

## ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОГЛОБИНОПАТИЙ

Хачатурян А.Г.<sup>1,\*</sup>, Назаров В.Д.<sup>2</sup>, Лапин С.В.<sup>2</sup>, Сидоренко Д.В.<sup>2</sup>, Дубина И. А.<sup>2</sup>, Первакова М.Ю.<sup>2</sup>, Вильгельми А.А.<sup>3</sup>, Эмануэль В.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197341, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Научно-методический центр молекулярной медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации, ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ООО «Научно-производственная фирма «Хеликс», 194044, Санкт-Петербург, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Гемоглинопатии — группа заболеваний, обусловленная абберациями в гене *HBB*, кодирующем бета-цепь глобина. Спектр возможных аббераций разнообразен и имеет региональную специфичность.

**Цель:** определение лабораторных и молекулярно-генетических характеристик бета-талассемии и качественных гемоглинопатий.

**Методы.** В исследование включены 268 больных с подозрением на наследственную причину анемии. У всех больных проводили капиллярный электрофорез гемоглинобина на приборе «Minicar», по результатам которого была отобрана группа с повышенными значениями HbA2 и/или HbF и/или наличием патологических вариантов гемоглинобина. В отобранной группе было проведено прямое автоматическое секвенирование по Сэнгеру гена *HBB*.

**Результаты.** По результатам капиллярного электрофореза у 33 из 268 больных были обнаружены повышенные значения фракций гемоглинобина и/или патологические варианты гемоглинобина. Среди патологических вариантов обнаруживались HbS, Hb Shepherds Bush и неизвестный патологический вариант гемоглинобина. По результатам генотипирования у 24 из 33 больных были выявлены абберации в гене *HBB*, из них у 21 больного подтверждено наличие бета-талассемии, остальные выявленные абберации были характерны для различных гемоглинопатий. Наиболее часто встречавшейся мутацией, характерной для бета-талассемии, была *HBB:c.25\_26delAA*, которая выявлена в 33,3 % случаев. Определено патогенное влияние абберации с ранее неизвестной клинической значимостью — *HBB:c.93-36CT*.

**Заключение.** Капиллярный электрофорез гемоглинобина является скрининговым методом диагностики бета-талассемии, однако верификацию диагноза осуществляют путем молекулярно-генетических исследований. Выявленный спектр аббераций, характерных для бета-талассемии, разнообразен, в нем присутствуют крайне редкие варианты гемоглинопатий, требующие дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** бета-талассемия, гемоглинопатия, ген *HBB*, абберации, капиллярный электрофорез гемоглинобина, секвенирование по Сэнгеру

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

**Финансирование:** исследование не имело спонсорской поддержки.

**Для цитирования:** Хачатурян А.Г., Назаров В.Д., Лапин С.В., Сидоренко Д.В., Дубина И. А., Первакова М.Ю., Вильгельми А.А., Эмануэль В.Л. Лабораторная характеристика гемоглинопатий. Гематология и трансфузиология. 2024;69(1):40–51. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-40-51>

# LABORATORY FEATURES OF HEMOGLOBINOPATHIES

Khachaturian A.G.<sup>1,\*</sup>, Nazarov V.D.<sup>2</sup>, Lapin S.V.<sup>2</sup>, Sidorenko D.V.<sup>2</sup>, Dubina I.A.<sup>2</sup>, Pervakova M.Y.<sup>2</sup>, Vilgelmi A.A.<sup>3</sup>, Emanuel V.L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Almazov National Medical Research Centre, 197341, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Autoimmune Disease Laboratory, Centre of Molecular medicine, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, 197022, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Saint-Petersburg Laboratory Complex LLC "SPC Helix", 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation

## ABSTRACT

**Introduction.** Hemoglobinopathies are a group of diseases caused by aberrations in the *HBB* gene encoding the beta chain of globin. The range of possible aberrations is diverse and has regional specificity.

**Aim:** to determine the laboratory and molecular genetic characteristics of beta-thalassemia and qualitative hemoglobinopathies.

**Methods.** In total, 268 patients suspected for having some types of the hereditary anemia were included in the study. All patients underwent capillary electrophoresis of hemoglobin using the Minicap Sebia device and the group either with elevated HbA2/HbF fractions or with the presence of pathological Hb variants was selected. The direct automatic Sanger sequencing of the *HBB* gene was performed in the selected group.

**Results.** The analyzed group had 33 electrophoresis positive patients out of 268. Some pathological variants of hemoglobin including HbS, Hb Shepherds Bush and an unknown pathological Hb variant were detected. According to the results of genotyping, aberrations in the *HBB* gene were detected in 24 of 33 patients, of which 21 patients confirmed the presence of beta-thalassemia, the rest of the detected aberrations were characteristic of various hemoglobinopathies. The most common mutation characteristic of beta-thalassemia was *HB:c.25\_26delAA*, which was detected in 33.3% of cases. The pathogenic effect of an aberration with previously unknown clinical significance has been determined — *HBB:c.93-36CT*.

**Conclusion.** Capillary electrophoresis of hemoglobin can be used for beta-thalassemia screening. However, the diagnosis confirmation is carried out by molecular genetic studies. The detected aberrations spectrum for beta-thalassemia and hemoglobinopathies is extremely diverse and it includes some extremely rare hemoglobinopathy types requiring further investigations.

**Keywords:** beta-thalassemia, hemoglobinopathy, *HBB* gene, aberrations, capillary electrophoresis, Sanger sequencing

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**Financial disclosure:** the study had no sponsorship.

**For citation:** Khachaturian A.G., Nazarov V.D., Lapin S.V., Sidorenko D.V., Dubina I.A., Pervakova M.Y., Vilgelmi A.A., Emanuel V.L. Laboratory features of hemoglobinopathies. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2024;69(1):40–51 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-40-51>

## Введение

Гемоглинопатии, как качественные, так и количественные (бета-талассемия), представляют собой группу наиболее распространенных наследственных заболеваний, развитие которых связано с патогенными изменениями в гене *HBB*, кодирующем бета-цепь гемоглобина. Классически при бета-талассемии наблюдается снижение синтеза бета-цепи, в то время

как качественные гемоглинопатии характеризуются изменениями структуры бета-глобина. Ген *HBB* включает в себя три экзона, суммарно кодирующие 146 аминокислот, и два интрона, а также крупные регуляторные участки со стороны 5'-конца, содержащие помимо кэп-сайта и промотора нетранслируемый регион 5'UTR из консервативных последовательностей и ана-

логичный 3'UTR со стороны 3'-конца [1]. Аберрации могут располагаться в любом участке гена, приводя к патологическим изменениям бета-цепи.

Описано [2] приблизительно 950 патогенных аберраций в *HBB* гене. Их классифицируют на две основные группы: делеционные и недеletionные [3]. Последняя является наиболее многочисленной и включает в себя нуклеотидные замены и небольшие индели [3]. По механизму действия в развитии бета-талассемии их подразделяют по этапам нарушения экспрессии: транскрипции (аберрации в цис-регуляторных элементах и в 5'UTR), процессинга РНК — нарушение сплайсинга и полиаденилирования, и трансляции (аберрации в кодоне инициации, нонсенс-мутации и индели, приводящие к сдвигу рамки считывания) [1, 3]. Для качественных гемоглобинопатий в большей степени характерны миссенс-мутации [1, 3].

