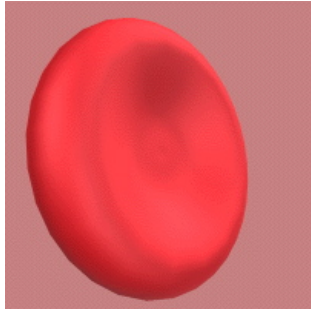


Hämoglobine mit tatsächlich oder scheinbar erniedrigter Sauerstoffaffinität

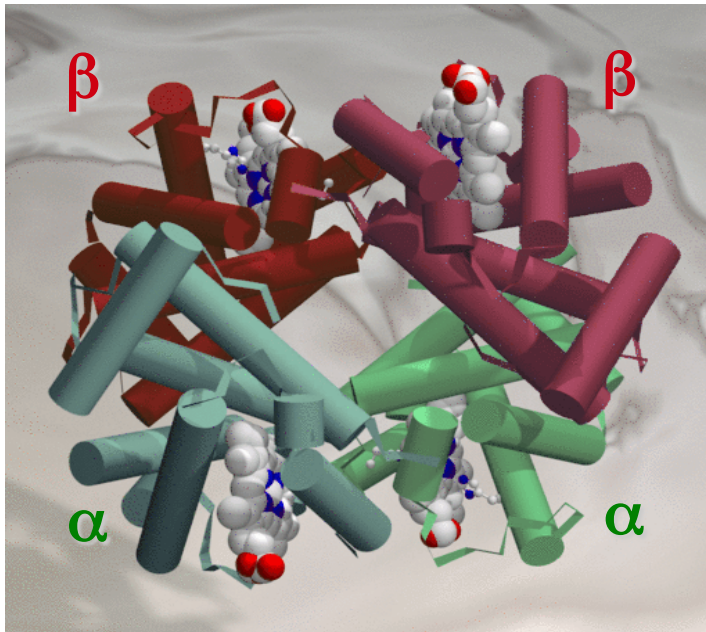
Prof. M. Schmutzger Liner
Paediatrische Hämatologie FMH, FAMH
März 2019

Erythrozyten, Hämoglobin



Erythrozyt

- Mensch: 20-30 Billionen EC
- Jeder EC: ca 650 Mio Hb-Moleküle



Hämoglobin

- 2 α (141 AS); 2 β (146 AS)
- 1799 Hämoglobinvarianten (2019)
- 48 Hb-Varianten mit $\downarrow O_2$ -Affinität
 - 38 β - Globin-Varianten
 - 10 α - Globin-Varianten
 - ? γ - Globin-Varianten

(<http://globin.bx.psu.edu/hbvar>)

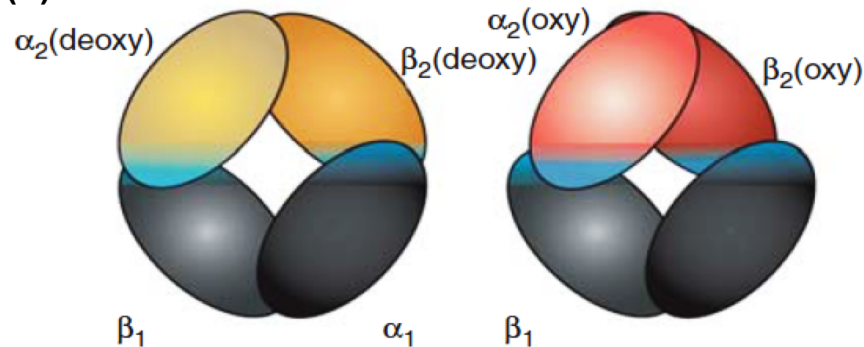
Anpassung der Hämoglobin-Sauerstoffaffinität

Der „Tense“ (T) und „Relaxed“ (R) Zustand

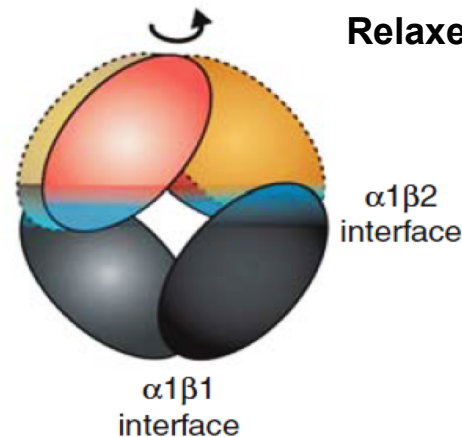
Kooperativität des Hämoglobins

- „T“-tense (low O₂ Affinitiy, Desox.) to „R“ relaxed (high O₂ Affinitiy, Ox.)
- Quarternäre Struktur des Hämoglobin verändert je nach T oder R-State
- O₂ Bindung führt zu Destabilisation alpha/beta Globinketten-Bindung
- Auch: vermehrte O₂ Bindung an „Häm-fernen“ Globinanteilen

