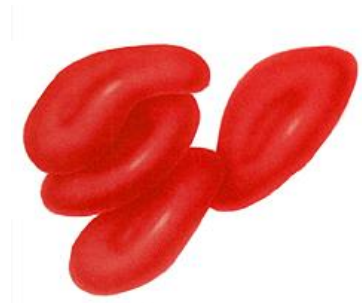


Hämoglobin-Varianten mit erhöhter Sauerstoff-Affinität

Holger Cario

Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Ulm



- Bei Erstvorstellung 35-jähriger Mann, guter AZ, EZ
- Erhöhter Hb in „Routinekontrolle“ bei Hausarzt
- Retrospektiv erste pathologische Blutbilder im Alter von 27 J. erhoben
- Bislang keine Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

Labor:		
Hb	19,8	g/dl
Hkt	58,2	%
Ery	6,8	T/L
MCV	86	fl
MCH	29,2	pg
Leuko	5,9	G/L
Thrombo	127	G/L
BGA	kap/art	nl
Epo	7,5 (27)	mU/ml

Andere Untersuchungen	
MRT Schädel	unauffällig
EKG / Echo	unauffällig
Bodyplethysmographie	unauffällig
Abdomensonographie	unauffällig
Knochenmarkzytologie/ -histologie, / -zytogenetik	unauffällig
JAK2 p.V617F	negativ
Genetik <i>EPOR</i> , <i>VHL</i> , <i>EPAS1</i> , <i>EGLN1</i>	negativ

Keine Hb-Analyse

- Bei Erstvorstellung 49-jähriger Mann, guter AZ, EZ
- Krankenpfleger, Herkunft Irak
- Erhöhter Hb in „Routinekontrolle“
- Bruder mit Erythrozytose, Z.n. Myokardinfarkt (zusätzliche Risikofaktoren)
- Patient selbst bislang ohne Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

Labor:		
Hb	18,1	g/dl
Hkt	51	%
MCV	88	fl
MCH	29,2	pg
Epo	25	mU/ml

Andere Untersuchungen	
EKG / Echo	unauffällig
Abdomensonographie	unauffällig
JAK2 p.V617F	negativ
Genetik <i>EPOR</i> , <i>VHL</i>	negativ
Endogene erythroide Kolonien (PBMNC)	negativ
Hb-Analyse	HbA 97,3% HbF neg HbA ₂ 2,7%
Genetik <i>HBA</i> (häufige Mut./Del.)	negativ

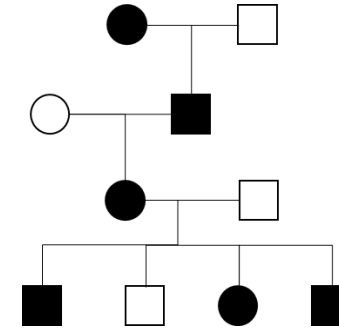
- Bei Erstvorstellung 24-jähriger Mann, guter AZ, EZ
- Patient bislang ohne Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

Labor:		
Hb	20,4	g/dl
Hkt	57,5	%
Ery	6,4	T/L
MCV	90,4	fl
Leuko	6,6	G/L
Thrombo	180	G/L
Epo	5,5	mU/ml

Andere Untersuchungen	
JAK2 p.V617F	negativ
Genetik <i>EPOR</i> , <i>VHL</i>	negativ
Hb-Analyse	HbA 97,1% HbA ₂ 2,6% Met-Hb 0,3%

- Bei Erstvorstellung 22-jährige Frau, guter AZ, EZ
- Familiäre Erythrozytose bekannt
- Bislang keine Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

Fall 4



Labor:		
Hb	17,3	g/dl
Hkt	52,4	%
Ery	5,9	T/L
MCV	89	fl
MCH	29,3	pg
Leuko	6,4	G/L
Thrombo	231	G/L
Epo	24,5	mU/ml

Andere Untersuchungen	
EKG / Echo	unauffällig
Bodyplethysmographie	unauffällig
Abdomensonographie	unauffällig
Knochenmarkzytologie	Bei Bruder unauff.
JAK2 p.V617F	negativ
Genetik <i>EPOR</i> , <i>VHL</i> , <i>EPAS1</i> , <i>EGLN1</i> , <i>EGLN2</i>	negativ
Hb-Analyse	HbA 97 % HbF neg HbA ₂ 3 %



Gene panel sequencing improves the diagnostic work-up of patients with idiopathic erythrocytosis and identifies new mutations

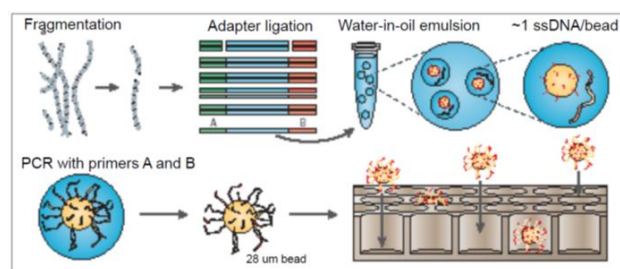
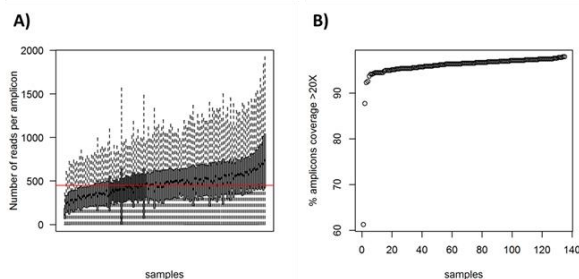
Carme Camps,^{1,2} Nayia Petousi,³ Celeste Bento,⁴ Holger Cario,⁵ Richard R. Copley,^{1,2} Mary Frances McMullin,⁶ Richard van Wijk,⁷ WGS500 Consortium,⁸ Peter J. Ratcliffe,³ Peter A. Robbins,⁹ and Jenny C. Taylor^{1,2}

- ultra-high multiplex PCR (*Ion AmpliSeq™ Technology, Thermo Fisher*)
- 635 primer pairs (~200bp)
- 21 Gene, 126 samples

Amplicon coverage

average coverage 450X

92 % > 20X



Ion Torrent

Table 1. Genes included in the custom-made erythrocytosis gene panel.

Candidate gene	Position	N. of exons	Transcript ID	Pathway	Candidacy	Inheritance
VHL	Chr3:10183319-10195354	3	NM_000551	Oxygen-sensing	Known erythrocytosis-causing variants	Recessive / compound heterozygous (based on reported cases)
EPAS1	Chr2:46524541-46613842	16	NM_001430	Oxygen-sensing	Known erythrocytosis-causing variants	Dominant (based on reported cases)
EGLN1	Chr1:231499497-231560790	4	NM_022051	Oxygen-sensing	Known erythrocytosis-causing variants	Dominant (due to haploinsufficiency, based on reported cases)
HIF1A	Chr14:62162119-62214977	15	NM_001530	Oxygen-sensing	Key gene of the HIF pathway	Unknown (no cases reported). Likely dominant by function similarity to EPAS1
HIF3A	Chr19:46800303-46846690	13	NM_022462	Oxygen-sensing	Key gene of the HIF pathway	Unknown (no cases reported). Likely dominant by function similarity to EPAS1
EGLN2	Chr19:41305048-41314346	5	NM_053046	Oxygen-sensing	Key gene of the HIF pathway	Unknown (no cases reported). Likely dominant by function similarity to EGLN1
EGLN3	Chr14:34339421-34420284	5	NM_022073	Oxygen-sensing	Key gene of the HIF pathway	Unknown (no cases reported). Likely dominant by function similarity to EGLN1
HIF1AN	Chr10:102295641-102313681	6	NM_017902	Oxygen-sensing	Key gene of the HIF pathway	Unknown (no cases reported). No function similarity to any known associated gene
EPO	Chr7:100318423-100321323	5	NM_000799	Erythropoiesis/oxygen-sensing	1. Key gene in erythropoiesis 2. Identified in WGS500	Dominant (based on WGS500 variant), but cannot discard other patterns of inheritance
EPOR	Chr19:11487881-11495018	8	NM_000121	Erythropoiesis	Known erythrocytosis-causing variants	Dominant (based on reported cases)
JAK2	Chr9:4985245-5128183	25	NM_004972	Erythropoiesis	Known erythrocytosis-causing variants	Somatic (based on reported cases)
SH2B3	Chr12:111843752-111889427	8	NM_005475	Erythropoiesis	Known erythrocytosis-causing variants	Dominant (somatic or germline, based on reported cases)
BPGM	Chr7:134331531-134364567	3	NM_001724	Oxygen transport	1. Known erythrocytosis-causing variants 2. Identified in WGS	Dominant / compound heterozygous / recessive (based on reported cases)
HBB	Chr11:5246696-5248301	3	NM_000518	Oxygen transport/hemoglobin synthesis	Known erythrocytosis-causing variants	Dominant (based on reported cases)
HBA1	Chr16:226650-227521	3	NM_000558	Oxygen transport/hemoglobin synthesis	Key gene in oxygen transport	Dominant (based on reported cases)
HBA2	Chr16:222846-223709	3	NM_000517	Oxygen transport/hemoglobin synthesis	Key gene in oxygen transport	Dominant (based on reported cases)
ADIRAP1	Chr10:41732421-41771681	23	NM_021140	Oxygen-regulated demethylase	Identified in WGS500	Recessive (based on WGS500 variant), but cannot discard other patterns of inheritance
GFI1B	Chr3:135854098-135867084	11	NM_004188	Erythropoiesis	Identified in WGS500	Recessive (based on WGS500 variant), but cannot discard other patterns of inheritance
BHLHE41	Chr12:26272950-26278003	9	NM_030762	Factor associated with HIF	Identified in WGS500	Recessive (based on WGS500 variant), but cannot discard other patterns of inheritance
OSV	Chr12:58087738-58115340	15	NM_001261421	Factor associating with HIF	Related to the HIF pathway	Unknown (no cases reported). No function similarity to any known associated gene
ZNF197	Chr3:44666511-44689963	5	NM_006991	Factor associating with HIF	Related to the HIF pathway	Unknown (no cases reported). No function similarity to any known associated gene

Official gene symbols according to the HUGO Gene Nomenclature Committee are given here. Other gene symbols used frequently in the literature are: HIF2A (EPAS1), PHD2 (EGLN1), PHD1 (EGLN2), PHD3 (EGLN3), FNH (HIF1AN), LNK (SH2B3), DEC2 (BHLHE41).