Многие мутации имеют региональную специфичность [4], и, предположительно, в связи с высоким этническим разнообразием и активными процессами миграции в Российской Федерации (РФ) присутствуют уникальные молекулярно-генетические формы гемоглобинопатий. Однако спектр аберраций в гене *HBB* и наличие уникальных форм требуют дальнейшего изучения ввиду небольшого количества таких исследований. Генетическое разнообразие данной группы состояний, а также феномен гаплонедостаточности [5] обуславливают широкий спектр клинических и лабораторных форм как бета-талассемии, так и качественных гемоглобинопатий, что значительно усложняет диагностический процесс.

Классически для бета-талассемии характерна гипохромная микроцитарная анемия с нормальной или повышенной концентрацией ферритина сыворотки и признаками гемолиза, а для гемоглобинопатий — нормохромная нормоцитарная гемолитическая анемия [3]. Дифференциальная диагностика гипохромной микроцитарной анемии при бета-талассемии от таковой при железодефицитной анемии строится на определении ферритина и использовании расчетных эритроцитарных индексов: Mentzner, Ehsani, RDW, Srivastava, Sirdah, Shine and Lal, E&F и некоторых других. Однако указанные показатели не строго специфичны и не позволяют подтвердить диагноз.

Более специфичным исследованием является анализ фракционного состава гемоглобина, проводящийся с использованием различных типов электрофореза или высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Эти методы, измеряя соотношение нормальных фракций и детектируя аномальные формы гемоглобина, обладают как преимуществами, так и недостатками. Их общим недостатком является невозможность прецизионной диагностики данной группы заболеваний в неэндемичных регионах, таких как РФ. Кроме того, редкие аберрации в 3-м экзоне, приводящие к по-

явлению нестабильных форм гемоглобина, которые могут не определяться при электрофорезе и ВЭЖХ [3], создают возможность для пропуска заболевания и выдачи нормального результата исследования. В связи с этим анализ фракционного состава гемоглобина является предварительным методом диагностики бета-талассемии, подтверждение и уточнение диагноза происходит путем молекулярно-генетического исследования гена *HBB*. На этом этапе выявляется конкретная аберрация, приведшая к патологическому состоянию, и определяется ее статус (гетерозиготная, гомозиготная, компаундная-гетерозиготная), что, в свою очередь, влияет на прогноз для потомства.

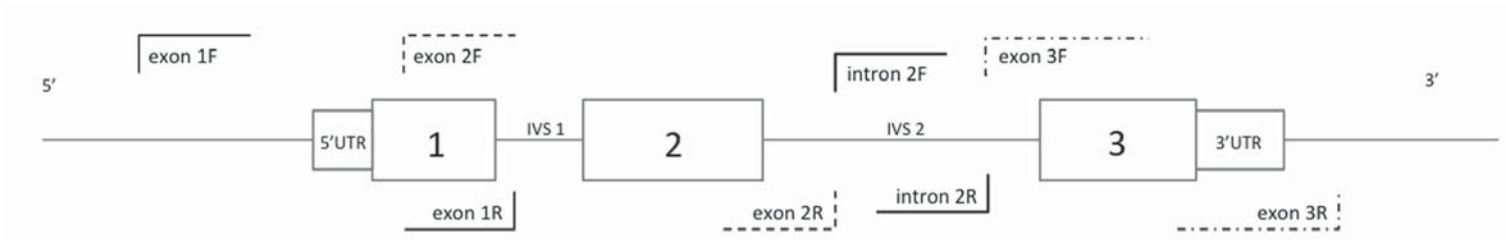
Многоступенчатость процесса, сложность диагностики легких форм заболеваний, а также тот факт, что Россия не является эндемичным регионом по данной группе состояний, затрудняет их выявление. В связи с этим генетический и фенотипический спектры гемоглобинопатий, а также их распространенность в РФ подлежат дальнейшему изучению, что определяет актуальность исследования.

**Целью** исследования явилось определение лабораторных и молекулярно-генетических характеристик бета-талассемии и качественных гемоглобинопатий.

## Материалы и методы

Для оценки молекулярно-генетических и лабораторных характеристик бета-талассемии и качественных гемоглобинопатий в исследование были включены 268 больных (средний возраст — 42 года, минимальный возраст — старше 1 года, соотношение мужчин и женщин 1:1,5, набор больных проводили в течение года) с подозрением на наследственную форму анемии, направленные на электрофорез гемоглобина в лабораторию диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Минздрава России. Критериями включения являлись значимое уменьшение среднего объема эритроцита (mean cell volume — MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (mean corpuscular hemoglobin, MCH) и/или микроцитарная гипохромная анемия или нормоцитарная нормохромная анемия. Критериями исключения были дефицит железа, который определяли по уменьшению сывороточной концентрации ферритина, и беременность. Электрофорез гемоглобина проводили с использованием капиллярного электрофореза (КЭФ) «Minicap» (Sebia, Франция) в соответствии с инструкцией производителя. Патологическим результатом КЭФ гемоглобинов считали содержание HbA2 >3,5 % и/или HbF >1 % и/или наличие патологических вариантов гемоглобина.

Всем больным с патологическими значениями КЭФ было проведено молекулярно-генетическое тестирование последовательности гена *HBB* с использованием прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру.



**Рисунок 1.** Схема расположения праймеров для секвенирования по Сэнгеру. UTR — untranslated region (нетранслируемый регион).  
**Figure 1.** The primers for Sanger sequencing scheme. UTR — untranslated region.

Для детектирования всех возможных патогенных вариантов гена *HBB* были синтезированы 4 праймера, захватывающие промотор гена *HBB*, кодирующую последовательность 1–3-го экзонов, 1-й и 2-й интроны, а также поли(А)-регион. Расположение праймеров показано на рисунке 1.

Для исключения возможного сочетания с носительством альфа-талассемии все больные были обследованы на количество копий генов *HBA1*, *HBA2* методом мультиплексной лигазной цепной реакции (набор «SALSA MLPA Probemix P140 HBA», MRC Holland, Нидерланды). Исследование проводили в соответствии с инструкцией производителя. Патогенность выявленных aberrаций оценивалась с помощью баз ClinVar [6] и HbVar [7].

**Статистический анализ.** Статистическая обработка полученных данных была произведена с использованием программы «GraphPad Prism 8» (GraphPad Software Inc., США). Все выборки проверены на нормальность распределения. Были определены медиана для концентрации HbF и среднее значение со стандартным отклонением для концентрации HbA2.

## Результаты

Патологические результаты КЭФ гемоглобина были обнаружены у 33 из 268 больных, что составило 12,3 %. Среди них повышение HbA2 наблюдали у 20 (60,6 %) человек, HbF — у 23 (69,6 %) человек, причем у 11 больных было зарегистрировано сочетанное повышение обеих фракций. Повышение концентраций HbA2 регистрировали в диапазоне 3,6–6,4 % при среднем значении  $4,85 \pm 0,69$  %, в то время как диапазон концентраций HbF составил 1,3–88,2 % при медиане 6,1 %.

Патологические варианты гемоглобина были обнаружены у 4 (12 %) больных: HbS (2 больных), Hb Shepherd's Bush (1 больной), неизвестный вариант гемоглобина (1 больной). Данные патологические формы гемоглобина сочетались с повышением HbF. Распределение патологических результатов КЭФ показано на рисунке 2.

