



UniversitätsKlinikum Heidelberg



Genetik der Hämoglobinopathien

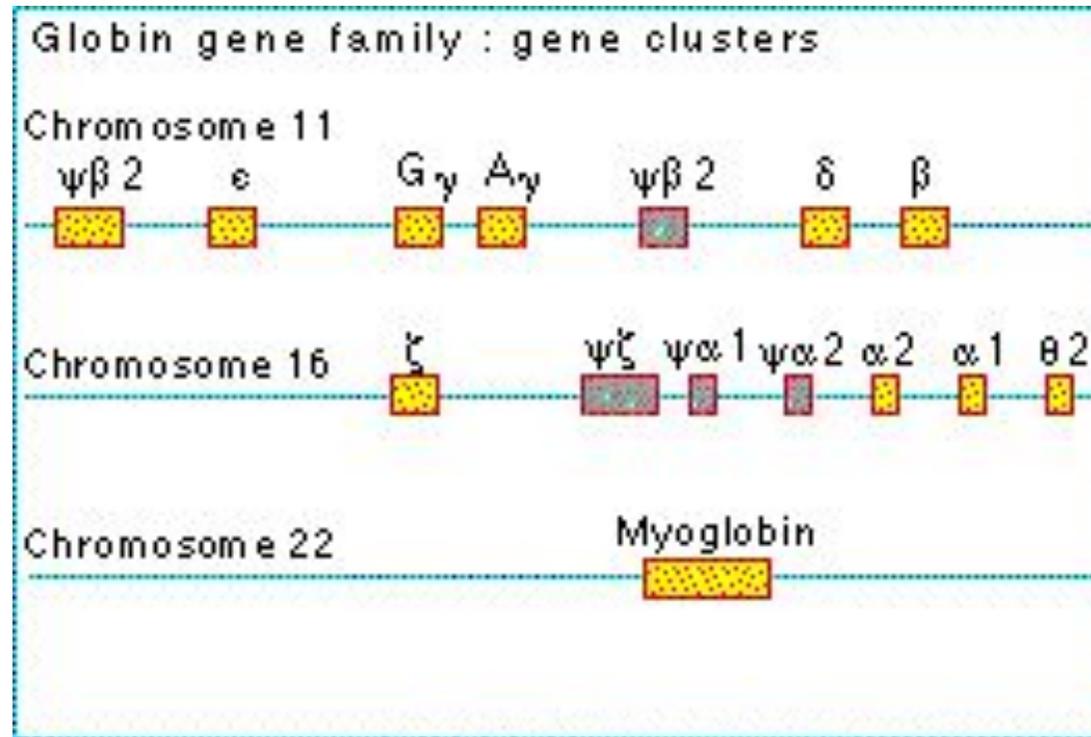
Joachim Kunz

Joachim.Kunz@med.uni-heidelberg.de

www.kinderonkologie.uni-hd.de

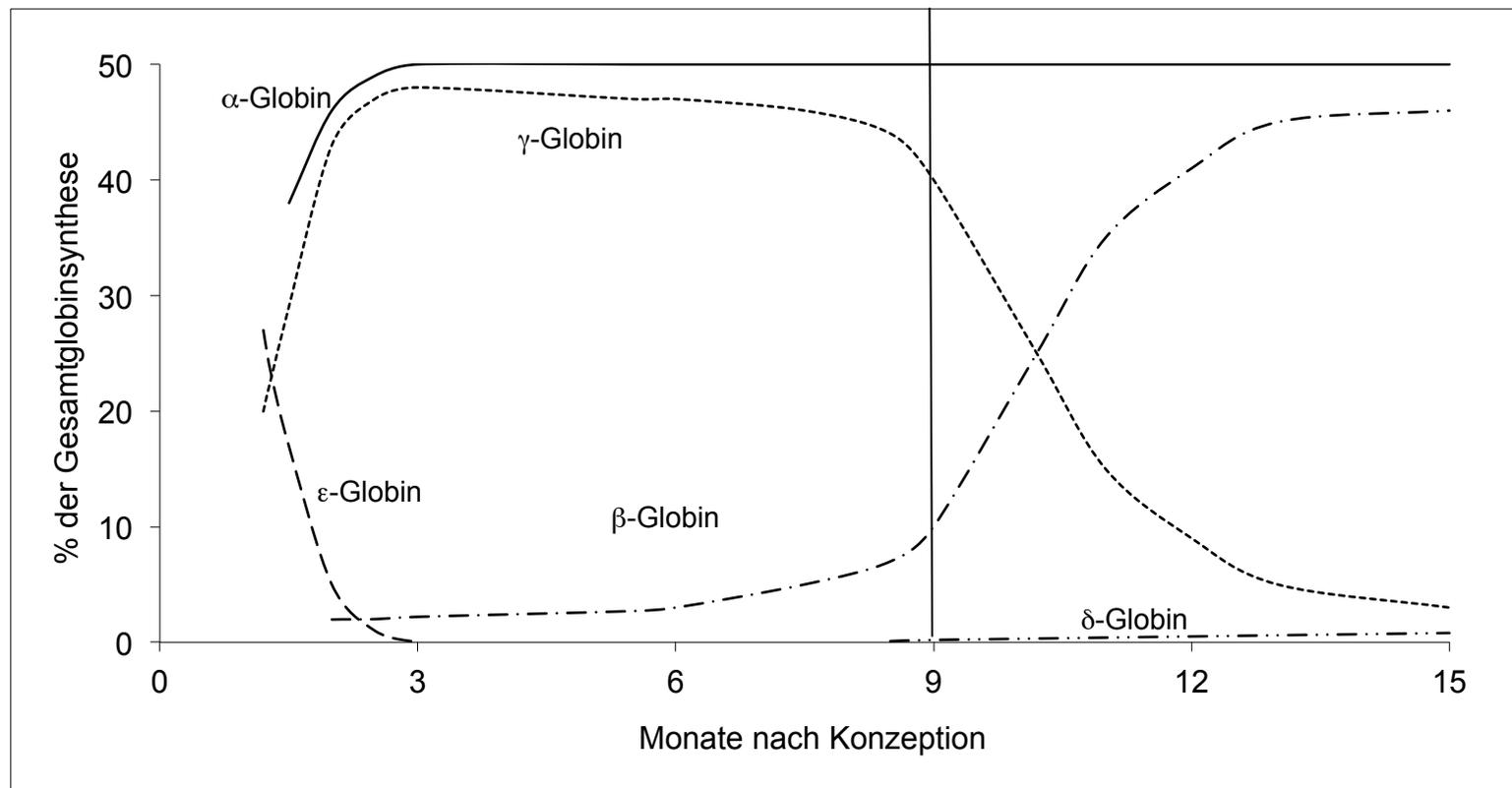


Globin-Gencluster



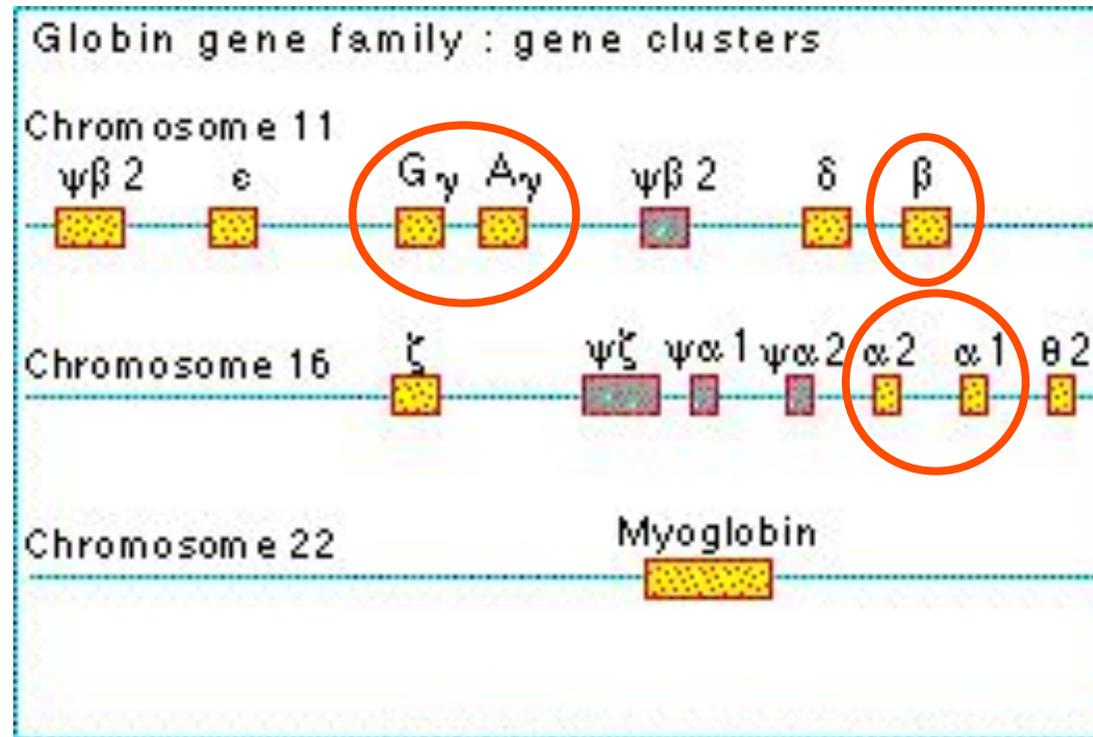


Ontogenese der Hämoglobinsynthese





Globin-Gencluster





Datenbank für Hämoglobinvarianten

<http://globin.cse.psu.edu>

β -Globingen: 807 Mutationen,
davon 149 β^0 - und 59 β^+ -
Thalassämiemutationen

$\alpha 1$ - und $\alpha 2$ -Globingen: 490 Mutationen,
davon 91 Thalassämiemutationen



Hämoglobinopathien

- **β -Thalassämien**
- **Sichelzellerkrankung**

- **α -Thalassämien**
- **andere Hämoglobinvarianten**

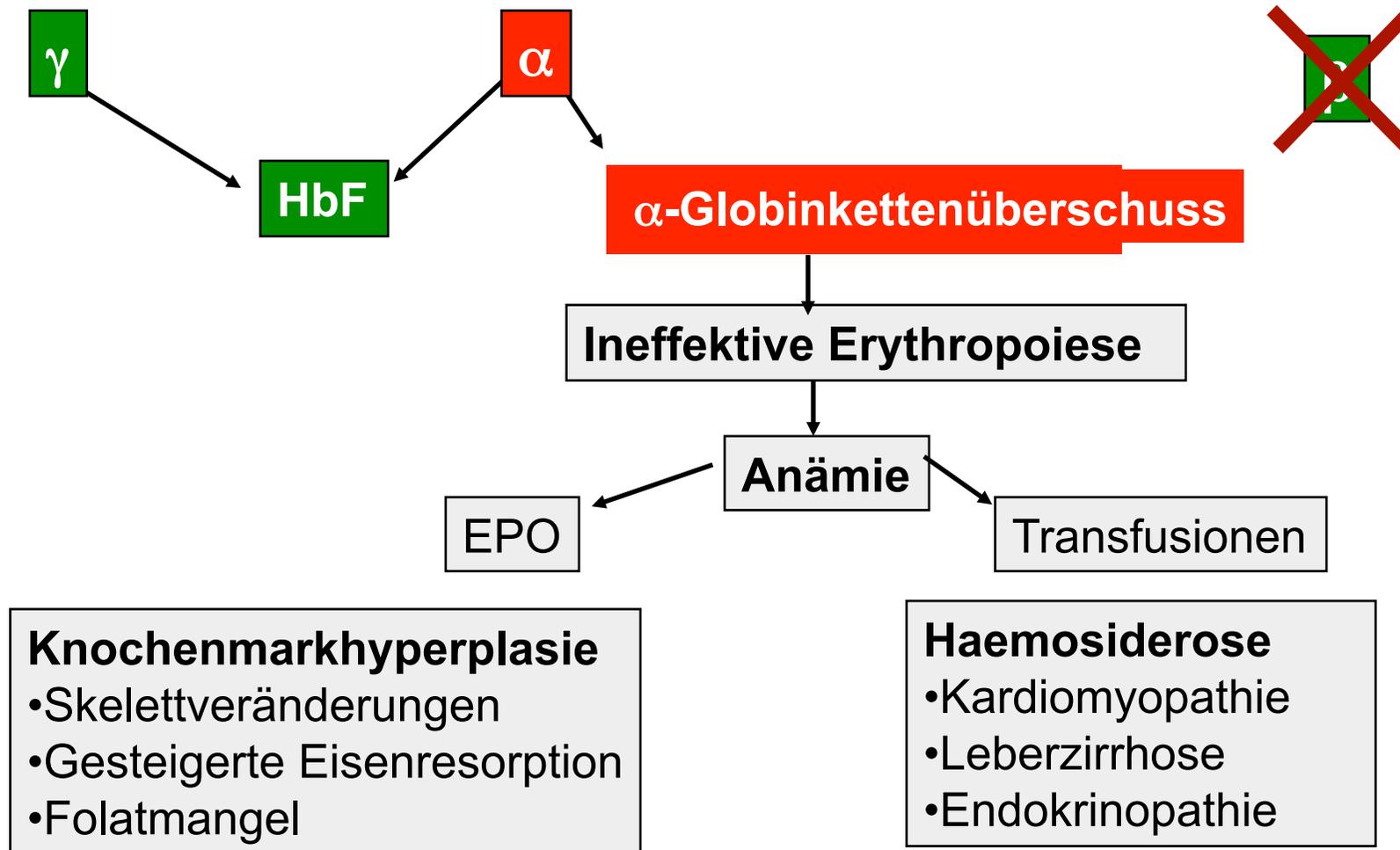


β -Thalassämie: Klinischer Phänotyp

- **Thalassaemia minor**
 - asymptomatisch; Hypochromie; Mikrozytose
- **Thalassaemia major**
 - regelmäßiger Transfusionsbedarf
- **Thalassaemia intermedia**
 - symptomatisch; kein (regelmäßiger) Transfusionsbedarf