- Bei Erstvorstellung 35-jähriger Mann, guter AZ, EZ
- Erhöhter Hb in „Routinekontrolle“ bei Hausarzt
- Retrospektiv erste pathologische Blutbilder im Alter von 27 J. erhoben
- Bislang keine Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

HBB c.C432G → HBB p.His144Gln = Hb Little Rock

Labor:		
Hb	19,8	g/dl
Hkt	58,2	%
Ery	6,8	T/L
MCV	86	fl
MCH	29,2	pg
Leuko	5,9	G/L
Thrombo	127	G/L
BGA	kap/art	nl
Epo	7,5 (27)	mU/ml

Keine Hb-Analyse

Effect of Hemoglobin Little Rock on the Physiology of Oxygen Delivery*

*P. A. Bromberg, M.D.; F. Padilla, M.D.; J. T. Guy and
S. P. Balcerzak, M.D.**

Chest 1972

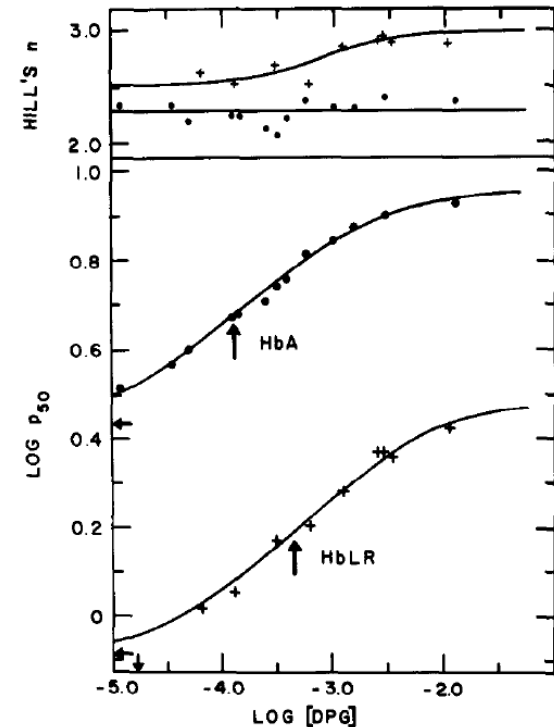
HbVar:

Electrophoresis

Electrophoresis comment:
No separation with alkaline electrophoresis;
Hb X moves between Hb A and Hb F in acid agar

Chromatography

CM-cellulose: Hb X was isolated; Hb X elutes
before Hb A



JBC 1974

HbVar: <http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>

- Bei Erstvorstellung 49-jähriger Mann, guter AZ, EZ
- Krankenpfleger, Herkunft Irak
- Erhöhter Hb in „Routinekontrolle“
- Bruder mit Erythrozytose, Z.n. Myokardinfarkt (zusätzliche Risikofaktoren)
- Patient selbst bislang ohne Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

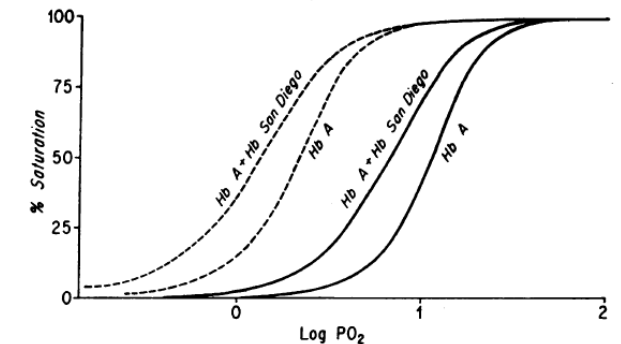
Labor:		
Hb	18,1	g/dl
Hkt	51	%
MCV	88	fl
MCH	29,2	pg
Epo	25	mU/ml

HBB c.G328A → HBB p.Val110Met = Hb San Diego

Hemoglobinopathic Erythrocytosis due to a New
Electrophoretically Silent Variant,
Hemoglobin San Diego ($\beta 109(\text{G11})\text{Val} \rightarrow \text{Met}$)

PETER E. NUTE, GEORGE STAMATOYANNOPOULOS, MARK A. HERMODSON, and
DANIEL ROTH with the technical assistance of SIGRID HORNING

JCI 1974



HbVar:

Electrophoresis

IEF: Separates from Hb A on IEF (like Hb A_{1c})

Cellulose acetate (alkali pH): No separation of Hb X and Hb A; travels with Hb A

Citrate agar: No separation of Hb X and Hb A; travels with Hb A

Chromatography

Unlisted procedure: No separation of Hb X and Hb A

HbVar: <http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>

- Bei Erstvorstellung 24-jähriger Mann, guter AZ, EZ
- Patient bislang ohne Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

HBB c.G306C → HBB p.Glu102Asp = Hb Potomac

Labor:		
Hb	20,4	g/dl
Hkt	57,5	%
Ery	6,4	T/L
MCV	90,4	fl
Leuko	6,6	G/L
Thrombo	180	G/L
Epo	5,5	mU/ml

Hb Potomac (101 Glu → Asp): Speculations on Placental Oxygen Transport in Carriers of High-Affinity Hemoglobins

By S. Charache, R. Jacobson, B. Brimhall, E. A. Murphy, P. Hathaway,
R. Winslow, R. Jones, C. Rath, and Joan Simkovich

Blood 1978

HbVar:

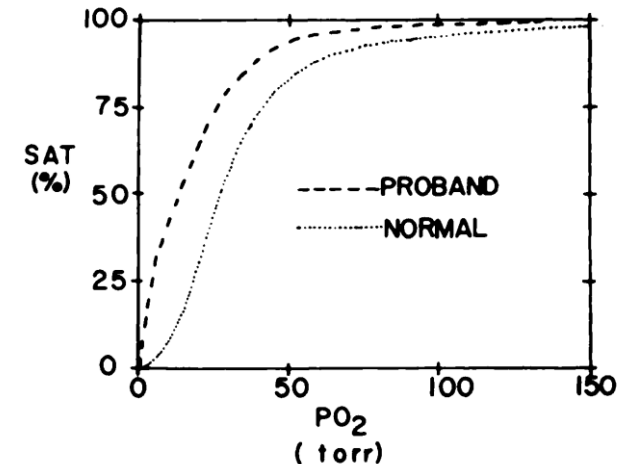
Electrophoresis

Electrophoresis comment: No separation of Hb X and Hb A by standard procedures

Chromatography

Bio-Rex 70: No separation obtained

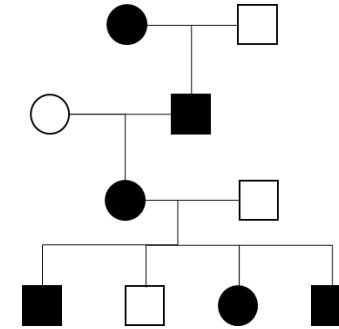
DEAE-Sephadex: No separation obtained



HbVar: <http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>

- Bei Erstvorstellung 22-jährige Frau, guter AZ, EZ
- Familiäre Erythrozytose bekannt
- Bislang keine Hyperviskositätssymptome oder thromboembolische Ereignisse

Fall 4



HBB c.A440C → HBB p.His147Pro = Hb York

Labor:		
Hb	17,3	g/dl
Hkt	52,4	%
Ery	5,9	T/L
MCV	89	fl
MCH	29,3	pg
Leuko	6,4	G/L
Thrombo	231	G/L
Epo	24,5	mU/ml

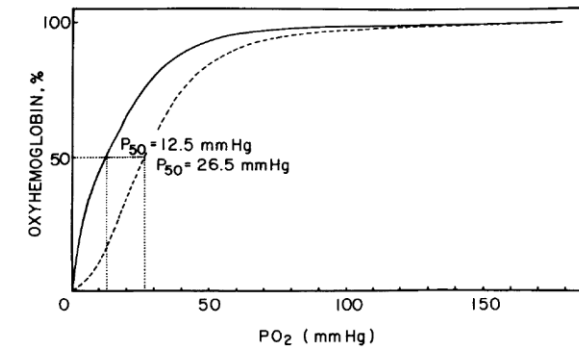
CHARACTERIZATION AND PROPERTIES OF Hb YORK (β146 HIS→PRO)

Hiroko Kosugi*, Alan S. Weinstein**,
Kiyomi Kikugawa and Toshio Asakura***

and

Hemoglobin 1983

Walter A. Schroeder



HbVar:

Electrophoresis

Electrophoresis comment:

No separation of Hb X and Hb A at alkaline pH;