По результатам прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *HBB* aberrации были обнаружены у 24 больных. 21 из 24 aberrаций являлись характерными для бета-талассемии. Результаты

секвенирования указаны на рисунке 3. Наиболее часто (у 8 (33,3 %) больных) обнаружили мутацию c.25\_26delAA — делецию двух нуклеотидов в первом экзоне, приводящую к сдвигу рамки считывания. У 1 из 8 больных был обнаружен гомозиготный вариант c.25\_26delAA. Следующими по распространенности были aberrации, зафиксированные дважды: c.93-21G>A в первом интроне, p.Gln40Ter во втором экзоне и p.Glu6Val в первом экзоне — они встречались с частотой 8,3 %. Последняя указанная aberrация — замена глутаминовой кислоты на валин в 6 положении — является мутацией, определяющей развитие серповидноклеточной анемии. У одного из больных обнаружен гомозиготный вариант p.Glu6Val. Остальные выявленные aberrации встречались однократно, что составило частоту 4,16 % для каждой мутации. У 9 (27,2 %) больных результаты секвенирования оказались отрицательными. Распространенность обнаруженных aberrаций представлена на рисунке 3.

Aberrации были обнаружены практически во всех участках гена. В первом экзоне располагались два варианта: c.25\_26delAA и p.Glu6Val. Во втором экзоне обнаружены четыре варианта: p.Gln40Ter, c.135delC, p.Val61Glu и p.Gly75Asp. В первом интроне — 4 вида aberrаций: c.93-21G>A, c.93-36CT, c.92+1G>T и c.92G>C,



**Рисунок 2.** Распределение патологических результатов КЭФ  
**Figure 2.** Distribution of pathological results of capillary electrophoresis

во втором — 2 вида: с.316-197С>Т и с.315+1G>Т. Помимо экзонных и интронных вариантов были также обнаружены aberrации в промоторных регионах: с.-80Т>А и с.-151С>Т. Распределение aberrаций по расположению в гене показано на рисунке 4.

Анализ общих гематологических показателей в разных группах продемонстрирован на рисунке 5. У 2 больных серповидноклеточной анемией обнаружили анемию со значимым уменьшением количества эритроцитов до  $3,22 \times 10^{12}/л$  и  $3,21 \times 10^{12}/л$  и концентрации гемоглобина до 109–110 г/л при значениях MCV и MCH, близких к верхней границе нормы — 96,6 и 96,2 фл и 34,2 и 32,9 пг соответственно.

Гематологические показатели больных с верифицированной бета-талассемией характеризовались следующим: уменьшение концентрации гемоглобина в пределах 102–112 г/л и значимые снижения MCV (57,4–68,2 фл) и MCH (17,8–21,5 пг) при количестве эритроцитов выше референсных значений ( $5,22–$

$5,73 \times 10^{12}/л$ ). У больного в возрасте 4-х лет с патологическим нестабильным вариантом гемоглобина Hb Shepherds Bush обнаружили количество эритроцитов в пределах референсных значений для данного возраста и концентрацию гемоглобина, MCV и MCH, соответствующие нижней границе референсных значений ( $4,54 \times 10^{12}/л$ , 115 г/л, 79,5 фл и 25,3 пг соответственно).

Aberrация с.93-36СТ с неизвестной клинической значимостью представляет собой индель 8 нуклеотидов в первом интроне. На рисунке 6 представлен результат секвенирования по Сэнгеру участка гена, на котором располагается aberrация. Значения КЭФ гемоглобина данного больного следующие: HbA — 86,2 %, HbA2 — 1,9 %, HbF — 3,1 % и наличие патологического гемоглобина в концентрации 5,7 %. Результат КЭФ гемоглобина приведен на рисунке 7.

По результатам мультиплексной лигазной цепной реакции на количество копий генов HBA1, HBA2 сочетание и ко-носительство альфа-талассемии в иссле-

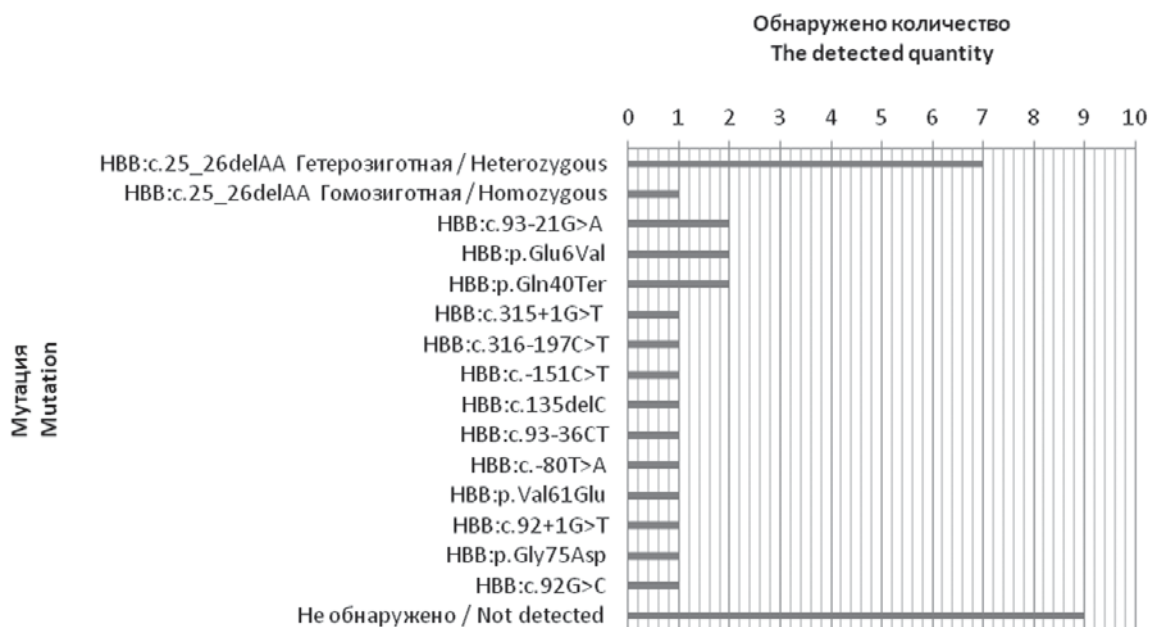


Рисунок 3. Распределение результатов секвенирования

Figure 3. Distribution of Sanger sequencing results

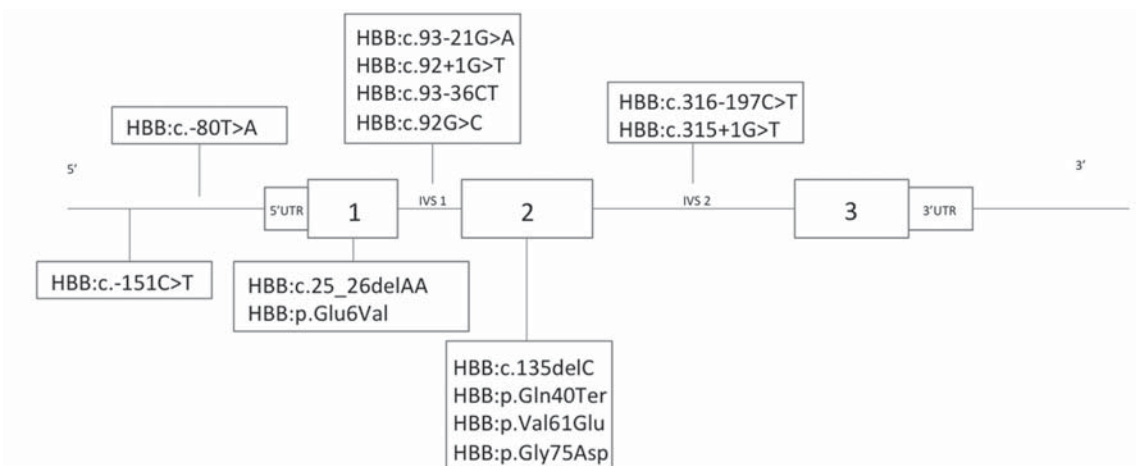


Рисунок 4. Распределение aberrаций внутри гена

Figure 4. Aberrations distribution inside the gene

дуемой выборке было исключено: количество копий HVA генов у всех больных соответствовало норме.