Pathophysiologie der homozygoten β -Thalassämie





Thalassämie: Mutationsklassen

- Promotor
- Spleiß-Konsensusstellen
- Alternative Spleiß-Stellen
- Polyadenylierung
- Translationsinitiation
- Nonsensemutationen
- Thalassämische Hämoglobinvarianten



β -Thalassämie in Deutschland

**Einwanderer aus
Endemiegebieten**

**221 Homozygote Patienten
rekrutiert durch das
multizentrische
Thalassämierregister**



Herkunft homozygoter Patienten

	n	%
Italien	74	33
Türkei	59	27
Griechenland	30	13
Mittlerer Osten	25	12
Südost-Asien	7	3
Indien/Pakistan	4	2
andere (n=1)*	5	2
unbekannt	17	8
	221	100

* Andere: Ghana, Bulgarien, Brasilien, Deutschland,
Spanien



Phänotyp homozygoter Patienten

- 193/221 (87%) regelmäßig transfusionsbedürftige TM
- 29/221 (13%) nicht (regelmäßig) transfusionsbedürftige TI



Genotyp homozygoter Patienten

- **39 verschiedene Mutationen**
- **431/442 Punktmutationen (97,5%)**

IVS1-110 G-A	(β^+)	28%
NS 39	(β^0)	22%
IVS1-6 T-C	(β^+)	9%
IVS2-745 C-G	(β^+)	5%
- **11/442 Deletionen (2,5%)**



Thalassämia intermedia

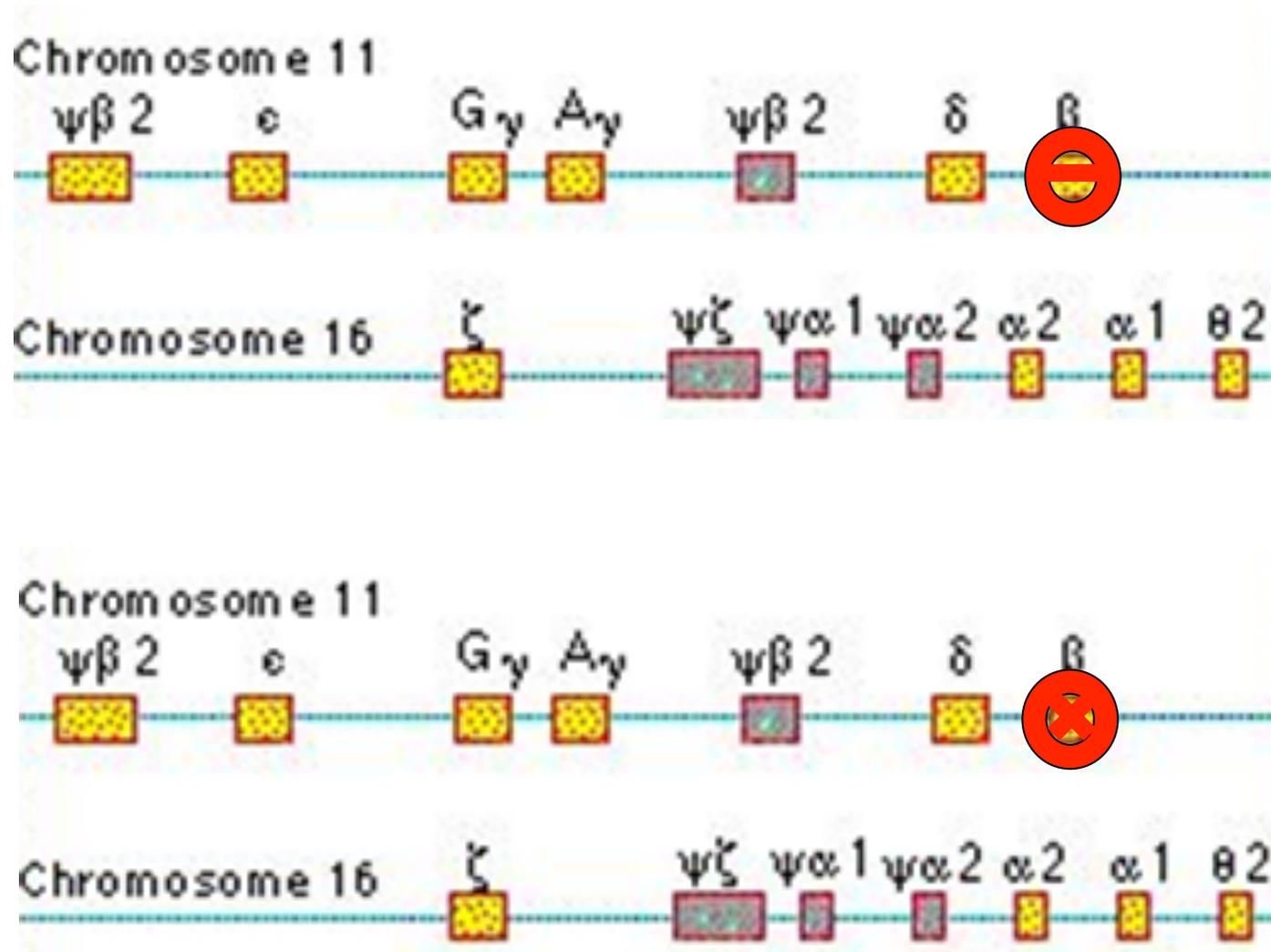
Symptomatisch, d.h. schwerwiegender als
Thalassämia minor

aber

kein (dauerhafter) Transfusionsbedarf, d.h.
weniger schwerwiegend als Thalassämia major



