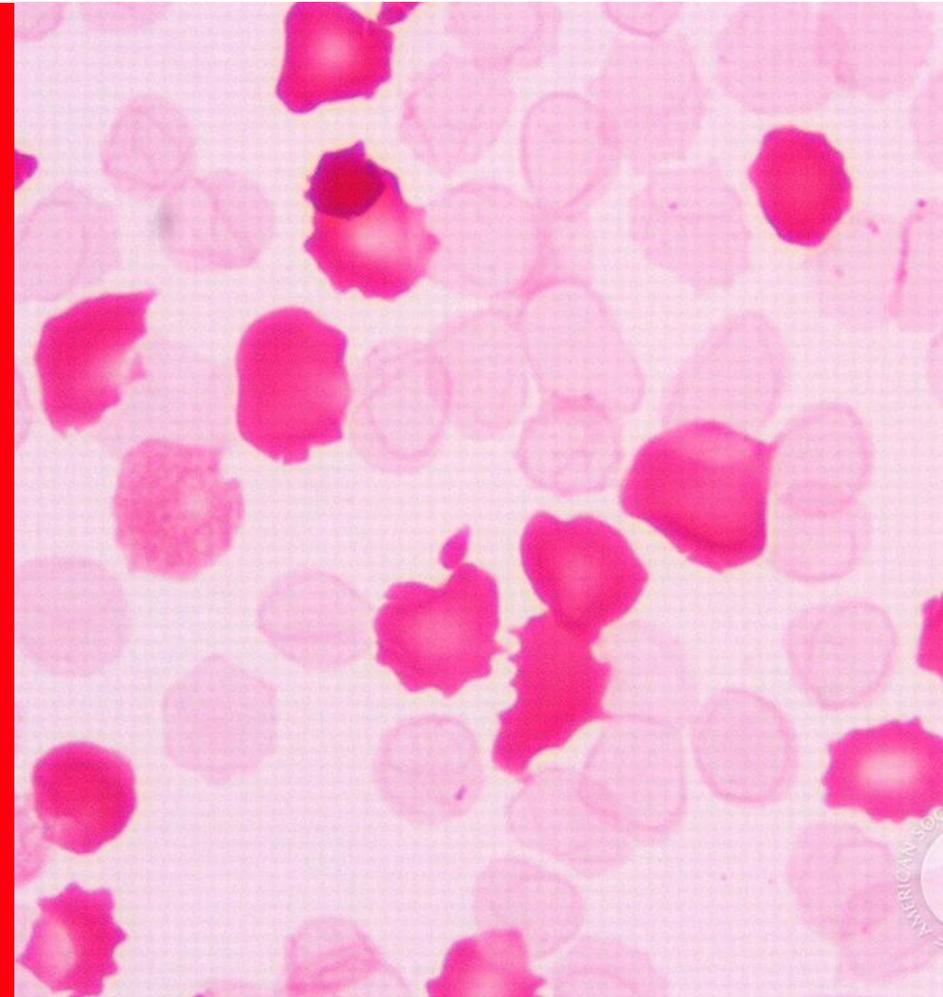


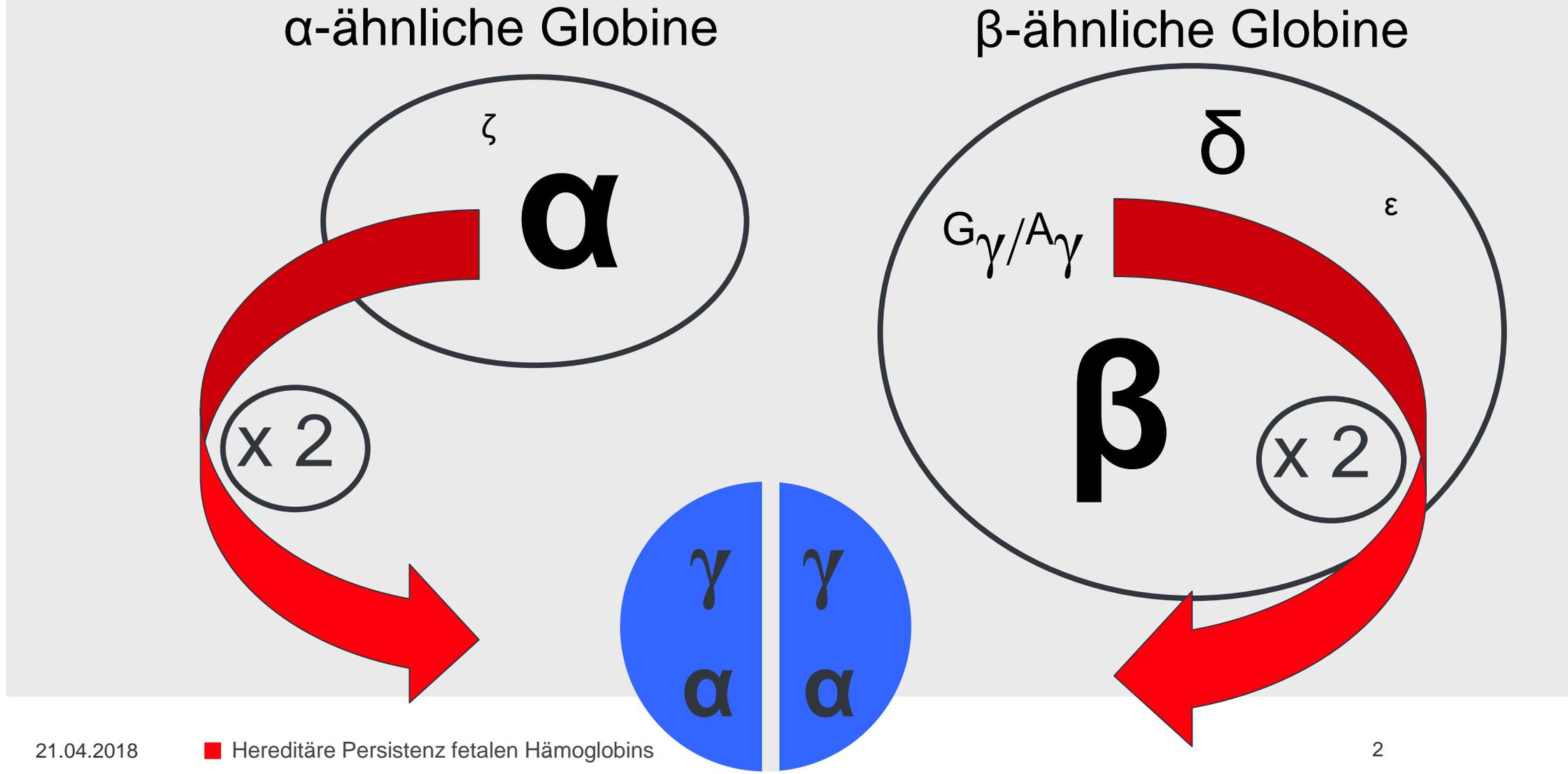
Hereditäre Persistenz fetalen Hämoglobins

Stephan Lobitz
Kinderkrankenhaus Amsterdamer Straße

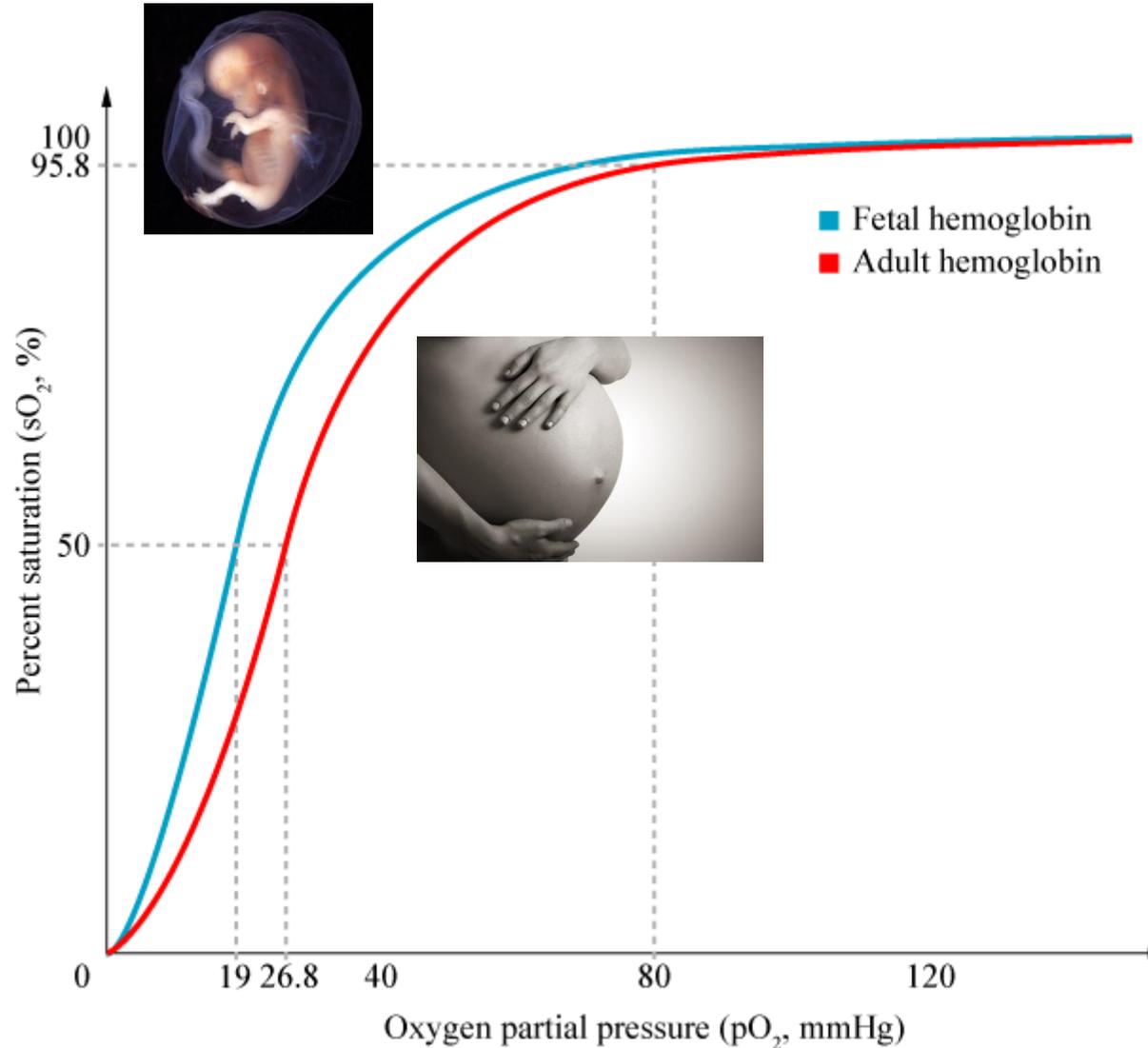


Copyright © 2018 American Society of Hematology.