## Обсуждение

Такие наследственные заболевания, как бета-таласемия и *HBB*-ассоциированные гемоглинопатии, являются одними из наиболее распространенных наследственных заболеваний. В связи с часто стертой симптоматикой и неспецифическими лабораторными изменениями диагностика данного состояния представляет собой сложный многоэтапный процесс, включающий использование большого количества специфических лабораторных методов. Несмотря на то что РФ не является эндемичным регионом по данным заболеваниям, миграционные процессы увеличили вклад данных состояний в структуру заболеваний, приводящих к развитию анемии. Истинная распространенность и молекулярно-генетические особенности бета-талассемии и *HBB*-ассоциированных гемоглинопатий остаются неизвестными.

В большинстве исследований [8–11] оценку фракций гемоглобина проводили одним из двух методов: КЭФ гемоглобина или ВЭЖХ. Многие лаборатории отдают предпочтение ВЭЖХ в связи с большей распространенностью метода и скоростью проведения исследования, но в силу того, что КЭФ более доступен в России и это позволяет разделить некоторые типы гемоглобина, например А2 и Е [3], в настоящей работе был выбран метод КЭФ гемоглобина на приборе «Minisap» для разделения типов гемоглобина и оценки их относительного содержания.

По результатам исследования фракционного состава гемоглобина больных разделили на несколько групп: с повышенным содержанием HbA2 (60,6 %), с повышением содержания HbF (69,6 %), а также группа сочетанным повышением содержания HbA2 и HbF (33,3 %). Таким образом, группа с повышенным содержанием HbF количественно преобладала над группой с повышенным содержанием HbA2.

Полученные в настоящей работе данные значительно отличаются от данных Ю.И. Жиленковой [12], согласно которым повышение фракции HbA2 регистрировали у 95 %, в то время как HbF — у 46,9 % при использовании КЭФ. Такое несоответствие может быть обусловлено изначальными различиями в дизайне исследования и группах сравнения: в настоящем исследовании проанализировали результаты

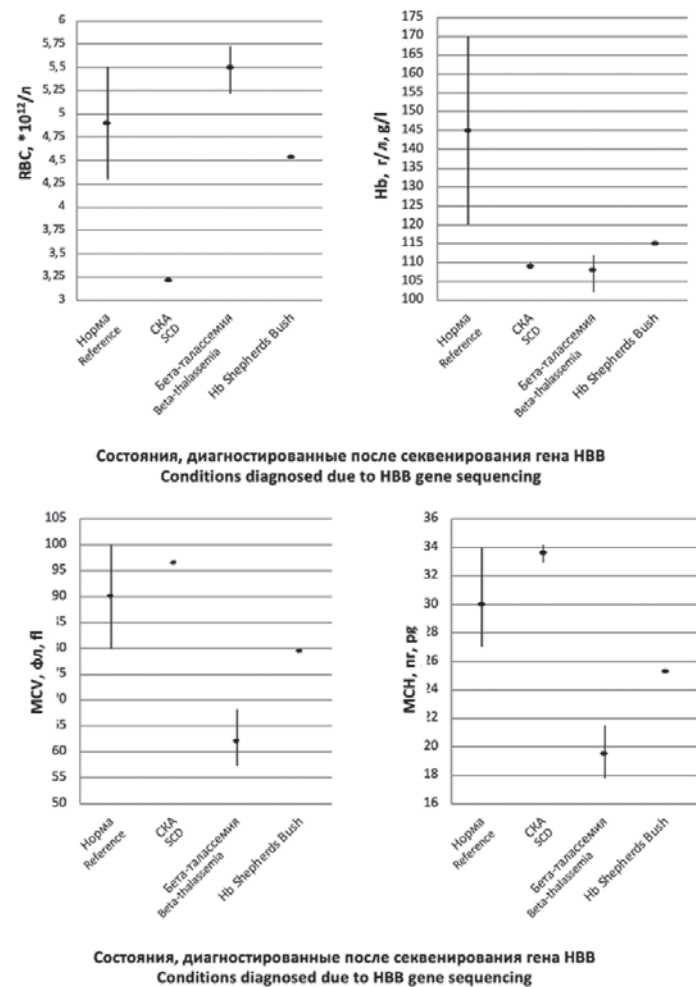


Рисунок 5. Значения общих гематологических показателей. СКА — серповидноклеточная анемия  
 Figure 5. Values of general blood counts parameters. SCD — sickle cell disease

КЭФ гемоглобина у больных без диагноза, в то время как в работе Ю.И. Жиленковой [12] предоставлены данные по количеству человек с повышением этих типов гемоглобина среди больных легкой формой бета-талассемии. Таким образом, больные со значимым повышением содержания HbF, что характерно для более тяжелых форм бета-талассемии, не были включены в количественный анализ.

Полученные в настоящей работе данные по количественному различию групп с повышением содержания HbA2 и HbF трудносопоставимы с результатами большинства исследований по нескольким причинам. Во-первых, в большинстве исследований, проводимых в эндемичных регионах, показатель фетального гемоглобина не оценивали — в рамках скрининга бета-та-

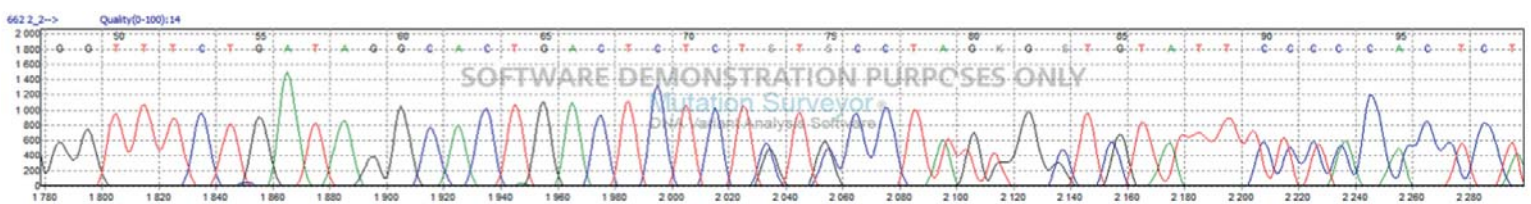
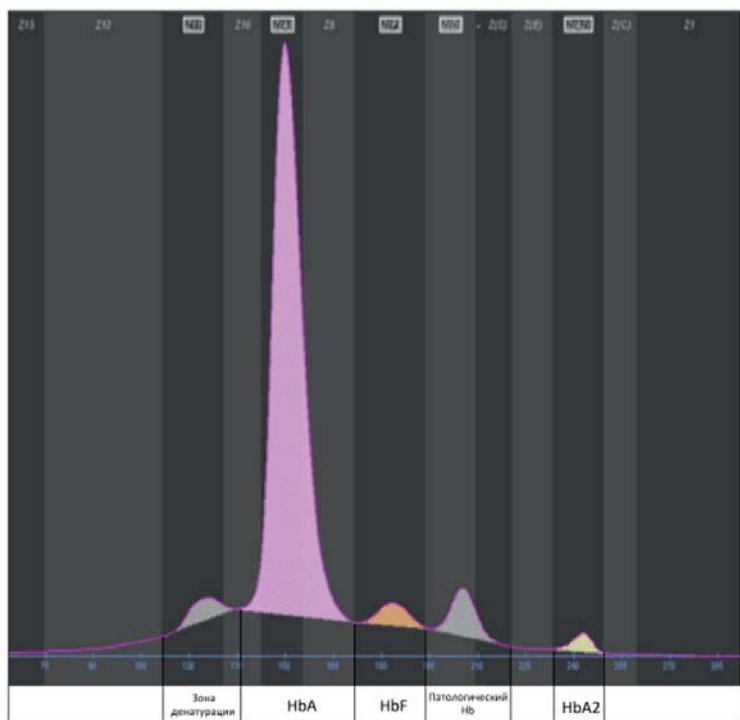