Thalassämia intermedia

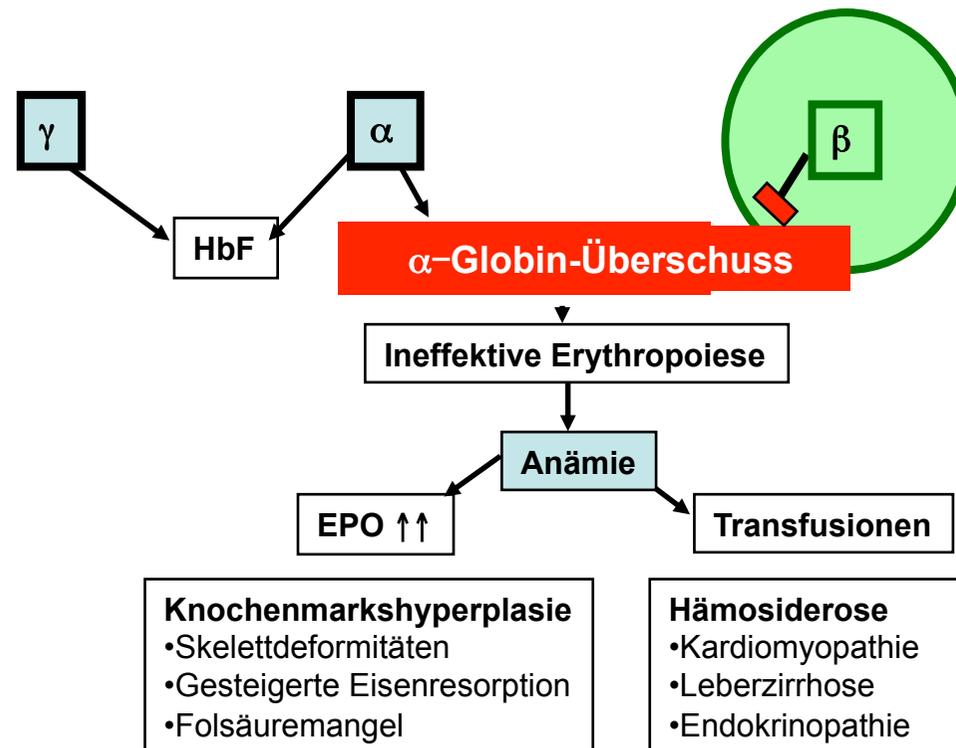




Thalassaemia intermedia

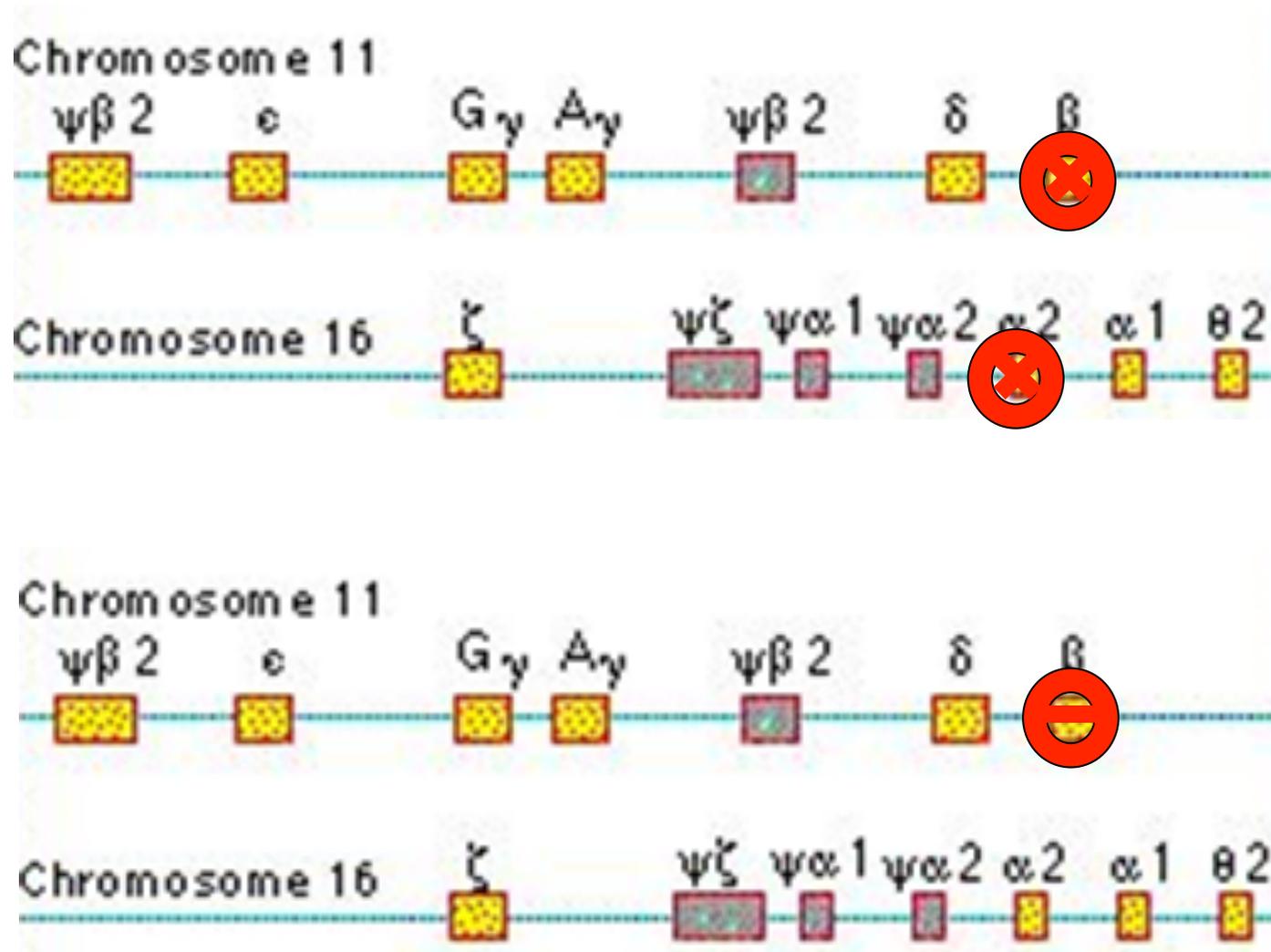


Compound β^0/β^+ Thalassemia



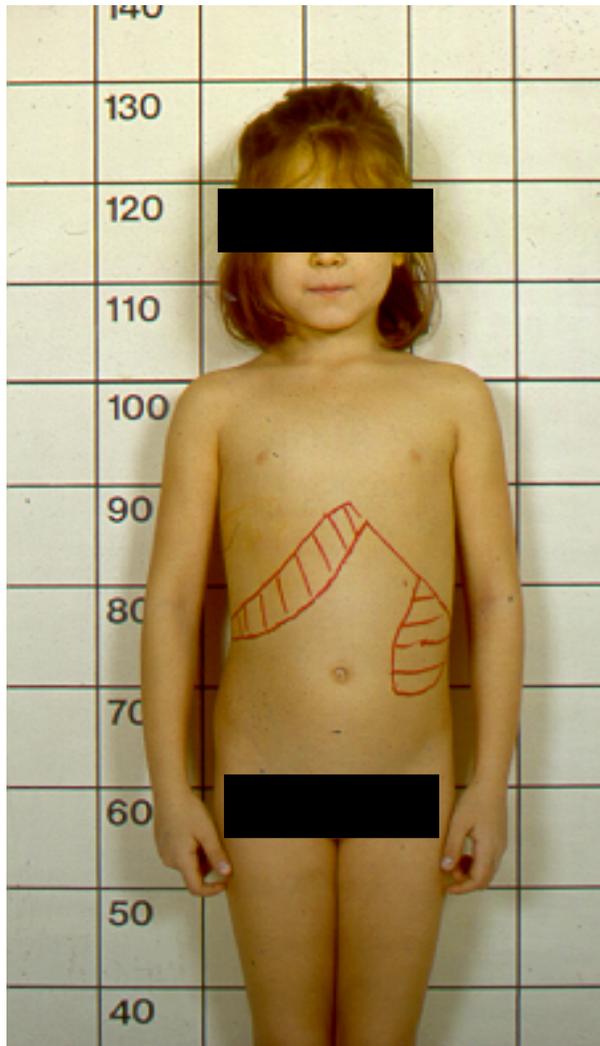


Thalassämia intermedia

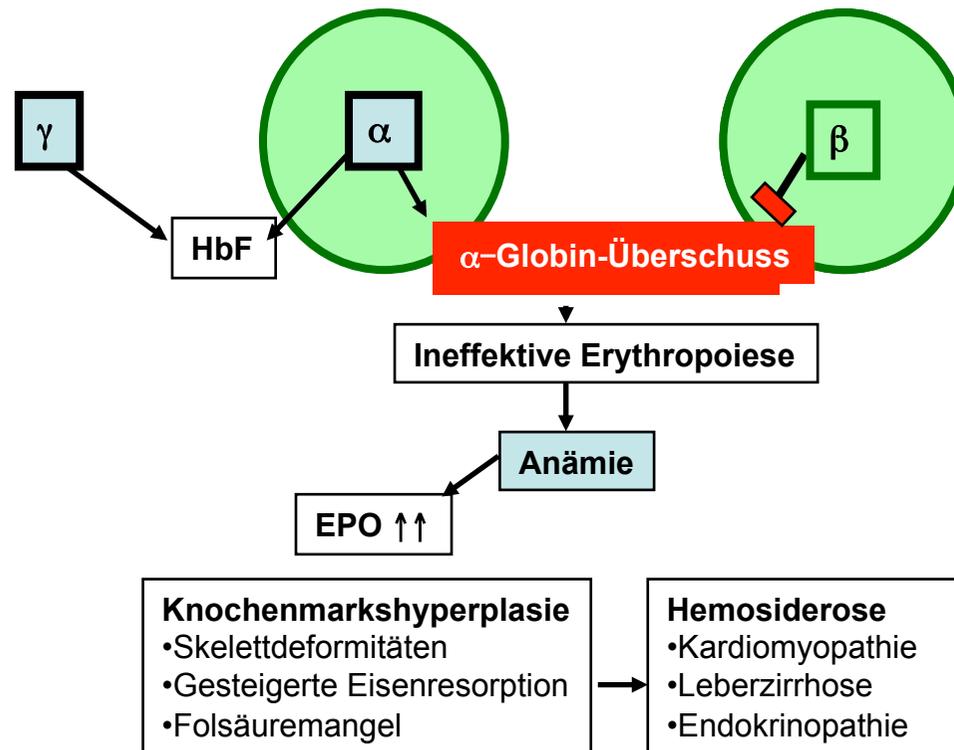




Thalassaemia intermedia

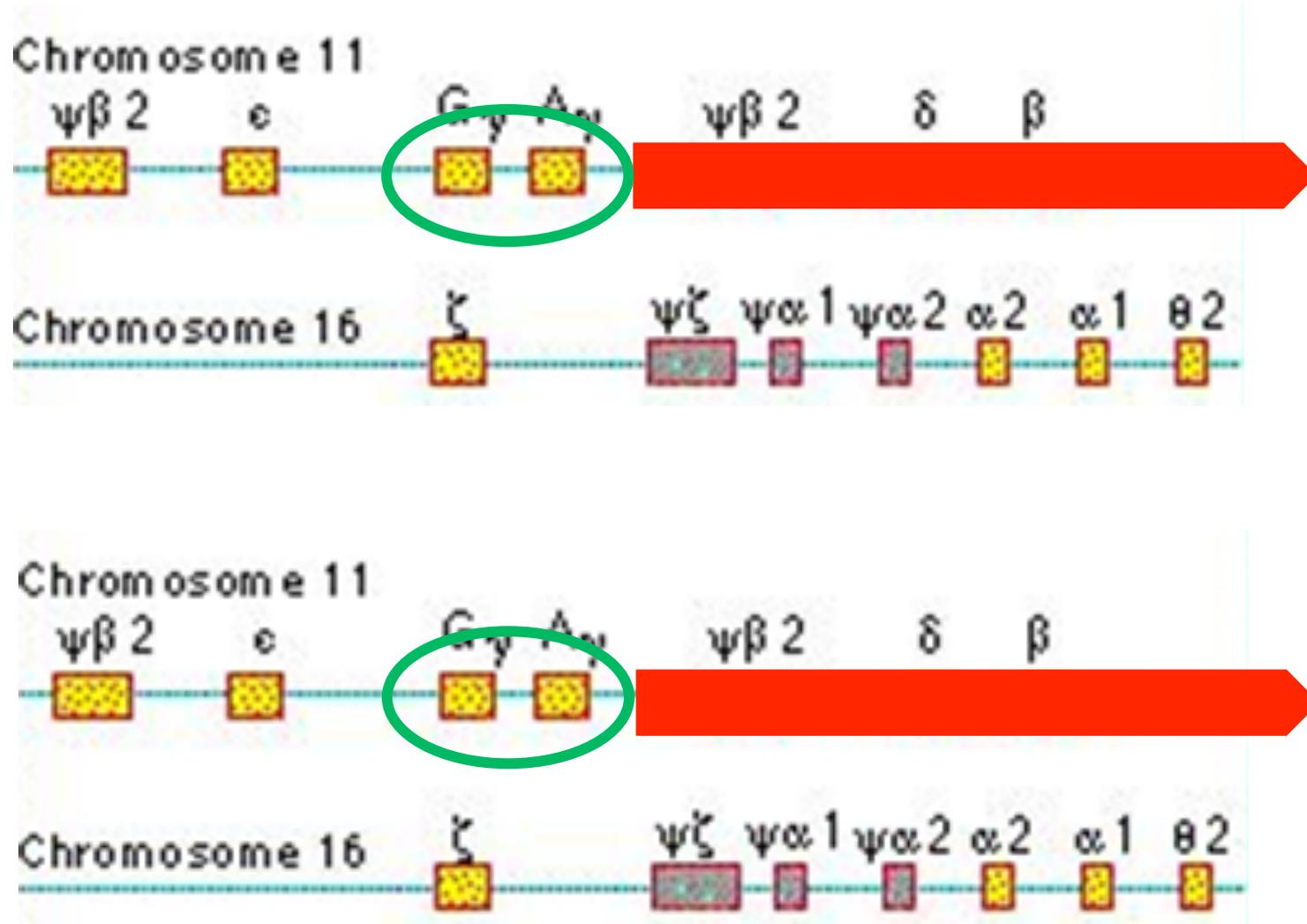


Compound β^0/β^+ Thalassemia
plus $-\alpha^{3.7}$ -thalassemia





Thalassämia intermedia ?

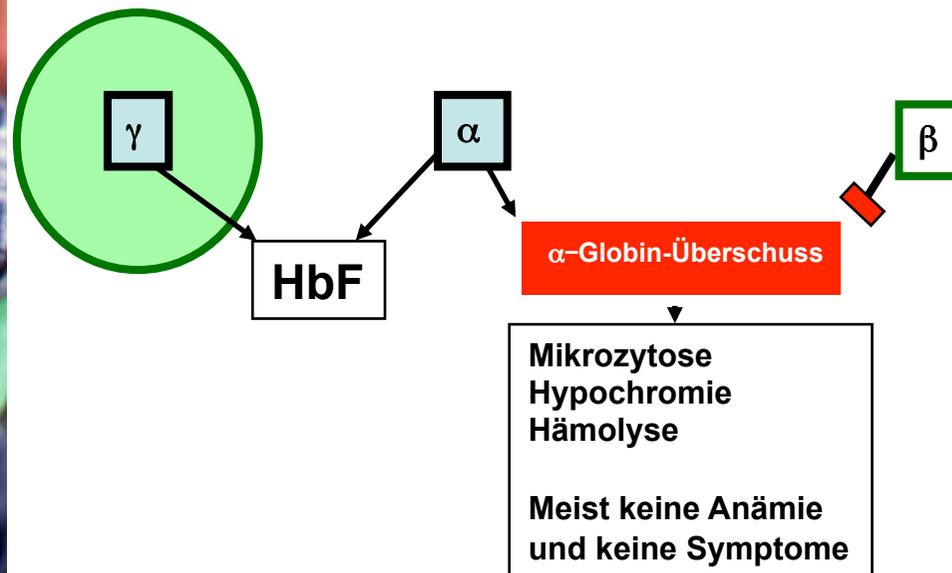




Thalassaemia intermedia ?



Homozygote Deletion Typ HPFH





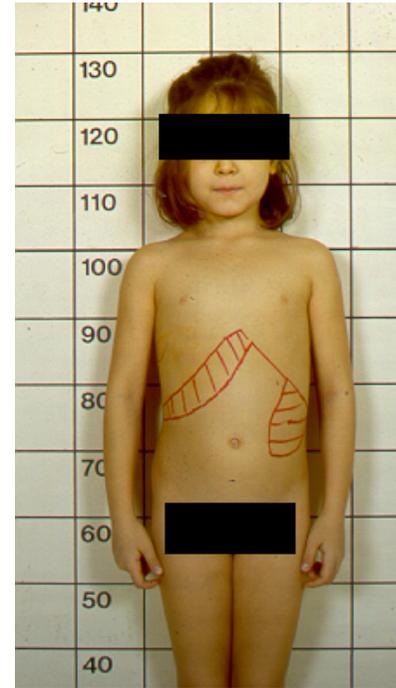
Thalassaemia major

Vollständige Inaktivierung der β -Globingene



Thalassaemia intermedia

Hohe Restaktivität eines β -Globingens



Thalassaemia intermedia

Restaktivität eines β -Globingens
 α -Thalassämie



Thalassaemia intermedia

Hereditäre Persistenz fetalen Hämoglobins (HPFH)



Genotyp von 29 TI Patienten

"milde" Mutationen (17/29)

	TI	TM
IVS1-6 T-C (+)	9/29	2/193
Promotormutationen	7/29	2/193
Polyadenylierung	1/29	0/193



Genotyp von 29 TI Patienten

Mutationen mit aktivierter Hb F Synthese (16/29)

	TI	TM
-158 G_{γ} -T/T	5/29	8/171*
-158 G_{γ} -T/C	6/29	17/171*
Deletionen	5/29	0/193

* $p < 0,003$

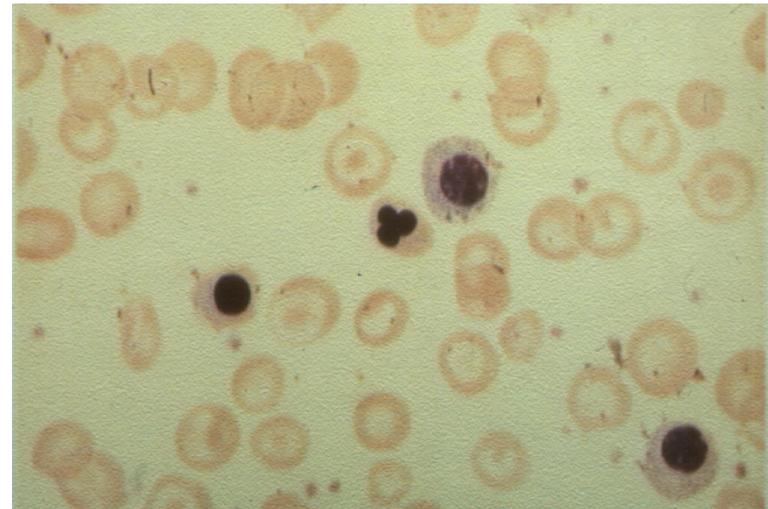


Dominante β -Thalassämie



4 Jahre altes Mädchen

- **asymptomatisch**
- **Hb 8 g/dl**
- **Splenomegalie**
- **Hb F 25%**



38 Jahre alte Mutter

- **Transfusionsbedarf seit dem 5.LJ bei Hb <7g/dl**
- **>300 Transfusionen**
- **Erfolglose Splenektomie mit 8 Jahren**
- **Tod im Herzversagen mit 44 Jahren**
- **Hb F 28%**



Warum wird die β -Thalassämie rezessiv vererbt?