Hb X moves more rapidly to the cathode than Hb A at acidic pH

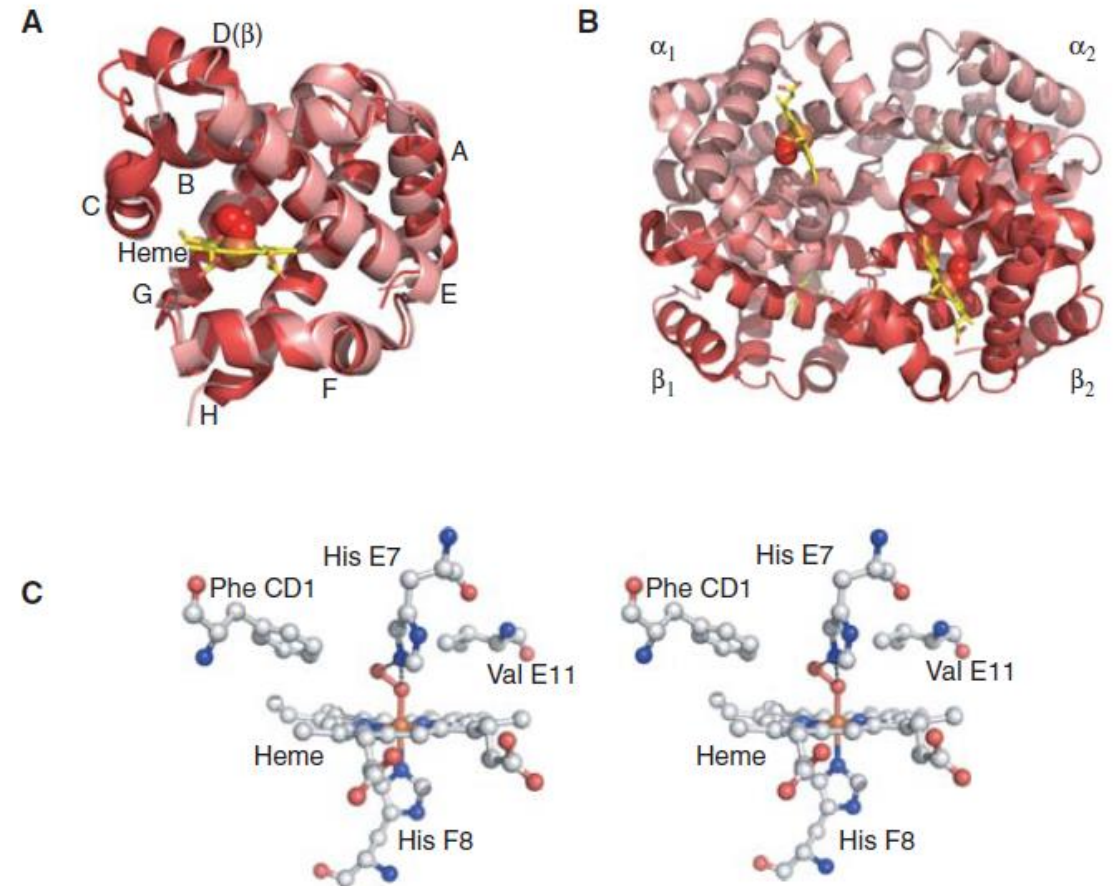
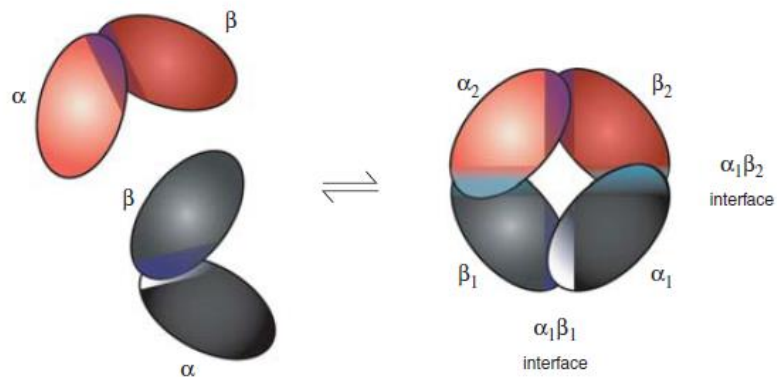
Chromatography

CM-cellulose: Hb X was isolated

HbVar: <http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>

Hämoglobin – Aufbau, Funktion, O₂-Affinität

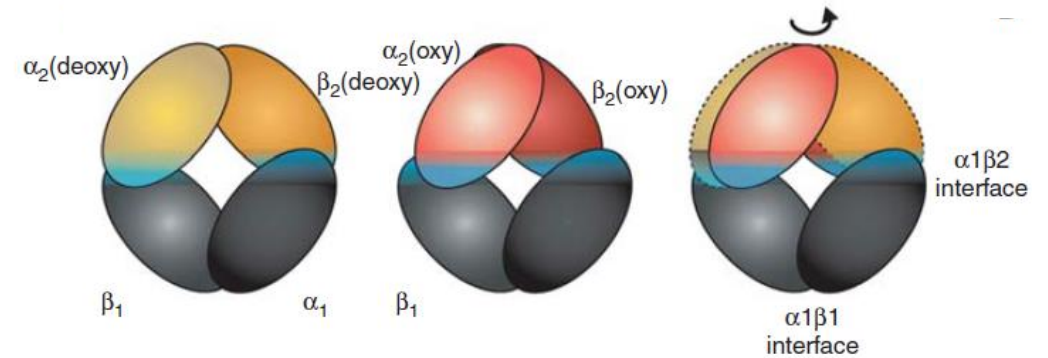
- Hämoglobin = Tetramer aus 2 α - und 2 β -Globin-Ketten plus Häm (Protoporphyrin IX plus Eisen (Fe²⁺)) in hydrophober Tasche (fix an Histidin-Resten)
- Je 1 α -Kette und 1 β -Kette bilden Dimer mit $\alpha_1\beta_1$ -Interaktion, enge Bindung (Monomere instabil)
- Bindung zu zweitem Dimer über $\alpha_1\beta_2$, schwächer



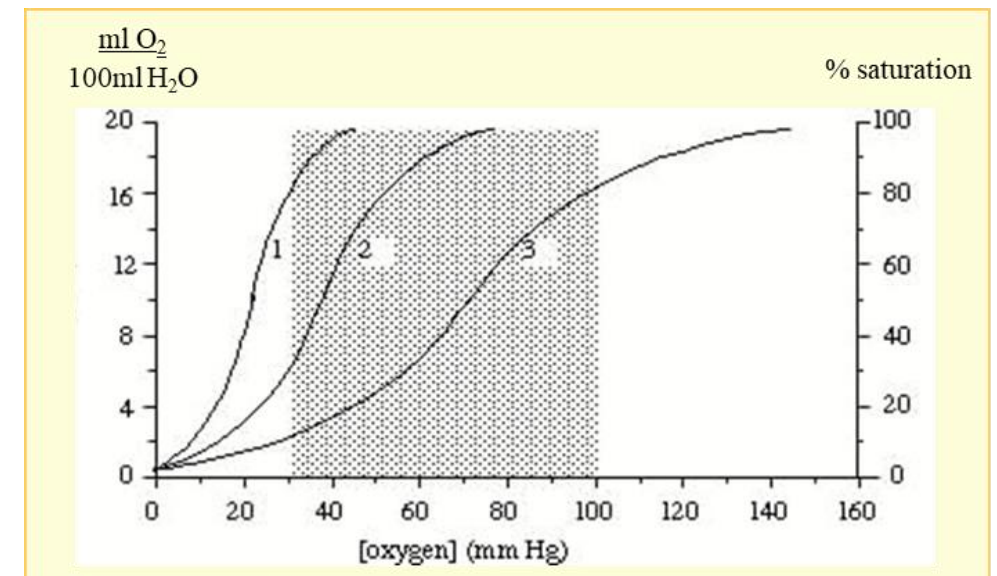
Hämoglobin – Aufbau, Funktion, O₂-Affinität

- O₂-Bindung destabilisiert $\alpha_1\beta_2$ -Interaktion
 - Transition der Quartärstruktur von „T“ („tense, niedrigaffin, deoxygeniert“) zu „R“-Status („relaxed“, hochaffin, oxygeniert)
 - erleichtert O₂-Bindung an weitere Untereinheiten
 - Kooperative O₂-Bindung → „Sigma“-förmige Bindungskurve (max. O₂-Abgabe bei geringem O₂-Abfall im Gewebe)

P_{50} = O₂-Partialdruck, bei dem 50% des Hb mit O₂ gesättigt sind

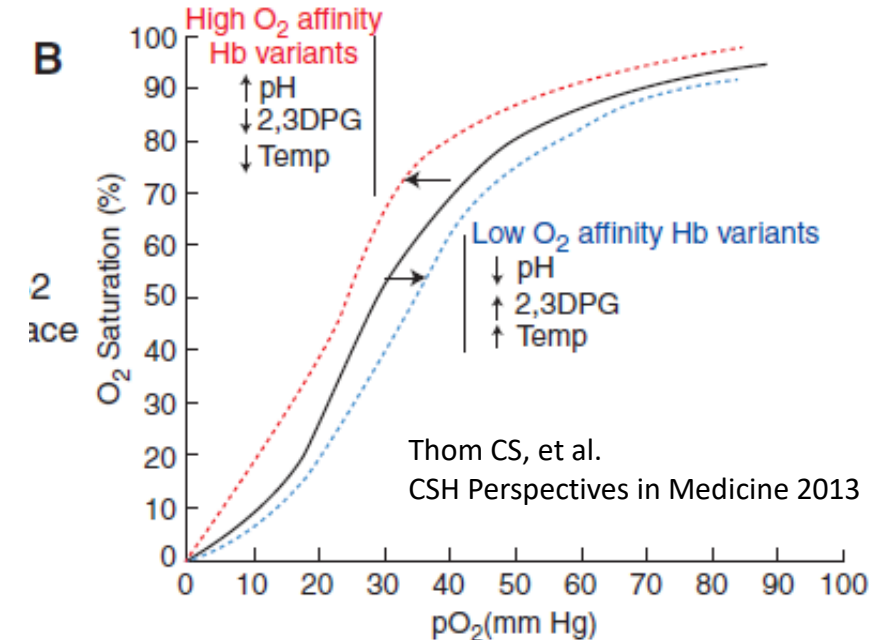
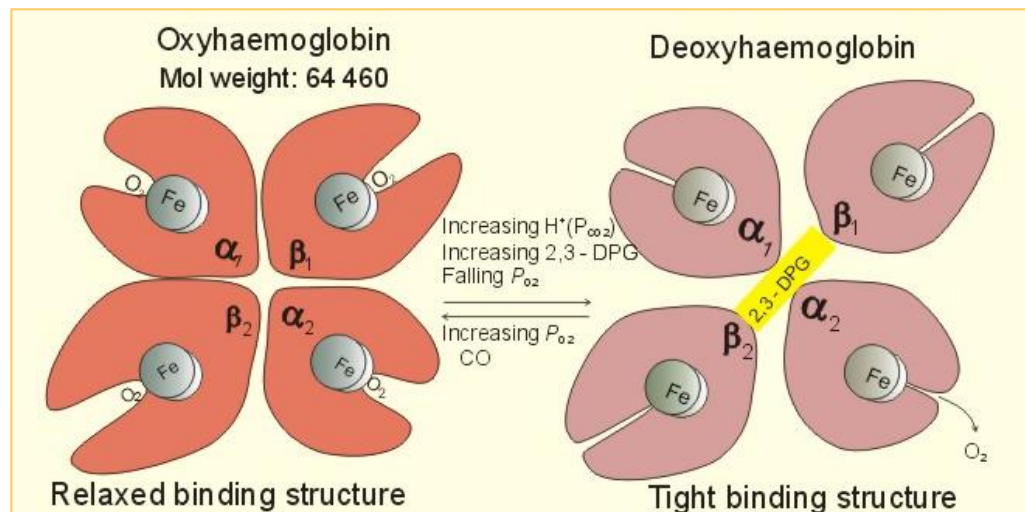


