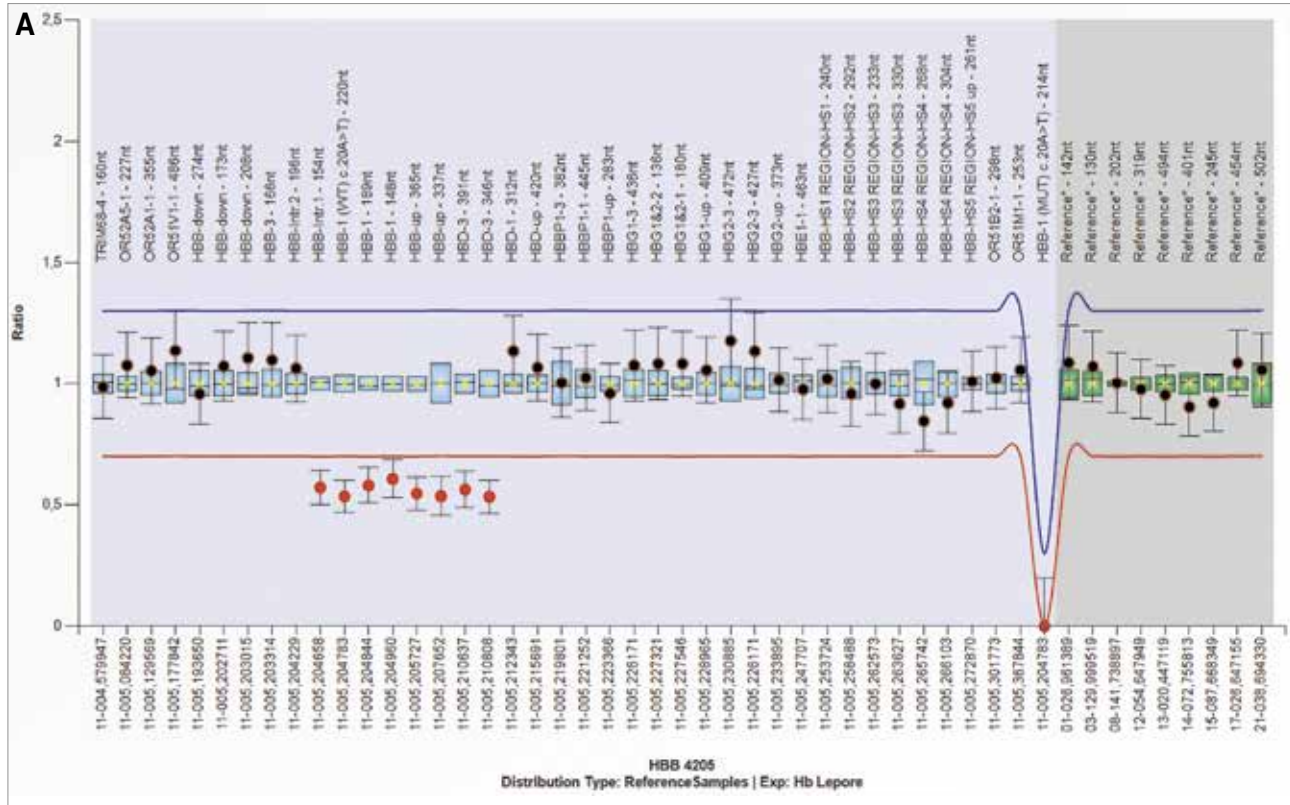
кулярно-генетическое исследование подтвердило наличие у пациентки Hb Lepore Boston–Washington (рисунк 5).

Рисунок 3

Результаты молекулярно-генетического исследования семьи Л.: А – пациент (ЛГВ); Б – отец пациента (ЛВВ); В – бабушка пациента (ЛКН); Г – мать пациента (ЛКР)

Figure 3

The results of molecular genetic testing in the L. family members: А – the patient (LGV); Б – the patient's father (LVV); В – the patient's grandmother (LKN); Г – the patient's mother (LKR)