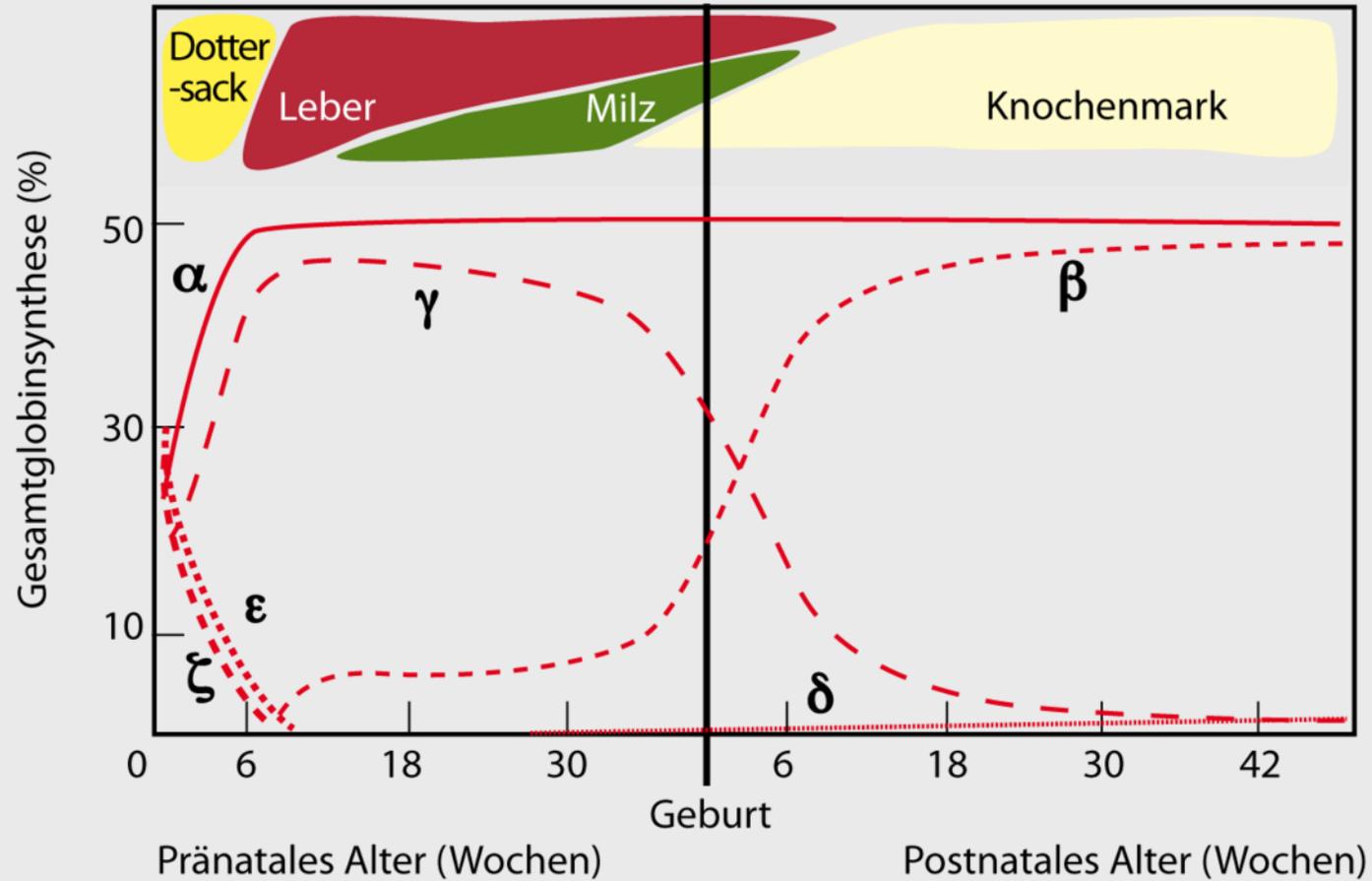
Hämoglobin F (HbF)



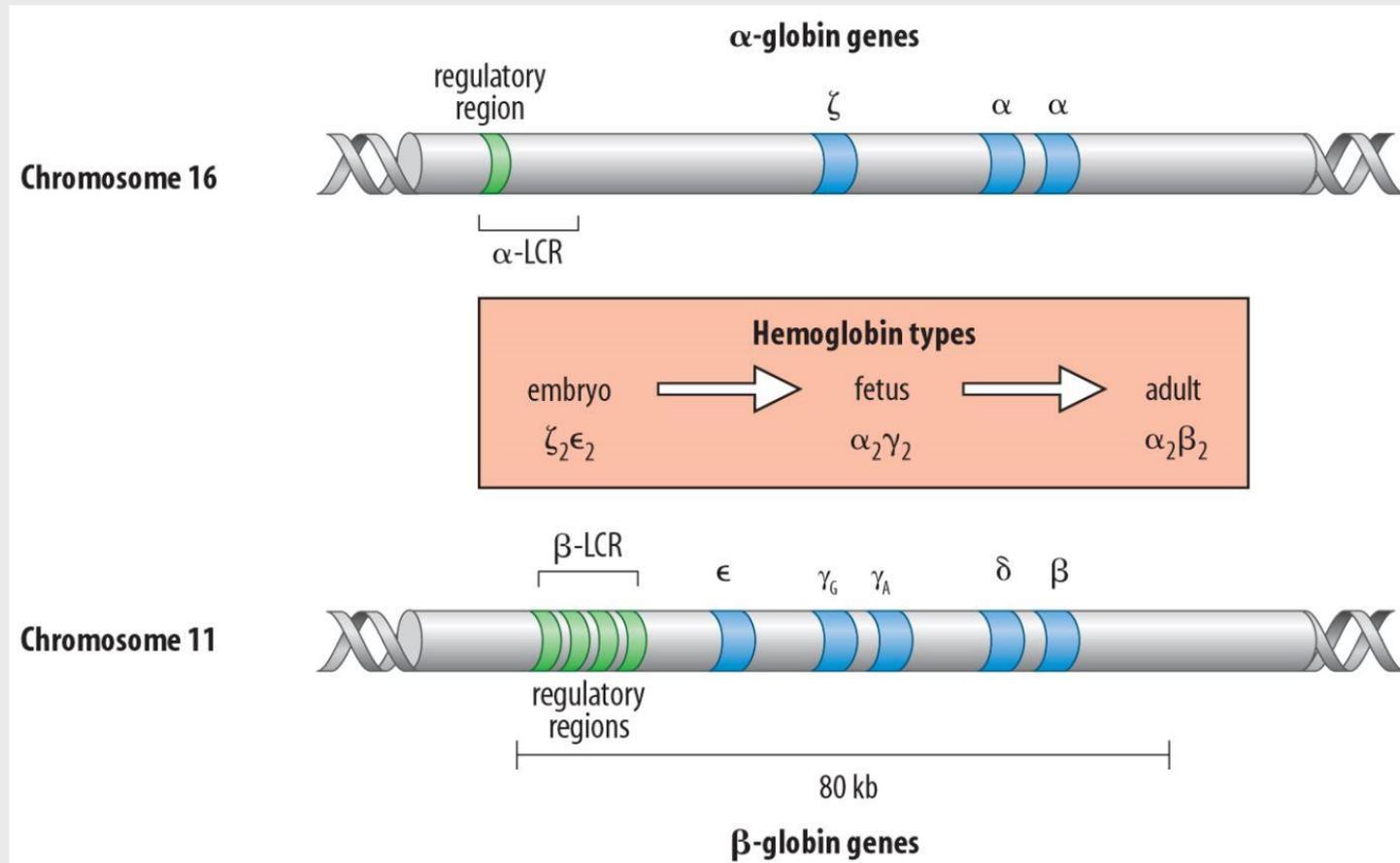
Höhere Sauerstoffaffinität von HbF



Prä-/postnatale β -Globin-Synthese



Humane Globin-Gene



Normales Hämoglobinmuster

(jenseits des 1. Lebensjahres)

Hämoglobin	Kettenformel	Relativer Anteil
HbA	$\alpha_2\beta_2$	$\approx 97 \%$
HbA ₂	$\alpha_2\delta_2$	$\approx 3 \%$
HbF	$\alpha_2\gamma_2$	$< 1 \%$

Wann hat man (zu) hohe HbF-Werte?

- als Säugling
- Stresserythropoese
- deletionale HPFH
wird nach Mendelschen Regeln vererbt, „selten“
- nicht-deletionale HPFH
wird polygen als *quantitative trait* vererbt, „häufig“

Normalwerte

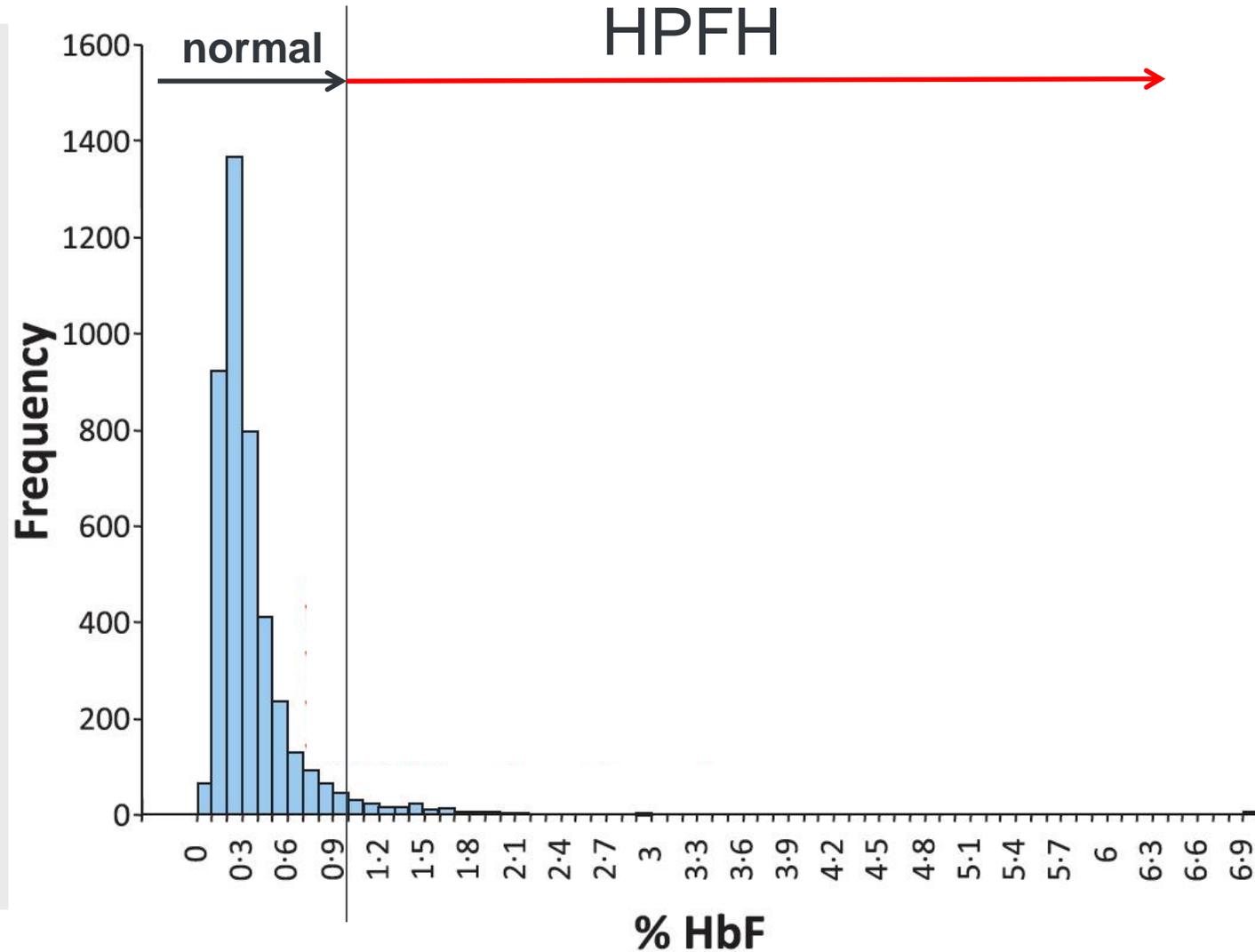
- Gesunde, nicht-anämische Menschen
 - Hb-Switch spätestens mit Ende des 2. Lebensjahres abgeschlossen
 - HbF danach 0,2-1%
 - Steigerung bei akutem erythropoetischem Stress