Thom CS, et al. CSH Perspectives in Medicine 2013



Hämoglobin – Aufbau, Funktion, O₂-Affinität

- Bohr-Effekt: Protonenfreisetzung bei Transition von „T“ zu „R“
→ pH-Abhängigkeit des P₅₀
- 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) = Nebenprodukt der Hämolyse
→ 2,3-DPG bindet an Hb, stabilisiert „T“-Status
→ erleichtert O₂-Abgabe



	1	2	3
P50	NIEDRIG	mittel	HOCH
O ₂ – Affinität	HOCH	mittel	NIEDRIG
O ₂ – Aufnahme in der Lunge	erhöht	mittel	erniedrigt
O ₂ – Freisetzung in den Geweben	erniedrigt	mittel	erhöht

P₅₀ = O₂-Partialdruck, bei dem 50% des Hb mit O₂ gesättigt sind

2,3 Diphosphoglycerat-Mangel

BPGM

- 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) = Nebenprodukt der Hämolyse

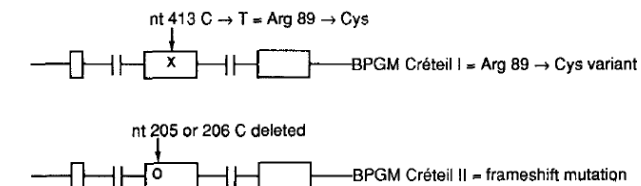
→ 2,3-DPG bindet an Hb, stabilisiert „T“-Status

→ erleichtert O₂-Abgabe

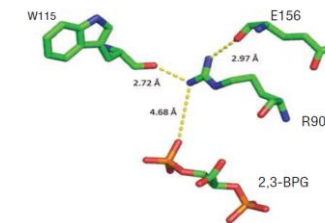
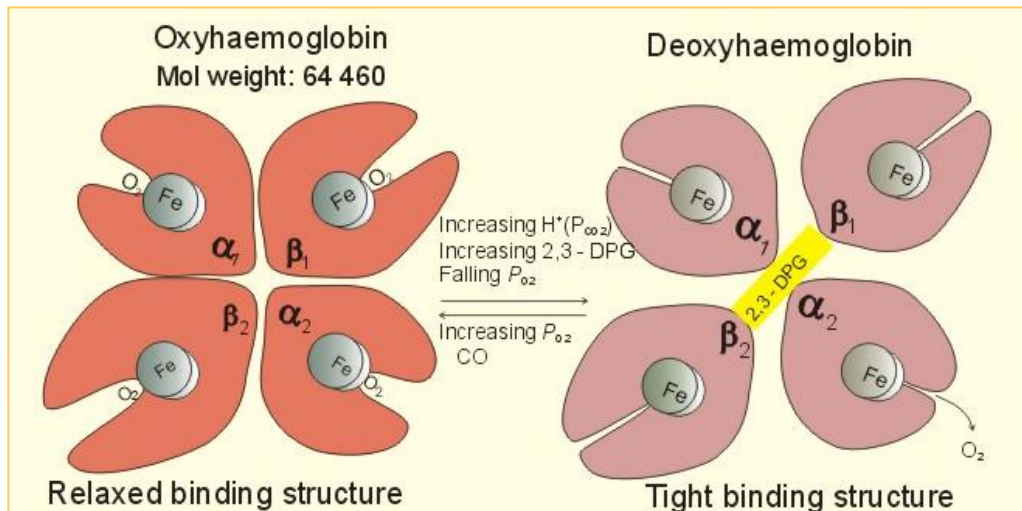
Camps C, et al. Haematologica 2016

Patient	Sex	Age at diagnosis	Hb at diagnosis	HCT at Diagnosis	Plt. count	Family History
HC031	m	52	186	52	201	no

BPGM c.C304A → *BPGM* p.Gln102Lys

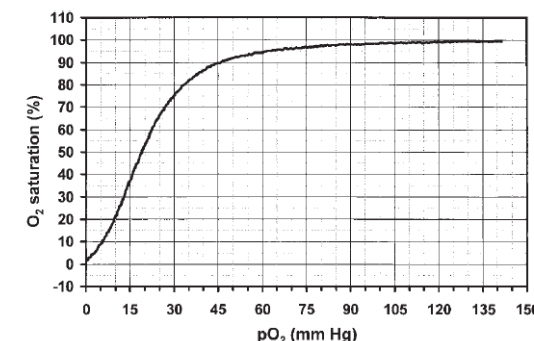


Lemarchandel V et al. Blood 1992



Arg90His

Petousi N et al. BJH 2014



Arg62Gln

Hoyer JD et al. AJH 2004

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

- Erstbeschreibung als Ursache einer Erythrozytose: Charache, S., et al. *J Clin Invest* 1966 → Hb Chesapeake
- > 200 Hb-Varianten mit erhöhter O₂-Affinität, 1/3 assoziiert mit Erythrozytose :

1. Mutationen im Bereich der $\alpha 1/\beta 2$ -Interaktion

→ Wechsel der Quartärstruktur

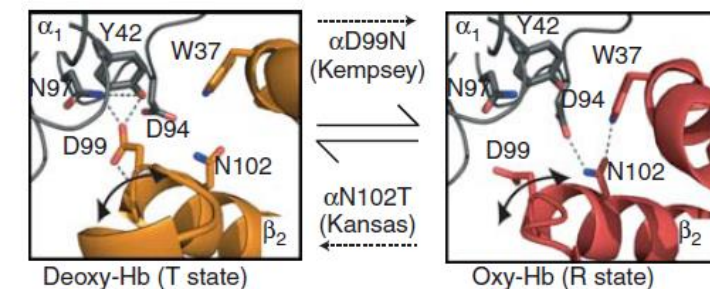
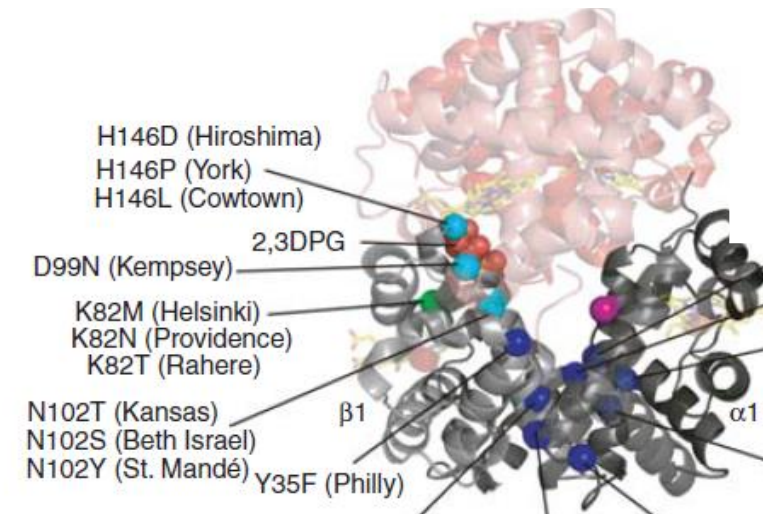
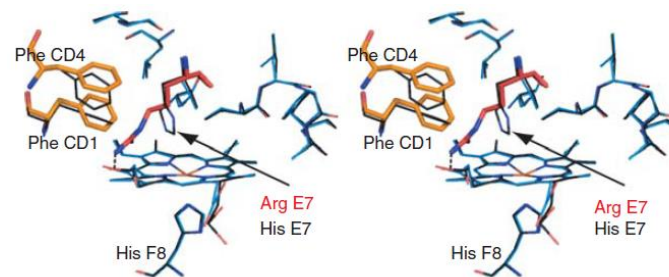
2. Mutationen im Bereich 2,3-DPG-Bindungsstelle

3. Mutationen in C-Terminus des β -Globins

→ Störung des Bohr-Effekts

4. Mutationen mit Störung der Häm-Bindung

Hb Zurich



HBB c.C432G → HBB p.His144Gln = Hb Little Rock

Effect of Hemoglobin Little Rock on the Physiology of Oxygen Delivery*

*P. A. Bromberg, M.D.; F. Padilla, M.D.; J. T. Guy and
S. P. Balcerzak, M.D.**

Chest 1972

- Mutation in 2,3-DPG-Bindungsstelle → reduzierte Bindung
- Mutation in Proton-Donor → reduzierter Bohr-Effekt

HBB c.G306C → HBB p.Glu102Asp = Hb Potomac

Hb Potomac (101 Glu → Asp): Speculations on Placental Oxygen Transport in Carriers of High-Affinity Hemoglobins

By S. Charache, R. Jacobson, B. Brimhall, E. A. Murphy, P. Hathaway,
R. Winslow, R. Jones, C. Rath, and Joan Simkovich

Blood 1978

- Mutation in $\alpha 1\beta 1$ -Bindungsstelle → gestörte Kooperativität

HBB c.G328A → HBB p.Val110Met = Hb San Diego

Hemoglobinopathic Erythrocytosis due to a New
Electrophoretically Silent Variant,
Hemoglobin San Diego ($\beta 109(\text{G11})\text{Val} \rightarrow \text{Met}$)

PETER E. NUTE, GEORGE STAMATOYANNOPOULOS, MARK A. HERMODSON, and
DANIEL ROTH with the technical assistance of SIGRID HORNING

