

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2025.03.26-41>

Характеристика гематологических и молекулярно-генетических особенностей бета-талассемии в лабораторной практике

Сливинский Д.С.¹, Назаров В.Д.¹, Мусонова А.К.¹, Сидоренко Д.В.¹, Лапин С.В.¹, Мазинг А.В.¹, Моисеев И.С.¹, Быкова Т.А.¹, Яковенко А.А.¹, Васильев А.В.², Денисов Д.Г.³

- 1 – ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Минздрава России 197022, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. Льва Толстого, д. 6–8
- 2 – Научно-производственная Фирма «ЖЕЛИКС» (ООО «НПФ «ЖЕЛИКС») 194044, г. Санкт-Петербург, Россия, Б. Сампсониевский пр-т, д. 20
- 3 – Лабораторная служба «ЖЕЛИКС» 197022, г. Санкт-Петербург, Россия, наб. реки Карповки, д. 5

Введение. Бета-талассемия – одно из самых распространенных наследственных заболеваний, характеризующееся снижением или полным отсутствием синтеза бета-глобиновой цепи. Показатели общего анализа крови (ОАК) пациентов с бета-талассемией часто схожи с другими микроцитарными гипохромными анемиями, что затрудняет их использование для дифференциальной диагностики анемий. Бета-талассемия все чаще выявляется в эндемичных регионах, к которым относится РФ. Тем не менее, в нашей стране встречаемость, а также лабораторные и молекулярно-генетические особенности бета-талассемии изучены недостаточно.

Цель. Охарактеризовать гематологические и молекулярно-генетические особенности бета-талассемии в лабораторной практике.

Материалы и методы. Изучались результаты ОАК 58266 пациентов старше 18 лет. По результатам ОАК отбирались пациенты, имеющие значения показателей гемоглобина и/или среднего объема эритроцита и/или среднего содержания гемоглобина в эритроците ниже референсных. Для дальнейшей дифференцировки использовались расчетные индексы Mentzer и Sirdah. Пациентам, у которых значения обоих индексов были ниже пороговых, проводилось прямое автоматическое секвенирование по Сэнгеру гена *HBB*.

Результаты. Из 58266 пациентов 20040 (34,39%) имели значения Hb и/или MCV и/или MCH ниже референсных. Значения обоих расчетных индексов указывали на бета-талассемию у 182 пациентов (0,91% пациентов с изменениями ОАК, 0,31% от всех обследованных лиц). Методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру патогенные варианты гена *HBB*, характерные для бета-талассемии, были выявлены у 64 пациентов, что составляет 0,32% пациентов с изменениями ОАК или 0,109% от всех обследованных лиц. Наиболее распространенным патогенным вариантом гена *HBB* в данном исследовании является с.25_26del (rs35497102) (21,8%).

Выводы. Всего в данном исследовании было обнаружено 20 различных патогенных вариантов, расположенных во всех участках гена *HBB*, что подчеркивает необходимость изучения нуклеотидной последовательности всего гена при диагностике бета-талассемии молекулярно-генетическими методами. Результаты, полученные в данном исследовании, показывают, что использование показателей ОАК и расчетных эритроцитарных индексов позволяет дифференцировать пациентов на группы риска, тем не менее, данные методы не обладают высокой чувствительностью. Необходима разработка более эффективных методов дифференциальной диагностики бета-талассемии от других микроцитарных гипохромных анемий.

Ключевые слова: бета-талассемия, ген *HBB*, ОАК, индекс Mentzer, индекс Sirdah, секвенирование по Сэнгеру.

Для цитирования: Сливинский Д.С., Назаров В.Д., Мусонова А.К., Сидоренко Д.В., Лапин С.В., Мазинг А.В., Моисеев И.С., Быкова Т.А., Яковенко А.А., Васильев А.В., Денисов Д.Г. Характеристика гематологических и молекулярно-генетических особенностей бета-талассемии в лабораторной практике. *Медицинская генетика*. 2025; 24(3): 26-41.

Автор для корреспонденции: Сливинский Дмитрий Сергеевич; **e-mail:** dmitriy.slivinskiy@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.03.2025

Принята: 30.03.2025

Description of hematologic and molecular genetic features of beta-thalassemia in laboratory practice

Slivinskiy D.S.¹, Nazarov V.D.¹, Musonova A.K.¹, Sidorenko D.V.¹, Lapin S.V.¹, Mazing A.V.¹, Moiseev I.S.¹, Bykova T.A.¹, Jakovenko A.A.¹, Vasiliev A.V.², Denisov D.G.³

1 – I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University
6-8 Lva Tolstogo st., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

2 – Scientific and production Company «HELIX»
20 B. Sampsonievsky pr. Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

3 – Laboratory Service «HELIX»
5 Karpovka r. em., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

Introduction. Beta-thalassemia is one of the most common inherited disorders characterized by reduced or complete absence of beta-globin chain synthesis. The CBC parameters of patients with beta-thalassemia are often similar to other microcytic hypochromic anemias, which makes it difficult to use these parameters for the purpose of differential diagnosis of anemias. The prevalence of beta-thalassemia is increasing in non-endemic regions, including the Russian Federation. However, in our country, the prevalence, laboratory and molecular genetic features of beta-thalassemia remain insufficiently studied.

Objective: to characterize hematological and molecular genetic features of beta-thalassemia in laboratory practice.

Methods. The present study examined the results of CBC of 58266 patients over 18 years of age. Patients with hemoglobin and/or mean corpuscular volume and/or mean corpuscular hemoglobin values below the reference values were selected according to the results of a complete blood count. Mentzer and Sirdah's calculated indices were utilised for further differentiation. Patients with both indices below the threshold values were subjected to direct automatic Sanger sequencing of the HBB gene.

Results. Among 58266 patients, 20040 (34.39%) had Hb and/or MCV and/or MCH values below reference values. Values of both calculated indices indicated beta-thalassemia in 182 patients (0.91% among patients with CBC changes, 0.31% among all subjects). Using the Sanger direct automatic sequencing method, pathogenic variants of the HBB gene were identified in 64 patients, which is 0.32% among patients with CBC changes or 0.109% among all examined individuals. The most common pathogenic variant of the HBB gene in this study is c.25_26del (rs35497102) (21.8%).

Conclusions. A total of 20 different pathogenic variants located in all regions of the HBB gene were detected in this study, which underlines the necessity of studying the nucleotide sequence of the entire gene in the diagnosis of beta-thalassemia using molecular genetic methods. The findings of this study demonstrate that the utilisation of CBC and calculated erythrocyte indices possesses the capacity to categorise patients into distinct risk groups; nevertheless, these methodologies are not characterised by a high degree of sensitivity. The development of more effective methods of differential diagnosis of beta-thalassemia from other microcytic hypochromic anemias is necessary.