Tense (T) State



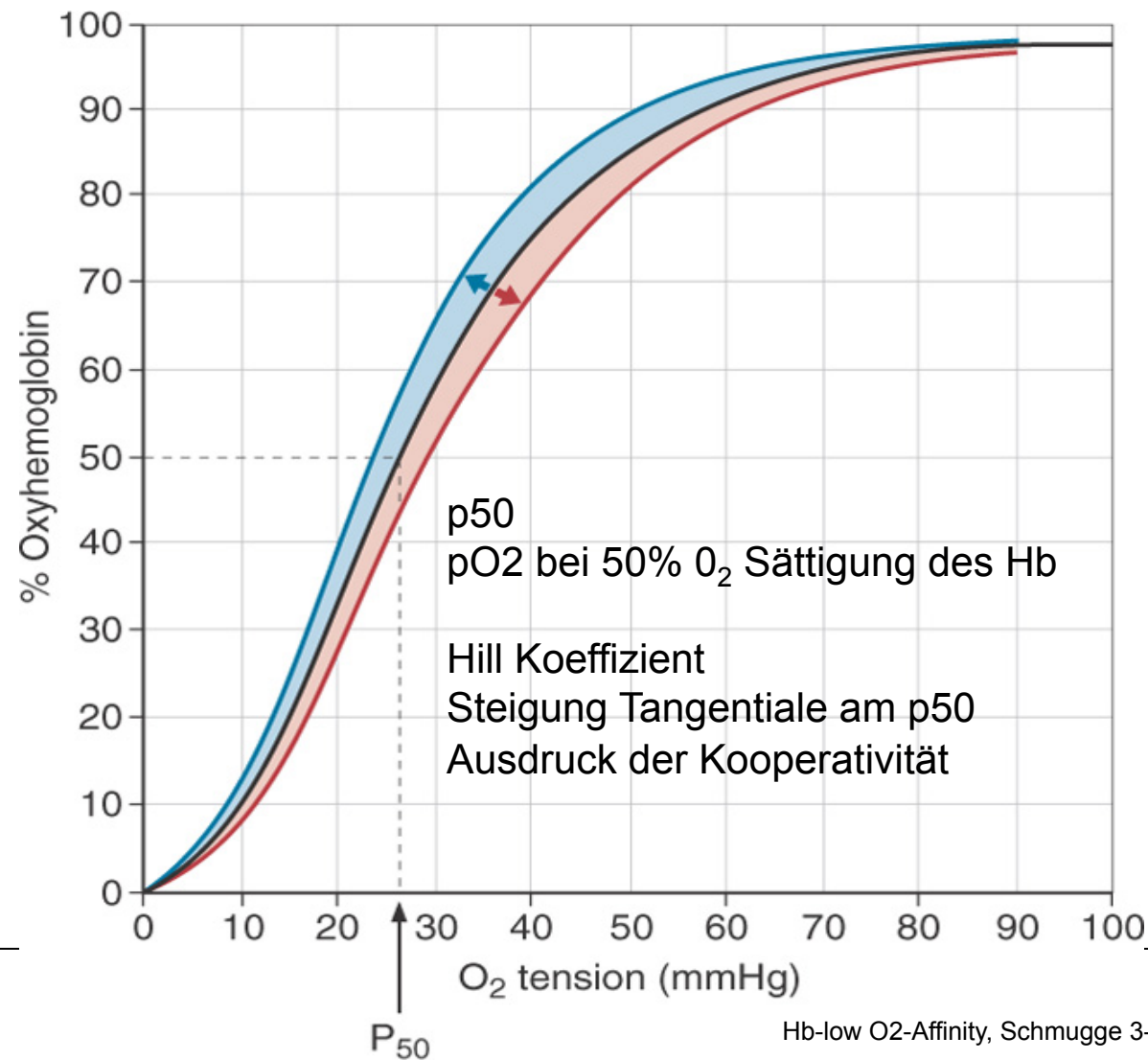
Relaxed (R) State



Thom, Cold Spring Harb Perspect Med 2013

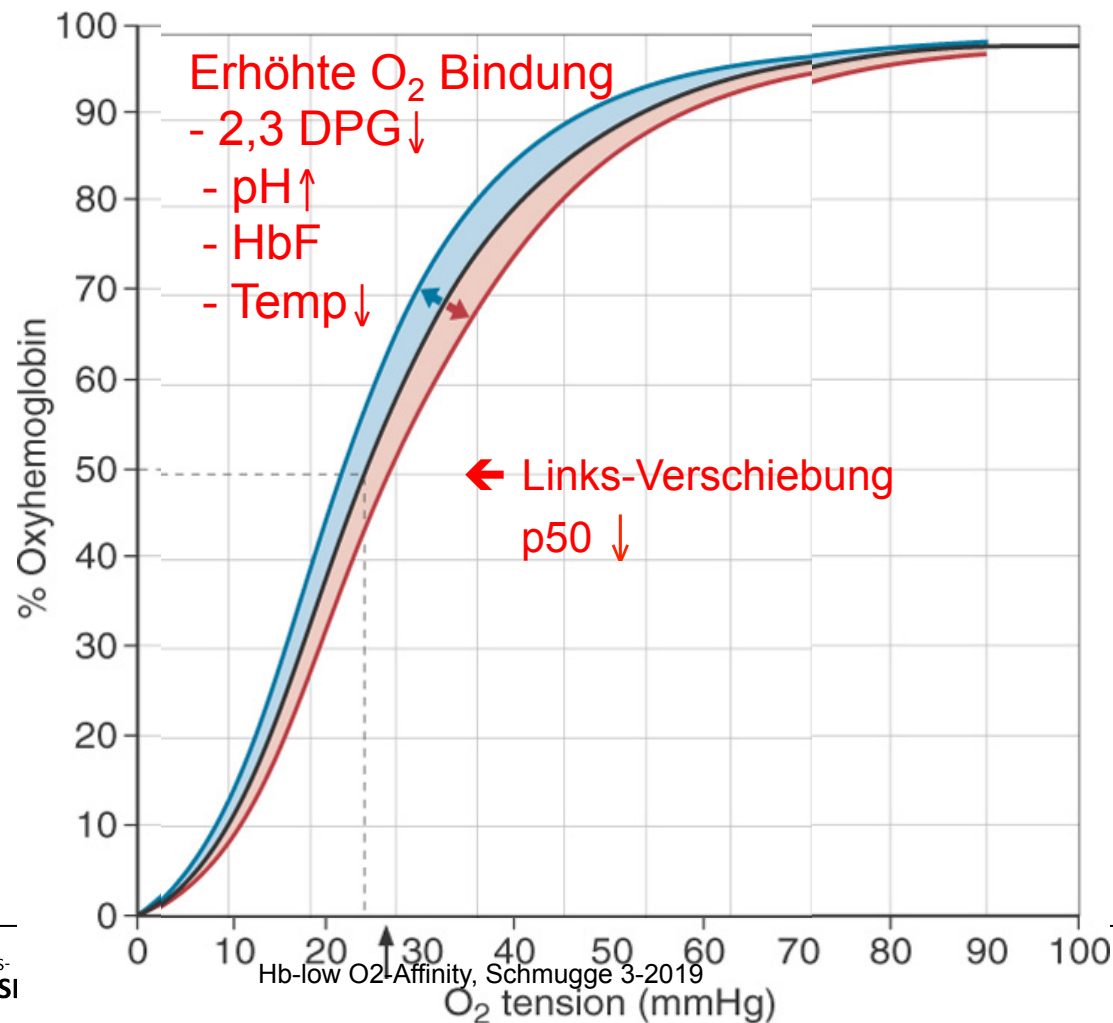
Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität

Hill Kurve



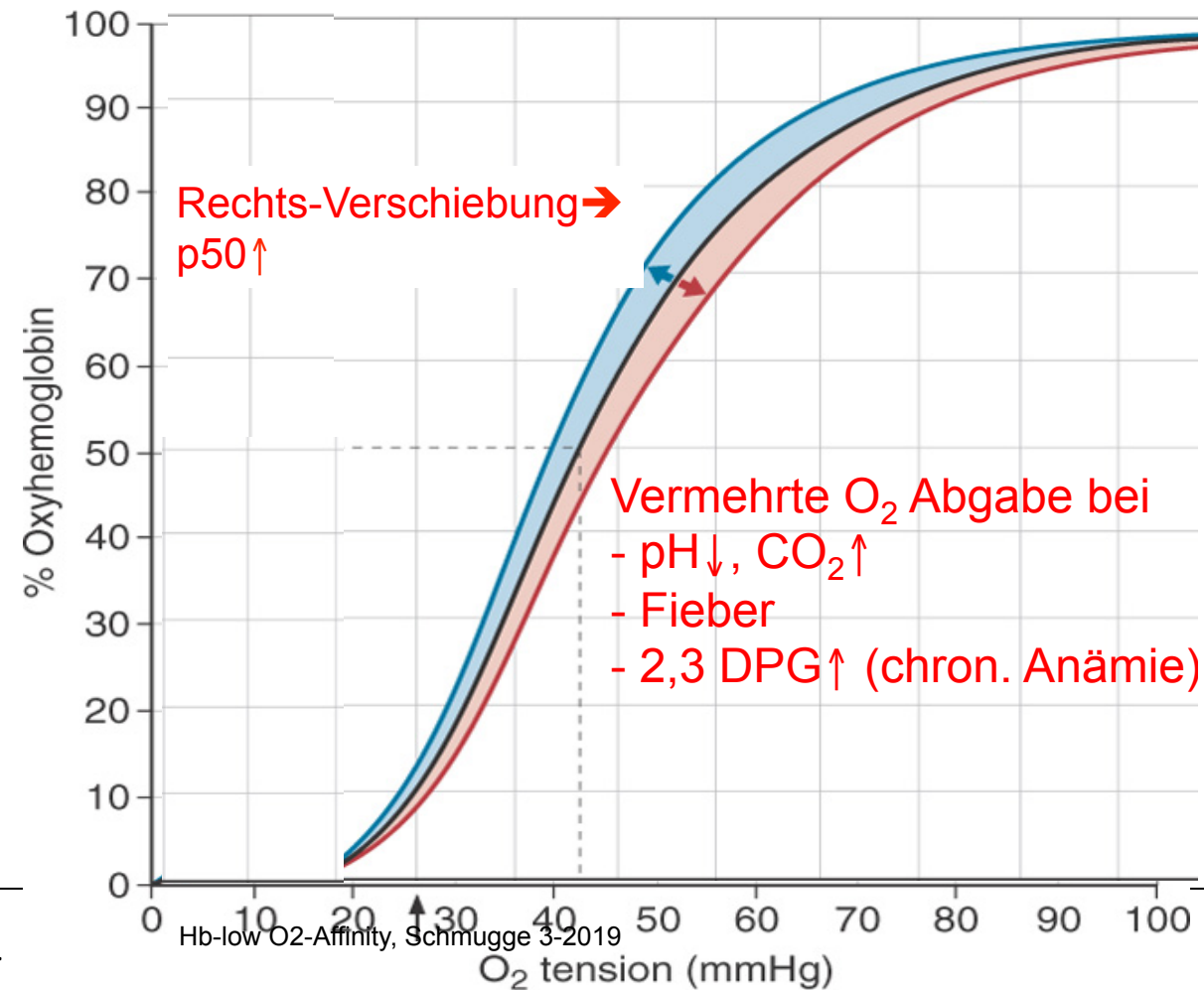
Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität

Links-Verschiebung der Hill Kurve



Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität

Rechts Verschiebung der Hill Kurve



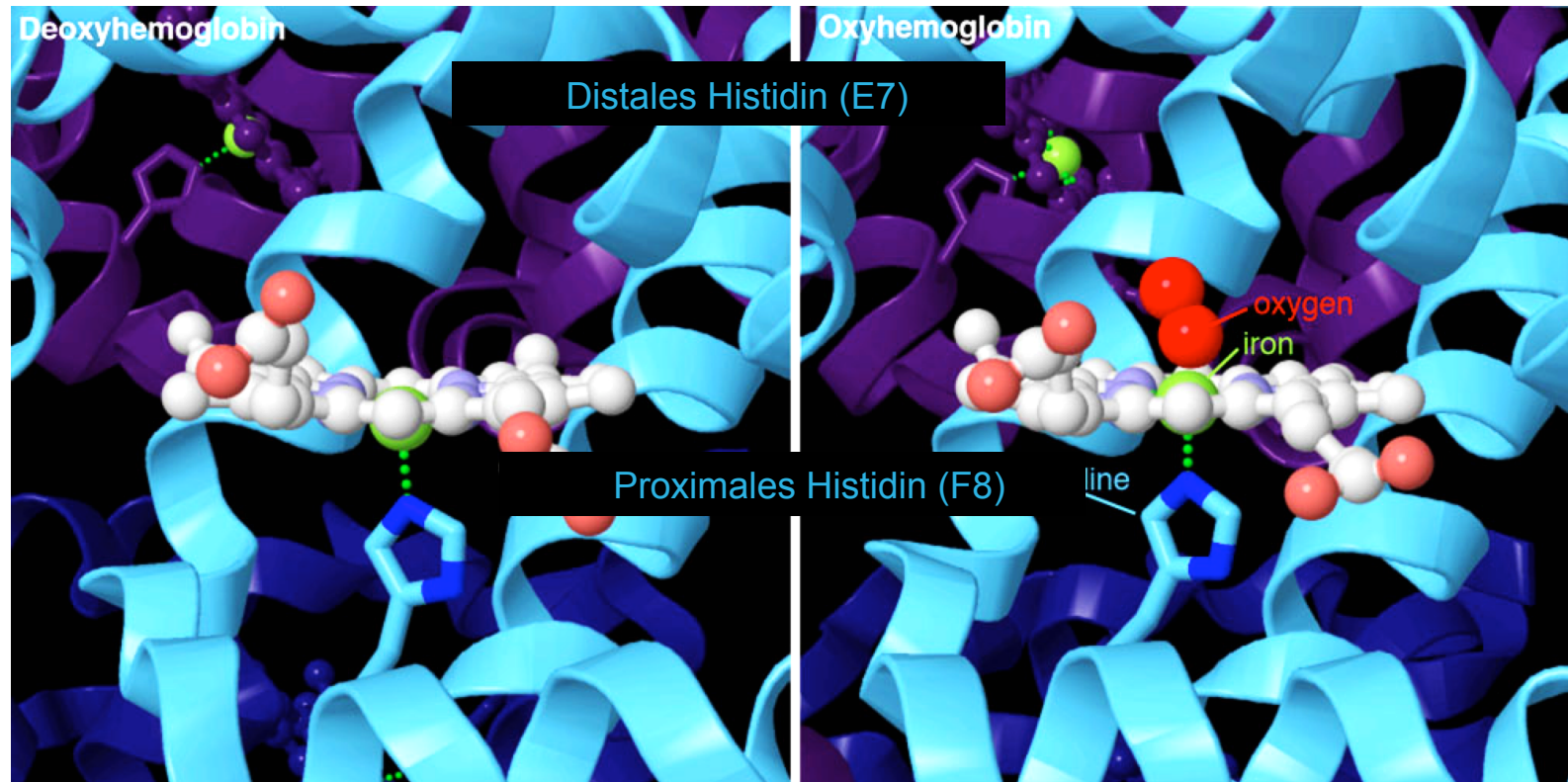
Wichtige Funktionselemente für O₂ Bindung am Hämoglobin