JCI 1974

- Mutation in $\alpha 1\beta 1$ -Bindungsstelle → gestörte Kooperativität

HBB c.A440C → HBB p.His147Pro = Hb York

CHARACTERIZATION AND PROPERTIES OF
Hb YORK ($\beta 146 \text{ HIS} \rightarrow \text{PRO}$)

Hiroko Kosugi*, Alan S. Weinstein**,
Kiyomi Kikugawa and Toshio Asakura***

and

Walter A. Schroeder

Hemoglobin 1983

- Mutation in Proton-Donor → reduzierter Bohr-Effekt + reduzierte Kooperativität

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Diagnostik

1. P₅₀ – Bestimmung o. Kalkulation auf Basis venöser BGA:

2. Hb-Analyse:
 - Isoelektrische Fokussierung
 - Elektrophorese (Zellulose-Acetat, Citrat-Agar)
 - HPLC
 - (LC-MS)
 - (Kristallographie)

3. *HBB*- / *HBA*-Genetik

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Diagnostik

1. P₅₀ – Bestimmung o. Kalkulation auf Basis venöser BGA:

2. Hb-Analyse:

- Isoelektrische Fokussierung
- Elektrophorese (Zellulose-Acetat, Citrat-Agar)
- HPLC
- (LC-MS)
- (Kristallographie)

3. *HBB*- / *HBA*-Genetik

P₅₀ normal 26 ± 1.3 mm Hg. 99% CI 22.6 to 29.4 mm Hg

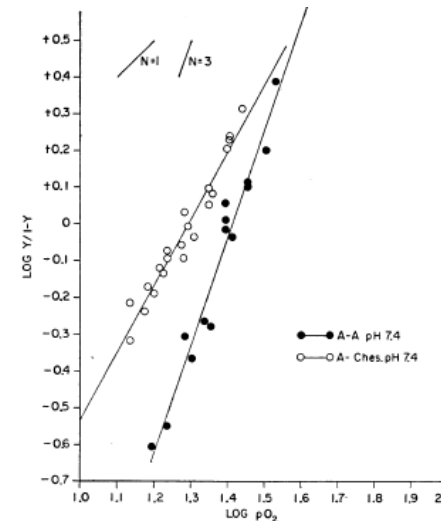


FIG. 5. OXYGEN AFFINITY AT 38° C OF BLOOD FROM THE PROPOSITUS AND A NIECE (○). Data are compared with data from four controls (●) and plotted according to Hill's equation, in which y = fraction of hemoglobin present as oxyhemoglobin and n = slope of the line. Reference lines with slopes of 1 and 3 are shown in the upper left-hand corner of the Figure.

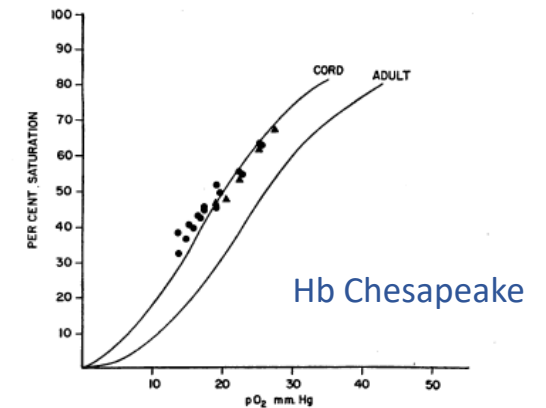


FIG. 4. OXYGEN AFFINITY AT 38° C OF BLOOD FROM THE PROPOSITUS (●) AND A NIECE (▲). Data are compared with data of Hellegers and Schrufer for maternal and fetal blood (24).

Charache S, et al. JCI 1966

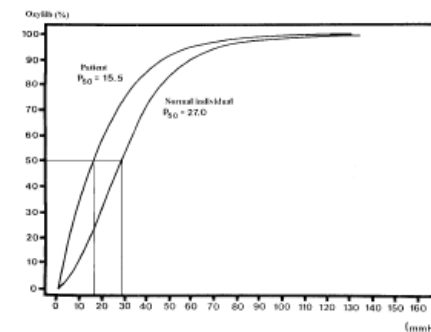


Fig. 3 O₂-dissociation curve for the patient (1) and a control person (2). The patient's O₂-dissociation curve is shifted to the left, with a reduced P₅₀ value of 15.5 mmHg. This change is caused by the abnormal Hb fraction

Hb York

Misgeld E, et al. Ann Hematol 2001

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Diagnostik

1. P₅₀ – Bestimmung o. Kalkulation auf Basis venöser BGA:

2. Hb-Analyse:

- Isoelektrische Fokussierung
- Elektrophorese (Zellulose-Acetat, Citrat-Agar)
- HPLC
- (LC-MS)
- (Kristallographie)

3. HBB- / HBA-Genetik

P₅₀ normal 26 ± 1.3 mm Hg. 99% CI 22.6 to 29.4 mm Hg

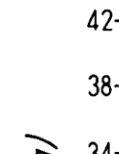
Lichtman MA, et al. Ann Intern Med 1976

$$AS\ REC\ P_{50}\ std = \text{antilog} \frac{\log 1/k}{n},$$

$$\text{where } 1/k = [\text{antilog} (n \log PO_{2(7.4)})] \cdot \frac{100 - SO_2}{SO_2}.$$

A Hill constant (n) for hemoglobin A of 2.7 was used in all calculations. The PO₂ in venous blood measured at 37 °C was converted to PO₂ at pH 7.4 with the formula:

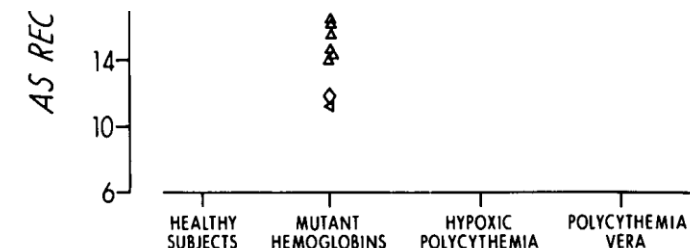
$$\log PO_{2(7.4)} = \log PO_2 - [0.5(7.40 - \text{pH})],$$



Einfacher:

Agarwal N, et al. Int J Med Sci 2007

<http://www.medsci.org/v04p0232s1.xls>



Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Diagnostik

1. P₅₀ – Bestimmung o. Kalkulation auf Basis venöser BGA:

2. Hb-Analyse:

- Isoelektrische Fokussierung
- Elektrophorese (Zellulose-Acetat, Citrat-Agar)
- HPLC
- (LC-MS)
- (Kristallographie)

3. *HBB*- / *HBA*-Genetik

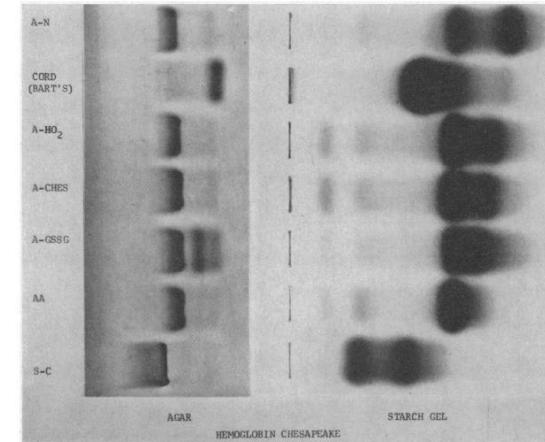


FIG. 1. HEMOGLOBIN ELECTROPHORESIS ON AGAR (pH 6.0) AND STARCH GEL (pH 8.6) (BROMOPHENOL BLUE STAIN). Hemoglobin Chesapeake is compared with hemoglobins N, Bart's (and F), Hopkins-2, synthetic hemoglobin-glutathione complex, S, and C.

Hb Chesapeake

Charache S, et al. JCI 1966

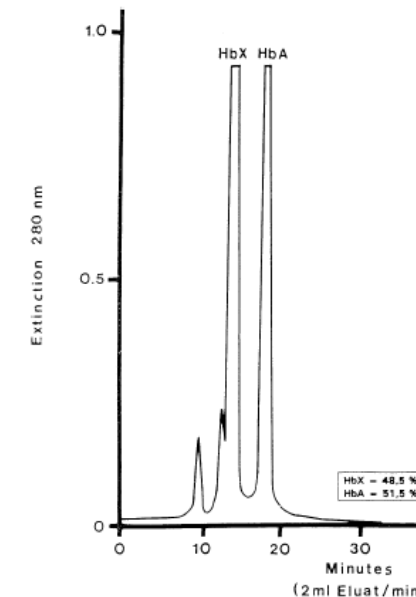


Fig. 2 Hemoglobin separation by HPLC on cation-exchange monobeads (MONO S HR5/5)