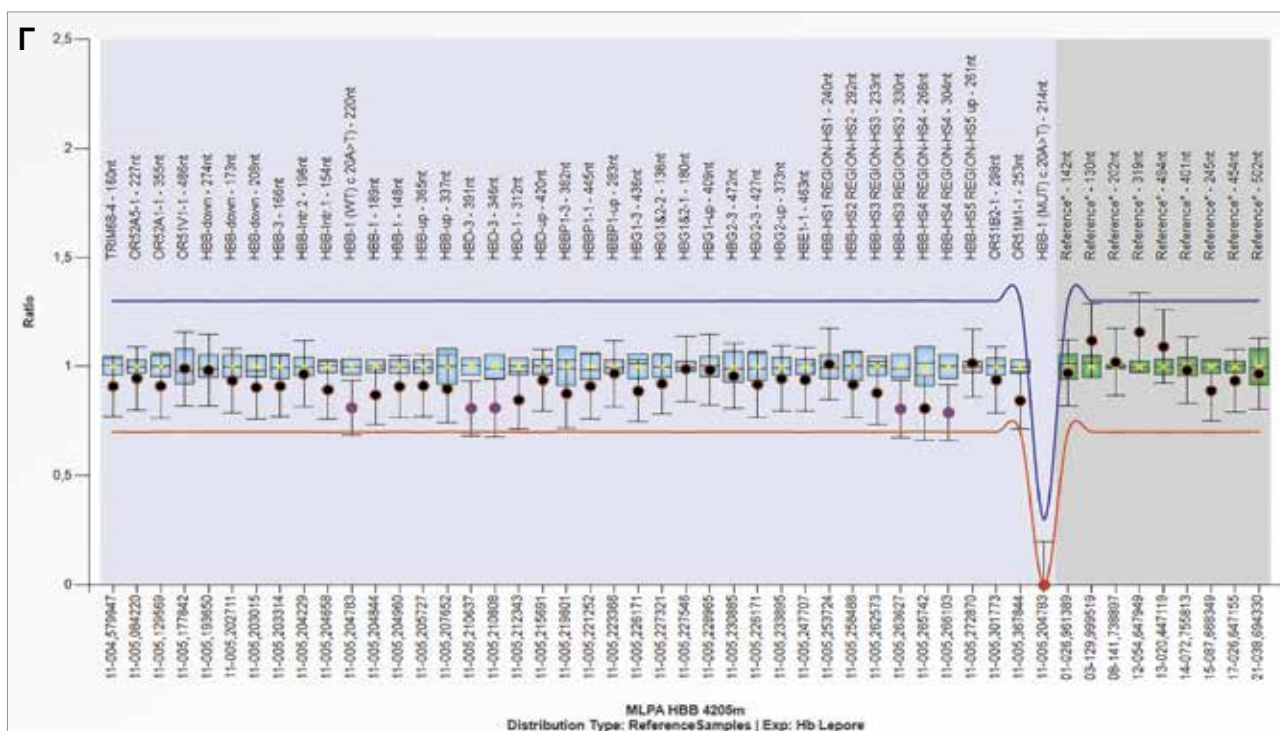
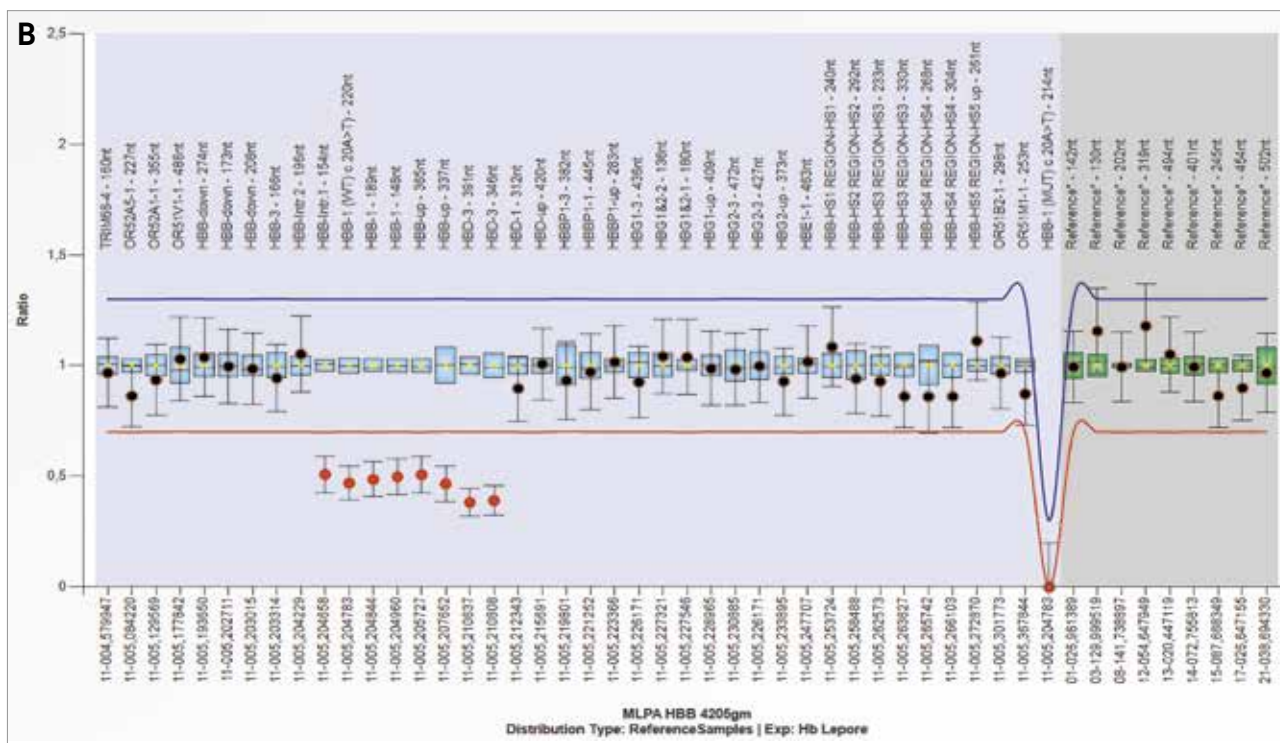