Keywords: beta-thalassemia, HBB gene, CBC, Mentzer index, Sirdah index, Sanger sequencing.

For citation: Slivinskiy D.S., Nazarov V.D., Musonova A.K., Sidorenko D.V., Lapin S.V., Mazing A.V., Moiseev I.S., Bykova T.A., Jakovenko A.A., Vasiliev A.V., Denisov D.G. Description of hematologic and molecular genetic features of beta-thalassemia in laboratory practice. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2025; 24(3): 26-41. (In Russian).

Corresponding author: Slivinskiy D.S.; **e-mail:** dmitriy.slivinskiy@mail.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 20.03.2025

Accepted: 30.03.2025

Введение

Бета-талассемия (БТ) – количественная гемоглобинопатия связанная с патогенными вариантами гена *HBB*, который кодирует бета-глобин. БТ характеризуется снижением (b^+ -талассемия) или полным отсутствием (b^0 -талассемия) синтеза β -цепи гемоглобинового тетрамера [1].

БТ наследуется по аутосомно-рецессивному типу, однако существуют аутосомно-доминантные формы, которые характеризуются наличием па-

тогенных вариантов в экзоне 3 гена *HBB*. Однако они встречаются редко [2,3]. Несмотря на аутосомно-рецессивный тип наследования, носители гетерозиготных патогенных вариантов могут иметь неполную форму заболевания, так называемую малую форму БТ [2,4]. Уровень пенетрантности и экспрессивности клинических и лабораторных проявлений заболевания значительно варьирует даже у носителей одного патогенного варианта [5].

Существуют эндемические зоны распространения БТ, однако, в связи с активной миграцией населения данное заболевание все чаще встречается в неэндемичных странах, к которым относится РФ. Данные о встречаемости БТ в нашей стране недостаточны, а данные об общепопуляционной распространенности или результаты селективного скрининга отсутствуют [6].

В зависимости от выраженности клинических проявлений и изменений лабораторных показателей выделяют 3 основных клинических формы БТ (рис. 1). Большая (трансфузионно-зависимая, анемия Кули) форма встречается в основном у лиц, имеющих гомозиготный или компаунд-гетерозиготный генотип, и проявляется до двухлетнего возраста. Данная форма характеризуется тяжелой микроцитарной, гипохромной гемолитической анемией (гемоглобин (Hb) < 70 г/л), ретикулоцитозом, анизо- и пойкилоцитозом. Больные большой формой БТ нуждаются в постоянных переливаниях крови [7]. Промежуточная форма фенотипически представлена умеренной анемией с уровнем Hb 70-100 г/л. Малая форма БТ обусловлена гетерозиготным носительством патогенных вариантов в гене *HBB* и характеризуется отсутствием анемии (β/β^+), либо анемией легкой степени (β/β^0), повышенным количеством эритроцитов (RBC), микроцитозом и гипохромией [4,8-10]. В зависимости от конкретного варианта гена *HBB* носители могут не иметь анемии, и характеризоваться лишь микроцитозом, гипохромией [11]. Несмотря на отсутствие клинических и лабораторных симптомов заболевания, количество функционально активного гемоглобина А (HbA) даже у носителей патогенных вариантов гена *HBB* снижено [8]. Вследствие этого, в случаях кровопотери, воспалительных и инфекционных заболеваниях и при других тяжелых со-

стояниях, а также при сочетании с другими гемоглобинопатиями, у носителей могут развиваться выраженные клинические и лабораторные проявления [12].

Пациенты с малой формой БТ часто характеризуются эритроцитозом, в то время как более тяжелые формы отличаются значительным снижением количества эритроцитов. В зависимости от конкретного патогенного варианта гена *HBB* и сопутствующих патологических процессах уровень Hb у больных БТ может варьировать от нормальных значений до 20 г/л при тяжелых гемолитических формах [12]. Показатели MCV (Mean Corpuscular Volume – средний объем эритроцита) и MCH (Mean Cell Hemoglobin – среднее содержание гемоглобина в эритроците) снижены у большинства пациентов с БТ [5,11]. Распределение эритроцитов по объему (RDW) у больных БТ лежит в пределах референсных значений, либо слегка повышено, что отличает данное заболевание от железодефицитной анемии (ЖДА), для которой характерно более выраженное увеличение RDW [5,11-13]. Малая форма БТ может характеризоваться лишь изменением отдельных показателей ОАК, что значительно затрудняет выявление данного состояния. Наличие изменений лабораторных показателей общего анализа крови при БТ даже при отсутствии клинических проявлений можно назвать лабораторно значимым состоянием.

Важной задачей при постановке диагноза БТ является исследование показателей обмена железа. Избыток или недостаток железа предполагают различные подходы в коррекции данных состояний. При БТ чаще всего наблюдается избыток железа, предполагающий использование терапии, направленной на снижение уровня железа в организме с целью предупреждения развития вторичного гемохроматоза [14-16]. Тем не менее, состояния



Рис.1. Клинические формы бета-талассемии

Fig. 1. Clinical forms of beta-thalassemia

сопутствующей ЖДА у больных БТ обуславливают необходимость коррекции дефицита железа в организме, особенно при нетяжелых формах БТ [14].

Для исключения ЖДА у больных БТ исследуются показатели сывороточного железа, ферритина и трансферрина, а также используются расчетные эритроцитарные индексы (Mentzer, Sirdah, Srivastava и др.) [17].

Кроме особенностей терапии, наличие БТ предполагает проведение генетического консультирования с целью предупреждения рождения детей с тяжелыми формами данного заболевания [2]. Простота расчета и необходимость проведения только общего анализа крови предполагает возможность использования расчетных эритроцитарных индексов в качестве метода диагностики БТ в группе риска пациентов с характерными лабораторными признаками.

В качестве основного подтверждающего диагностического метода для БТ, особенно в неэндемических регионах, выступает исследование кодирующей и некодирующей последовательности гена *HBB* [4,18]. Важным аспектом молекулярно-генетического тестирования является полный анализ гена *HBB* с детекцией патогенных вариантов в экзонах, интронах, 5'- и 3'- регионах целевого гена [19]. Проведение семейного консультирования и каскадного скрининга родственников больного является важной задачей для снижения вероятности развития более тяжелых форм БТ в последующих поколениях.

Диагностические мероприятия в РФ усложняются большими различиями в клинических проявлениях и лабораторных показателях больных талассемией, разнообразием этнического состава населения страны, а также носителями патогенных вариантов, у которых отсутствуют лабораторные и клинические проявления. Однако актуальность выявления БТ, особенно малой формы заболевания, подчеркивается важностью предупреждения неадекватного лечения, а также проведения семейного консультирования у данных больных. Учитывая дороговизну молекулярно-генетического исследования, основным маркером алгоритма диагностики БТ в группе риска является ОАК и различные расчетные эритроцитарные индексы.