Рисунок 6. Результат секвенирования участка гена с aberrацией c.93-36CT  
 Figure 6. The result of Sanger sequencing with detected aberration c.93-36CT



**Рисунок 7.** Результат КЭФ гемоглобина, при котором был обнаружен неизвестный вариант Hb

**Figure 7.** The result of capillary electrophoresis of hemoglobin with detected unknown Hb variant

лассемии многие исследователи, например V. Gupta и соавт. [13] и G. Aydogan и соавт. [14], проводили анализ исключительно HbA2 фракции, что затрудняет оценку истинного соотношения групп с повышением содержания HbF и HbA2.

Согласно полученным данным, у 8 больных наблюдали изолированное повышение содержания HbF, среди которых у 3 больных при исследовании гена *HBB* были выявлены aberrации, характерные для бета-талассемии. По возможности следует отдавать предпочтение методам, позволяющим полноценно оценить состав гемоглобина. Такое мнение поддерживается Q. Zhuang и соавт. [15].

Различные методы исследования состава гемоглобина предполагают использование разных пороговых значений для HbA2 (от 3,2 до 4 %) и HbF (от 1 до 2 %) ввиду различной чувствительности методов, что делает некорректным сопоставление результатов, полученных в разных исследованиях. Тем не менее, несмотря на различные методы исследования, среднее значение фракции HbA2, полученное в настоящей работе —  $4,8 \pm 0,69$  %, сопоставимо с данными, описанными G. Aydogan и соавт. [14] и I.Y. Abdel-Messih и соавт. [8]:  $5,81 \pm 0,75$  и  $5,4 \pm 0,7$  % соответственно.

В результате проведения прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру описаны aberrации, характерные в подавляющем большинстве для бета-талассемии. Чаще всего (33,3 %) обнаруживали aberrацию с.25\_26delAA — делецию двух нуклеотидов в первом экзоне, приводящую к сдвигу рамки считывания и пре-

ждевременному прекращению трансляции на 21-м кодоне. Полученные в настоящей работе данные сопоставимы с данными, полученными Ю.И. Жиленковой [12], согласно которым с.25\_26delAA выявляли в 36 % случаев бета-талассемии, и Н.В. Миловановой и соавт. [16], согласно которым обсуждаемая aberrация была выявлена у 27 % у больных тяжелой и промежуточной формами бета-талассемии. Данная aberrация занимает второе место по распространенности среди больных  $\beta$ -талассемией (20,7 %) в Иране [17].

Следующими по распространенности (по 8,3 %) в настоящем исследовании были aberrации, характерные для бета-талассемии: с.93-21G>A в первом интроне и p.Gln40Ter во втором экзоне и для СКА: p.Glu6Val в первом экзоне. Aberrация с.93-21G>A, приводящая к появлению альтернативного сайта сплайсинга в интроне, по данным P. Kousiappa и соавт. [18], являлась наиболее распространенной среди больных гемоглобинопатиями на Кипре, составляя 79,01 % от всех вариантов, полученных в 20-летнем ретроспективном исследовании. Указанная aberrация также занимает второе место по распространенности (12 %) в исследовании Н.В. Миловановой и соавт. [16] среди больных с клинически значимыми формами бета-талассемии [9]. Помимо этого, данный вариант также распространен в Иране, составляя, по данным F.H. Nezhad и соавт. [19] и M. Jalilian и соавт. [17], 14 % среди aberrаций, обнаруженных у больных бета-талассемией. На Кипре четвертой по распространенности aberrацией среди больных с наследственными заболеваниями гемоглобина является вариант p.Gln40Ter, составляя 1,18 % [18], что сопоставимо с полученными в настоящем исследовании результатами и данными других авторов [3], по которым данная aberrация занимает второе место среди всех мутаций, характерных для бета-талассемии в странах Средиземноморья. В исследованиях мутационного состава бета-талассемий в Иране [17, 19], Китае [20] и Южной Азии [21] данная aberrация не упоминается, что подтверждает ее средиземноморскую принадлежность.

Aberrация p.Glu6Val была выявлена у 2 больных, у которых при КЭФ гемоглобина обнаруживался HbS. Интересным является то, что у 1 из 3 больных была обнаружена данная aberrация в гомозиготной форме при концентрации HbS 63,9 % и HbF 34,5 %, в то время как значения HbS и HbF при гетерозиготной форме составляли 47,7 и 49,2 % соответственно. Анализ гематологических данных практически не выявил различий между клиническими анализами крови больного с гетеро- и гомозиготной формами: в обоих случаях обнаруживалась легкая нормоцитарная (MCV 92,4–96,6 фл) гиперхромная (MCH 32,9–34,2 пг) анемия (Hb 109–110 г/л). Стоит отметить, что была недоступна информация об анамнезе и возможном лечении серповидноклеточной анемии у данных больных, в связи

с чем невозможно в полной мере оценивать различия в электрофоретической и лабораторной картинах.

Остальные мутации были выявлены однократно, что составило 4,16 % для каждой aberrации. Среди них наиболее часто описывают вариант с.315+1G>T во втором интроне, который занимает первое место в Иране среди aberrаций, характерных для бета-талассемии [17, 19]. Однако большинством авторов была обнаружена aberrация с.315+1G>A, то есть замена нуклеотида на Т вместо А в том же положении. Тем не менее это не влияет на форму бета-талассемии, так как оба варианта равноценно приводят к нарушению сплайсинга РНК в связи с заменой нуклеотида в составе нуклеотидных пар сайта сплайсинга [22]. Однократно обнаруженная в настоящем исследовании aberrация с.316-197C>T во втором интроне является наиболее распространенной (41,95 %) мутацией среди больных бета-талассемией в Китае [13]. Она, так же как и с.93-21G>A, приводит к нарушению сплайсинга РНК через образование альтернативного сайта сплайсинга в интроне.