Parameter die bei der Kooperation des Hb beteiligt sind und zum T (desoxy) und R (oxy) State beitragen

- Anordnung Globinketten und AS-Sequenz in Umgebung Hämgruppe
- Veränderungen Salz-, Wasserstoffbrücken zwischen Globinen und Häm
- Proximales- (F8) Histidin: Wichtig für reversible O₂ Aufnahme
- Distales Histidin (E7): Stabilisiert O₂ Bindung, verhindert Autooxidation
- Allosterische Regulatoren: 2,3 DPG, CO₂, H₂, Cl⁻

Desoxy- und Oxyhämoglobin

T“-tense (low O₂ Affinitiy) to „R“ relaxed (high O₂ Affinitiy)



Pseudozyanose (Zyanose ohne Dyspnoe) bei Hämoglobinvarianten

Zyanotisch braun blasses Kolorit

Typische „Sättigungsdiskrepanz“, auch mit

- Tiefe transkutane Sättigung (SpO₂, F_{et}O₂) normal
- Arterielle Sauerstoffsättigung (SaO₂) vermindert oder normal
- Arterieller Sauerstoffpartialdruck (PaO₂) normal, 10-12kPa, 80-100 mmHg

Bedsite Test, Makroskopische Blutfärbung

- „Low Affinity Hb“, Cardiovascular: Reversible Dunkel (braun)-Farbe
- Met-Hb, HbM: Dunkelfärbung nicht reversibel (fiO₂) „braunes Blut“



Hydroxyhämoglobin
Herzvitium (re-l Shunt), Herzinsuffizienz
Methämoglobin, Sulfhämoglobin
Verminderte Sauerstoffkonzentration

Hämoglobinvarianten, veränderte Sauerstoffaffinität Laboruntersuchungen

Hb, MCV, Reti

Blutbild: Einschlusskörper ? Heinz, basophile Tüpfelungen ?

HPLC Chromatographie

- Abnormaler Peak: HbF Doppelpeak, „distorted Peak“
- Hb-Variante: HbM
- Cave Instabile Hämoglobine

Sauerstoff Bindungskurve „Tonometrie“ (p50, Hill Koeffizient)

Messmethoden, Bestimmung der Hb-Oxygenierung und der Sauerstoff-Affinität des Hämoglobins

	Methode	
Pulsoximetrie	Lichtabsorbtion Ratio von oxygeniertem (660nm) und desoxygeniertem Hb (940 nm)	
Arterielle Blutgasbestimmung	Elektrochemische Bestimmung Reduktion Blut-O ₂ an Kathode	
„Tonometrie“ Sauerstoff Bindungskurve	Messung der %HbO- Sättigung unter zunehmendem P _{O2} , Bestimmung p50 Hill Koeffizient	Aufwendig Nur noch 1 Hersteller HEMOX Analyser, TCS



Hämoglobinvarianten mit reduzierter Sauerstoffaffinität

Klassische zyanotische Formen, milde +/- Anämie und Zyanose
Mehrheitlich Beta Globin-Mutationen

Oligosymptomatische Formen (Zufallsbefunde) ohne Zyanose,
Mutation der alpha und beta Globinkette

„Übliche Verdächtige“ HbS, HbE

HbM Varianten

Mutation der gamma Globinketten

Hämoglobinvarianten mit reduzierter O₂-Affinität

Charakteristika

Formen mit Zyanose

Substitutionen im Bereich der $\alpha 1\beta 1$ Globinketten-Interaktion

- Klassische AS-Substitution bei $\beta 102$ (Hb-Kansas, -Beth-Israel, -Bonn)
- Hemmen v.a. O₂- Aufnahme bei pO₂ >50 mmHg (Abgabe unbeeinflusst)
- Ev. milde +/- Anämie, normozytär
- Erhöhter p50 und reduzierte Hill-Koeffizient (Kooperativität reduziert)

Thom, Cold Spring Harb Perspect Med 2013
Bunn, Disorders of Hemoglobin, 2001, Cambridge press

□ CASE REPORT □

Hemoglobin Kansas as a Rare Cause of Cyanosis: A Case Report and Review of the Literature

Yoshikuni Nagayama, Minoru Yoshida, Tadashi Kohyama and Katsuyuki Matsui

Table 2. Clinical Data of Hb Kansas Patients Reported in Japan.