Normalwerte

- Gesunde, nicht-anämische Menschen
 - Hb-Switch spätestens mit Ende des 2. Lebensjahres abgeschlossen
 - HbF danach 0,2-1%
 - Steigerung bei akutem erythropoetischem Stress
- Beispiel: Patienten mit Sichelzellkrankheit
 - Hb-Switch kann ausnahmsweise bis zum Ende des 4. Lebensjahres dauern
 - HbF danach meist 3-20%
 - Träger haben ähnliche Werte wie gesunde Kontrollpersonen

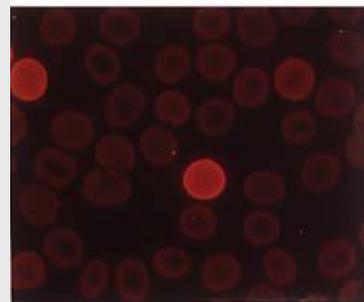
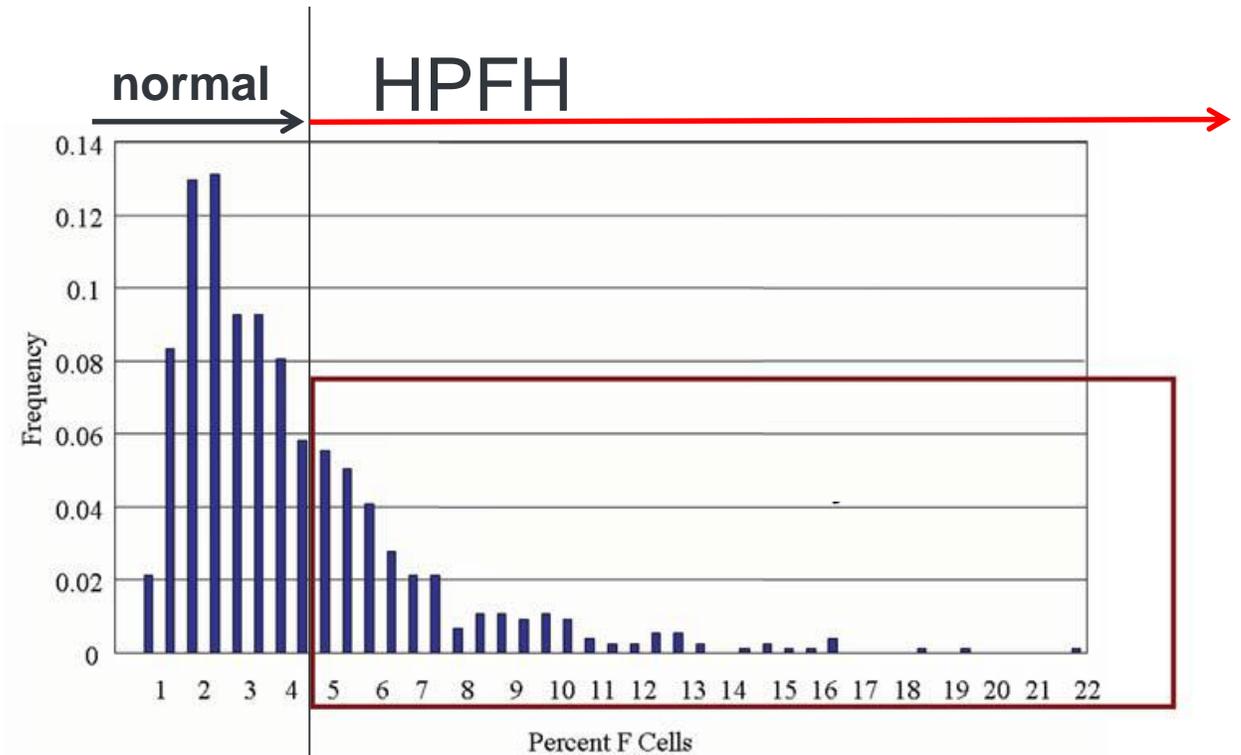
Green & Barral, Pediatric Blood & Cancer (2011)

Definition HPFH (nach vollendetem Hb-Switch)

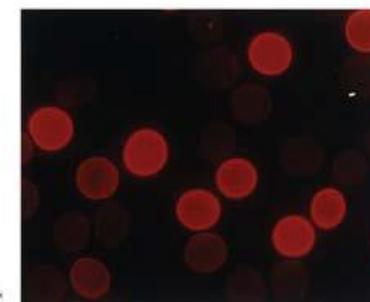
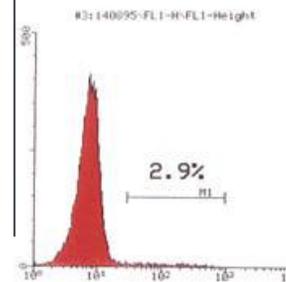


Definition F-Zellen

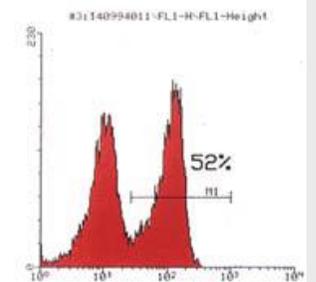
- Zellen mit messbarem HbF-Gehalt (meist 15-30% HbF-Anteil am Gesamt-Hb pro Zelle)



Hb F 0.4%, F cells 2.9%

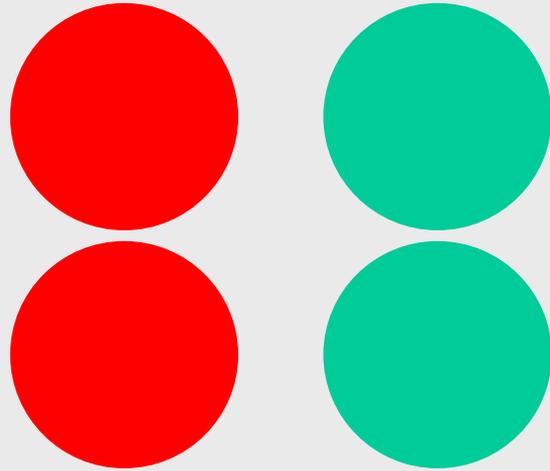


Hb F 4.8%, F cells 52%

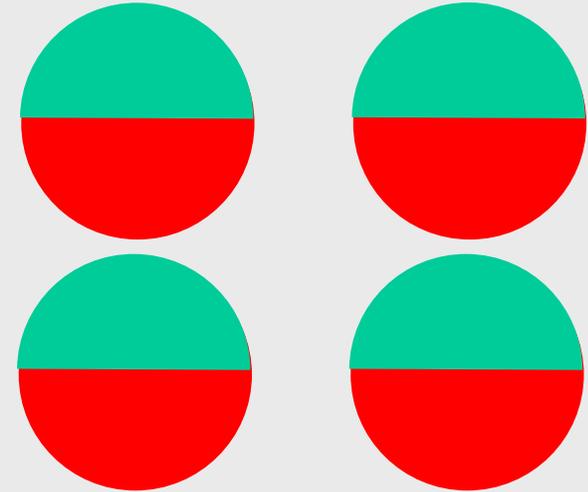


Definition F-Zellen

- HbF-Gehalt oder F-Zelle: ein kritischer Unterschied



**50 % HbF,
50 % F-Zellen**



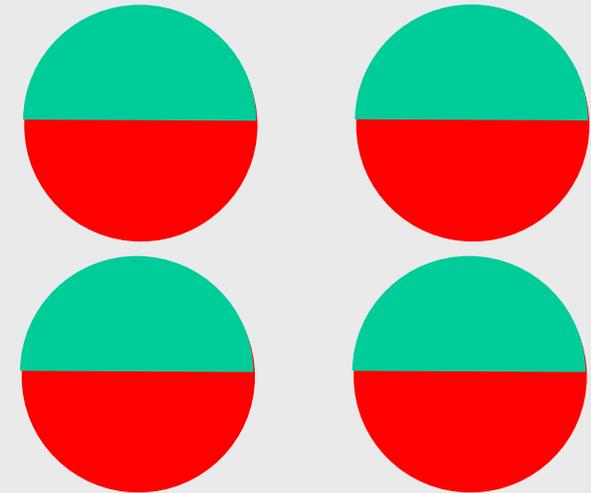
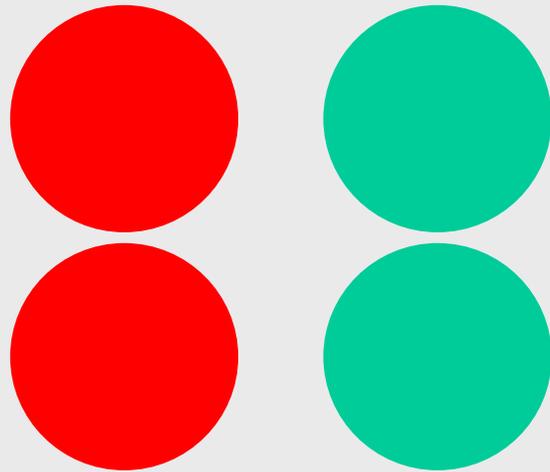
**50 % HbF,
100 % F-Zellen**

Definition F-Zellen

Heterocelluläres

vs.

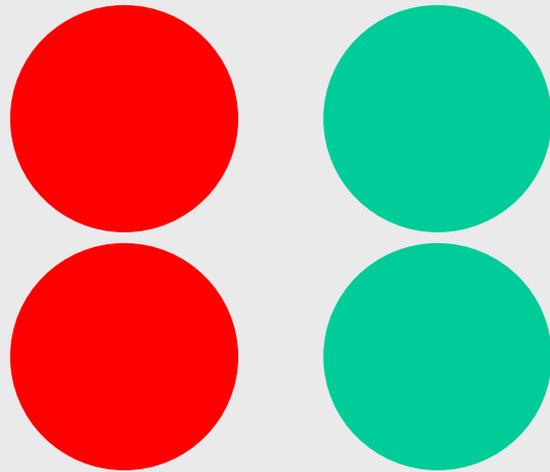
pancelluläres Verteilungsmuster



- Zwei Determinanten:
 1. Ursache der HbF-Expression
 2. Stärke der HbF-Expression