В настоящем исследовании также были обнаружены два транскрипционных варианта, представляющих собой aberrации в зоне промоторных регуляторных элементов. с.-151C>T является нуклеотидной заменой в зоне САССС бокса, но данный вариант считается «тихим» [3] и характеризуется только носительством (бета++ форма), поскольку минимально влияет на продукцию бета-глобина. Тем не менее, по полученным в настоящем исследовании данным, у больного с этой aberrацией обнаруживали патологические результаты КЭФ со значениями HbA2 — 6,4 %, HbF — 5,4 %. Другим транскрипционным вариантом является с.80T>A в промоторе: влияние данной замены на развитие бета-талассемии обусловлено снижением аффинности транскрипционных факторов к зоне промотора, что приводит к снижению синтеза продукта гена.

Помимо описанных выше aberrаций, в настоящем исследовании были выявлены также два варианта, приводящие к появлению нестабильных гемоглобинов Hb Mongro и Hb Cagliari — с.92G>C в первом интроне и p.Val61Glu во втором экзоне. Обе aberrации приводят к аминокислотным заменам и появлению гипернестабильных гемоглобинов, причем с.92G>C является одновременно мутацией, нарушающей строение динуклеотида, ответственного за сплайсинг.

Различие выявленного спектра aberrаций по сравнению с выявленными aberrациями в других российских исследованиях [16] может быть обусловлено, во-первых, тем, что авторы исследовали спектр aberrаций в гене *HBB* у больных с большой и промежуточными формами бета-талассемии, в то время как в исследуемую в настоящей работе выборку были включены больные с легкими формами бета-талассемии/носительством в том числе; во-вторых, большим генетическим разнообразием бета-талассемии на территории РФ.

Оценивая распределение выявленных мутаций внутри гена (рис. 5), следует отметить, что aberrации расположились неравномерно, обнаруживаясь практически во всех участках гена, за исключением 3-го экзона. Такое распределение подчеркивает необходимость исследования всех участков гена — не только экзонов, но и интронов.

Отсутствие aberrаций в третьем экзоне может быть объяснено несколькими причинами. Во-первых, большинство aberrаций в третьем экзоне приводят к появлению нестабильных вариантов гемоглобина. Приблизительно четверть известных нестабильных гемоглобинов не определяется на электрофорезе, что затрудняет отбор таких больных для дальнейшего генетического исследования. Во-вторых, nonsense-мутации в третьем экзоне приводят к преждевременному прекращению трансляции и появлению гипернестабильных гемоглобинов, являющихся причиной развития тяжелого доминантно наследуемого фенотипа [5]. Редкость данных aberrаций и высокая летальность при данной форме заболевания обуславливают отсутствие таких больных в исследованной выборке.

Обнаруженные серповидноклеточная анемия и бета-талассемия имеют различия в гематологических показателях: в то время как бета-талассемия определяется лабораторно как микроцитарная (<80 фл), гипохромная (<27 пг) анемия с любым значением количества эритроцитов, Серповидноклеточная анемия характеризуется нормо/макроцитарной анемией. Результаты анализа гематологических показателей больных соответствуют гематологической характеристике описанных состояний в литературе [3]. Разница в показателях количества эритроцитов, MCV, MCH между серповидноклеточной анемией и бета-талассемией показана на рисунке 6. Значения количества эритроцитов для больных из группы с бета-талассемией не выходили за нижнюю референсную границу, находясь ближе к верхней границе, в то время как при серповидноклеточной анемии обнаруживалось значимое уменьшение количества эритроцитов. Это может быть объяснено патофизиологическими механизмами развития анемии при данных состояниях: развитие анемии при бета-талассемии обуславливается, в первую очередь, неэффективным эритропоэзом, а при серповидноклеточной анемии — гемолизом.

При КЭФ гемоглобина в настоящем исследовании был обнаружен патологический вариант гемоглобина. Генотипирование гена *HBB* у 4-летнего больного с данным вариантом гемоглобина выявило aberrацию p.Gly75Asp. Данная нуклеотидная замена во втором экзоне приводит к замене глицина на аспарагиновую кислоту в 75 положении и образованию нестабильного варианта Hb Shepherds Bush. Указанный гемоглобин является крайне редким вариантом. Всего в литературе описано 7 случаев его выявления в 1970—1980-х гг. [23–26]. Hb Shepherds Bush имеет повышенную



аффинность к кислороду, обусловленную тем, что аминокислотная замена происходит в гемовом кармане [24, 25]. Высокая аффинность у гетерозигот приводит к компенсаторной стимуляции эритропоэза. Таким образом, у гетерозигот или нет анемии вообще, или она ограничивается легкой степенью тяжести [24, 25]. Полученные в настоящем исследовании данные подтверждают эту особенность лабораторной картины при гемоглобинопатии Hb Shepherds Bush: значения количества эритроцитов —  $4,54 \times 10^{12}/л$ , концентрация гемоглобина — 115 г/л, MCV — 79,5 фл, MCH — 25,3 пг. Общие гематологические показатели находились в пределах возрастных референсных диапазонов, при том что последние три показателя — ближе к нижним референсным границам. Анемия при наличии Hb Shepherds Bush обуславливается гемолизом и гемолитическими кризами, в связи с чем для данных больных характерен ретикулоцитоз.

Помимо Hb Shepherds Bush, в настоящем исследовании был обнаружен еще один патологический вариант гемоглобина в концентрации 5,7 % при КЭФ (рис. 7). При секвенировании по Сэнгеру гена *HBB* у данного больного была обнаружена абберрация с.93-36СТ — индекс 8 нуклеотидов в первом интроне. Эта абберрация определяется как вариант с неизвестной клинической значимостью по базам NCBI [27] и ClinVar [6] и отсутствует в базе HbVar [7]. Помимо этого, с.93-36СТ является редкой аллелью с аллельной частотой 0,000004 по данным базы GnomAD\_exom19 [28] и была зарегистрирована четырежды в различных исследованиях. Согласно полученным в настоящем исследовании данным, обнаруженный вариант является патогенным и приводит

к появлению патологического варианта гемоглобина. Несмотря на то что абберрация располагается в интроне и не приводит к аминокислотной замене, она может обуславливать образование патологического гемоглобина через нарушение сплайсинга. Патогенность данной мутации, особенности строения выявленного гемоглобина и клиническая значимость указанных находок требуют дальнейшего исследования.

Таким образом, данные электрофоретических и молекулярно-генетических исследований бета-талассемии значительно варьируют от больного к больному. При проведении исследования были описаны различные варианты результатов КЭФ гемоглобина с наличием изолированного повышения HbA2 и HbF, а также варианты с сочетанным увеличением обеих фракций. Полученные результаты свидетельствуют, что скрининг на бета-талассемию необходимо проводить путем электрофореза или ВЭЖХ с оценкой как HbA2, так и обязательно HbF. Вместе с тем методы анализа фракционного состава гемоглобина являются скрининговыми на бета-талассемию и подтверждение диагноза должно осуществляться молекулярно-генетическими исследованиями. Спектр выявленных абберраций в гене *HBB*, ответственных за развитие бета-талассемии, широк — присутствуют варианты, распространенные повсеместно, что свидетельствует о существовании различных путей попадания в РФ данного заболевания. Отсутствие явно выраженных распространенных вариантов («горячих точек») при наследственных нарушениях гемоглобина, ассоциированных с геном *HBB*, подтверждает важность полного исследования гена *HBB*.