Patient No.	Ref.	Sex	Age (year)	Hb (g/dL)	MCV (fL)	Reticulocyte (%)	SpO ₂ (%)	SaO ₂ (%)	PaO ₂ (mmHg)
1	8	F	9	12.4	80	2.1	ND	69	101.3
2	8	M	40	14.9	94	2.1	ND	ND	87
(father of 1)									
3	9	F	62	17.7	92	ND	ND	57.2	96.8
4	9	F	ND	12.5	92	ND	ND	60.8	100
(daughter of 3)									
5	10	F	57	13.7	96	ND	ND	57.3	84.6
6	Present	F	65	13.9	90	1.1	70	58.1	88.7

Nagayama, Intern Med 2017

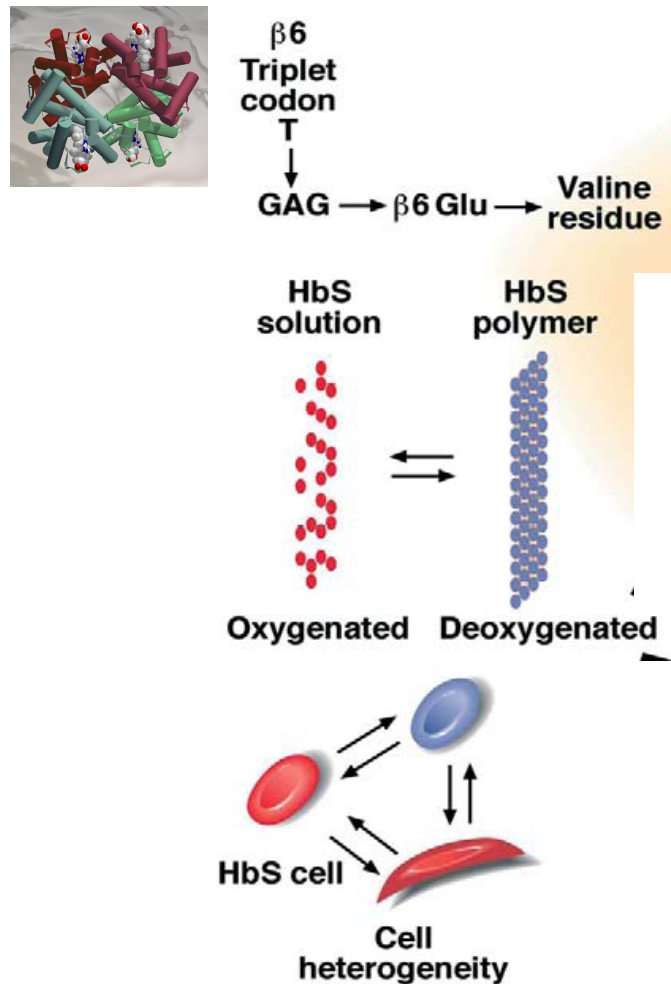
Hämoglobine mit verminderter O₂- Affinität

Klinisch milde Formen, ohne Zyanose

- Zurbriggen K, Schmid M, Schmugge M, Troxler H, Speer O.
HbAlperton [b135(H13)Ala -Val] shows decreased oxygen affinity.
Hemoglobin 2009,33:498-502.
- Karow A, Eekels JJ, Schmid M, Schmugge M, Speer O.
Hb G-Waimanalo [A1] [?64(E13)Asp?Asn; HBA1: c.193?G?>?A] with Decreased Oxygen Affinity. Hemoglobin. 2015;39:432-4.

	Hb Alperton	Hb G-Waimanalo
Alter Patient	14j, m	12j, m
Hb g/l; MCV fl	13.0, 63 (- $\alpha^{3.7}$ mutation)	13,7; 73
p50 (Norm 4,3 kpa)	4.75	5,73
Hill-Koeffizient (2,5)	2.8	2,7
Anamnese (PA, FA)	Unauffällig, Zufallsbefund	Unauffällig, Zufallsbefund

HbSS, Sichelzellerkrankung



Reduzierte Sauerstoffaffinität bei HbS

- Rechtsverschobene Hill-Kurve
- Erhöhte 2.3 DPG Konzentration
- Im Unterschied zu oxygeniertem HbS ist bei desoxygeniertem HbS und Polymerbildung O_2 -Affinität deutlich reduziert (Kooperativität↓)
- Relevant bei tiefem pO_2 (Höhenluft >2000m)
- Pulsoxymetrie bei normalem pO_2 verlässlich