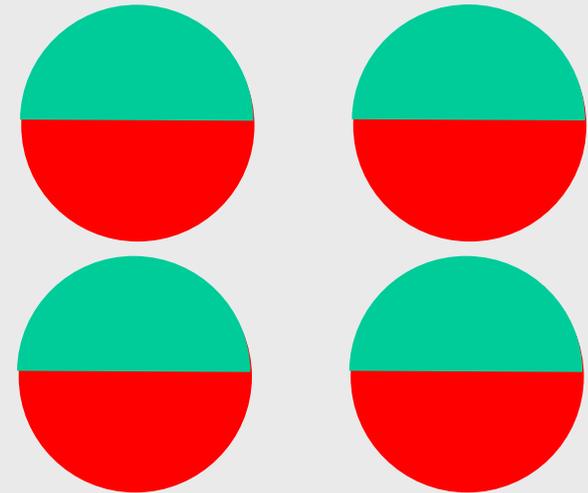
Definition F-Zellen

Heterocelluläres



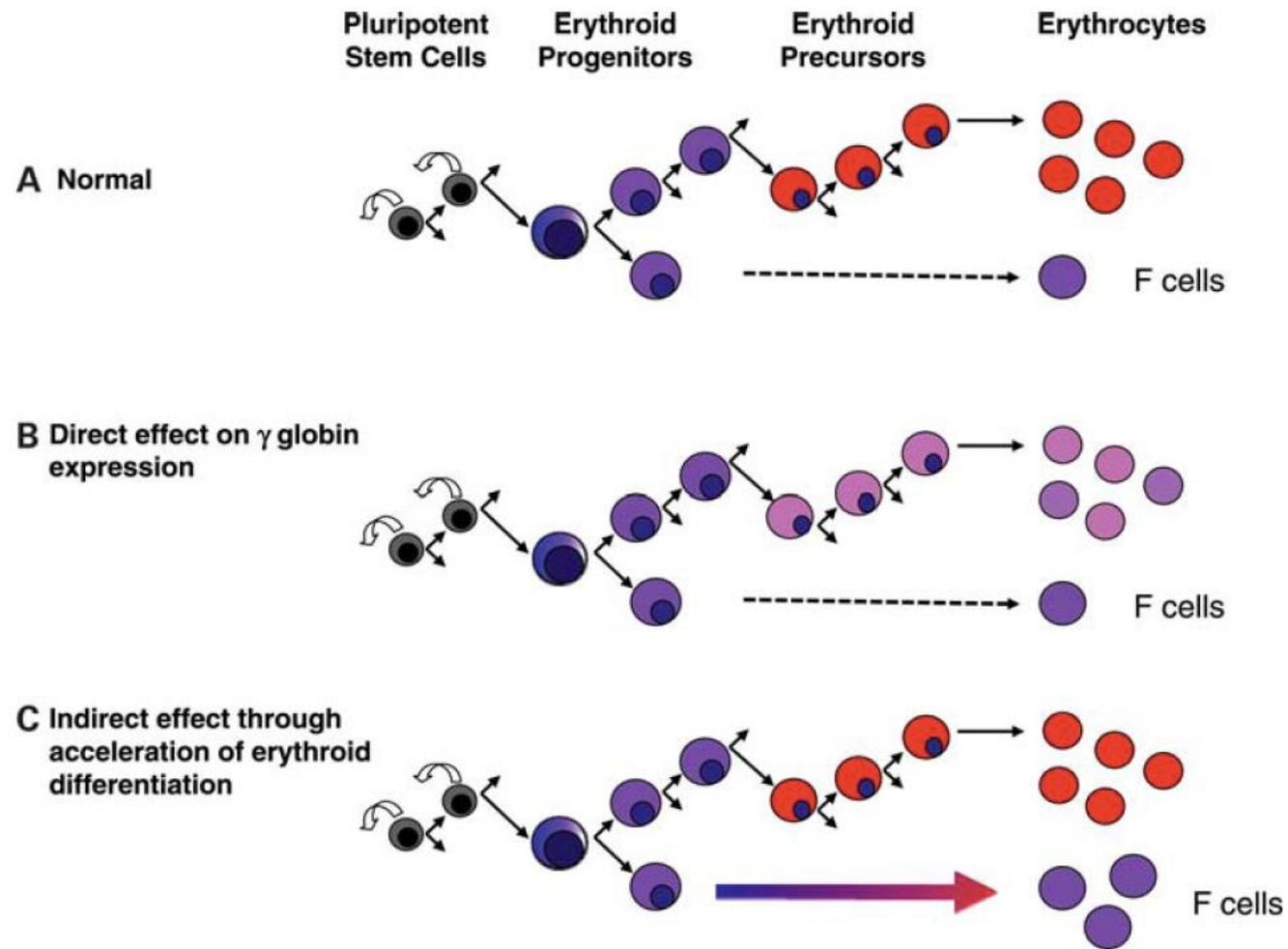
vs.

pancelluläres Verteilungsmuster



- Zwei Determinanten:
 1. Ursache der HbF-Expression
 2. Stärke der HbF-Expression

Pancelluläre vs. heterocelluläre HPFH

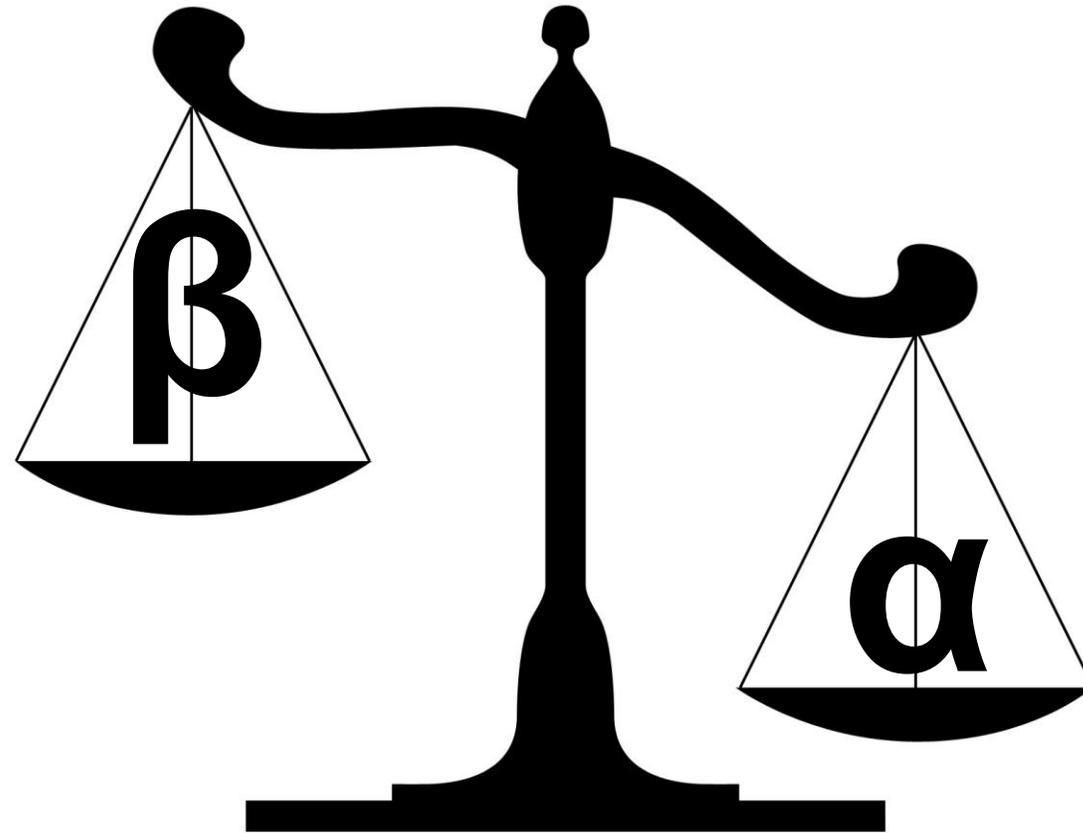


Thein et al., Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications, Human Molecular Genetics (2009)