## Литература

1. Lee J.S., Cho S.I., Park S.S., Seong M.W. Molecular basis and diagnosis of thalassaemia. *Blood Res.* 2021;56(S1):S39–43. DOI: 10.5045/br.2021.2020332.
2. <https://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/counter/>; 2024.
3. Steinberg M.H., Forget B.G., Higgs D.R., editors. Disorders of Hemoglobin. Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.
4. Kattamis A., Forni G.L., Aydinok Y., Viprakasit V. Changing patterns in the epidemiology of beta-thalassemia. *Eur J Haematol.* 2020; 105(6): 692–703. DOI: 10.1111/ejh.13512.
5. Thein S.L. The molecular basis of  $\beta$ -thalassaemia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013; 3(5): a011700. DOI: 10.1101/cshperspect.a011700.
6. <http://clinvar.com/>; 2024.
7. Hardison R.C., Chui D.H., Giardine B., et al. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassaemia mutations at the globin gene server. *Hum. Mutat.* 2002; 19(3): 225–33. DOI: 10.1002/humu.10044.
8. Abdel-Messih I.Y., Youssef S.R., Mokhtar G.M., et al. Clinical to Molecular Screening Paradigm for beta-Thalassaemia Carriers. *Hemoglobin.* 2015; 39(4): 240–6. DOI: 10.3109/03630269.2015.1048808.
9. Suman F.R., Teja R., Magdalene J., et al. Screening for beta Thalassaemia Carrier State Among Women Attending Antenatal Clinic in a Tertiary Care Centre and Framing a Model Program for the Prevention of a Beta Thalassaemia. *Cureus.* 2022; 14(2): e22209. DOI: 10.7759/cureus.22209.

## References

1. Lee J.S., Cho S.I., Park S.S., Seong M.W. Molecular basis and diagnosis of thalassaemia. *Blood Res.* 2021;56(S1):S39–43. DOI: 10.5045/br.2021.2020332.
2. <https://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/counter/>; 2024.
3. Steinberg M.H., Forget B.G., Higgs D.R., editors. Disorders of Hemoglobin. Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.
4. Kattamis A., Forni G.L., Aydinok Y., Viprakasit V. Changing patterns in the epidemiology of beta-thalassemia. *Eur J Haematol.* 2020; 105(6): 692–703. DOI: 10.1111/ejh.13512.
5. Thein S.L. The molecular basis of  $\beta$ -thalassaemia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013; 3(5): a011700. DOI: 10.1101/cshperspect.a011700.
6. <http://clinvar.com/>; 2024.
7. Hardison R.C., Chui D.H., Giardine B., et al. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassaemia mutations at the globin gene server. *Hum. Mutat.* 2002; 19(3): 225–33. DOI: 10.1002/humu.10044.
8. Abdel-Messih I.Y., Youssef S.R., Mokhtar G.M., et al. Clinical to Molecular Screening Paradigm for beta-Thalassaemia Carriers. *Hemoglobin.* 2015; 39(4): 240–6. DOI: 10.3109/03630269.2015.1048808.
9. Suman F.R., Teja R., Magdalene J., et al. Screening for beta Thalassaemia Carrier State Among Women Attending Antenatal Clinic in a Tertiary Care Centre and Framing a Model Program for the Prevention of a Beta Thalassaemia. *Cureus.* 2022; 14(2): e22209. DOI: 10.7759/cureus.22209.

10. Nosheen A., Inamullah., Ahmad H., et al. Premarital genetic screening for beta thalassemia carrier status of indexed families using HbA2 electrophoresis. *J Pak Med Assoc.* 2015; 65(10): 1047–9.
11. Lippi G., Carta M.R., Salvagno G.L., et al. Separation of haemoglobin HbE and HbA by the fully automated, high-pressure liquid chromatography Tosoh HLC-723 G7 analyzer. *Int J Lab Hematol.* 2008; 30(5): 432–6. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2007.00988.x.
12. Жиленкова Ю.И. Особенности лабораторной диагностики различных форм гемоглинопатий: автореф. дис. ...канд. мед. наук. СПб., 2017. 24 с.
13. Gupta V., Sharma P., Jora R., et al. Screening for Thalassemia Carrier Status in Pregnancy and Pre-Natal Diagnosis. *Indian Pediatr.* 2015; 52(9): 808–9.
14. Aydogan G., Keskin S., Akici F., et al. Causes of Hypochromic Microcytic Anemia in Children and Evaluation of Laboratory Parameters in the Differentiation. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2019; 41(4): 221–3. DOI: 10.1097/MPH.0000000000001382.
15. Zhuang Q., Wang G., Wang Y., et al. The value of combined detection of HbA2 and HbF for the screening of thalassemia among individuals of childbearing ages. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2022; 39(1): 16–20.
16. Милованова Н.В., Гусарова Е.А., Нагорнов И.О. и др. Молекулярно-генетический анализ гена HBB в группе российских пациентов. *Российский журнал детской гематологии и онкологии.* 2019; 6(1): 216.
17. Jalilian M., Azizi Jalilian F., Ahmadi L., et al. The Frequency of HBB Mutations Among  $\beta$ -Thalassemia Patients in Hamadan Province, Iran. *Hemoglobin.* 2017; 41(1): 61–4. DOI: 10.1080/03630269.2017.1302468.
18. Kountouris P., Kousiappa I., Papasavva T., et al. The molecular spectrum and distribution of haemoglobinopathies in Cyprus: a 20-year retrospective study. *Sci Rep.* 2016; 6: 26371. DOI: 10.1038/srep26371.
19. Nezhad F.H., Nezhad K.H., Choghakabodi P.M., Keikhaei B. Prevalence and Genetic Analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Thalassemia and Sickle Cell Anemia in Southwest Iran. *J Epidemiol Glob Health.* 2018; 8(3–4): 189–95. DOI: 10.2991/j.jegh.2018.04.103.
20. Huang H., Xu L., Chen M., et al. Molecular characterization of thalassemia and hemoglobinopathy in Southeastern China. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 3493. DOI: 10.1038/s41598-019-40089-5.
21. Yang Z., Cui Q., Zhou W., et al. Comparison of gene mutation spectrum of thalassemia in different regions of China and Southeast Asia. *Mol Genet Genomic Med.* 2019; 7(6): 680. DOI: 10.1002/mgg3.680.
22. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs33945777#frequency\\_tab](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs33945777#frequency_tab); 2022.
23. White J.M., Brain M.C., Lorkin P.A., et al. Mild «unstable haemoglobin haemolytic anaemia» caused by haemoglobin Shepherds Bush(B74(E18) gly--asp). *Nature.* 1970; 225(5236): 939–41. DOI: 10.1038/225939a0.
24. Sansone G., Sciaratta G.V., Genova R., et al. Haemoglobin Shepherds Bush ( $\beta$ 74 [E18] Gly→Asp) in an Italian Family. *Acta Haematol.* 1977; 57(2): 102–8. DOI: 10.1159/000207866.
25. May A., Huehns, E.R. The Control of Oxygen Affinity of Red Cells with Hb-Shepherds Bush. *Br J Haematol.* 1977; 22(5): 599–607. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1972.tb05706.x.
26. Schilirò G., Musumeci S., Russo A., et al. HB Shepherds Bush (alpha 2 beta 2 74 (E18) Gly replaced by Asp) in two Italian carriers. *Hemoglobin.* 1981; 5(5): 493–6.
27. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3043>; 2024.
28. <http://gnomad-sg.org/>; 2024.
10. Nosheen A., Inamullah., Ahmad H., et al. Premarital genetic screening for beta thalassemia carrier status of indexed families using HbA2 electrophoresis. *J Pak Med Assoc.* 2015; 65(10): 1047–9.
11. Lippi G., Carta M.R., Salvagno G.L., et al. Separation of haemoglobin HbE and HbA by the fully automated, high-pressure liquid chromatography Tosoh HLC-723 G7 analyzer. *Int J Lab Hematol.* 2008; 30(5): 432–6. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2007.00988.x.
12. Zhilenkova I.I. Laboratory diagnostic features of different types of hemoglobinopathies: PhD Thesis. Saint-Petersburg, 2017. 24 p. (In Russian).
13. Gupta V., Sharma P., Jora R., et al. Screening for Thalassemia Carrier Status in Pregnancy and Pre-Natal Diagnosis. *Indian Pediatr.* 2015; 52(9): 808–9.
14. Aydogan G., Keskin S., Akici F., et al. Causes of Hypochromic Microcytic Anemia in Children and Evaluation of Laboratory Parameters in the Differentiation. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2019; 41(4): 221–3. DOI: 10.1097/MPH.0000000000001382.
15. Zhuang Q., Wang G., Wang Y., et al. The value of combined detection of HbA2 and HbF for the screening of thalassemia among individuals of childbearing ages. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2022; 39(1): 16–20.
16. Milovanova N.V., Gusarova N.V., Nagornov I.O., et al. The molecular genetic HBB gene analysis in a group of Russian patients. *Rossiyskiy Zhurnal Detskoy Gematologii i Onkologii.* 2019; 6(1): 216. (In Russian).
17. Jalilian M., Azizi Jalilian F., Ahmadi L., et al. The Frequency of HBB Mutations Among  $\beta$ -Thalassemia Patients in Hamadan Province, Iran. *Hemoglobin.* 2017; 41(1): 61–4. DOI: 10.1080/03630269.2017.1302468.
18. Kountouris P., Kousiappa I., Papasavva T., et al. The molecular spectrum and distribution of haemoglobinopathies in Cyprus: a 20-year retrospective study. *Sci Rep.* 2016; 6: 26371. DOI: 10.1038/srep26371.
19. Nezhad F.H., Nezhad K.H., Choghakabodi P.M., Keikhaei B. Prevalence and Genetic Analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Thalassemia and Sickle Cell Anemia in Southwest Iran. *J Epidemiol Glob Health.* 2018; 8(3–4): 189–95. DOI: 10.2991/j.jegh.2018.04.103.
20. Huang H., Xu L., Chen M., et al. Molecular characterization of thalassemia and hemoglobinopathy in Southeastern China. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 3493. DOI: 10.1038/s41598-019-40089-5.
21. Yang Z., Cui Q., Zhou W., et al. Comparison of gene mutation spectrum of thalassemia in different regions of China and Southeast Asia. *Mol Genet Genomic Med.* 2019; 7(6): 680. DOI: 10.1002/mgg3.680.
22. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs33945777#frequency\\_tab](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs33945777#frequency_tab); 2022.
23. White J.M., Brain M.C., Lorkin P.A., et al. Mild «unstable haemoglobin haemolytic anaemia» caused by haemoglobin Shepherds Bush(B74(E18) gly--asp). *Nature.* 1970; 225(5236): 939–41. DOI: 10.1038/225939a0.
24. Sansone G., Sciaratta G.V., Genova R., et al. Haemoglobin Shepherds Bush ( $\beta$ 74 [E18] Gly→Asp) in an Italian Family. *Acta Haematol.* 1977; 57(2): 102–8. DOI: 10.1159/000207866.
25. May A., Huehns, E.R. The Control of Oxygen Affinity of Red Cells with Hb-Shepherds Bush. *Br J Haematol.* 1977; 22(5): 599–607. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1972.tb05706.x.
26. Schilirò G., Musumeci S., Russo A., et al. HB Shepherds Bush (alpha 2 beta 2 74 (E18) Gly replaced by Asp) in two Italian carriers. *Hemoglobin.* 1981; 5(5): 493–6.
27. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3043>; 2024.
28. <http://gnomad-sg.org/>; 2024.