Целью данного исследования является характеристика гематологических и молекулярно-генетических особенностей БТ в лабораторной практике.

Методы

Для достижения поставленной цели были проанализированы результаты общего анализа крови

58 266 человек старше 18 лет, проходивших данное исследование по тем или иным причинам в лаборатории «Хеликс» за период 1,5 месяца. Для дальнейших исследований отбирались пациенты, показатели Hb которых были ниже 132 г/л у мужчин (117 г/л у женщин) и/или MCV < 80 фл у мужчин (81 фл у женщин), и/или MCH в эритроците < 27 пг. Анализ ОАК проводился на гематологическом анализаторе Sysmex в соответствии с инструкцией производителя.

Последующая дифференцировка пациентов проводилась с использованием расчетных эритроцитарных индексов Mentzer и Sirdah. Значения индекса Mentzer (MCV/RBC) менее 13 предполагают наличие у пациента БТ, нежели чем ЖДА. Значения индекса Sirdah (MCV – RBC – 3 x Hb) ниже 27 также предполагают наличие БТ. Пациентам, у которых значения обоих индексов указывали на наличие БТ, проводилось секвенирование гена *HBB* методом Сэнгера. Выделение и очистка ДНК проводились с использованием набора компании Евроген (Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Проведение ПЦР амплификации кодирующих и некодирующих участков гена *HBB* с последующим секвенированием полученных продуктов реакции проводилось в соответствии с ранее опубликованным протоколом [19].

Клиническая значимость выявленных вариантов оценивалась с использованием баз данных ClinVar, OMIM, Franklin, Exome Variant Server, Exome Aggregation Consortium.

Дифференцировка выявленных патогенных вариантов гена *HBB* осуществлялась в зависимости от этапа синтеза белка бета-глобина, который нарушается при том или ином варианте. Распределение происходило на основании классификации, предложенной в работе Thein S.L. et al., 2013, а также базы данных gnomAD.

Оценка показателей обмена железа осуществлялась на основании значений сывороточного железа, ферритина, общей железосвязывающей способности, трансферрина и других, измерение которых проводилось на анализаторе Cobas в соответствии с инструкцией производителя.

Статистическая обработка полученных данных была произведена с использованием программы Graphpad Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Для оценки значимости различий полученных результатов использовался U-критерий Манна–Уитни, а также t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Для оценки точности показателя RDW при диагностике БТ в данном исследовании использовался ROC-анализ.

Дизайн исследования представлен на рис. 2.

Результаты

Изменения в показателях ОАК с феноменами гипохромии (снижение МСН ниже референсных значений) и/или микроцитоза (снижение МСV ниже референсных значений) и/или анемии (снижение Hb ниже референсных значений) были обнаружены у 20040 пациентов из 58266 (34,39%). Оба расчетных эритроцитарных индекса Mentzer и Sirdah указывали на наличие БТ у 182 пациентов (0,91% пациентов с изменениями ОАК; 0,31% от всех обследованных лиц).

По результатам молекулярно-генетического исследования, те или иные патогенные варианты, характерные для БТ, были обнаружены у 64 пациентов (0,32% пациентов с характерными изменениями ОАК; 0,109% от всех обследованных лиц; 35,16% пациентов с обоими, положительными расчетными эритроцитарными индексами). Все обнаруженные патогенные варианты были представлены в гетерозиготном состоянии.

Результаты исследования представлены на **рис. 3**. На **рис. 4** представлены обнаруженные патогенные варианты в гене *HBB*. На **рис. 5** изображено распределение обнаруженных вариантов в зависимости от локализации в гене *HBB*.

Для сравнения показателей ОАК выборка пациентов из 182 человек была разделена на 2 подгруппы. В первую подгруппу вошли пациенты, имеющие те или иные патогенные варианты в гене *HBB* (MUT+) (n=64), во вторую – пациенты, не имеющие патогенных вариантов в данном гене, но положительные на БТ по обоим эритроцитарным индексам (MUT-) (n=118). В **табл. 1** приведены средние значения основных показателей ОАК у пациентов обеих подгрупп. Было проведено сравнение показателей ОАК двух подгрупп (**рис. 6**).

Показатели HCT и MCV у пациентов подгруппы MUT+ были статистически значимо меньше ($p < 0,05$), чем у пациентов подгруппы MUT- независимо от пола. Среди пациентов мужского пола обеих подгрупп статистически значимая разница была обнаружена между показателями Hb, HCT, MCV, МСН, МСНС. Пациенты женского пола подгруппы MUT+ и MUT- статистически значимо различались по показателям HCT, MCV, МСНС, RDW.

Значения индекса Mentzer лиц мужского пола и индекса Sirdah у представителей обоих полов статистически значимо ниже ($p < 0,05$) у пациентов подгруппы MUT+. Однако при сравнении значений индек-



Рис. 2. Блок-схема этапов проведения исследования.

Fig.2. Flowchart of the stages of the research

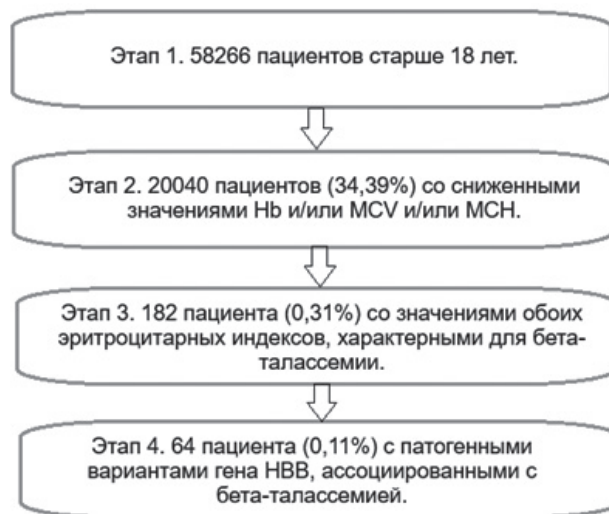


Рис. 3. Блок-схема результатов исследования.

Fig. 3. Flowchart of the research results.