Hb York

Misgeld E, et al. Ann Hematol 2001

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

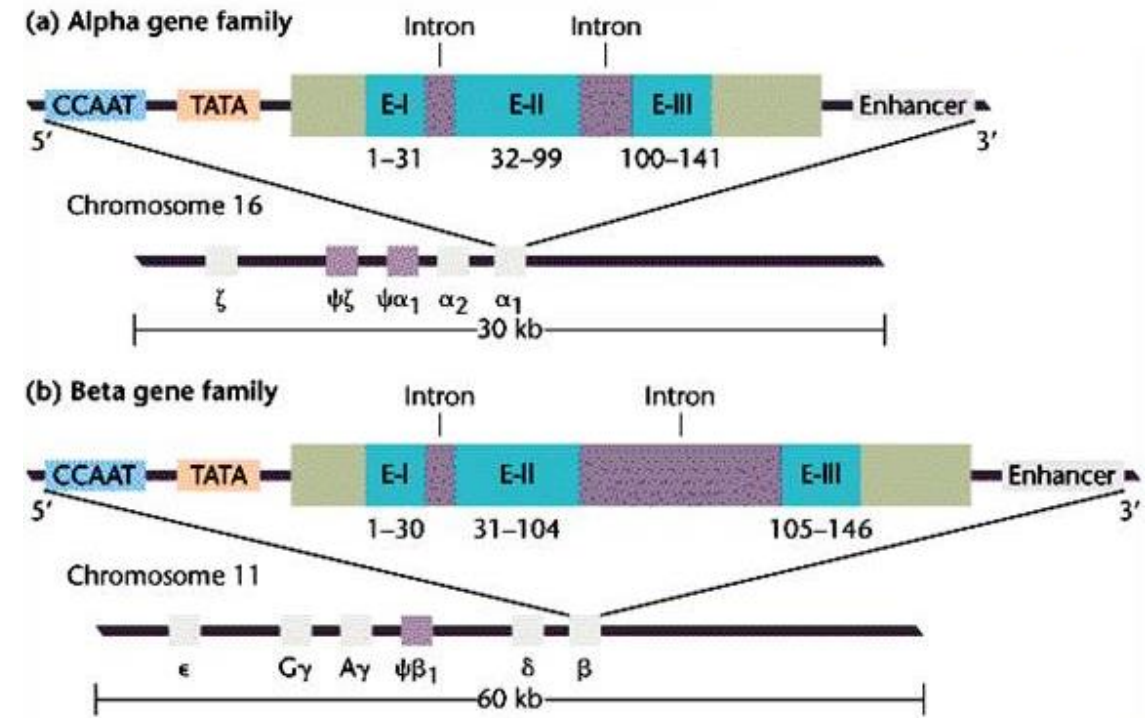
Diagnostik

1. P₅₀ – Bestimmung o. Kalkulation auf Basis venöser BGA:

2. Hb-Analyse:

- Isoelektrische Fokussierung
- Elektrophorese (Zellulose-Acetat, Citrat-Agar)
- HPLC
- (LC-MS)
- (Kristallographie)

3. *HBB*- / *HBA*-Genetik



Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Blutbild

Hb San Diego

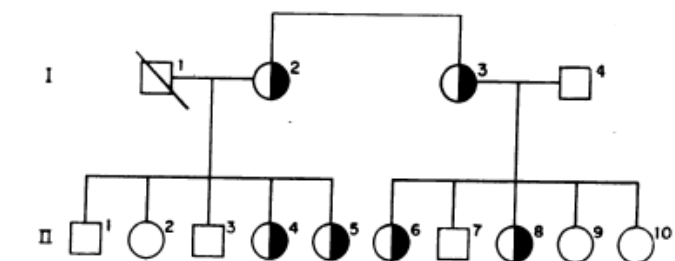


FIGURE 1 Pedigree of family with Hb San Diego, illustrating dominant mode of inheritance of erythrocytosis. □, ○, normal; ●, carriers of Hb San Diego.

TABLE I

Data on Hematology and Hemoglobin Function for Members of the Family with Hb San Diego

Individual	Age	Hb	Hematocrit	Hb A ₂	Hb F*	P ₅₀ †	Hill's n	Hb San Diego
		g/100 ml	%	%	%	mm Hg		
I-2§	37	18.0	52	3.25	1.46	6.81	2.24	+
II-1	15	15.8	42	2.46	0.90	11.21	2.96	—
II-2	13	15.0	40	2.65	0.75	11.12	2.89	—
II-3	11	12.8	38	2.76	0.59	11.07	2.93	—
II-4	9	16.8	47	2.00	0.84	6.49	2.06	+
II-5	5	15.8	46	2.24	2.11	6.69	2.13	+
I-3	35	18.1	50	2.02	1.77	7.29	2.12	+
I-4	?	14.2	42	1.75	0.53	12.00	2.95	—
II-6	15	17.2	50	2.04	1.34	6.93	2.10	+
II-7	10	14.0	40	1.91	1.03	11.50	2.92	—
II-8	9	16.8	48	1.69	1.62	6.80	2.02	+
II-9	6	13.6	40	2.45	1.17	11.30	2.95	—
II-10	3	13.2	37	1.70	1.00	11.55	3.01	—

* By alkaline denaturation.

† P₅₀ values measured at pH 6.90, 20°C, using dialyzed hemolysates.

§ Proband.

|| Sister of proband.

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Blutbild

Hb Potomac

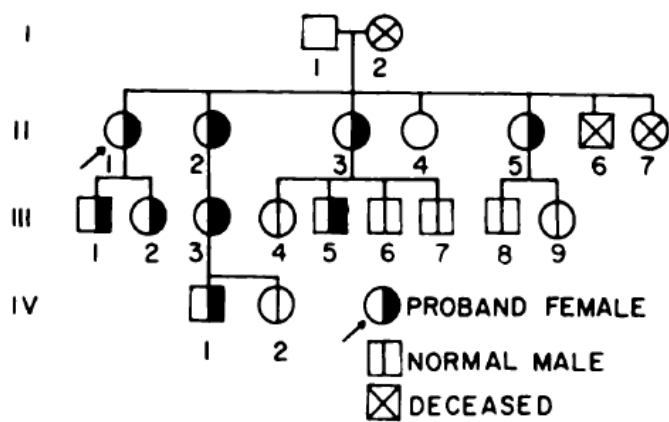


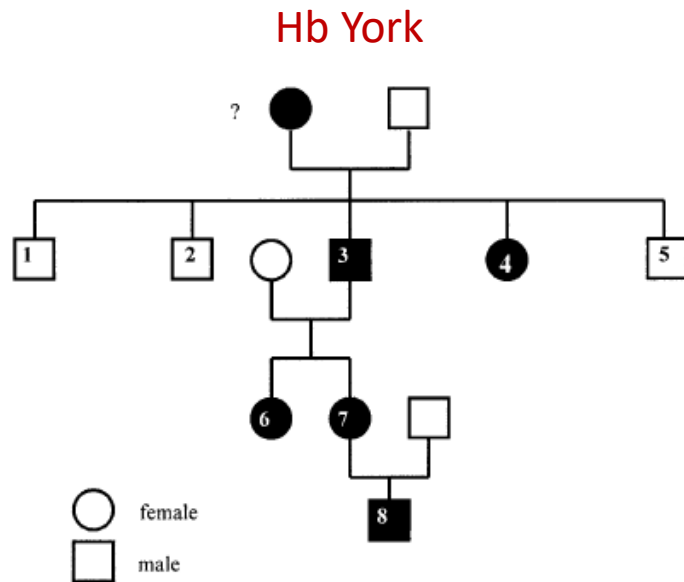
Table 1. Hematologic Data From the Proband's Family

	Age	Sex	Hb (g/dl)	Retic. (%)	P ₅₀ * (mm Hg)
II-1	56	F	19	1.4	3.63
2	60	F	19	0.7	2.3
3	57	F	19	—	2.02
4	51	F	13.7	—	—
5	53	F	20.9	—	0.09
III-1	21	M	19	—	1.90
2	23	F	17	—	2.81
3	31	F	17.9	—	2.62
4	25	F	14.8	—	6.5
5	14	M	17.8	—	2.64
6	26	M	16.4	—	7.23
7	16	M	14.8	—	6.24
8	27	M	14.5	—	5.87
9	19	F	14.9	—	6.98
IV-1	9	M	17.1	—	1.09
2	12	F	14.2	—	8.38

* Hemolysate 0.1 g/dl at 25°C, pH 7.4, 0.05 bis-tris-0.1 M NaCl, in the presence of 1.4×10^{-4} M DPG.

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Blutbild



family member	Hb (g/dl)	Hct (%)	Erythrocytes (Mio./ μ l)	Hb York (%)
1	15,0	46,8	4,70	0
2	14,6	44,5	4,82	0
3 (patient)	17,2	52,6	5,88	48,5
4	17,7	54,9	5,74	50,0
5	14,6	44,3	4,65	0
6	18,2	55,3	5,78	47,5
7	18,5	54,5	5,45	48,6
8	16,8	51,2	5,93	47,1

Fig. 4 Pedigree of the affected family with the Hb York abnormality

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Klinik

➤ Hyperviskositätssymptome

z.B. Kopfschmerz, Ohnmacht, Schwindel,
Bewußtseinsstörungen, Hör-, Sehstörungen,
Parästhesien (Finger, Lippen)

Beispiele:

Hb San Diego: m., 37 J, Kopfschmerz, Schwindel

Hb Potomac: w., 44 J., Schwindel, Fatigue

➤ Arterielle Thrombosen

z.B. ZNS-Infarkt, Myokardinfarkt, periphere arterielle
Thrombosen, Mesenterial- / Milzarterienthrombose,
Raynaud-Syndrom

Beispiele:

Hb San Diego: Bruder v Patient 2 - Myokardinfarkt

Hb York: m., ZNS-Infarkt li. i.A. v. 30 J., DVT i.A. v. 67 J.

Hb Fuchu-II: m., Myokardinfarkt i.A. v. 65 J.