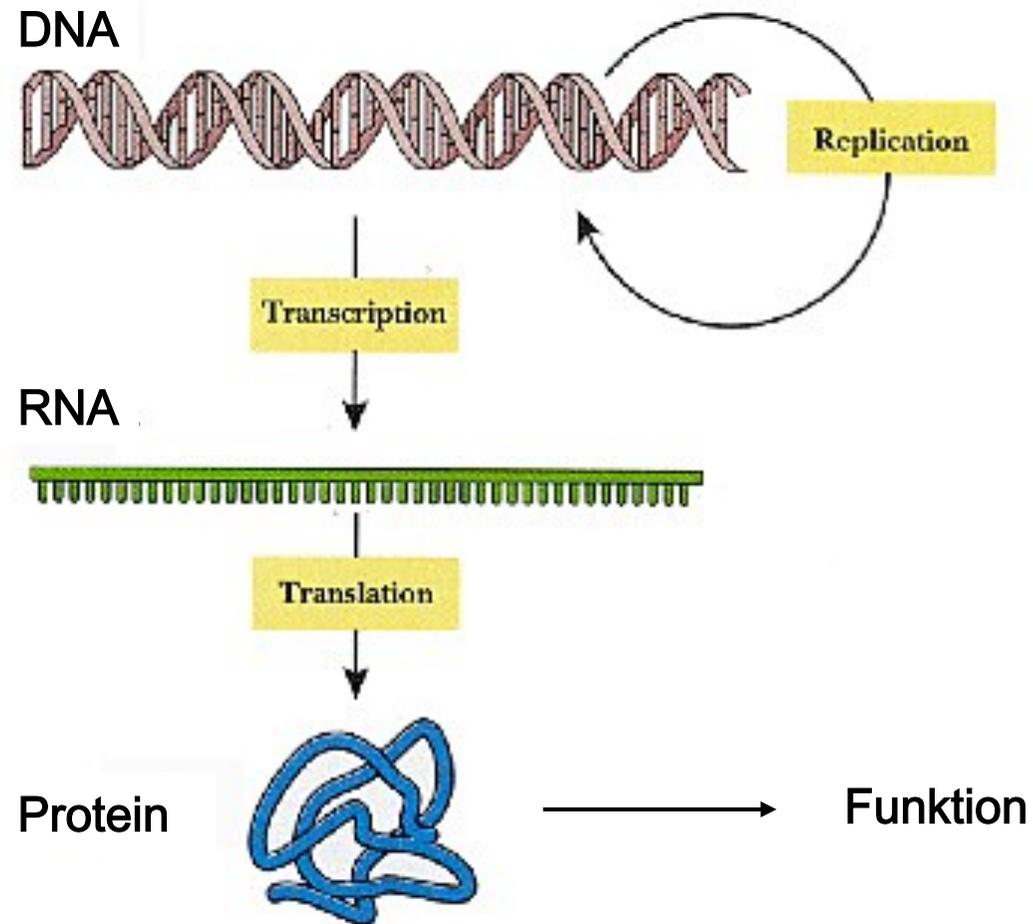
Mutationsanalyse

Polarität von Stoppmutationen



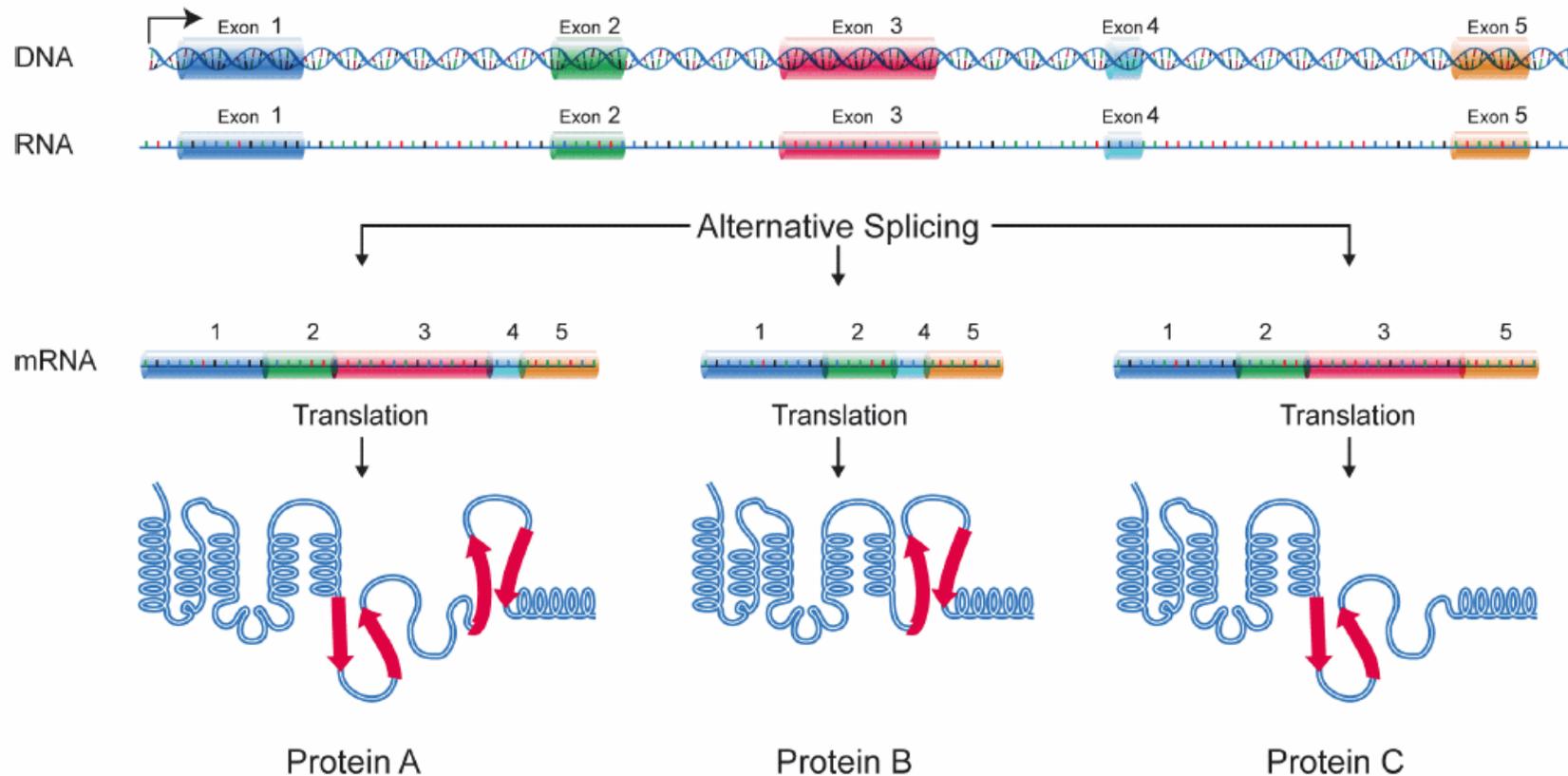
- Thalassaemia minor
- rezessiv vererbt
- häufig

- Thalassaemia intermedia
- dominant vererbt
- selten



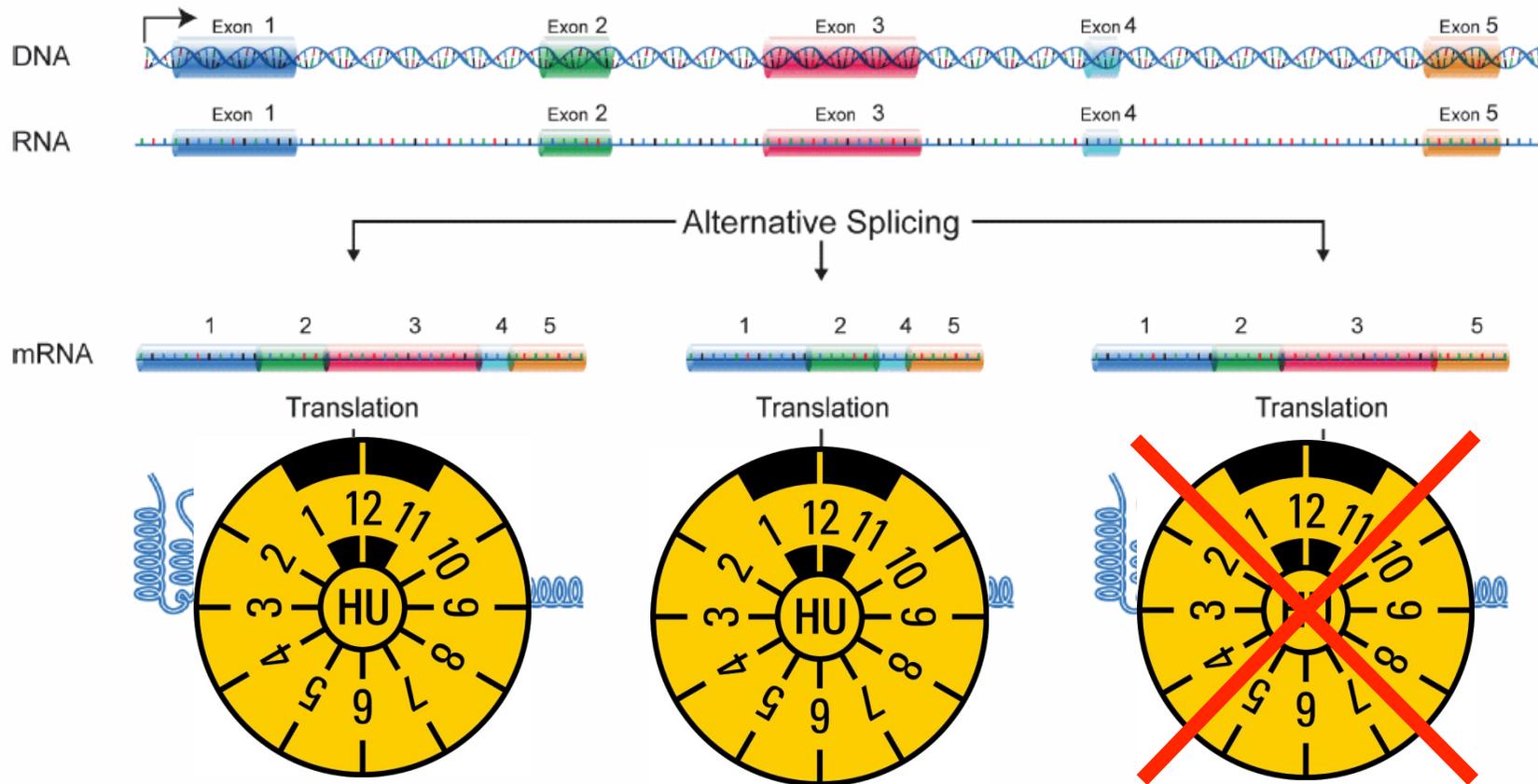


RNA Prozessierung trägt wesentlich zur genetischen Komplexität bei





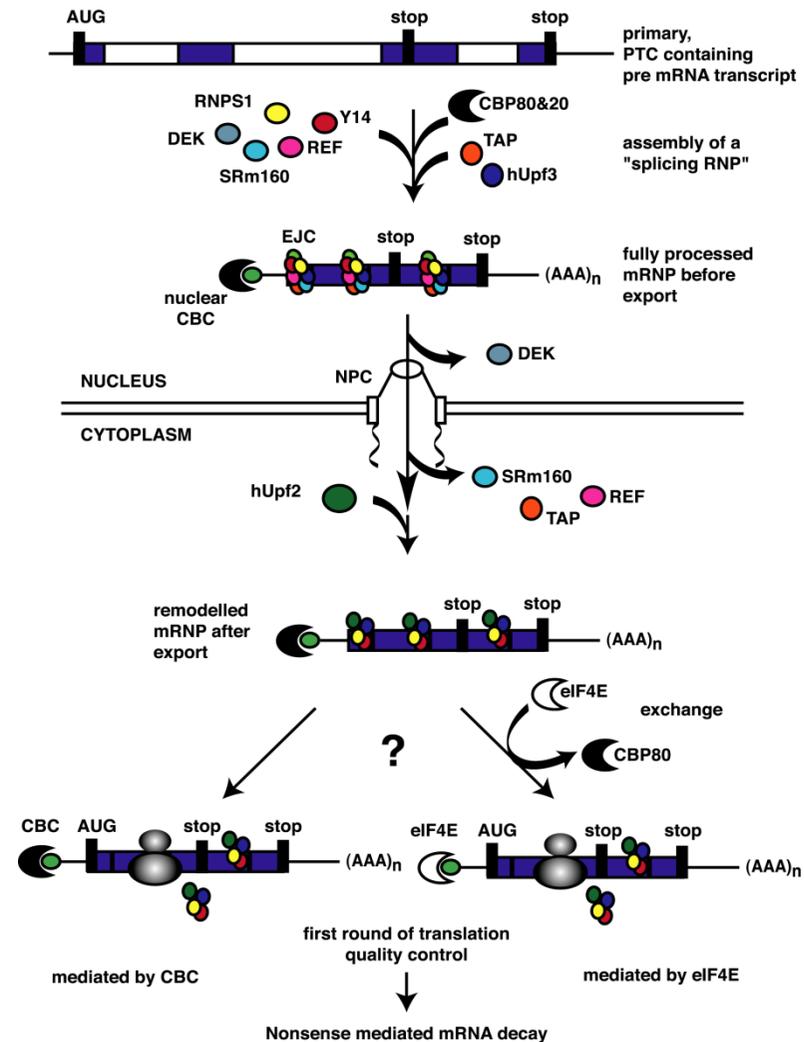
Komplexe Genexpression benötigt Qualitätskontrolle