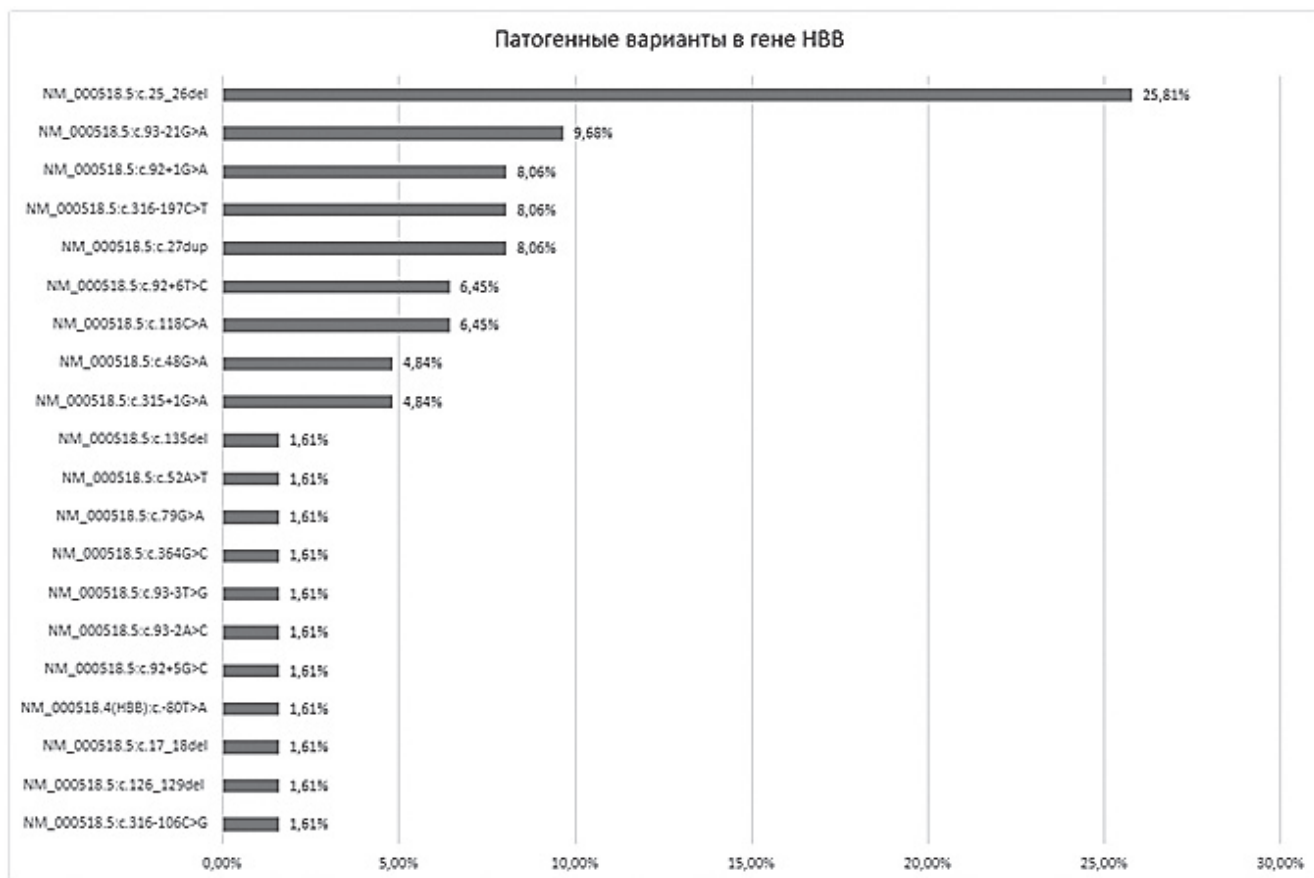


Рис. 4. Результаты секвенирования гена HBB по Сэнгеру.

Fig. 4. HBB gene sequencing results.

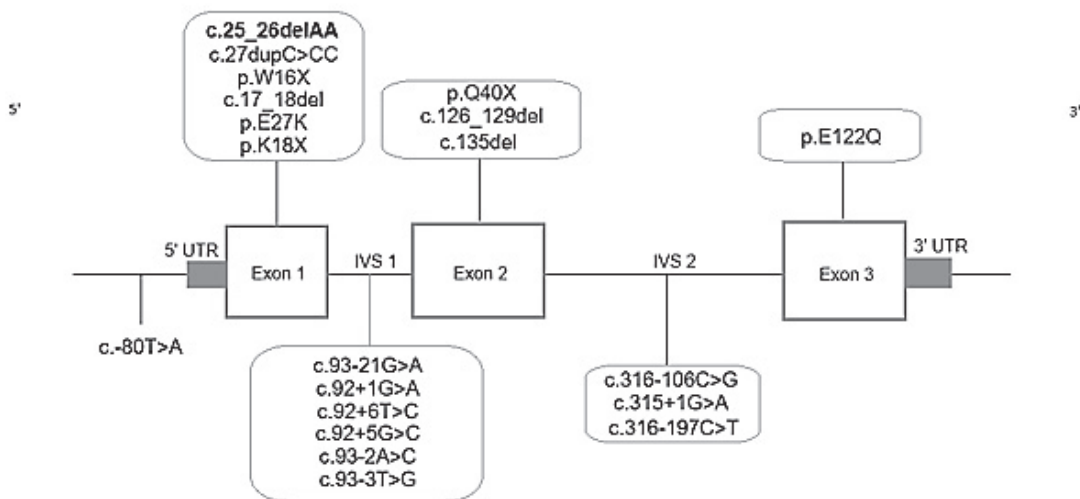


Рис. 5. Распределение обнаруженных патогенных вариантов внутри гена HBB.

Fig. 5. Distribution of detected pathogenic variants within the HBB gene.