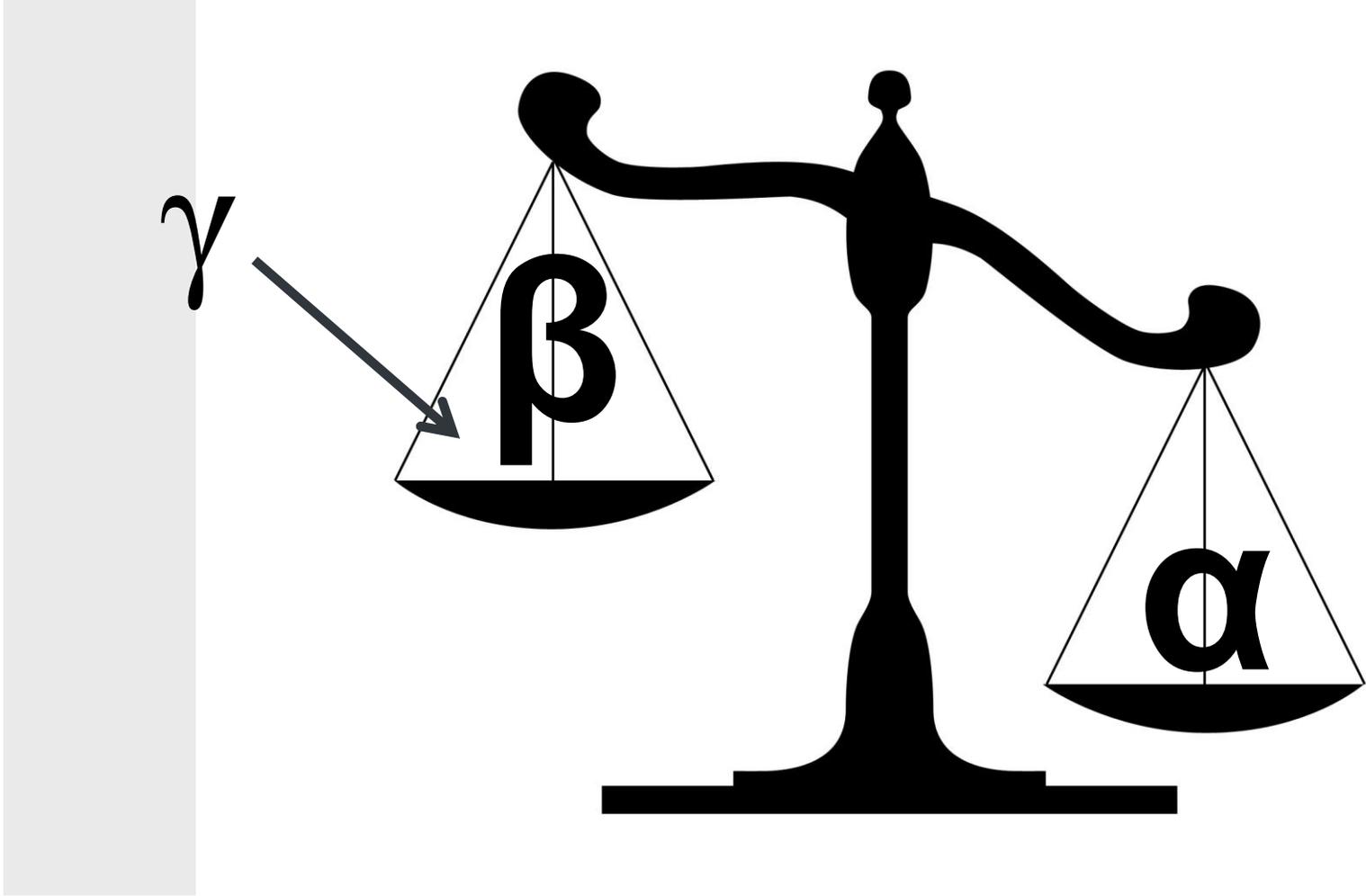
Prävalenz der HPFH



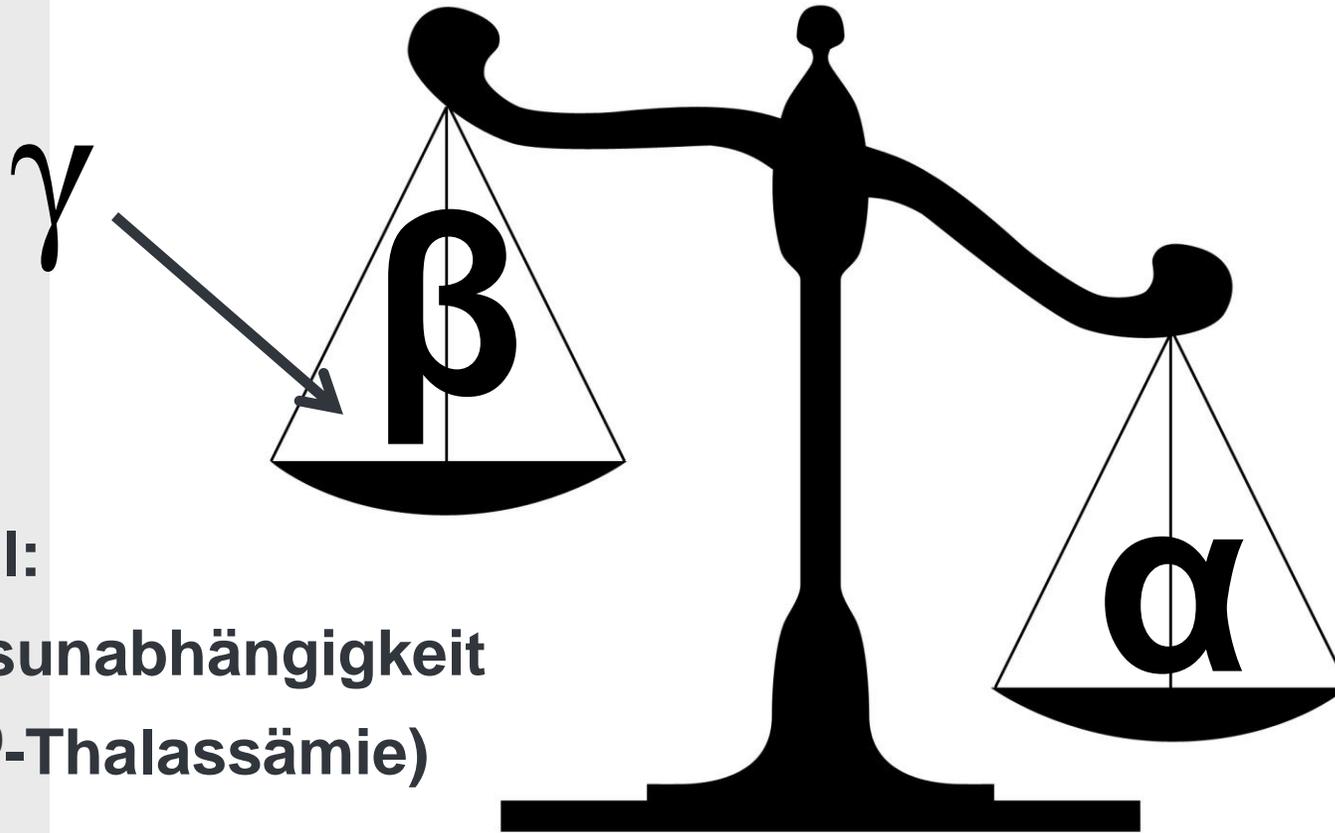
Bedeutung der HPFH (bei β -Thalassämie)



Bedeutung der HPFH (bei β -Thalassämie)



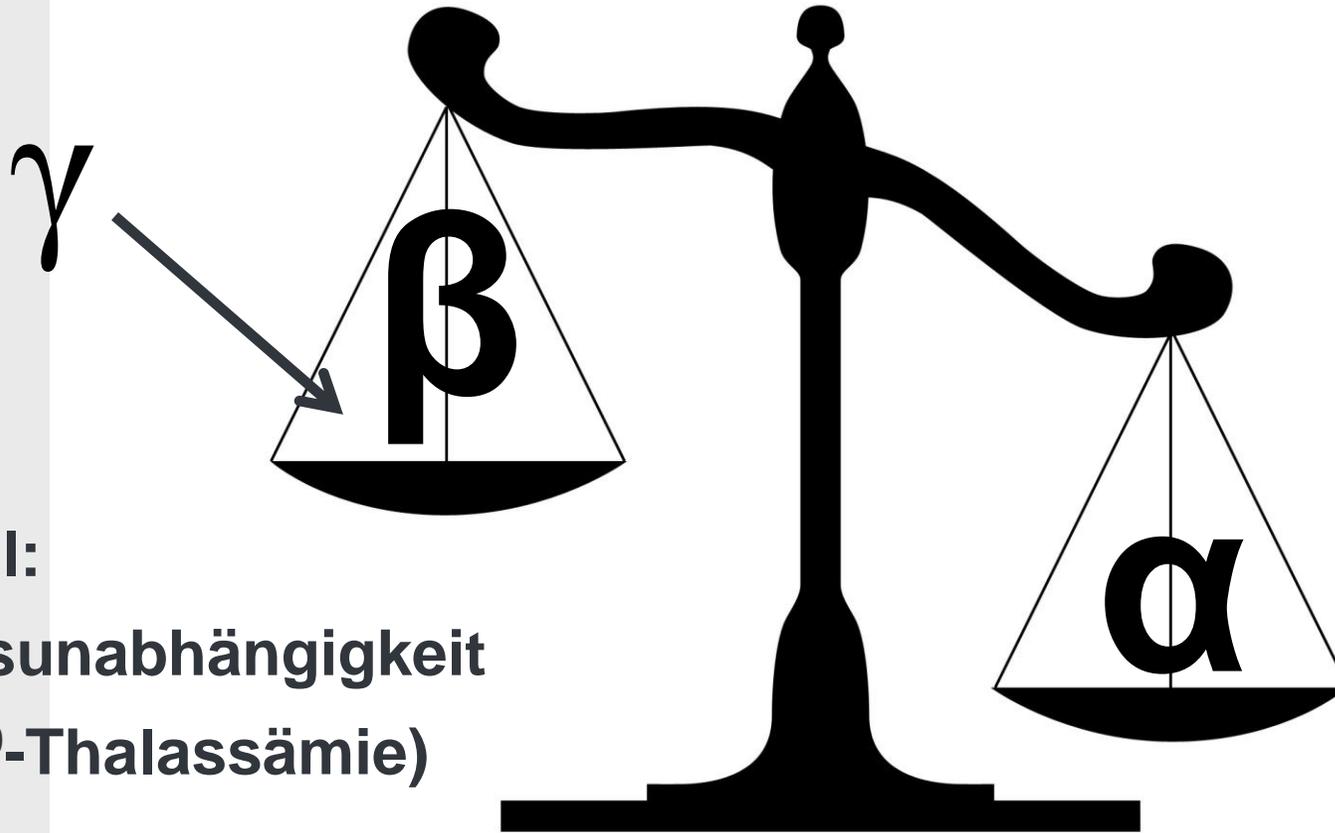
Bedeutung der HPFH (bei β -Thalassämie)



**Im Extremfall:
Transfusionsunabhängigkeit
(sogar bei β^0 -Thalassämie)**

Cappellini et al., British Journal of Haematology (1981)

Bedeutung der HPFH (bei β -Thalassämie)

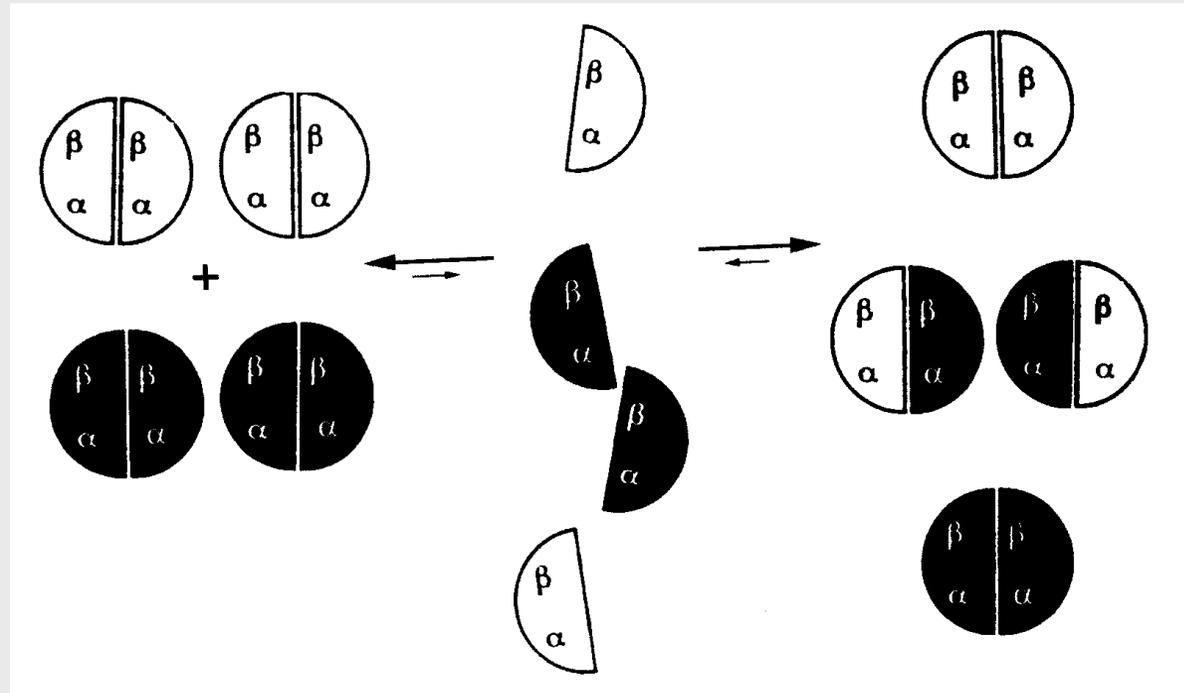


**Im Extremfall:
Transfusionsunabhängigkeit
(sogar bei β^0 -Thalassämie)**

Cappellini et al., British Journal of Haematology (1981)