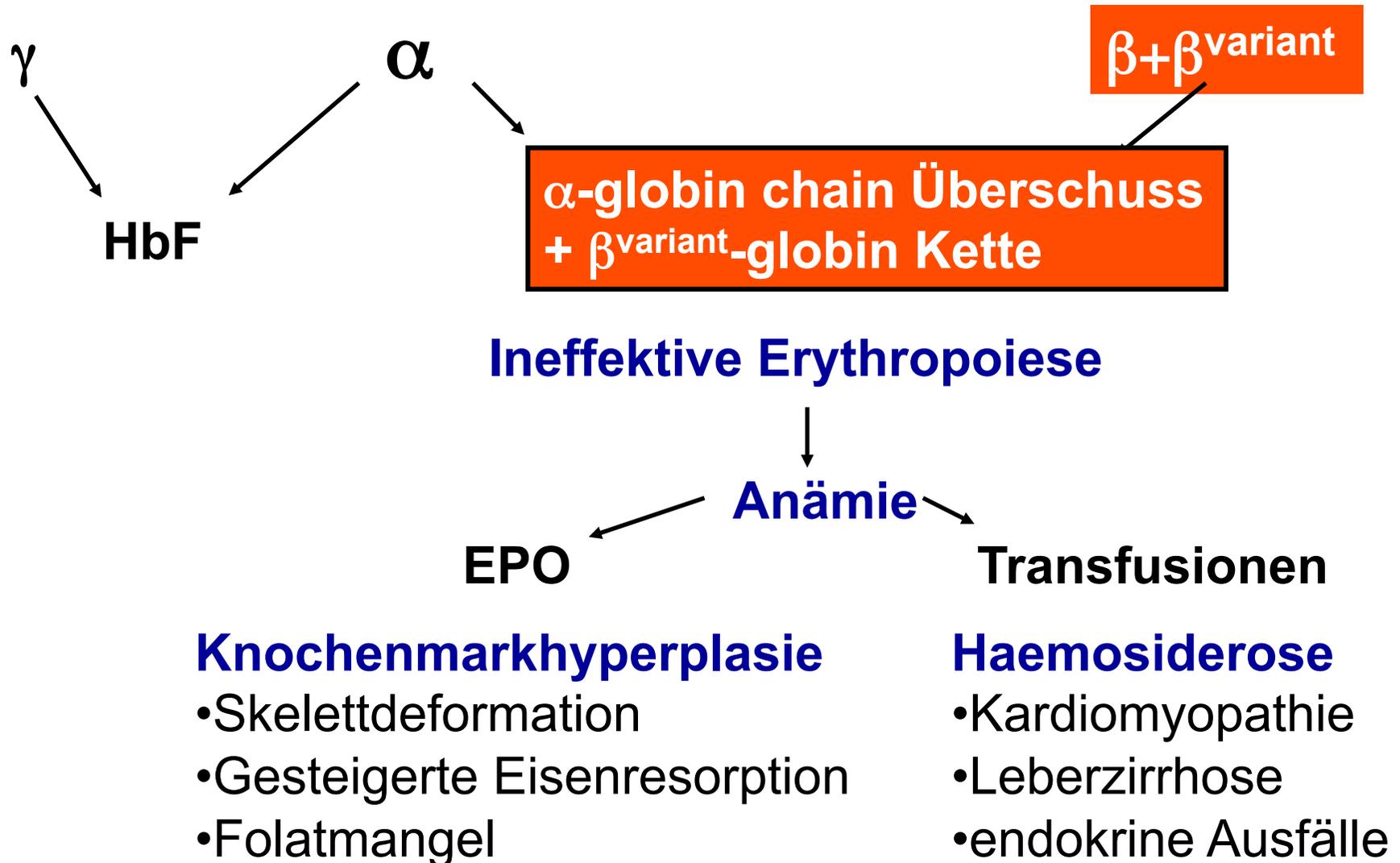


Nonsense surveillance

- Eliminiert fehlerhaft prozessierte mRNAs
- Limitiert dominant negative Wirkungen verkürzter Proteinfragmente

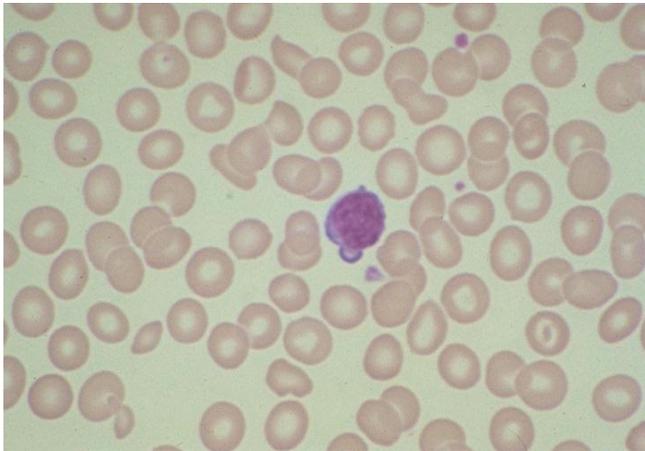


Thermann et al. EMBO J. 1998
Neu-Yilik et al. EMBO J 2001
Gehring et al. Mol. Cell 2003
Holbrook et al. Nat. Genet. 2004
Gehring et al. Mol. Cell 2005



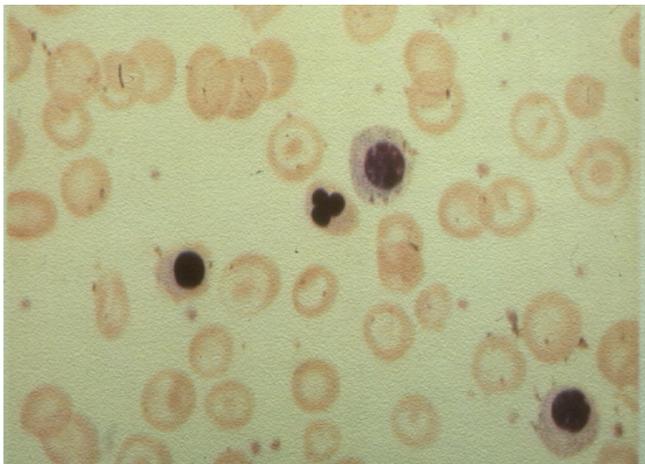


QC der Genexpression beim Menschen



QC funktioniert

**Überträger der Thalassämie
sind gesund**



QC funktioniert nicht

**Überträger der Thalassämie
sind krank**



**NMD schützt vor dominant
negativen Effekten C-terminal
verkürzter Proteine**



Polarität der NMD-Aktivität



aktiver NMD

inaktiver NMD

β-globin
vWF
IFN γ R1
RHO

Recessive β -thalassemia major
Recessive severe vWD type 3
Recessive fatal NTM infections
Recessive Retinitis Pigmentosa

Dominant β -thalassemia intermedia
Dominant vWD type 2A
Dominant non-fatal NTM infections
Dominant Retinitis Pigmentosa

Heterozygote sind gesund

Heterozygote sind krank





Sichelzellkrankheit

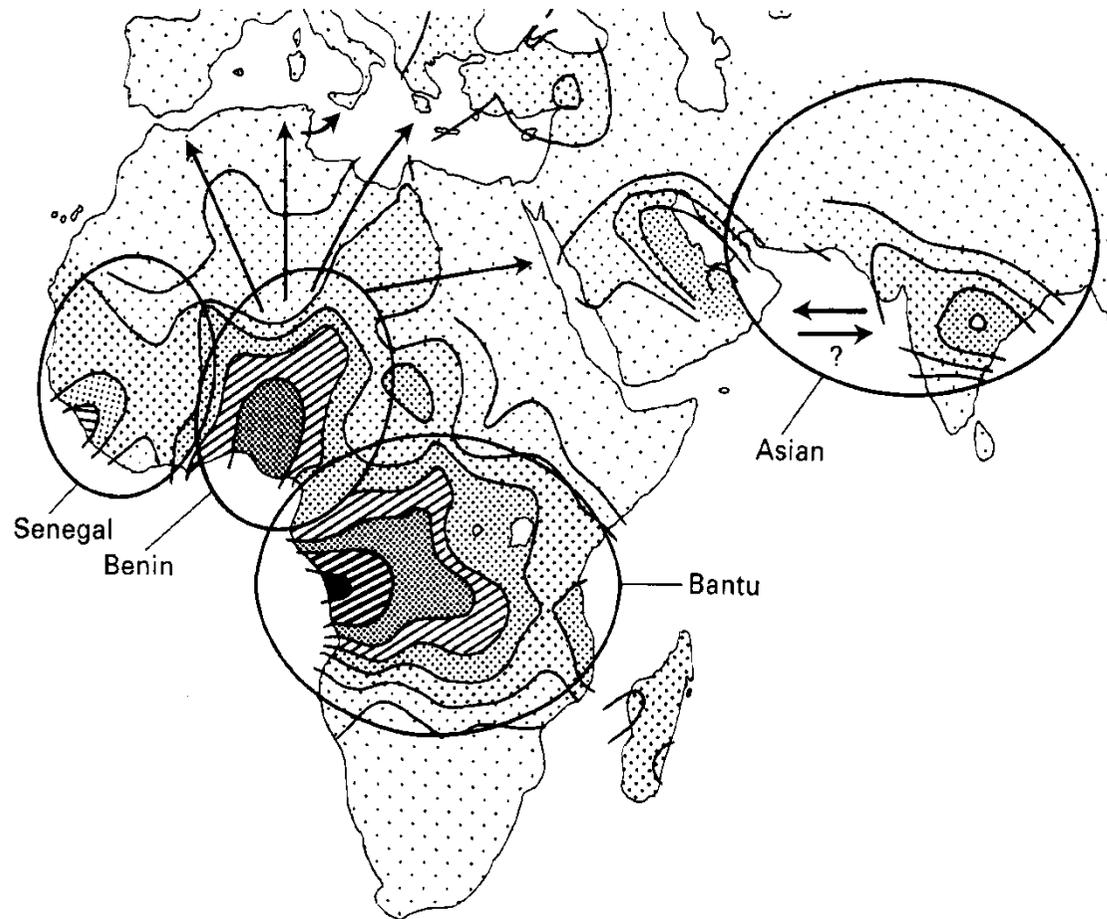
Genotypen:

HbSS ($\alpha_2\beta_2^{6Val}$)

HbSC, Sichelzell- β -Thalassämie, HbSD...



Sichelzellmutation: balancierte Selektion



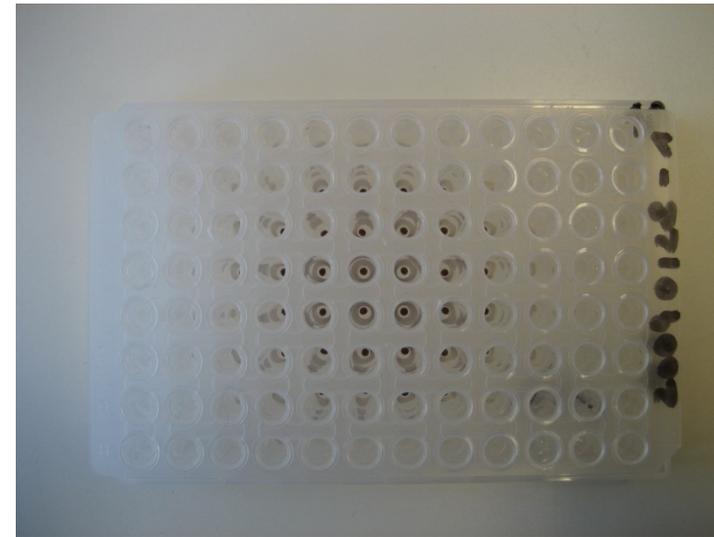


Neugeborenenenscreening auf HbS in Qatar

- 2007 Pilotphase
- seit 2008 gesamte Neugeborenenkohorte eingeschlossen



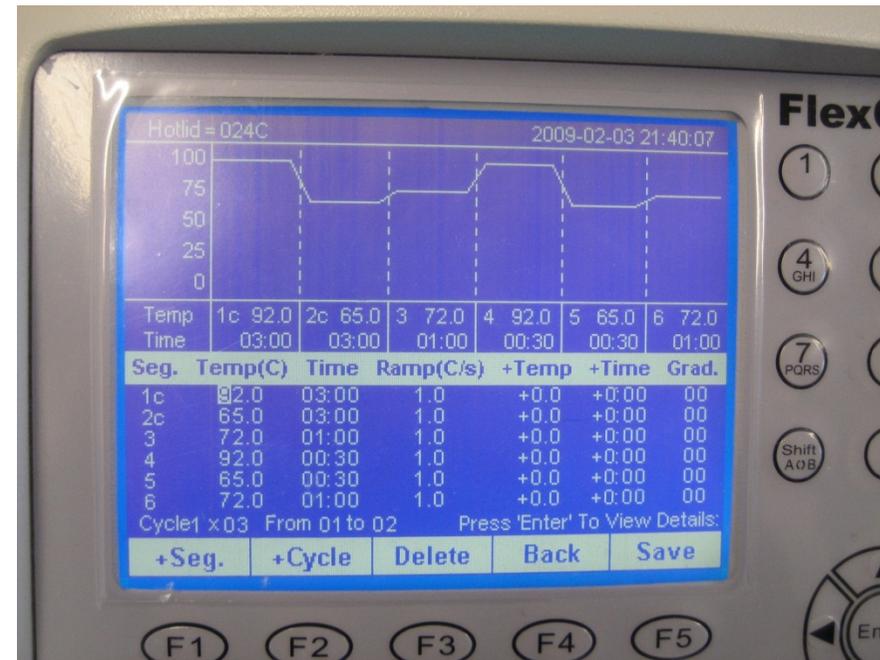
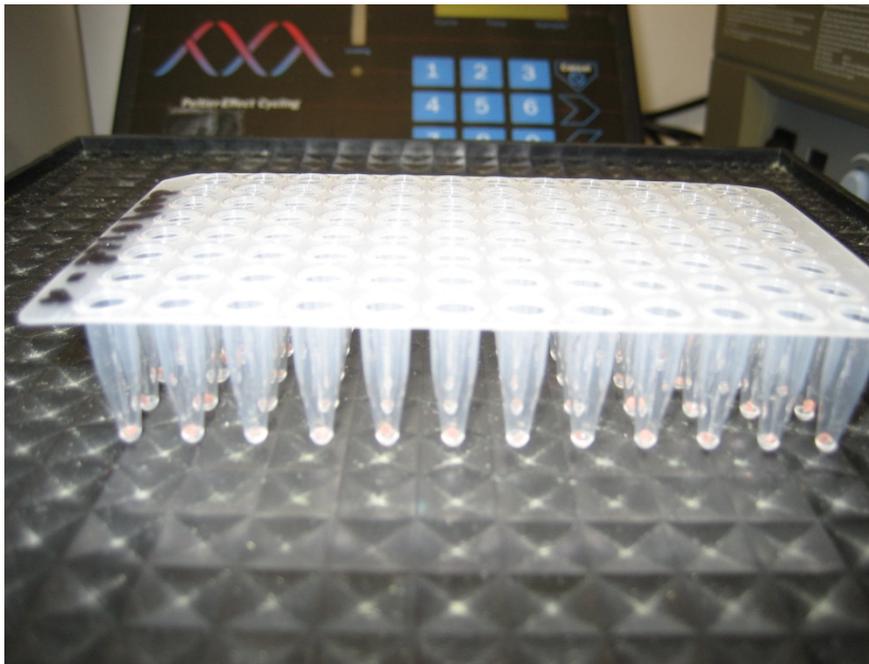
Genetisches Sichelzellscreening



Proben aus Screening-Karten im 96-well-Format



Sequenzspezifische PCR





Ergebnisse des Neugeborenen- screenings in Qatar 2008-2010

03/2008- 12/2011	N	%
untersuchte Neugeborene	70,174	100
normal (Hb AA)	69,321	98.8
heterozygot (Hb AS)	719	1.02
Homozygot (Hb SS)	19	0.027 (=1/3,700)
Kein Ergebnis	105	0.1



Sichelzellkrankheit:

**Modifizierende Faktoren für eine
„monogene“ Erkrankung**



Haplotypen des β -Globin-Genclusters

138

Genetics: Antonarakis *et al.*

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79 (1982)

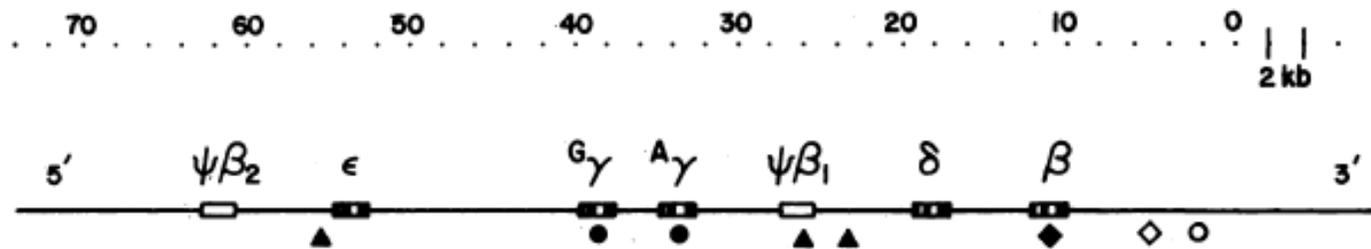


FIG. 1. Linkage map of the β -globin gene cluster (12) locating eight high-frequency polymorphic restriction sites [*Hinc*II (\blacktriangle), *Hind*III (\bullet), *Ava* II (\blacklozenge), *Hpa* I (\diamond), and *Bam*HI (\circ)].



Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 81, pp. 1771-1773, March 1984
Genetics

Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa

(sickle cell anemia/hemoglobinopathies/gene mapping/DNA polymorphism/ β -globin gene cluster)

JOSÉE PAGNIER*, J. GREGORY MEARS[†], OLGA DUNDA-BELKHODJA*, KIM E. SCHAEFER-REGO[†],
CHERIF BELDJORD*, RONALD L. NAGEL[‡], AND DOMINQUE LABIE*

*Institut de Pathologie et Biologie Cellulaires et Moleculaires, Institut National de la Santé et de la Recherche Medicale U15, Paris, France; [†]Division of Hematology, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York, NY 10032; and [‡]Division of Hematology, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY 10461

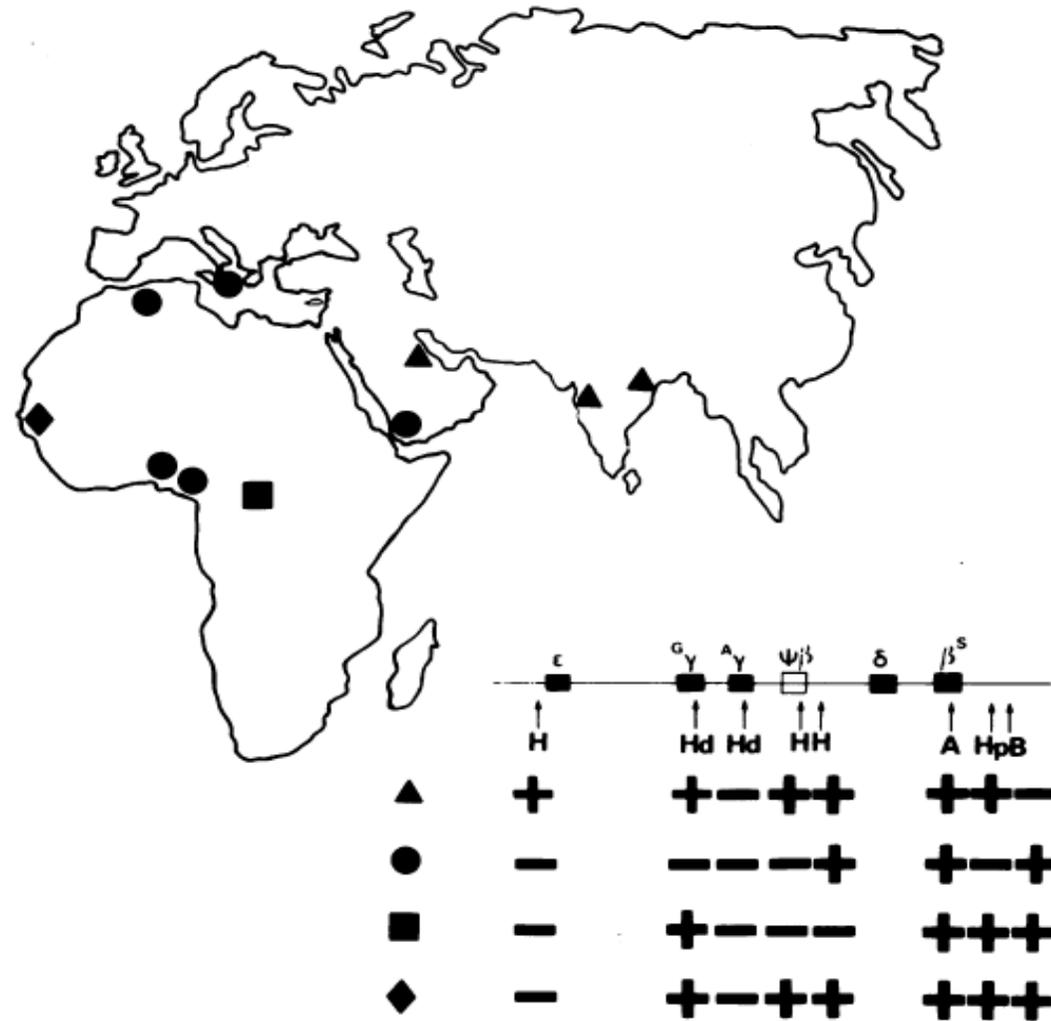
Communicated by Helen M. Ranney, December 1, 1983



Am J Hum Genet 39:239–244, 1986

**Geographical Survey of β^S -Globin Gene Haplotypes:
Evidence for an Independent Asian Origin of the
Sickle-Cell Mutation**

A. E. KULOZIK,¹ J. S. WAINSCOT,² G. R. SERJEANT,³ B. C. KAR,⁴
B. AL-AWAMY,⁵ G. J. F. ESSAN,⁶ A. G. FALUSI,⁶ S. K. HAQUE,⁷
A. M. HILALI,⁷ S. KATE,⁸ W. A. E. P. RANASINGHE,⁹
AND D. J. WEATHERALL¹



Kulozik et al. Am. J. Hum. Genet. 1986



**SICKLE CELL DISEASE IN ORISSA STATE,
INDIA**

B. C. KAR
A. E. KULOZIK
S. SIRR

R. K. SATAPATHY
M. KULOZIK
B. E. SERJEANT

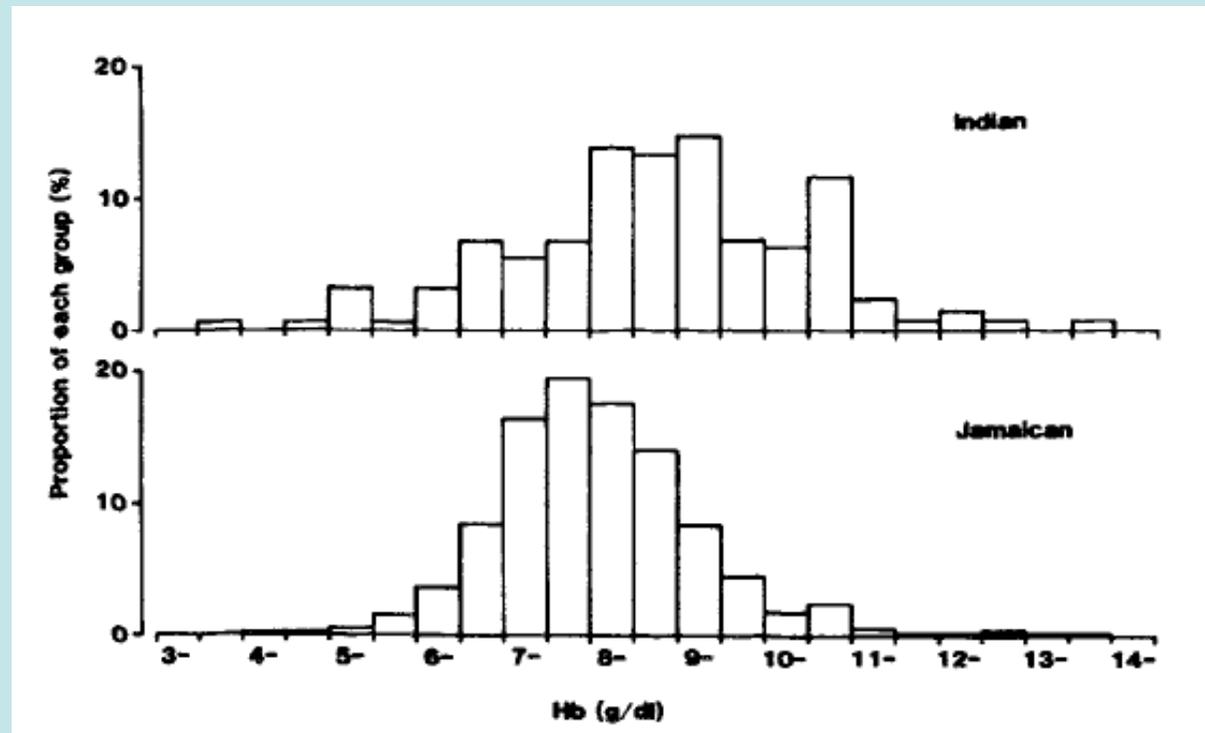
G. R. SERJEANT

*Departments of Medicine and Paediatrics, VSS Medical College,
Burla, Orissa, India; MRC Molecular Haematology Unit, Nuffield
Department of Medicine, University of Oxford, England; and the
Medical Research Council Laboratories (Jamaica), University of
the West Indies, Kingston, Jamaica*