➤ Venöse Thrombosen

z.B. tiefe Beinvenenthrombose,
Nierenvenenthrombose, Pfortader-,
Lebervenenenthrombose, Sinusvenenthrombose

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Klinik

➤ Hyperviskositätssymptome

z.B. Kopfschmerz, Ohnmacht, Schwindel, Bewußtseinsstörungen, Hör-, Sehstörungen, Parästhesien (Finger, Lippen)

➤ Arterielle Thrombosen

z.B. ZNS-Infarkt, Myokardinfarkt, periphere arterielle Thrombosen, Mesenterial- / Milzarterienthrombose, Raynaud-Syndrom

➤ Venöse Thrombosen

z.B. tiefe Beinvenenthrombose, Nierenvenenthrombose, Pfortader-, Leberventhrombose, Sinusvenenthrombose

Höheres Risiko:

- Zusätzliche heterozygote β -Thal. o. instabile *HBB*-Variante auf 2. Allel (für *HBB*-Varianten)
 - Beispiel: Hb Johnstown + Hb Lepore
(Inoue S, et al. Hemoglobin 2012)
 - Beispiel: Hb Regina + β -Thal.
(Gaudreau PO, et al. AJH 2009)
 - Beispiel: Hb Fuchu-II + α -Thal.
(Son R, et al. Intern Med J 2016)
- Risikofaktoren für Thrombophilie
 - Beispiel: Hb Rainier + Protein S-Mangel
(Berruyer M, et al. AJH 1994)
 - Beispiel: Hb Milledgeville (*HBA*) + Faktor V *Leiden*
(Hanns M, et al. Hemoglobin 2002)

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Therapie

➤ Aderlasstherapie

Besserung Hyperviskositätssymptomatik

Cave. Einschränkung der Belastbarkeit möglich
(funktionelle Anämie)

Austauschtransfusion / Erythrozytapherese

➤ Hydroxycarbamid

Induktion von HbF mit $P_{50} = 17,8$ mmHg

➤ Thrombozytenaggregationshemmung

Keine Daten für primäre Prophylaxe oder
symptomatische Therapie

Anwendung in sekundärer Infarktprophylaxe

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Therapie

➤ Aderlasstherapie

Besserung Hyperviskositätssymptomatik

Cave. Einschränkung der Belastbarkeit möglich
(funktionelle Anämie)

Austauschtransfusion / Erythrozytapherese

➤ Hydroxycarbamid

Induktion von HbF mit $P_{50} = 17,8$ mmHg

➤ Thrombozytenaggregationshemmung

Keine Daten für primäre Prophylaxe oder
symptomatische Therapie

Anwendung in sekundärer Infarktprophylaxe

The Effect of Bloodletting on Exercise Performance in a Subject With a High-Affinity Hemoglobin Variant

By Robert M. Winslow, William M. Butler, John A. Kark, Harvey G. Klein, and Winston Moo-Penn

Blood 1982

Table 2. Hemodilution

	L.S.		R.W.	
	Before	After	Before	After
Weight (kg)	65.8	65.8	65.2	65.1
Hb (g/dl)	18.8	15.3	19.1	13.7
Hct (%)	53.2	42.3	57.1	39.6
WBC (10^3 /cu mm)	3.4	4.1	4.3	5.6
Retic (%)	1.1	1.6	1.6	1.5
Blood removed (ml)	1,930		1,820	
Albumin replaced (ml)	2,000		1,860	
Net change (ml)	+ 70		+ 40	

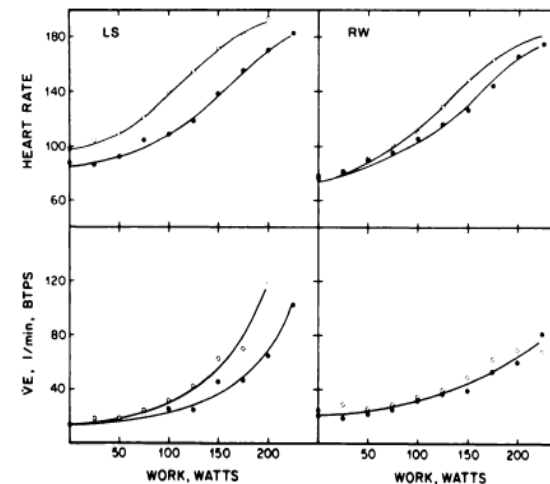


Fig. 2. The effect of hemodilution on heart rate and minute ventilation. Data from subject L.S. are compared with those from subject R.W. before (closed symbols) and after (open symbols) hemodilution.

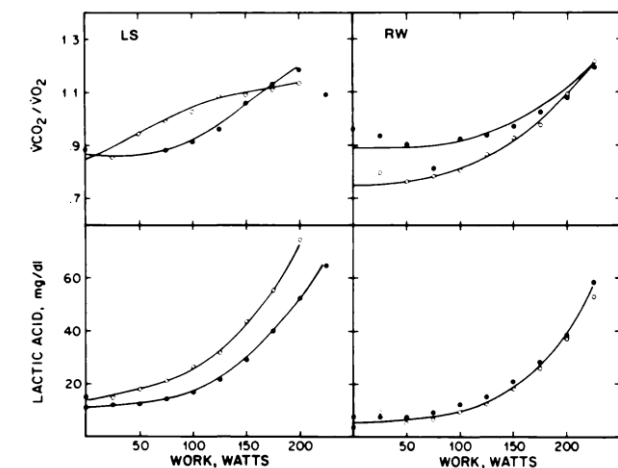


Fig. 5. The effect of hemodilution on the gas exchange ratio ($\dot{V}CO_2 / \dot{V}O_2$) and lactic acid accumulation. Data from L.S. are compared with those from R.W. before (closed symbols) and after (open symbols) hemodilution.

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Therapie

➤ Aderlasstherapie

Besserung Hyperviskositätssymptomatik

Cave. Einschränkung der Belastbarkeit möglich
(funktionelle Anämie)

Austauschtransfusion / Erythrozytapherese

➤ Hydroxycarbamid

Induktion von HbF mit P₅₀ = 17,8 mmHg

➤ Thrombozytenaggregationshemmung

Keine Daten für primäre Prophylaxe oder
symptomatische Therapie

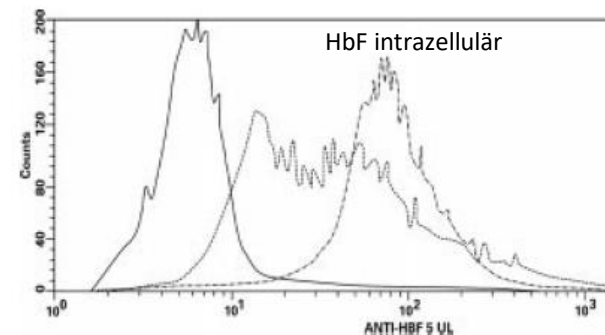
Anwendung in sekundärer Infarktprophylaxe

Treatment with hydroxyurea in a patient compound heterozygote for a high oxygen affinity hemoglobin and β -thalassemia minor

Pierre-Olivier Gaudreau,¹ Xiaoduan Weng,¹ Ghislain Cournoyer,¹ Louise Robin,¹
Carmen Gagnon,² and Denis Soulières¹

AJH 2009

Time (months)	HU dose (mg/kg)	Hb (g/L)	Ht (%)	HbF (%)	P ₅₀ (mmHg)
Baseline	0	187	61.1	3.6	6
3	21	222	69.4	9.1	6
6	25	183	56.9	15.1	9
9	25	137	42.2	27.9	10
12	25	126	38.6	29.8	n/a
24	25	124	38.2	27.3	10
36	25	119	36.2	28.5	n/a
48	25	151	46.3	26.3	n/a



Time (months)	TBV (mL/kg)	EV (mL/kg)	PV (mL/kg)
Baseline	129.26	74.87	54.39
3	n/a ^a	n/a	n/a
6	109.26	51.73	57.53
9	n/a	n/a	n/a
12	100.67	40.65	60.02
24	90.92	34.48	56.44
36	84.62	32.04	52.58
48	87.08	32.11	54.97

Hämoglobin – Varianten mit erhöhter O₂-Affinität

Therapie

➤ Aderlasstherapie

Besserung Hyperviskositätssymptomatik

Cave. Einschränkung der Belastbarkeit möglich
(funktionelle Anämie)

Austauschtransfusion / Erythrozytapherese

➤ Hydroxycarbamid

Induktion von HbF mit $P_{50} = 17,8$ mmHg

➤ Thrombozytenaggregationshemmung

Keine Daten für primäre Prophylaxe oder
symptomatische Therapie

Anwendung in sekundärer Infarktprophylaxe

A Newly Characterized Hemoglobin Variant with a High Oxygen Affinity, Hb Fuchu-II, Presenting with Acute Myocardial Infarction

Raku Son¹, Takakazu Higuchi², Atsushi Mizuno³, Ryosuke Koyamada²,
Sadamu Okada² and Yasuhiro Yamashiro⁴

Intern Med 2016

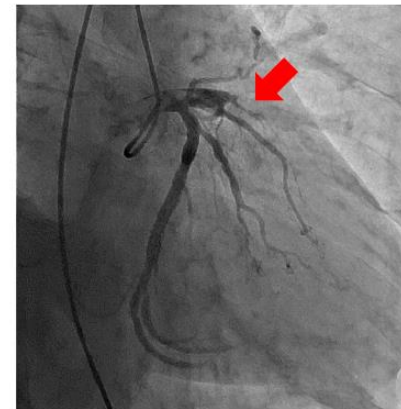


Figure 1. Coronary angiography (CAG) at the onset of acute myocardial infarction. Emergent CAG performed on admission reveals an occlusion of the #6 branch of the left anterior descending artery (arrow).