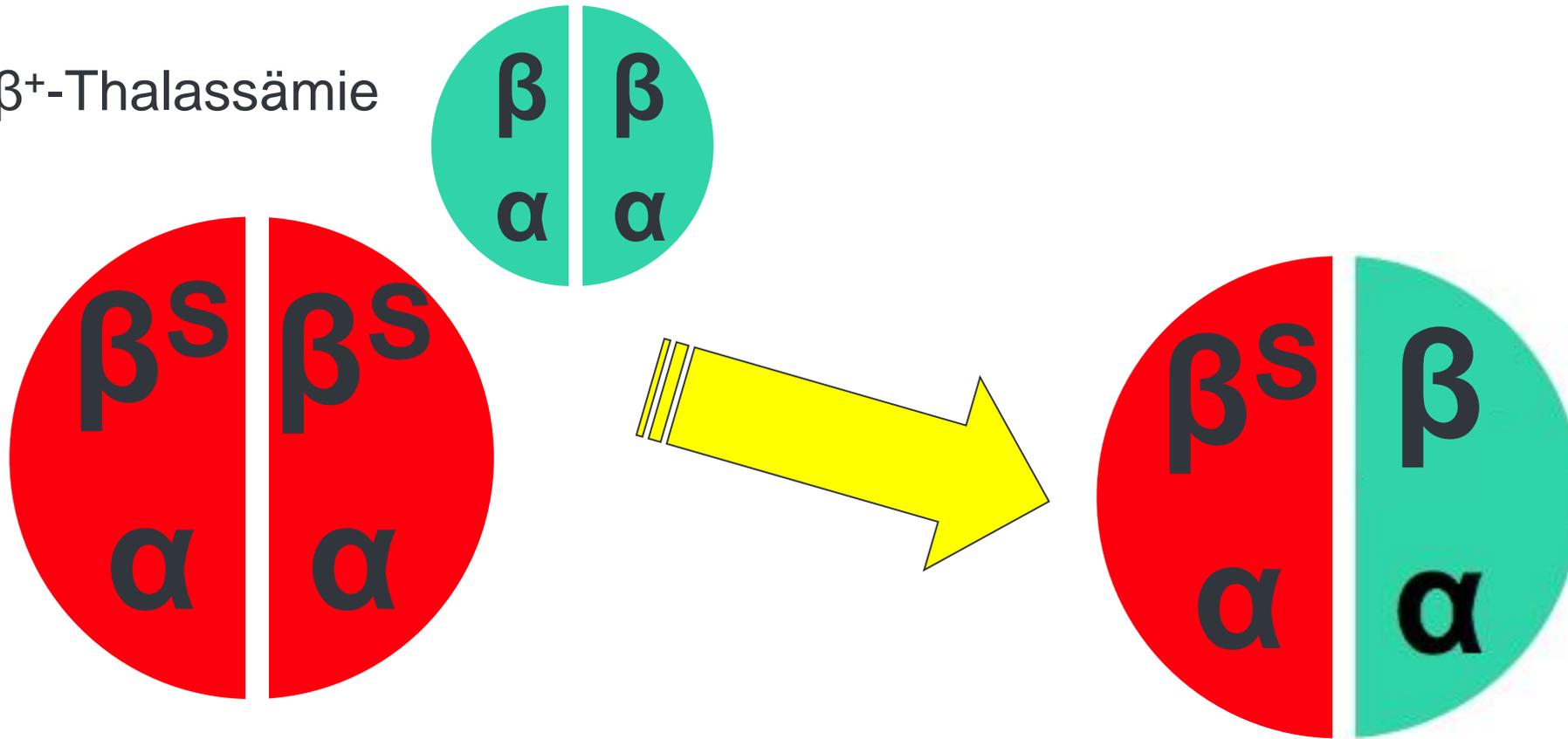
Unter physiologischen Bedingungen...

- $\alpha\beta$ -Dimere dissoziieren nicht
- $\alpha\beta/\alpha\beta$ -Tetramere dissoziieren und assoziieren in einem Gleichgewichtszustand
- es bilden sich kontinuierlich neue Tetramere



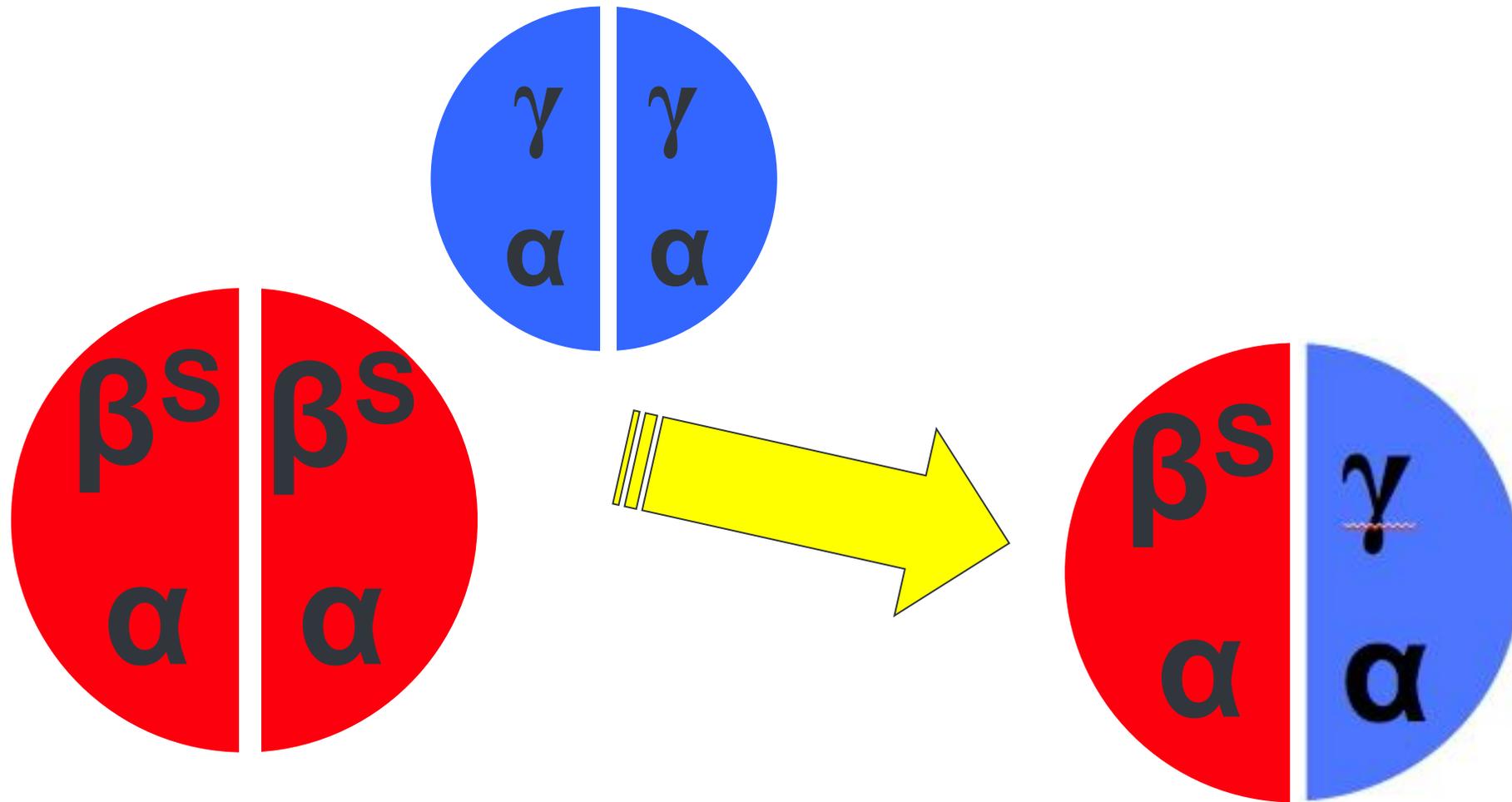
Bedeutung der HPFH (bei Sichelzellkr.)

SCD S/ β^+ -Thalassämie



$\alpha\beta^s\alpha\beta$ Tetramere polymerisieren auch,
aber 50% weniger als $(\alpha\beta^s)^2$

Bedeutung der HPFH (bei Sichelzellkr.)



$\alpha\beta^s\alpha\gamma$ Tetramere polymerisieren gar nicht!

Bei β -Hämoglobinopathien ist die Krankheitsaktivität antiproportional zur HbF-Expression (pauschal gesprochen).

Powars DR et al., Blood. 1984; 63:921–926.

Fähigkeit, HbF zu exprimieren ist überwiegend erblich

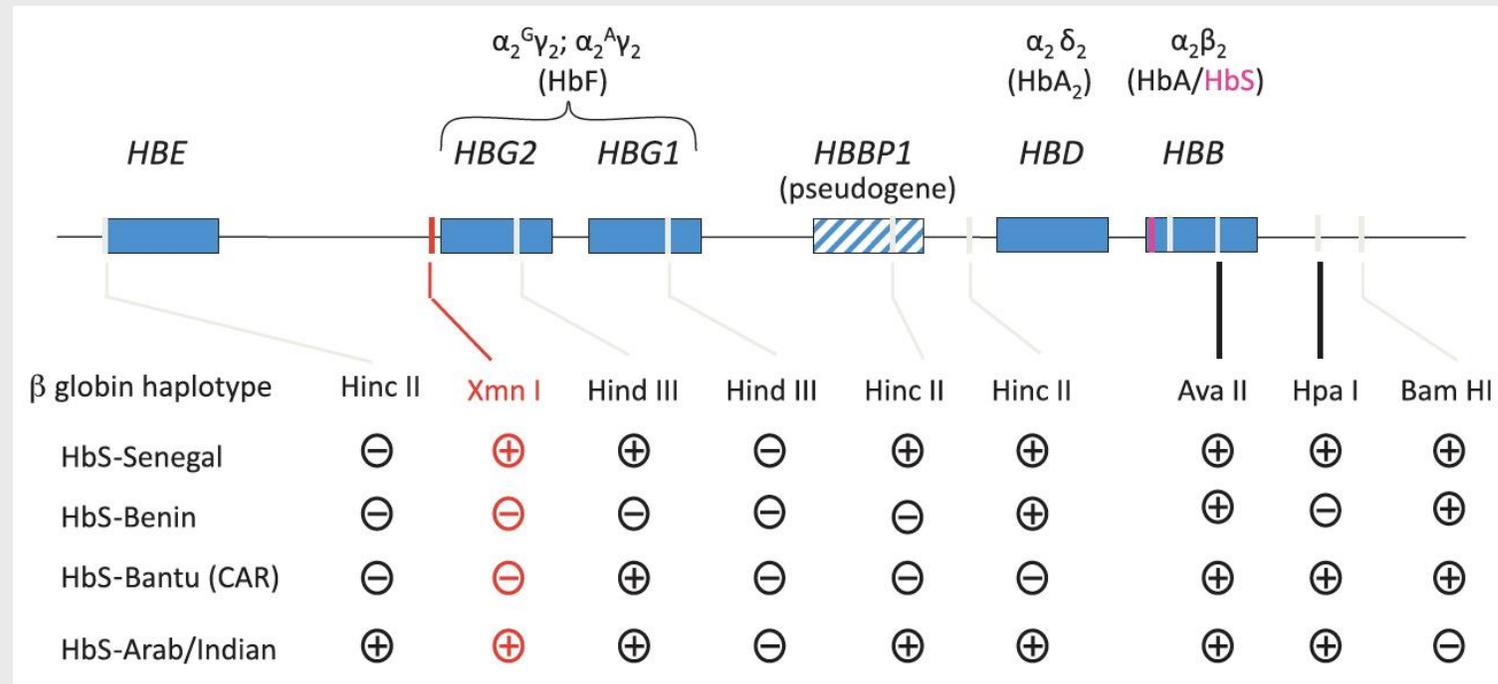
89%¹

¹Garner et al.: Genetic influences on F cells and other hematologic variables: a twin heritability study, *Blood*. 2000;95:342-34

Fähigkeit, HbF zu exprimieren ist überwiegend erblich

- Polymorphismus im γ -Globin-Promotor (Pos. -158) („*XmnI*-HBG2-Polymorphismus“)

SNP rs7482144



Labie et al., Proc Natl Acad Sci USA (1985)
Thein et al., British Journal of Haematology (2009)

Fähigkeit, HbF zu exprimieren ist überwiegend erblich: „*Xmnl-HBG2*-Polymorphismus“

- SNP rs7482144, Polymorphismus im $G\gamma$ -Globin-Promotor (Pos. -158)
- steht sicher nicht in kausalem Zusammenhang mit HPFH¹
- meist gekoppelt vererbt mit SNP rs10128556 downstream von HBG1²
- *Xmnl*(+) bei SCD-Haplotypen „Senegal“ und „Arab/India“ mit höherem HbF-Wert assoziiert
- kaum Effekt bei Carriern und hämatologisch Gesunden³
- schätzungsweise für ca. 13-32% der Variation verantwortlich^{4,5}