THE LANCET, NOVEMBER 22, 1986

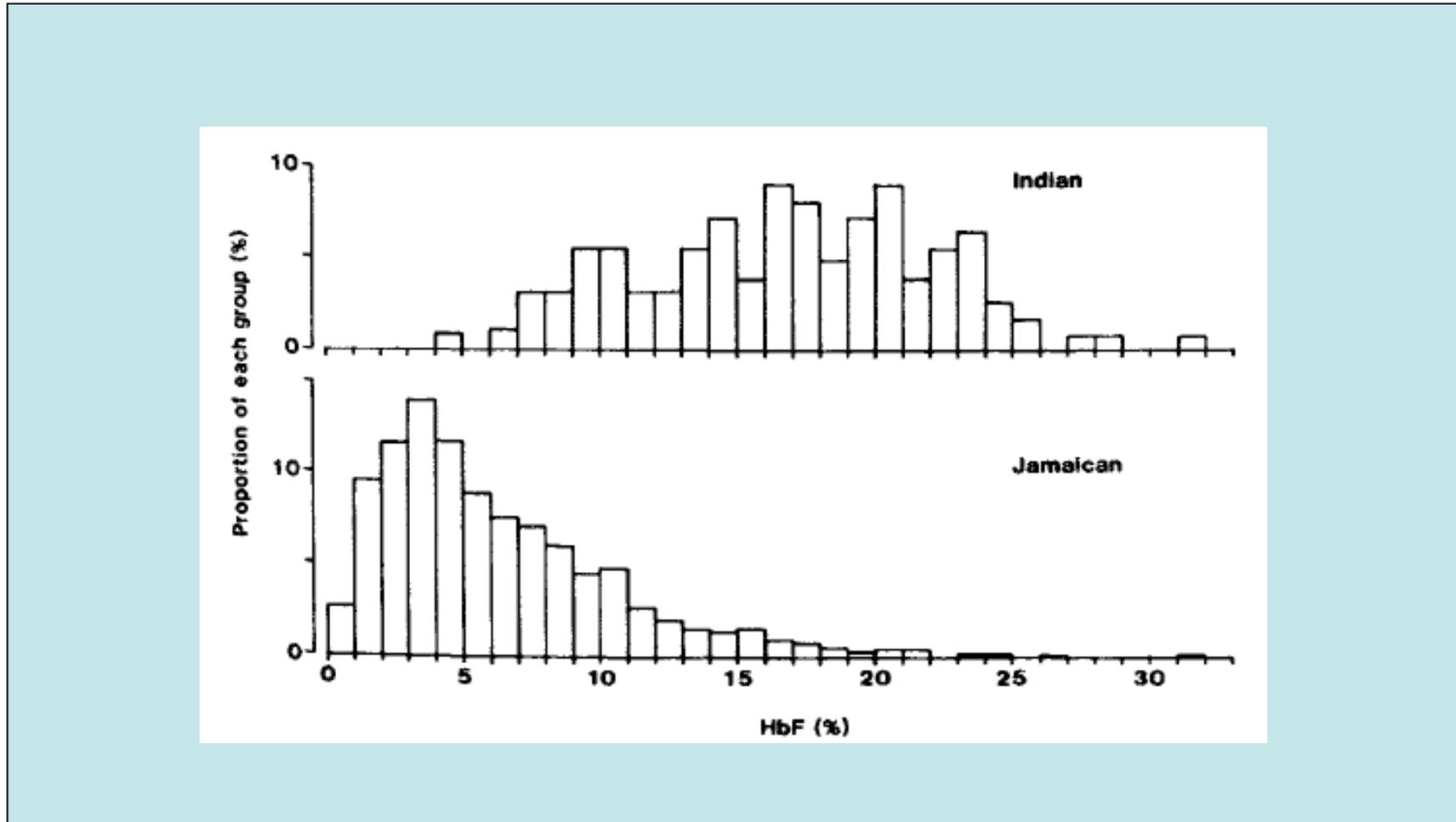


Inder vs. Jamaikaner: Weniger ausgeprägte Anämie





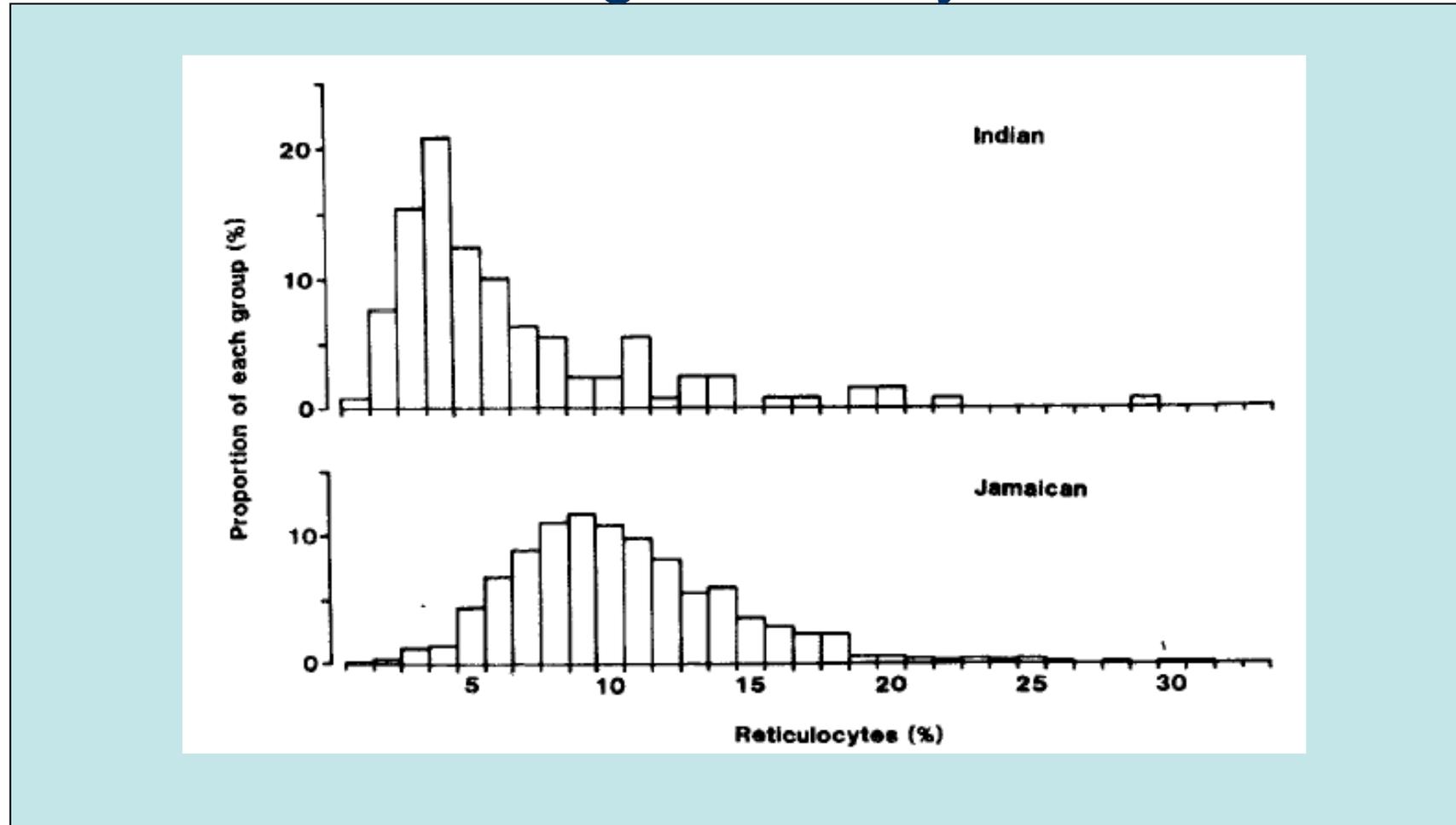
Inder vs. Jamaikaner: höheres HbF



Kar et al. Lancet. 1986



Inder vs. Jamaikaner: Weniger Hämolyse



Kar et al. Lancet. 1986



Inder vs. Jamaikaner: klinische Unterschiede

- Persistierende Splenomegalie
- Sehr selten Ulcera cruris

aber:

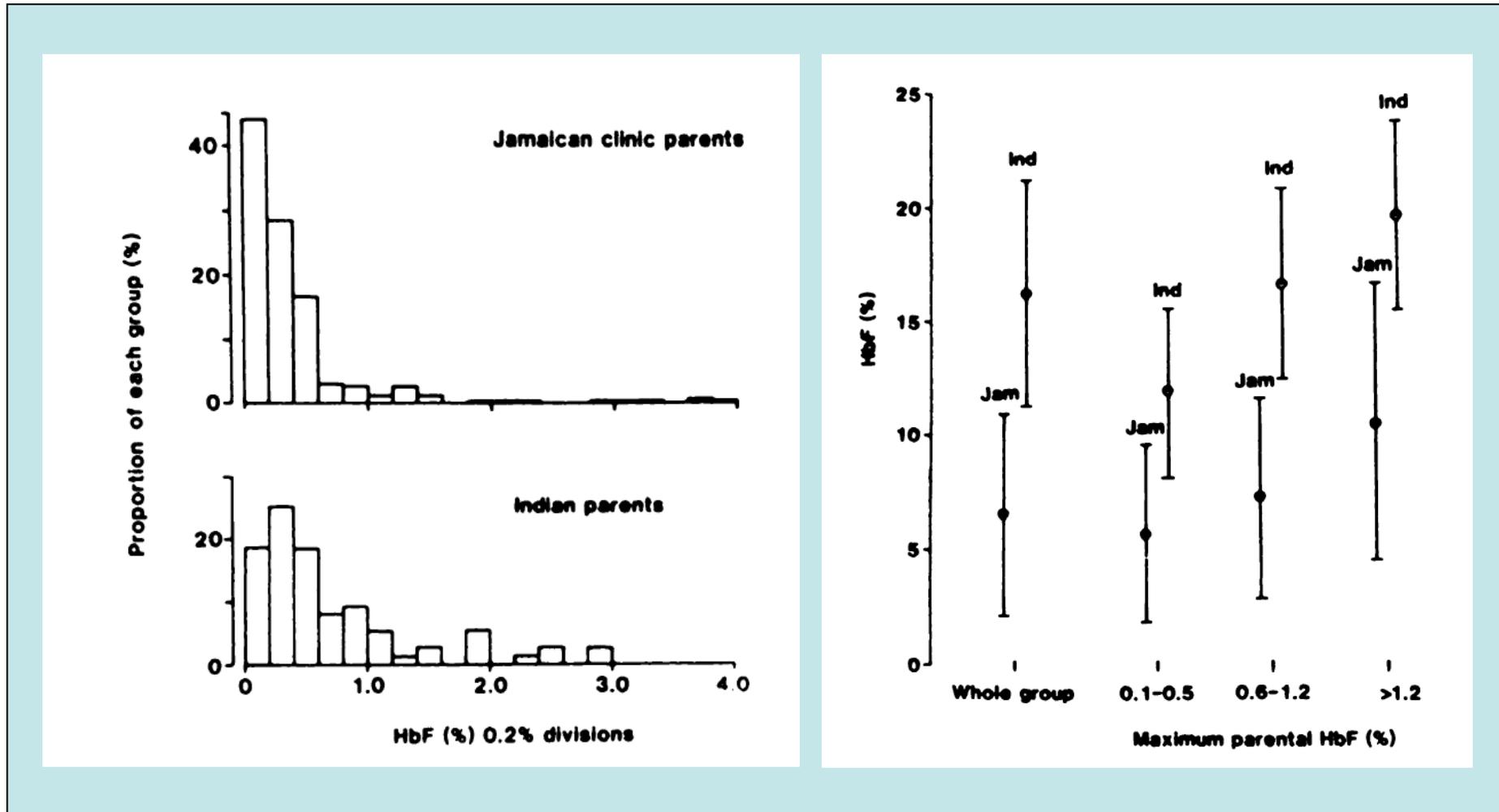
- Häufig Dactylitis
- Häufig Schmerzkrisen
- Häufig Retinopathie