### Информация об авторах

**Хачатурян Алина Грениковна\***, клинический ординатор по гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А.Алмазова»,  
e-mail: khachaturianalina@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3666-1508>

**Назаров Владимир Дмитриевич**, кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики, лабораторный генетик лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: nazarov19932@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>

**Лاپин Сергей Владимирович**, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: svlapin@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>

**Сидоренко Дарья Владимировна**, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: 45epic@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8503-0759>

**Дубина Ирина Александровна**, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: Befunny2008@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5256-7066>

**Первакова Маргарита Юрьевна**, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: margaritalerner@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9630-257X>

### Information about the authors

**Alina G. Khachaturian\***, hematology resident Almazov National Medical Research Centre,  
e-mail: khachaturianalina@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3666-1508>

**Vladimir D. Nazarov**, Cand. Sci. (Med.), laboratory diagnostics doctor, Autoimmune Disease Laboratory, Centre of Molecular medicine, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University,  
e-mail: nazarov19932@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>

**Sergey V. Lapin**, Cand. Sci. (Med.), Head of Autoimmune Disease Laboratory, Centre of Molecular Medicine, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University,  
e-mail: svlapin@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>

**Darya V. Sidorenko**, laboratory diagnostics doctor, Autoimmune Disease Laboratory, Centre of Molecular medicine, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University,  
e-mail: 45epic@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8503-0759>

**Irina A. Dubina**, laboratory diagnostics doctor, Autoimmune Disease Laboratory, Centre of Molecular medicine, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University,  
e-mail: Befunny2008@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5256-7066>

**Margarita Yu. Pervakova**, laboratory diagnostics doctor, Autoimmune Disease Laboratory, Centre of Molecular medicine, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University,  
e-mail: margaritalerner@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9630-257X>

**Вильгельми Антон Андреевич**, исполняющий обязанности руководителя лабораторного комплекса Санкт-Петербурга ООО «Научно-производственная фирма «Хеликс»,  
e-mail: [Vilgelmi.a@helix.ru](mailto:Vilgelmi.a@helix.ru)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3142-694X>

**Эмануэль Владимир Леонидович**, доктор медицинских наук, профессор, вице-президент Российской Ассоциации медицинской лабораторной диагностики, главный специалист-эксперт по клинической лабораторной диагностике Росздравнадзора по Северо-Западному федеральному округу; академик Российской метрологической академии; директор Научно-методического центра молекулярной медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: [vladimirem1@gmail.com](mailto:vladimirem1@gmail.com)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2079-0439>

**\* Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 09.12.2023

Принята к печати: 20.12.2023

**Anton A. Vilgelmi**, acting Head of Saint-Petersburg Laboratory Complex LLC "SPC Helix",  
e-mail: [Vilgelmi.a@helix.ru](mailto:Vilgelmi.a@helix.ru)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3142-694X>

**Vladimir L. Emanuel**, Dr. Sci. (Med.), Vice-President of Russian Medical Laboratory Association, Northwestern District Rosdravnadzor major expert-specialist of clinical laboratory diagnostics, Russian Metrological Academy academician, Head of Centre of Molecular Medicine Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University,  
e-mail: [vladimirem1@gmail.com](mailto:vladimirem1@gmail.com)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2079-0439>

**\* Corresponding author**

Received 09 Dec 2023

Accepted 20 Dec 2023