¹*Gilman et al., Blood (1985)*

²*Galarneau et al., Nature Genetics (2010)*

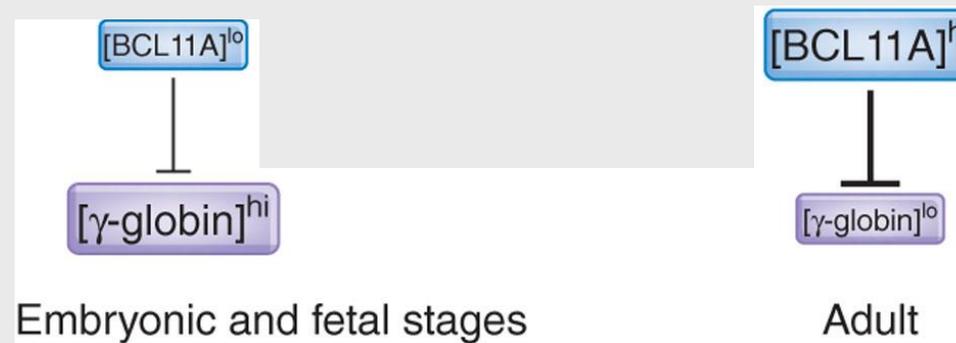
³*Sampietro, Blood (1992)*

⁴*Garner et al., Blood (2000)*

⁵*Lettre et al., PNAS (2008)*

Fähigkeit, HbF zu exprimieren ist überwiegend erblich: *BCL11A*

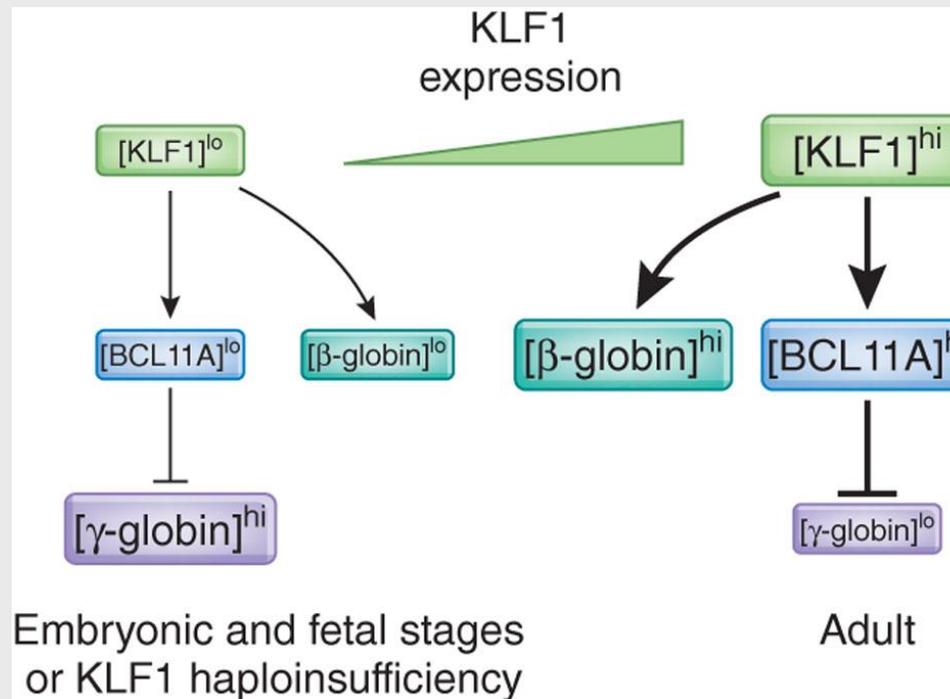
- Transkriptionsfaktor BCL11A ist ein negativer Regulator (Repressor) der $A/G\gamma$ -Globin-Expression
- wird pränatal wenig und postnatal immer stärker exprimiert
- zahlreiche SNPs sind mit einer hohen HbF-Expression assoziiert (Übersicht: Fanis et al., BMC Genomics. 2014)
- schätzungsweise für ca. 15% der Variation verantwortlich



Menzel et al., Nature Genetics (2007)
Sankaran et al., Science (2008)
Sankaran et al., Nature (2009)

Fähigkeit, HbF zu exprimieren ist überwiegend erblich: *KLF1*

- *KLF1* reguliert *BCL11A*
- *KLF1* aktiviert *HBB*
- wahrscheinlich *key regulator* des *switch*
- dennoch nur wenig Bedeutung für HPFH

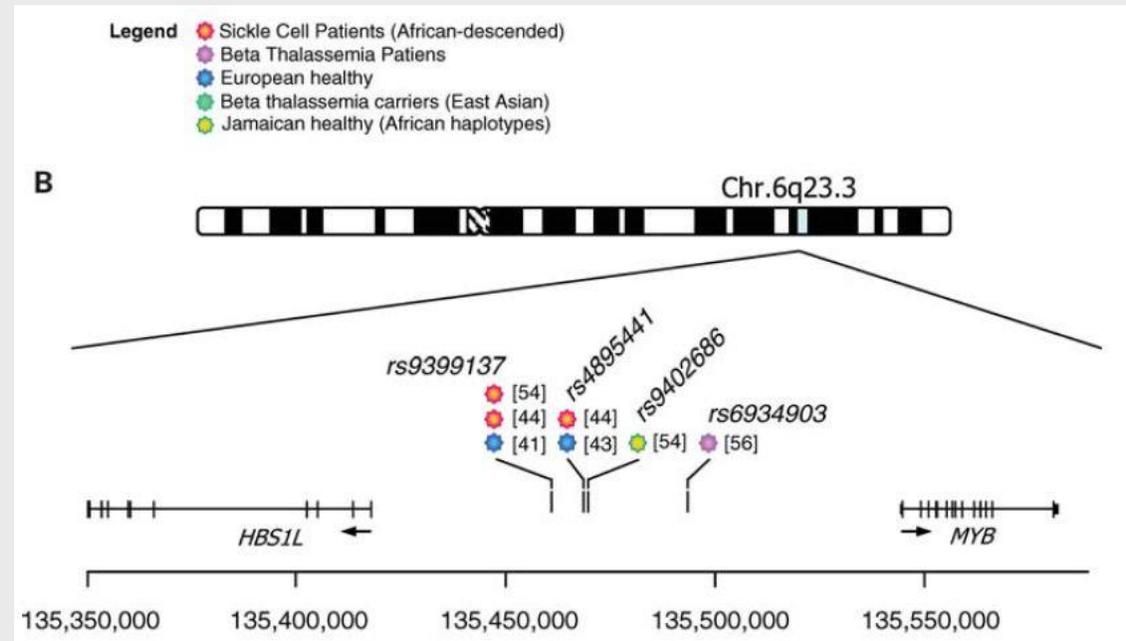


Quelle: Bieker, *Putting a finger on the switch*, *Nature Genetics* (2010)

Borg et al., Nature Genetics (2010)
Zhou et al., Nature Genetics (2010)
Satta et al., Haematologica (2011)

Fähigkeit, HbF zu exprimieren ist überwiegend erblich: *HBS1L-MYB* intergenic polymorphism (HMIP), Blöcke 1,2,3

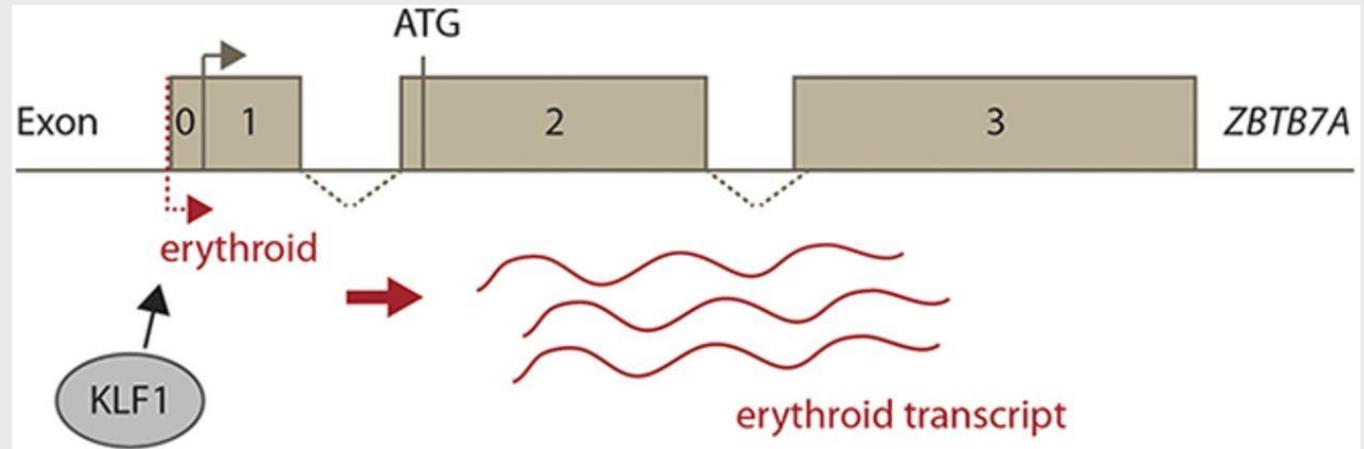
- auf 6q23.3
- zahlreiche stark mit HbF-Expression assoziierte SNPs
(Übersicht: Fanis et al., BMC Genomics. 2014)
- schätzungsweise für ca. 19% der Variation verantwortlich



Thein et al., PNAS (2007)
Lettre et al., PNAS (2008)
Thein et al., Hum Mol Genet (2009)

Fähigkeit, HbF zu exprimieren ist überwiegend erblich: *ZBTB7A/LRF*

- wie BCL11A Repressor der γ -Globin-Expression
- Regulation durch KLF1
- Mutationen führen zu HbF-Erhöhung über eine Reduktion der Repression



Masuda et al., Science, 2016
Norton et al., Blood Advances, 2017
Martyn et al., Nature Genetics, 2018

Nicht-deletionale HPFH (erweiterte Definition)

- *Xmnl-HBG2*
 - *BCL11A*
 - *HMIP*
- } sind für ca. 50% der Variation verantwortlich
(zahlreiche Studien haben immer wieder nur diese drei Gene/DNA-Bereiche als hochrelevant identifiziert)
- *KLF1*
 - *ZBTB7A*
 - Weitere weniger(?) bedeutsame Gene: *SOX6, GATA1, FOG1, LSD1, FOP* etc.
(*BCL11A*-Repressoren)

Bei den meisten anderen *quantitative traits* (z.B. Blutdruck, Haarfarbe, Körpergröße) konnten bis heute keine dominierenden Gene identifiziert werden