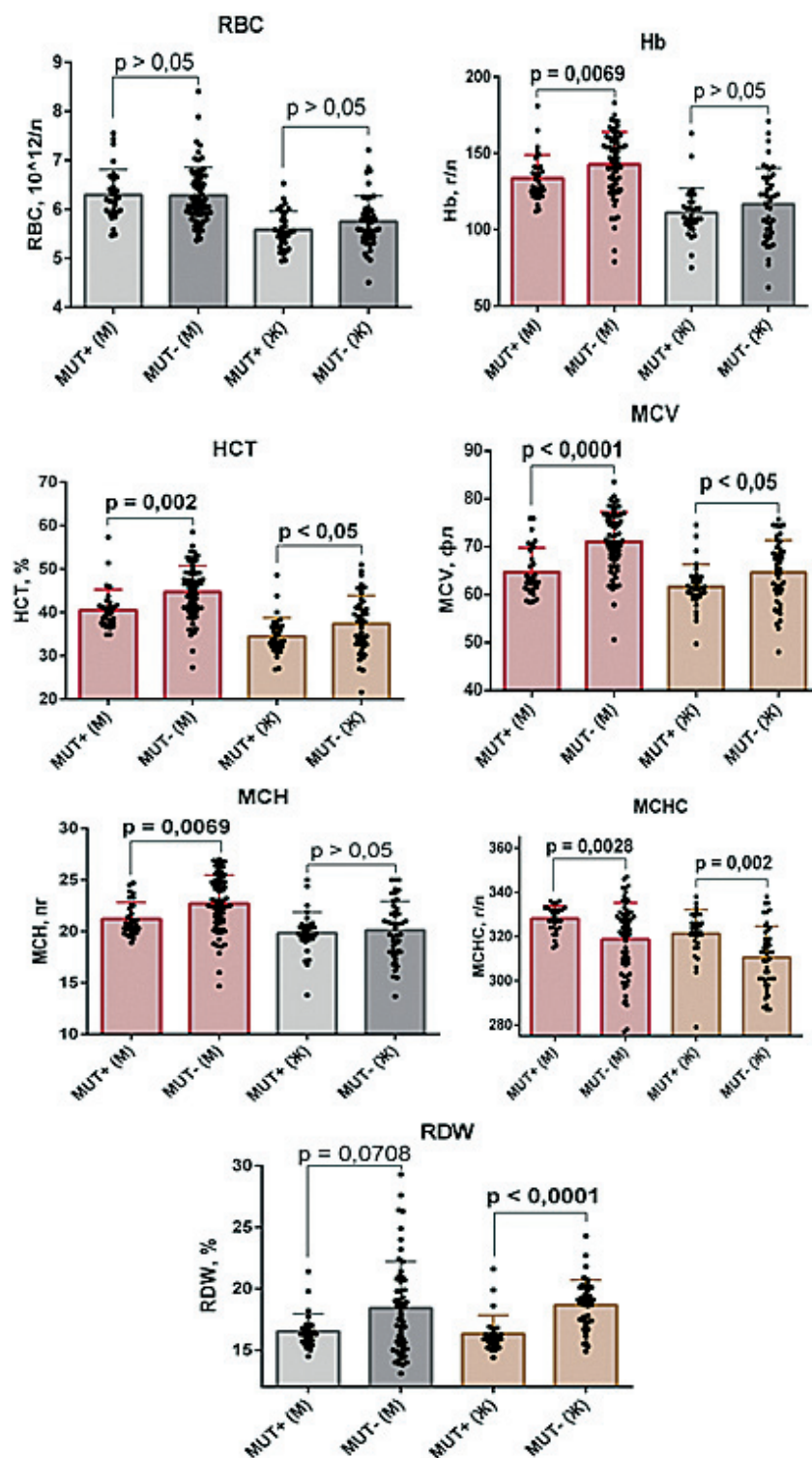


Рис. 6. Сравнение основных показателей эритроцитарного звена ОАК у пациентов подгрупп MUT+ и MUT-

Fig. 6. Comparison of the main parameters of CBC in patients of MUT+ and MUT-

са Mentzer пациентов женского пола обеих подгрупп не было обнаружено статистически значимой разницы (рис. 7).

Для показателя RDW был дополнительно проведен ROC-анализ (рис. 8). Площадь под кривой – 0,711. Вероятное значение cut-off для исследуемой выборки: RDW = 17,35% (чувствительность – 87,27%, специфичность – 62,11%).

Группа пациентов MUT+ была разделена на дополнительные подгруппы в зависимости от типа патогенных вариантов гена *HBB* (табл. 2). Изучалось влияние данных вариантов на показатели эритроцитарного звена ОАК. Принадлежность того или иного патогенного варианта к конкретной группе определялась с помощью классификации, приведенной в работе [20], а также базы данных gnomAD.

Таблица 1. Средние значения основных показателей ОАК пациентов MUT+ и MUT-

Table 1. Mean values of the main CBC parameters of MUT+ and MUT- patients

Показатель	MUT+ (n = 64)	MUT- (n = 118)	p
Мужчины/Женщины	31/33	70/48	0,164
Возраст, лет	45,41 ± 17,9	44,4 ± 16,9	0,599
RBC, 10 ¹² /л	5,926 ± 0,58	6,063 ± 0,62	0,153
HGB, г/л	122 ± 19,3	132 ± 25,66	0,0071
HCT, %	37,4 ± 5,4	41,7 ± 7,1	< 0,0001
MCV, фл	63,15 ± 5,06	68,44 ± 7,1	< 0,0001
MCH, пг	20,5 ± 1,94	21,65 ± 3,04	0,0078
MCHC, г/л	324,6 ± 9,4	315,4 ± 16	< 0,0001
RDW, %	16,42 ± 1,46	18,5 ± 3,2	< 0,0001
Mentzer	10,73 ± 1,08	11,33 ± 1,08	0,0002
Sirdah	20,63 ± 4,1	22,77 ± 3,7	0,0002
Анемия	41 из 64 (64%)	43 из 118 (37%)	0,0006

Таблица 2. Типы патогенных вариантов гена *HBB*.

Table 2. Types of pathogenic variants of the *HBB* gene.

Варианты, приводящие к нарушению транскрипции n = 1	Варианты, приводящие к нарушению сплайсинга n = 27	Варианты, приводящие к нарушению трансляции n = 36
c.-80T>A	c.92+1G>A c.92+6T>C c.315+1G>A c.93-2A>C c.316-197C>T c.93-21G>A c.93-3T>G c.92+5G>C c.316-106C>G	c.25_26del c.27dup p.Q40X p.W16X c.135del p.K18X p.E27K p.E122Q c.17_18del c.126_129del
	М/Ж = 12/15	М/Ж = 18/18

В данном исследовании показатели ОАК пациентов, имеющих различные типы патогенных вариантов гена *HBB*, статистически значимо не различаются ($p > 0,05$).

В подгруппе MUT- были собраны дополнительные лабораторные данные, позволяющие определить этиологию развития анемии. У 22 из 118 (18,65%) пациентов были проанализированы показатели обмена железа (сывороточное железо, ферритин, трансферрин и другие) для определения дефицита метаболизма железа, как возможной причины гипохромной микроцитарной анемии. У 14 пациентов (63,6%) отмечалось снижение сывороточного железа и/или ферритина ниже референсных значений, что подтвердило у данных больных дефицит железа как причину развития анемического состояния.

Были проанализированы значения показателей ОАК и расчетных индексов пациентов подгруппы MUT+ и лиц со сниженным количеством сывороточного железа и/или ферритина. Значения RDW и индекса Sirdah у пациентов с нарушениями обмена железа были статистически значимо выше, чем у пациентов подгруппы MUT+. Значения остальных сравниваемых показателей не продемонстрировали статистически значимой разницы (рис. 9).