Рисунок 4
 Результаты исследования гемоглобина пациентки НЯП: А – капиллярный электрофорез; Б – ВЭЖХ цепей глобина

Figure 4
 The results of hemoglobin testing in the patient NYaP: A – capillary electrophoresis; Б – HPLC of globin chains

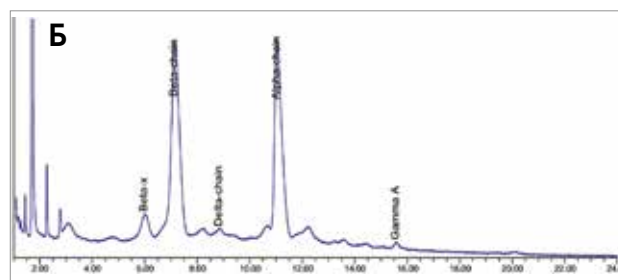
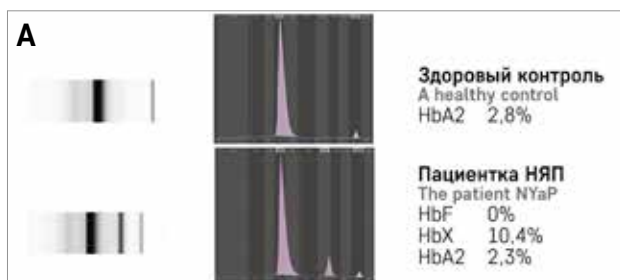
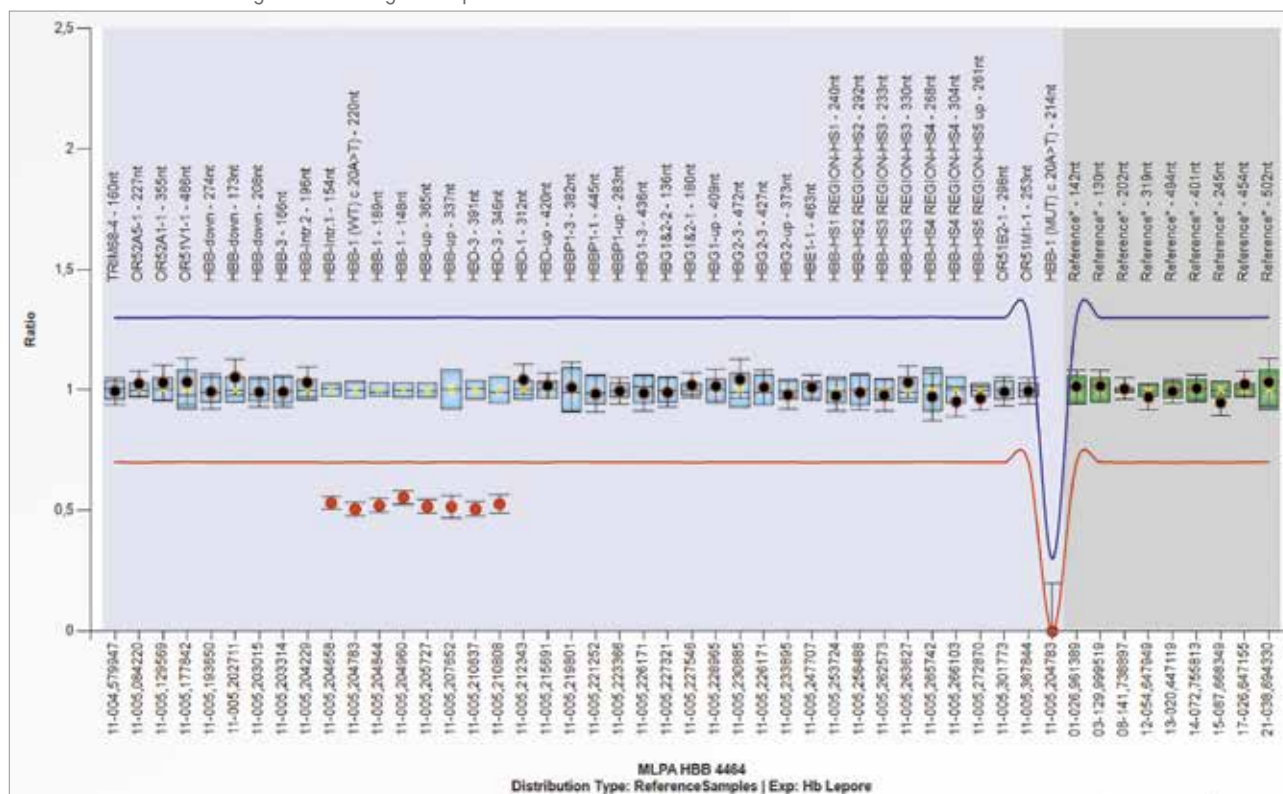