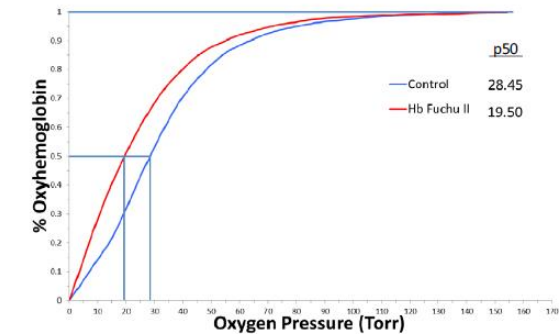
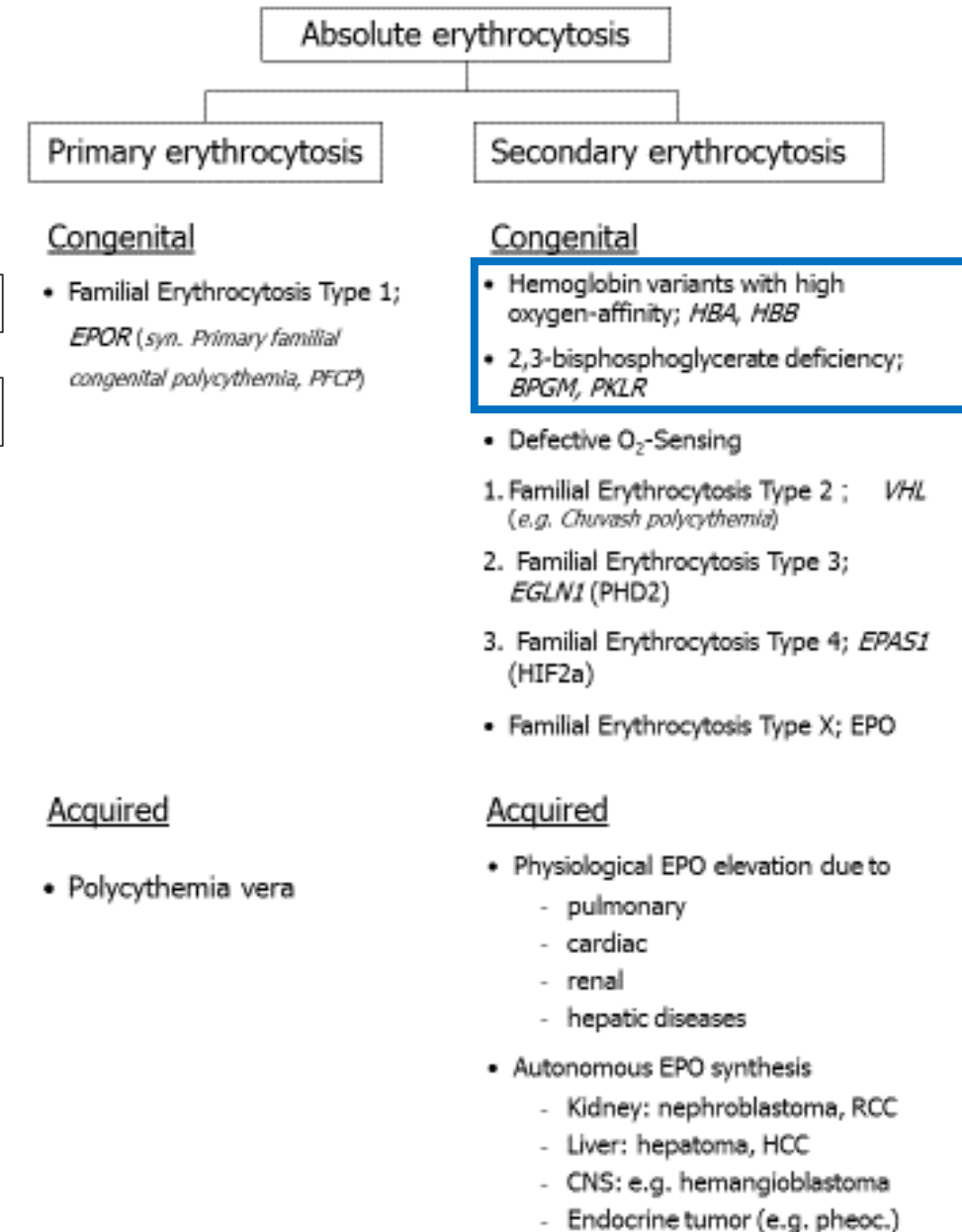
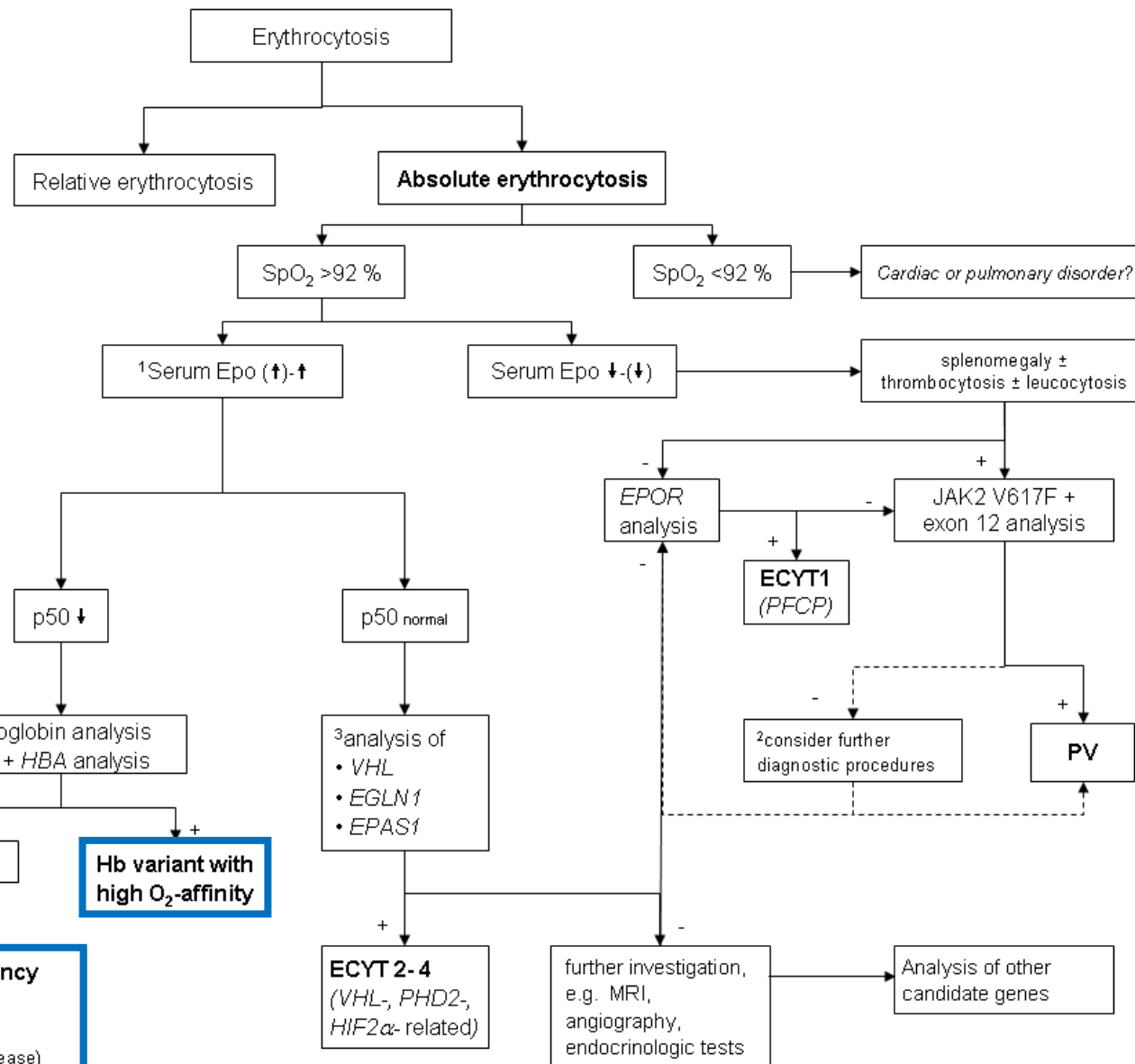


Figure 2. The oxygen equilibrium curve of the hemoglobin (Hb). The oxygen dissociation curve of the patient's Hb (red curve) was shifted to the left compared to the control (blue curve) and the p50 was 19.5 Torr, compared to 28.5 Torr in the control.

$$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha^{\text{Fuchu-II}}$$

- Post-MI Clopidogrel/ASS
- Später ASS plus Warfarin (intrakard. Thrombus)



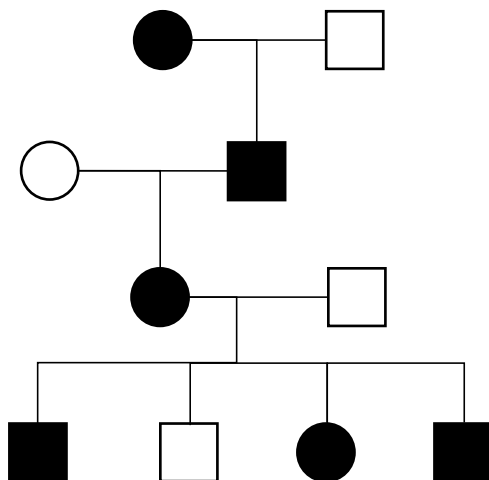
Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !



8. Symposium HÄMATOLOGIE HEUTE

Mai 2020, Ulm

www.haematologie-heute.de



CHARACTERIZATION AND PROPERTIES OF
Hb YORK ($\beta 146$ HIS $\rightarrow$ PRO)

Hiroko Kosugi*, Alan S. Weinstein**,
Kiyomi Kikugawa and Toshio Asakura***

and

Walter A. Schroeder

CHARACTERIZATION AND PROPERTIES OF
Hb YORK ($\beta 146$ HIS $\rightarrow$ PRO)

Hiroko Kosugi*, Alan S. Weinstein**,
Kiyomi Kikugawa and Toshio Asakura***

The Children's Hospital of Philadelphia, Dept. of Pediatrics
and Dept. of Biochemistry and Biophysics, **Dept. of
Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pa. 19104,

and

Walter A. Schroeder

Division of Chemistry and Chemical Engineering (Contribution No.
6614), California Institute of Technology, Pasadena, Ca. 91125.

Hämoglobin – Aufbau, Funktion, O₂-Affinität

- Tetramer aus 2 α - und 2 β -Globin-Ketten
- Je 1 α -Kette und 1 β -Kette bilden Dimer mit $\alpha 1 \beta 1$ -Interaktion, enge Bindung (Monomere instabil)
- Bindung zu zweitem Dimer über $\alpha 1 \beta 2$, schwächer
- O₂-Bindung destabilisiert $\alpha 1 \beta 2$ -Interaktion
 - Transition der Quartärstruktur von „T“ („tense, niedrigaffin, deoxygeniert) zu „R“-Status („relaxed“, hochaffin, oxygeniert)
 - erleichtert O₂-Bindung an weitere Untereinheiten
 - Kooperative O₂-Bindung → „Sigma“-förmige Bindungskurve (max. O₂-Abgabe bei geringem O₂-Abfall im Gewebe)
- Bohr-Effekt: Protonenfreisetzung bei Transition von „T“ zu „R“ → pH-Anhängigkeit des P₅₀
- 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) = Nebenprodukt der Hämolyse
 - 2,3-DPG bindet an Hb, stabilisiert „T“-Status, erleichtert O₂-Abgabe

P₅₀ = O₂-Partialdruck, bei dem 50% des Hb mit O₂ gesättigt sind