**Besteht ein Zusammenhang
zwischen Haplotyp und HbF ?**

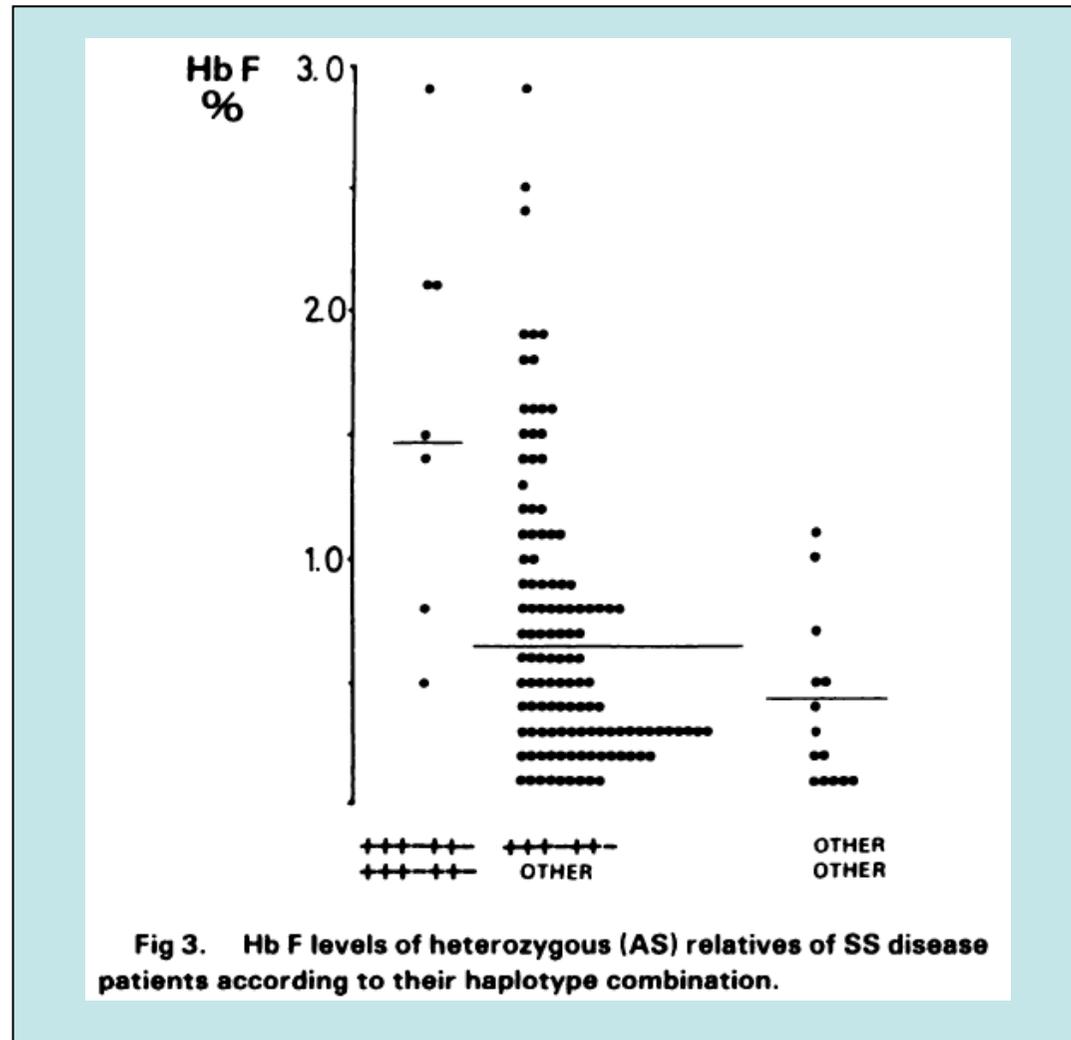


HbF in Heterozygoten und Patienten



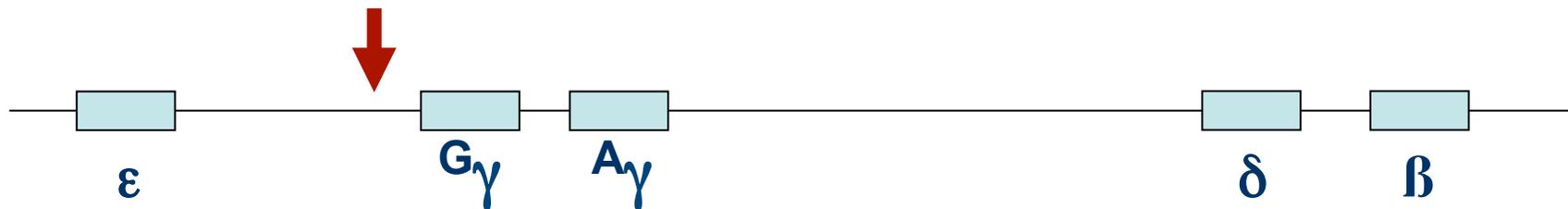


HbF in Heterozygoten ist abhängig vom β -Globin Haplotyp





G_γ -158 C → T



**HbF 12-22 %
85 % G_γ-chains**



Die Ausprägung der Sichelzellerkrankheit wird beeinflusst durch

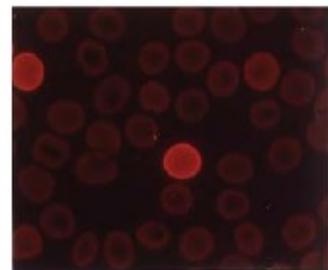
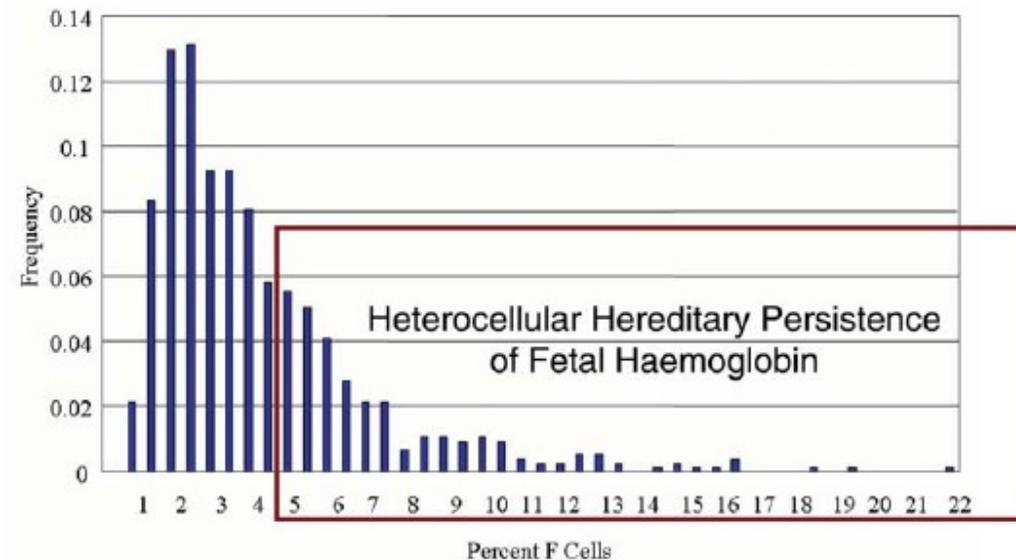
- **HbF**
 - Der genetische Hintergrund wird durch die Polymorphismen im asiatischen β -Globin Haplotyp definiert
 - G_{γ} -158 C \rightarrow T



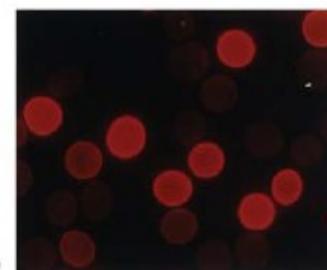
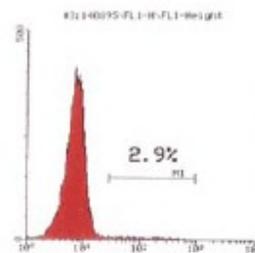
Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications

Swee Lay Thein^{1,2,*}, Stephan Menzel¹, Mark Lathrop³ and Chad Garner⁴

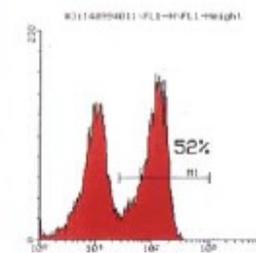
Human Molecular Genetics, 2009, Vol. 18, Review Issue 2
doi:10.1093/hmg/ddp401

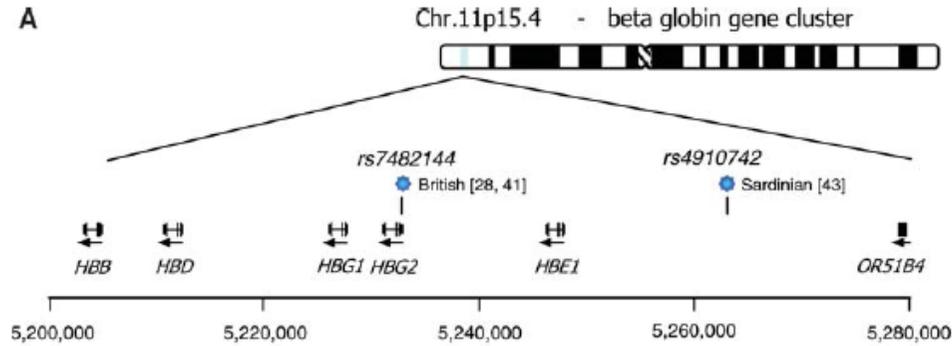


Hb F 0.4%, F cells 2.9%

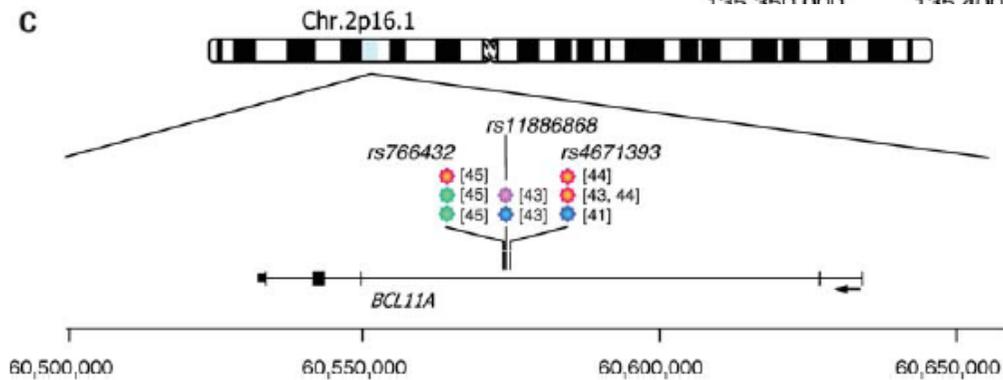
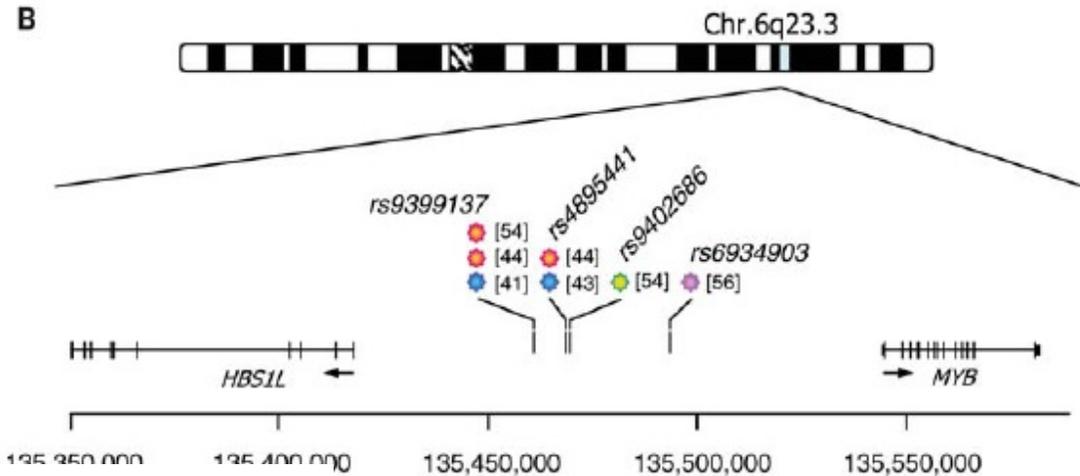


Hb F 4.8%, F cells 52%



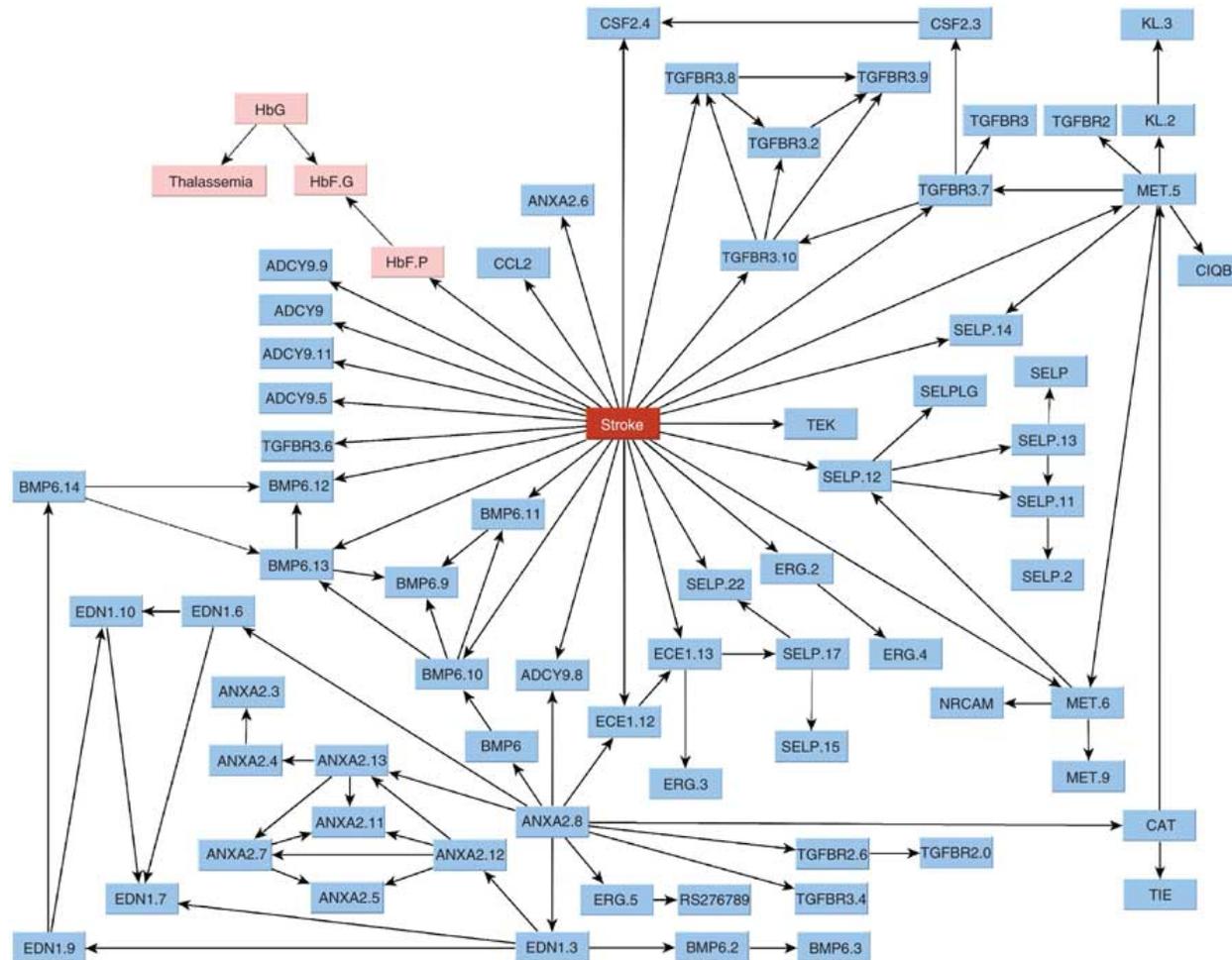


- Legend**
- Sickle Cell Patients (African-descended)
 - Beta Thalassemia Patients
 - European healthy
 - Beta thalassemia carriers (East Asian)
 - Jamaican healthy (African haplotypes)





“Bayesian network” mit 69 SNPs in 20 Genen von 80 Kandidatengenen





Risikoeinschätzung anhand ausgewählter SNPs

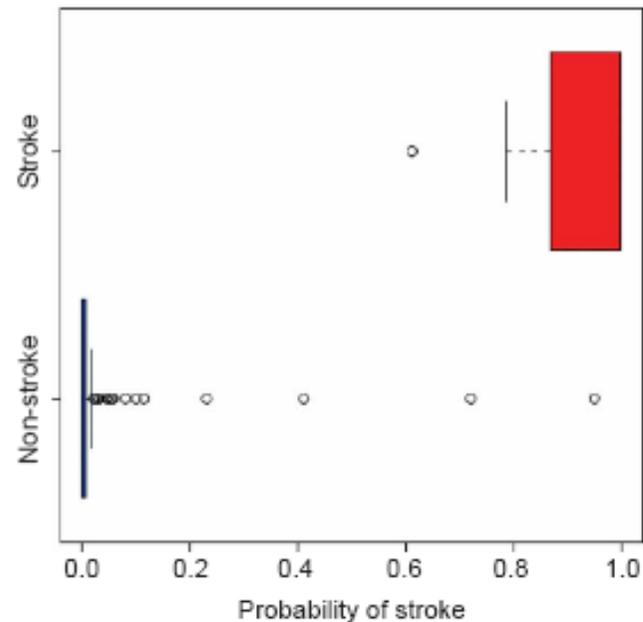


Figure 3 Box plot of the predictive probability of stroke (risk in 5 years) in an independent set of 7 individuals with stroke and 107 individuals without stroke. The plot shows a split of the predictive probabilities between these two outcomes: the predictive probabilities of stroke in the 7 individuals with stroke are > 0.6 , whereas the predictive probabilities of stroke in the 107 individuals without stroke are close to 0 (for only 2 individuals is the probability > 0.5). The predictive probabilities are given in **Supplementary Table 5** online.



Die Ausprägung der Sichelzellkrankheit wird beeinflusst durch

- **Modulatoren der HbF-Synthese**
- **andere genetische Faktoren**
- **Umwelteinflüsse**



Die Sichelzellerkrankung bleibt ein Modell für andere Erbkrankheiten

- Monogene Erbkrankheiten werden komplex moduliert
- Der genetische Hintergrund bestimmt das Risikoprofil und potentiell die Therapie
- Genetische Faktoren sind potentielle Angriffspunkte für die Therapie



Danke



an Andreas Kulozik und die Kollegen der Heidelberger Kinderklinik