→ fraglich, ob es weitere Gene mit derart hoher Relevanz für ndHPFH gibt

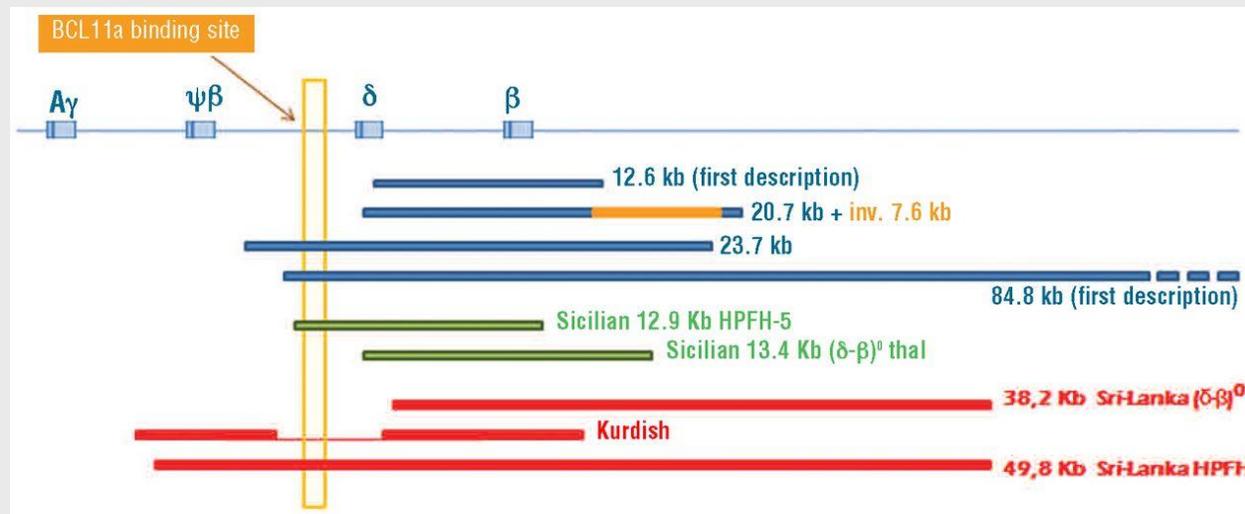
Nicht-deletionale HPFH (klassische Definition)

- Mutationen in den γ -Globin-Promotoren

-202 (C->G) ^Ggamma; nd-HPFH	Ggamma nt -202 C>G	HBG2:c.-255C>G
G Gamma -197 C>T	Ggamma nt -197 C>T	HBG2:c.-250C>T
-175 (T->C) ^Ggamma; nd-HPFH	Ggamma nt -175 T>C	HBG2:c.-228T>C
-114 (C->T) ^Ggamma; the Japanese nd-HPFH	Ggamma nt -114 C>T	HBG2:c.-167C>T
-114(C->A)Ggamma; the Algerian nd-HPFH	Ggamma nt -114 C>A	HBG2:c.-167C>A
-114 (C->G) ^Ggamma; the Australian nd-HPFH	Ggamma nt -114 C>G	HBG2:c.-167C>G
-110 (A->C) ^Ggamma; the Czech nd-HPFH	Ggamma nt -110 A>C	HBG2:c.-163A>C
Venezuelan nd-HPFH	Agamma nt -211 C>T	HBG1:c.-264C>T
-202 (C->T) ^Agamma; nd-HPFH	Agamma nt -202 C>T	HBG1:c.-255C>T
-198 (T->C) ^Agamma; the British nd-HPFH	Agamma nt -198 T>C	HBG1:c.-251T>C
A Gamma -197 C>T	Agamma nt -197 C>T	HBG1:c.-250C>T
-196 (C->T) ^Agamma; the Italian nd-HPFH	Agamma nt -196 C>T	HBG1:c.-249C>T
-195 (C->G) ^Agamma; the Brazilian nd-HPFH	Agamma nt -195 C>G	HBG1:c.-248C>G
-175 (T->C) ^Agamma; the Black nd-HPFH	Agamma nt -175 T>C	HBG1:c.-228T>C
Cretan HPFH	Agamma nt -158 C>T	HBG1:c.-211C>T
-117 (G->A) ^Agamma; the Greek-Italian nd-HPFH	Agamma nt -117 G>A	HBG1:c.-170G>A
-117 (G->A) ^Agamma; the Black-Greek nd-HPFH	Agamma nt -117 G>A	HBG1:c.-170G>A
-114 (C->T) ^Agamma; the Georgia nd-HPFH	Agamma nt -114 C>T	HBG1:c.-167C>T

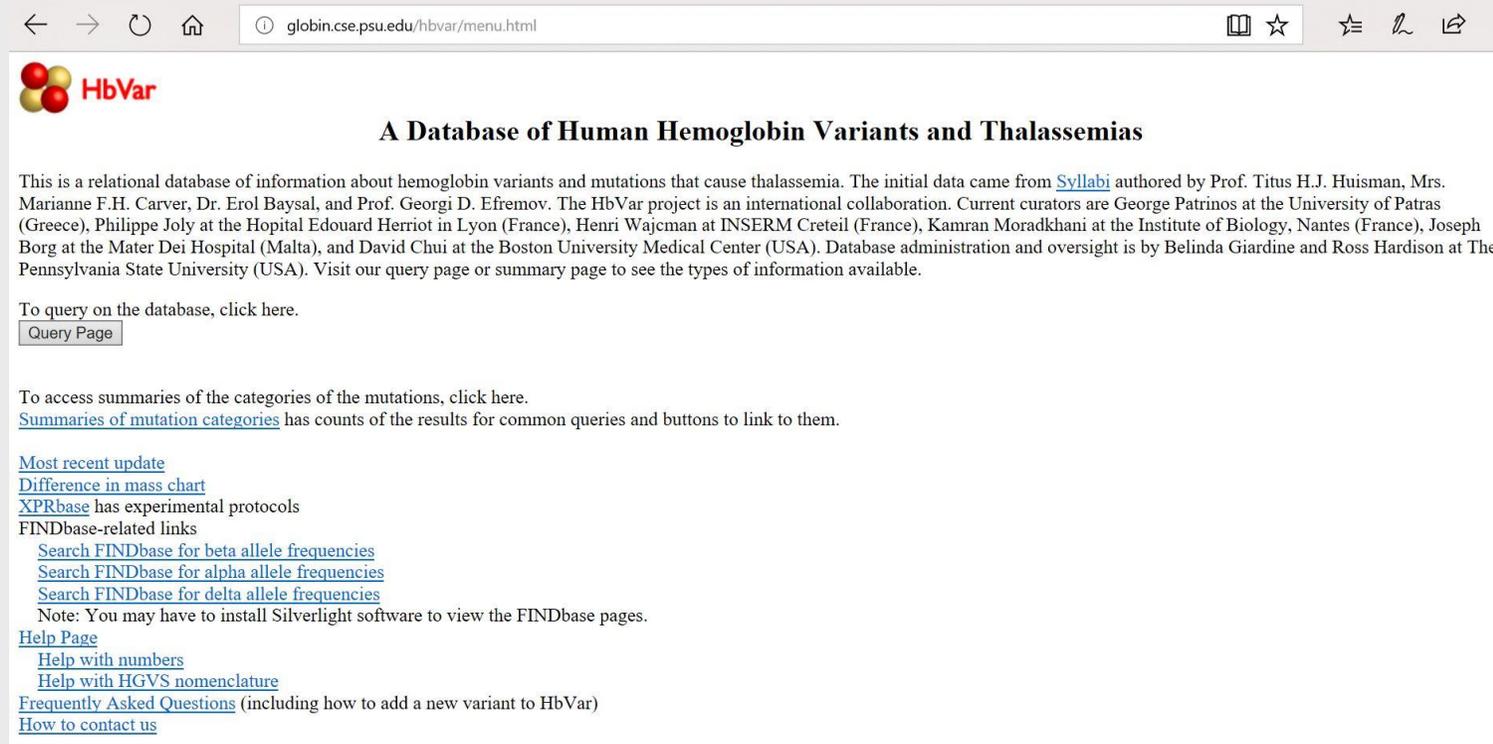
Deletionale HPFH

- große Deletionen, die den δ - und den β -Globin-Lokus einschließen
- führen aber im Gegensatz zur $(\delta\beta)^0$ -Thalassämie **nicht** zu einer Kettenimbalance
- vermutete Mechanismen: es gehen auch Repressor-Elemente verloren, v.a. BCL11A es werden Enhancer-Elemente juxtapositioniert



HPFH-Mutationen in HbVar Database (<http://globin.cse.psu.edu/>)

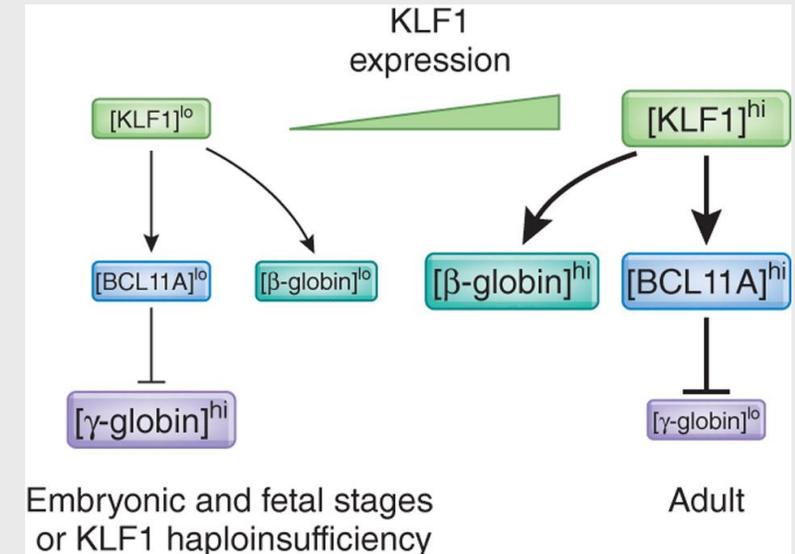
- 18 nicht-deletionale Mutationen (7 x HBG2 = $G\gamma$, 11 x HBG1 = $A\gamma$ betreffend)
- 13 deletionale Mutationen



The screenshot shows the HbVar database website. The browser address bar displays globin.cse.psu.edu/hbvar/menu.html. The page features the HbVar logo (three red spheres) and the title "A Database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemias". The main text describes the database as a relational database of information about hemoglobin variants and mutations that cause thalassemia, mentioning its origin from Syllabi and listing several curators from various institutions. Below the text, there are links for "Query Page", "Summaries of mutation categories", "Most recent update", "Difference in mass chart", "XPRbase has experimental protocols", "FINDbase-related links" (with sub-links for alpha, beta, and delta allele frequencies), "Help Page" (with sub-links for numbers and HGVS nomenclature), "Frequently Asked Questions", and "How to contact us".

Ausblick

- Hydroxycarbamid als einziger zugelassener HbF-Induktor wirkt über Toxizität und Stresserythropoese
- spezifischere Medikamente wünschenswert
 - z.B. KLF1- oder BCL11A-Inhibitoren
 - z.B. Cholesterinsenker Simvastatin oder Nahrungsmittelzusatzstoff E319, 2-*tert*-Butylhydrochinon
 - Demethylierende Substanzen (z.B. Decitabin, 5-Azacytidin)
 - Histondeacetylaseinhibitoren (HDACi, z.B. Butyrat)
 - Thalidomid und Analoga/Derivate wie Pomalidomid
- Gentherapie
 - direkte Überexpression von HbF (z.B. lentiviral)
 - indirekte Überexpression durch Eingriff in die Regulation (z.B. CRISPR/Cas9, Antoniani et al., Blood, 2018)



Vielen Dank!



Dr. med. Stephan Lobitz, MSc
Kliniken der Stadt Köln gGmbH
Kinderkrankenhaus Amsterdamer Straße
Pädiatrische Onkologie und Hämatologie

LobitzS@Kliniken-Koeln.de

0221-8907-15442

© Kliniken Köln



**HÄMATOLOGIE HEUTE
KÖLN**

Save the date: 4. bis 6. April 2019