Abdu A, Respir Physiol Neurobiol. 2008

HbE, die „asiatische Hämoglobinvariante“ mit reduzierter O₂- Affinität

Adaptation to anemia in hemoglobin E-β thalassemia

Angela Allen,^{1,2} Christopher Fisher,³ Anuja Premawardhena,⁴ Timothy Peto,¹ Stephen Allen,² Mahinda Arambepola,⁵ Vivekanandan Thayalsutha,⁶ Nancy Olivieri,⁶ and David Weatherall¹

Table 1. Basic data for patients with HbE β thalassemia, controls and related diseases

	n	Hb (g/dl)	P ₅₀ (mmHg)	2,3-BPG (μmol/gHb)
HbE β thalassemia				
Mild	36	5.6 (3.7-8.8)	28.2 (22.6-31.2)	22.7 (9.39-44.4)
Severe	20	4.9 (3.2-7.4)	27.8 (25.1-30.2)	27.2 (7.9-48.2)
Total	56	5.4 (3.2-8.8)	27.9 (22.6-31.2)	24.0 (7.9-48.2)
Hb E δβ thalassemia	1	10.3	24.7	21.9
β thalassemia intermedia	2	4.0 5.4	21.8 22.0	19.9 27.7
β/δβ thalassemia	3	8.0 9.96.9	21.9 19.5 22.5	17.0 14.7 11.9
Hb S β thalassemia	1	7.5	26.9	33.1
Sickle cell anemia	2	9.5 8.1	30.3 30.7	44.2 28.9

Allen, Blood 2010

HbM

Fallvorstellung (Vortrag Frau Dr. A. Bosch am Freitag)

Familie W, Geraldine 4. Kind

- Unauff. Familienanamnese
- TG, SG, 40.SSW, GG 3810g
- Apgar 9/9/9, NSapH 7.21
- Zentrale Zyanose, keine Anämie
- Im Übrigen klinisch gesund



Blutgas Ergebnis

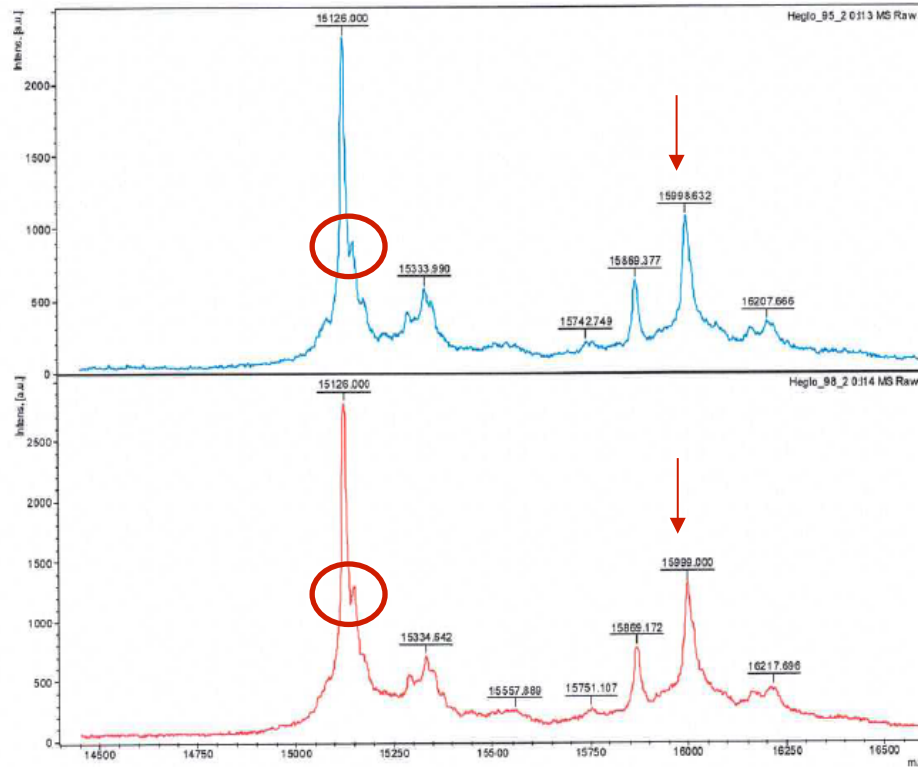
pH	7.370	
pCO ₂	5.61	kPa
pO ₂	6.30	kPa
cBase(Ecf) _c	-0.8	mmol/L
? cHCO ₃ ⁻ (P,st) _c	22.7	mmol/L
cHCO ₃ ⁻ (P) _c	23.8	mmol/L