Также дополнительно было проведено сравнение показателей ОАК пациентов из подгруппы MUT+ и MUT-, которые имели анемию (рис. 10). Пациенты из подгруппы MUT+ имели статистически значимо меньшие значения показателей RDW и индекса Sirdah, нежели пациенты подгруппы MUT-. Был проведен ROC-анализ для значений RDW у лиц с БТ, ха-

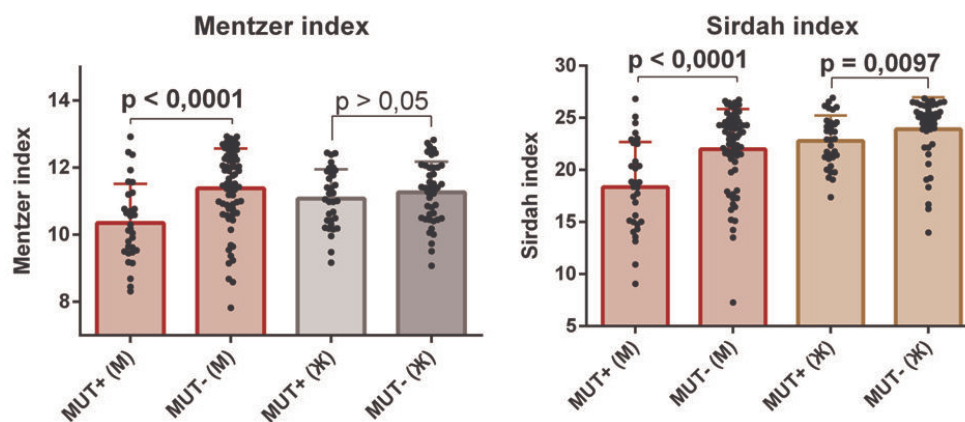


Рис. 7. Сравнение значений индексов Mentzer и Sirdah пациентов двух подгрупп.

Fig. 7. Comparison of Mentzer and Sirdah index values of patients in two subgroups.

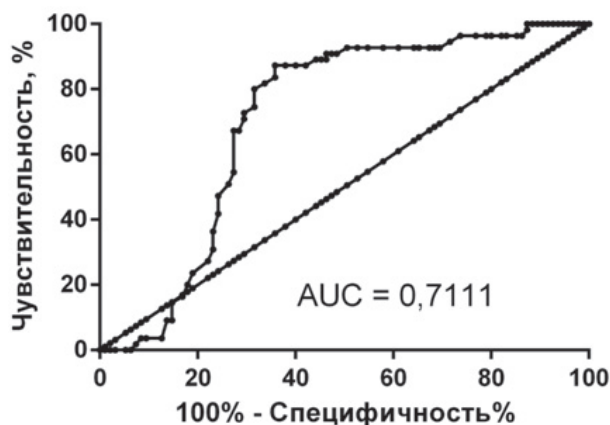


Рис. 8. ROC-кривая для значений RDW пациентов подгруппы MUT+

Fig. 8. ROC curve for RDW values of patients in the MUT+ subgroup

рактирующихся наличием анемии (рис. 11). Площадь под кривой – 0,877. Наиболее вероятный cut-off для исследуемой выборки: RDW = 17,25% (чувствительность – 88,24%, специфичность – 83,87%).

Обсуждение

БТ является одним из самых распространенных генетических заболеваний. Большинство гетерозиготных носителей патогенных вариантов гена *HBB* имеют малую форму БТ, которая характеризуется отсутствием или слабой выраженностью клинических и лабораторных проявлений. Выявление больных БТ, особенно бессимптомных носителей, является важной зада-

чей с целью предупреждения назначения больным БТ препаратов железа, а также профилактики развития более тяжелых форм данного заболевания в последующих поколениях. Во многих эндемичных регионах, таких как Турция, Иран, Палестина, Саудовская Аравия и другие, существуют диагностические программы различных групп населения, направленные на выявление носительства патогенных вариантов гена *HBB*, ассоциированных с БТ [11].

Около 80-90 млн человек или около 1,5% населения планеты являются носителями тех или иных патогенных вариантов гена бета-глобина, ассоциированных с БТ [2]. Эндемические зоны БТ тесно связаны с распространением *Plasmodium falciparum* (Средизем-

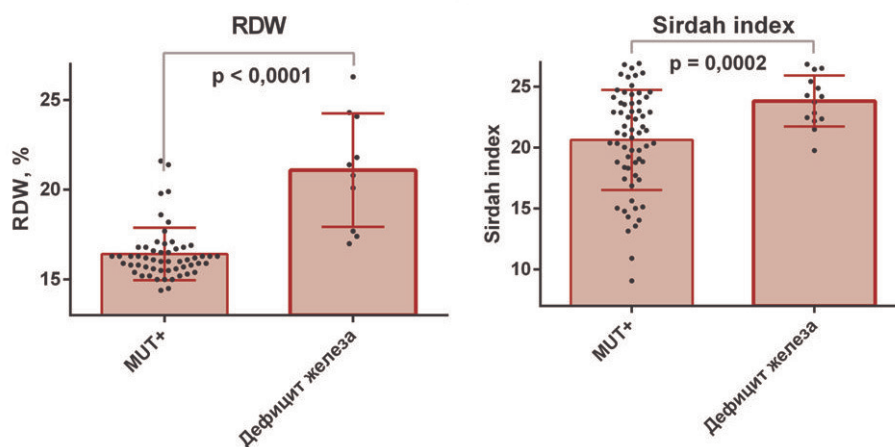


Рис. 9. Сравнение показателей ОАК пациентов подгруппы MUT+ и пациентов со сниженными значениями сывороточного железа и/или ферритина.

Fig. 9. Comparison of CBC parameters of patients in the MUT+ subgroup and patients with reduced serum iron and/or ferritin values.

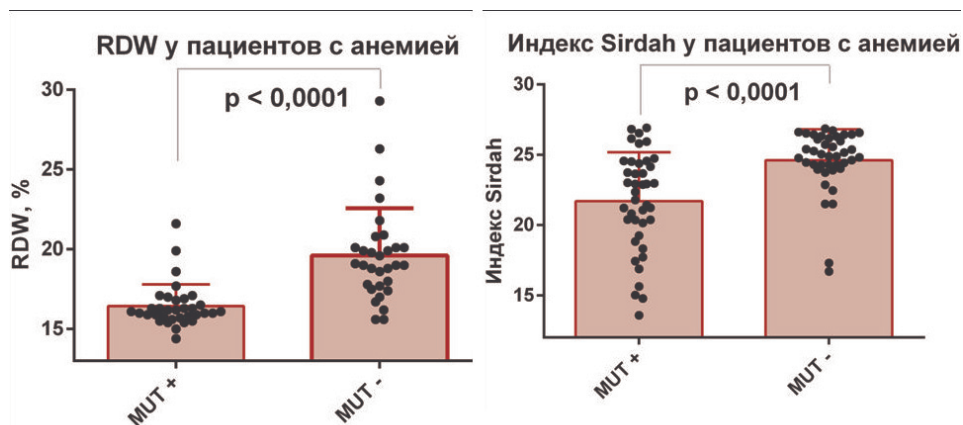


Рис. 10. Сравнение показателей RDW и индекса Sirdah пациентов подгруппы MUT+ и MUT-, имеющих анемию.