Рисунок 5

Результаты молекулярно-генетического исследования пациентки НЯП

Figure 5

The results of molecular genetic testing in the patient NYaP



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате последовательного применения современных методов диагностики нами впервые выявлено носительство аномального Hb Lepore у пациентов, проживающих на территории России. Во всех описанных случаях Hb Lepore был представлен типом Boston–Washington.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Krasilnikova M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0929-4792>

Karamjan N.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9865-527X>

Litvin E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-5339>

Mann S.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1014-5196>

Литература

1. Baglioni C. The fusion of two peptide chains in hemoglobin Lepore and its interpretation as a genetic deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1962; 48: 1880–6.
2. Ostertag W., Smith E.W. Hemoglobin Lepore Baltimore, a third type of a crossover ($\delta 850/\beta 86$). *Eur J Biochem* 1969; 10: 371–6.
3. Baird M., Schreiner H., Driscoll C., Bank A. Localization of the site of recombination in formation of the Lepore Boston globin gene. *J Clin Invest* 1981; 68: 560–4.
4. Barnabas J., Muller C.J. Hemoglobin Lepore Hollandia. *Nature* 1962; 194: 931–2.
5. Weatherall D., Higgs D.R. The haemoglobinopathies. Bailliere's Clinical Haematology, VI. London: Saunders; 1993.
6. Harteveld C.L., Wijermans P.W., Arksteijn S.G.J., Van Delft P., Kerkhoffs J.-L., Giordano P.C. Hb Lepore-Leiden: a new δ/β rearrangement associated with a β -thalassemia minor phenotype. *Hemoglobin* 2008; 32 (5): 446–53.
7. Nussenzveig R.H., Vanhille D.L., Hussey D., Agarwal A.M. Development of a rapid multiplex PCR assay for identification of the three common hemoglobin Lepore variants (Boston–Washington, Baltimore, and Hollandia) and identification of a new Lepore variant. *Am J Hematology* 2012; 87 (10): E74–5.
8. Pirastru M., Manca L., Trova S., Mereu P. Biochemical and Molecular Analysis of the Hb Lepore–Boston–Washington in a Syrian Homozygous Child. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 1261972.
9. Ribeiro M.L., Cunha E., Goncalves P., Martin Nuiiez G., Fernandez Galan M.A., Tamagnini G.P., Smetanina N.S., Gu L.-H., Huisman T.H.J. Hb Lepore–Baltimore ($\delta^{68Leu}-\beta^{84Thr}$) and Hb Lepore–Washington–Boston ($\delta^{87Gln}-\beta^{IVS-II-8}$) in Central Portugal and Spanish Alta Extremadura. *Hum Genet* 1997; 99: 669–73.