Oxymetrie Ergebnis

? Hct _c	50.0	%
? ctHb	16.3	g/dL
? sO ₂	65.4	%
? FMetHb	10.3	%

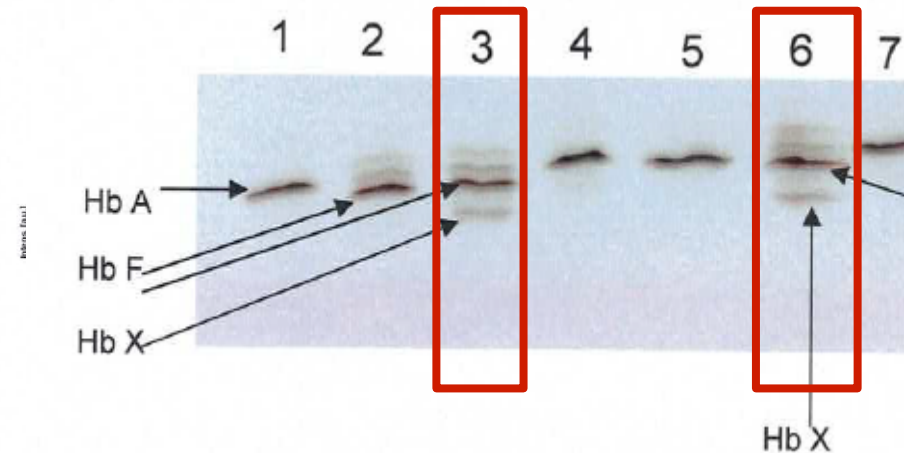
HbM Iwate

Indexpatient 95/98



Die beiden Proben zeigen auf der alpha-Kette ein Zusatzsignal bei 15'150 Da (+24 Da), sowie ein deutliches Hb F-Signal bei 15'999 Da.

Abnormale Peaks/Banden in HPLC Und IEF



Sanger Sequencing
Heterozygote Mutation an der
Position alpha 1 CD87 (C->T) im
alpha-Globin-Gen

Hämoglobin M, HbM Iwate

- HbVar: 13 HbM Varianten (β , α , γ) davon 9 Mutation im F8 oder E7
- Veränderungen in Umgebung Häm-Rings
 - des Fe-Oxygenierungsverhaltens (mehr Fe³⁺)
 - Reduzierte Häm-Stabilität, irreversibles Met-Hb
- Met-Hb: Häm wegen reduzierter Stabilität aus Umgebung gelöst und nicht mehr durch CBR reduzierbar
- Erstbeschreibung
 - Elektrophorese 1948 (Horlein, USA)
 - HbM Iwate, “black blood” or “hereditary nigremia,” Berichte vor 200 Jahren in Japan (Shibata et al. 1960).
 - Verminderte O₂-Affinität

Hämoglobin M

(klinisch: zyanotisches Kolorit)

	Globin mutiert	Hb g/l	Retikulozytose	p50	Bohr Effekt Kooperativität
HbM Hyde Park	β 92 (F8)	10-13	mild	Normal	Normal
HbM Iwate	α 87 (F8)	10-17	nein	Erhöht	Reduziert
HbM Boston	α 58 (E7)	14	nein	Erhöht	Reduziert
HbM Milwaukee	β 67 (E11)	15	nein	Erhöht	Normal
HbM Saskatoon	β 63 (E7)	15	nein	Normal	Normal

Bunn, Disorders of Hemoglobin, 2001, Cambridge press

Charakteristika von Patienten mit Zyanose und Gamma-Globinvariante

	Hb Sarajevo	Hb Brugine / Feldkirch	SL, Dg ?
Zyanose	Geburt- 6. Monat	Geburt-8. Monat	Geburt-4.Monat
Anämie	-	-	116 g/l, MCV 75fl
Hämolyse	-	-	Mild, Hämaturie, HbCO 4,9
pO ₂	normal	normal	normal
HbF	Abnormaler Peak	Abnormaler Peak	HbF knapp erniedrigt (<3Mte)
SpO ₂ SaO ₂	85%	85%	74-88% Normal
P50, Hill-coeffizient	4,8 (Norm 3,8) 1.6 (Norm 2,3)	vermindert	nd
Met-Hb	Nein	Nein	1,5%
Klinik	Unauffällig	Unauffällig	Prostin, Hirnblutung Thrombozytenfunktionsstörung Sanger ausstehend
Genotyp	HBG2:c.308 A>C	HBG2:c.317T>A	?

Zusammenfassung

Hämoglobinvarianten mit reduzierter O₂ Affinität

- Präsentieren sich oft mit Pseudozyanose (Zyanose ohne Dyspnoe)
- Pulsoxymetrie nicht verwertbar, arterieller pO₂ normal
- Typischerweise keine/grenzwertige normozytäre Anämie, keine Hämolyse
- HbM Varianten: deutliche Zyanose, klassischer HbM Peak
- HPLC Chromatographie durch weitere Untersuchungen ergänzen (Oxymetrie, Iso-elektrisches Fokussieren, Molekulargenetik)

Acknowledgment

Kinderspital Zürich

Manuela Albisetti

Alessandra Bosch

Monica Ceresetti

Hannes Frischknecht

Oliver Speer

Peter Tuchschnid⁺