Fig. 10. Comparison of RDW and Sirdah index of MUT+ and MUT- subgroup patients with anemia.

номорье, Ближний Восток, Закавказье, Центральная Азия и др.). Изменение структурных и функциональных особенностей гемоглобина, а также повышенный клиренс эритроцитов при носительстве патогенных вариантов в гене *HBB* обуславливают резистентность гетерозиготных носителей БТ к малярии [21,22]. Однако вследствие активной миграции населения, данное заболевание все чаще встречается в неэндемичных регионах (Северная, Западная, Восточная Европа, РФ и др.) В данном исследовании встречаемость патогенных вариантов гена *HBB*, ассоциированных с БТ, составила 0,32% пациентов с изменениями ОАК или 0,11% от всех обследованных лиц. Стоит отметить, что нами было проведено селективное изучение показателей ОАК только у лиц, проходивших данное исследование по тем или иным причинам за определенный период времени. Также отбор пациентов происходил строго на основании значений обоих расчетных эритроцитарных индексов, чувствительность которых не равна 100%. Вполне вероятно, что некоторые лица, страдающие БТ, положительные только по одному из расчетных индексов были пропущены. Таким образом, истинные показатели встречаемости БТ среди всего населения могут быть выше значений, полученных в ходе данного исследования. Также стоит подчеркнуть, что эритроцитарные индексы Mentzer и Sirdah не позволяют диагностировать другие формы гемоглобинопатий, которые, при сочетании с БТ могут увеличивать тяжесть заболевания.

Этническое разнообразие жителей оказывает существенное влияние на распространенность бета-талассемии в нашей стране. Так, в исследовании Shchemeleva E.

с соавт. в выборке пациентов, проживающих в г. Москве, было выявлено 46 различных патогенных вариантов, приводящих к возникновению БТ, причем лишь малый процент от этого числа возник в резидентной субпопуляции [23]. Так, по данным Росстата за 2020 год, в г. Санкт-Петербурге проживает 0,35% азербайджанцев, 0,31% армян, 0,268% узбеков, 0,2% таджиков, 0,137% грузин, 0,04% китайцев, 0,024% арабов, 0,014% греков, 0,012% турков от всех жителей города. Распространенность БТ в данных странах значительно выше общемировой: в Азербайджане до 6%, в Таджикистане, Узбекистане 3–5%, Грузии – 3%, Армении – 1–2% [24]. В обзоре Kattamis A. с соавт. приведены показатели распространенности БТ в Китае (1,1–6%), Арабских странах (1–15%), Греции (8%), Турции (1–6%) [25]. Целесообразно сравнивать встречаемость БТ в РФ с соседними странами. Некоторые показатели уже были приведены выше, однако, данные регионы являются более эндемичными для БТ. По данным исследования Kościelak J. с соавт. распространенность только малой формы БТ в Польше составила 1,4% [26]. В работе Troitskaia O.V. с соавт. изучалось распространение гемоглобинопатий среди студентов Российского университета дружбы народов: среди 7000 лиц те или иные гемоглобинопатии были выявлены у 153 пациентов, из них у пяти – БТ (0,07%) [27].

Большинство случаев БТ обусловлено патогенными вариантами в гене *HBB*, расположенном на коротком плече хромосомы 11. Ген *HBB*, размер которого 1,6 т.п.н., состоит из 3-х экзонов, 2-х интронов, 5' и 3' нетранслируемых последовательностей (UTRs) [28]. На сегодняшний день обнаружено более 900 патоген-

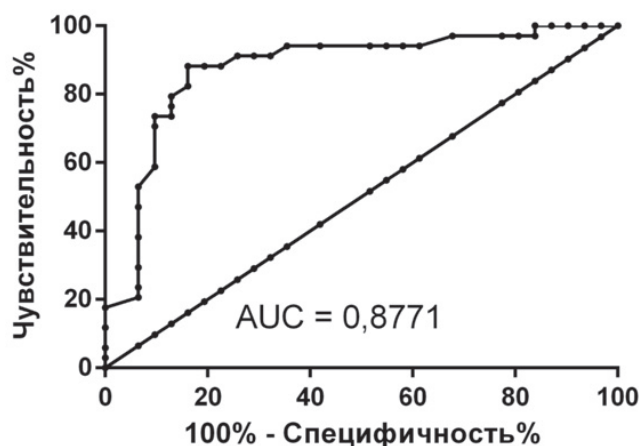


Рис. 11. ROC-кривая для значений RDW пациентов подгруппы MUT+ с анемией.

Fig. 11. ROC curve for RDW values of patients in the MUT+ subgroup with anemia.

ных вариантов, затрагивающих все участки гена [29]. Данные патогенные варианты представлены небольшими делециями, инсерциями, однонуклеотидными заменами, приводящими к сдвигу рамки считывания. Крупные делеции встречаются редко [29]. Самым частым вариантом (25,81%), выявленным у протестированных пациентов в данном исследовании является с.25_26delAA – делеция двух нуклеотидов в экзоне 1 гена *HBB*, приводящая к сдвигу рамки считывания. Вторую группу составляют варианты, встречающиеся несколько раз: с.93-21G>A (9,68%), с.27dupC>CC (8,06%), с.316-197C>T (8,06%), с.92+1G>A (8,06%), с.92+6T>C и p.Q40X (6,45%), с.315+1G>A и p.W16X (4,84%). Остальные патогенные варианты встречались однократно с частотой 1,61%. Полученные в данном исследовании результаты сопоставимы с данными, полученными в других работах схожей тематики [19,30,31]. В частности, в исследовании Хачатурян А.Г с соавт. делеция с.25_26delAA встречалась в 33,3% случаев, однонуклеотидная замена с.93-21G>A – в 8,3%. Также, вариант с.25_26delAA (36%) описан, как самый распространенный в исследовании Ю.И. Жиленковой. В работе Jalilian M с соавт. вариант с.315+1G>A встречался в 25,61% случаев среди всех патогенных вариантов гена *HBB* в Иране [32]. В турецкой популяции наиболее распространенной причиной БТ является однонуклеотидная замена с.93-21G>A (58,3%) [33]. Данный патогенный вариант также отмечается, как один из самых распространенных в палестинской, сирийской, пакистанской, а также других популяциях Ближнего Востока [34,35]. Таким образом, нельзя выделить патогенные варианты гена *HBB*, характерные только для нашего региона. Всего в данном исследовании было обнаружено 20 различных патогенных вариантов, расположенных во всех участках гена *HBB* (экзоны, интроны, промотор), что подчеркивает необходимость изучения нуклеотидной последовательности всего гена при диагностике БТ молекулярно-генетическими методами. Согласно распределению вариантов гена *HBB*, описанному в работе Thein S.L. с соавт., а также базе данных gnomAD, 55% обнаруженных в нашем исследовании патогенных вариантов характерны для жителей Средиземноморья и других европейских стран, 35% – для стран Южной и Восточной Азии, 10% – для стран Ближнего Востока [20].

В литературе описано более 40 различных расчетных эритроцитарных индексов, основанных на показателях ОАК [17]. В РФ наибольшую распространенность получили индексы Mentzer и Sirdah [17]. По дан-

ном обширного мета-анализа [17], чувствительность и специфичность индекса Mentzer при дифференциальной диагностике ЖДА и БТ равна 82% и 85%, соответственно. Для индекса Sirdah данные показатели имеют значения 83% и 90%. Стоит отметить, что даже комбинации различных индексов не позволяют добиться 100% чувствительности [36]. Наиболее чувствительными являются индексы Shine and Lal, Ricerca и M/H соотношение [17,22,37]. Однако значения чувствительности могут значительно различаться в зависимости от этнической принадлежности обследуемых больных [17,38]. В данной работе изучалась эффективность использования вышеуказанных расчетных индексов для диагностики БТ у лиц с характерными изменениями ОАК. Так, при сравнении основных показателей эритроцитарного звена ОАК у пациентов подгрупп MUT+ и MUT- обоих полов было обнаружено, что данные выборки статистически значимо различаются ($p < 0,05$) по показателям Hb, HCT, MCV, MCH, и RDW, а также значениям расчетных эритроцитарных индексов Mentzer и Sirdah. У пациентов подгруппы MUT+ данные показатели были статистически значимо ниже, чем у пациентов подгруппы MUT-. Значения RBC у пациентов обеих подгрупп статистически значимо не различаются ($p > 0,05$). Наиболее значимые отклонения наблюдались при сравнении показателей HCT, MCV и RDW ($p < 0,0001$). Несмотря на то, что расчетные эритроцитарные индексы Mentzer и Sirdah указывают на наличие БТ у пациентов обеих подгрупп, показатели данных индексов у лиц с подтвержденной молекулярно-генетическим методом БТ статистически значимо отличаются. Более того, в рамках данного исследования, практически все показатели эритроцитарного звена у больных БТ меньше, чем у лиц, не страдающих этой патологией. Тем не менее, при сравнении показателей ОАК отдельно лиц мужского и женского пола некоторые показатели (RDW у мужчин, Hb, MCH, индекс Mentzer у женщин) статистически значимо не различались. В работе Shahmirzalou P. с соавт. было показано, что больные БТ характеризуются статистически значимо меньшими значениями показателей Hb, MCV, MCH, нежели, чем больные ЖДА [39]. Комбинация расчетных эритроцитарных индексов с другими лабораторными данными, а также поиск новых параметров, позволяющих дифференцировать БТ от других похожих заболеваний, могут увеличить чувствительность диагностических мероприятий. Например, в указанном выше исследовании Shahmirzalou P. с соавт. разработана формула, использующая значения Hb, MCV, а также HbA и HbA2, чув-

ствительность и специфичность которой составляет 97% и 72% соответственно [39].

Сравнение показателей ОАК пациентов с различными типами патогенных вариантов не выявило статистически значимой разницы ($p > 0,05$). Стоит отметить, что все выявленные в данном исследовании патогенные варианты гена *HBB* представлены в гетерозиготном состоянии. Большое влияние на тяжесть клинических проявлений заболевания оказывает сопутствующая патология, особенно наличие других гемоглобинопатий. В исследовании Vucak J. с соавт. большинство обследованных лиц имело легкую форму БТ, независимо от вида патогенного варианта гена *HBB* [40].

Влияние того или иного патогенного варианта гена *HBB* на этапы синтеза бета-глобина обусловлены местоположением данного варианта в самом гене. Так варианты, приводящие к нарушению трансляции, находятся в трех экзонах гена *HBB*, в то время как нарушение сплайсинга происходит за счет вариантов, затрагивающих интроны гена. Достоверно известно, что патогенные варианты гена *HBB*, расположенные в экзоне 3 приводят к более тяжелым клиническим проявлениям БТ [2,3]. В данном исследовании выявлен гетерозиготный патогенный вариант p.E122Q, расположенный в экзоне 3 гена *HBB*. Пациент, у которого обнаружен данный вариант, характеризуется следующими показателями ОАК: RBC $4,96 \times 10^{12}/л$ (при среднем $5,92 \times 10^{12}/л$ в подгруппе MUT+ (референсные значения (P3) – $3,8 - 5,1 \times 10^{12}/л$)), Hb – 83 г/л (при среднем 122 г/л (P3 – 117-155 г/л)), MCV – 54,6 фл (при среднем 63,15 фл (P3 – 81-100 фл)), MCH – 16,8 пг (при среднем 20,5 пг (P3 – 27-34 пг)), а также RDW – 18,6% (при среднем 16,4% (P3 – 11,6-14,8%)). Из-за малого объема выборки не удалось изучить влияние патогенных вариантов в экзоне 3 на показатели ОАК, однако представленный выше пример подчеркивает, что в отдельно взятом клиническом случае показатели ОАК у пациента с патогенным вариантом в экзоне 3 были значительно ниже, чем средние показатели пациентов подгруппы MUT+.

Также вследствие малого объема выборки не удалось изучить показатели ОАК у пациентов с патогенными вариантами, приводящими к нарушению транскрипции гена *HBB*. Для устранения вышеперечисленных недостатков необходимо увеличить количество обследуемых лиц с различными типами патогенных вариантов гена *HBB*, ассоциированных с БТ.

Среди пациентов, составляющих подгруппу MUT-, у 22 (18,65%) удалось изучить показатели обмена железа. У 14 (63,6%) пациентов было обнаружено нару-

шение обмена железа, обуславливающее наличие у них гипохромной микроцитарной анемии. Таким образом, даже сочетание двух расчетных эритроцитарных индексов не позволяет достаточно эффективно дифференцировать пациентов с БТ и ЖДА. Например, в данном исследовании, значения индекса Sirdah статистически значимо выше в подгруппе пациентов с дефицитом железа, чем в подгруппе больных БТ. Однако, все они ниже точки cut-off для данного индекса равного 27. Возможно, общепринятые пороговые значения расчетных индексов Mentzer и Sirdah не являются оптимальными, как минимум для нашего региона.

У 8 из 22 (36,4%) пациентов вышеуказанной выборки показатели обмена железа лежали в пределах референсных интервалов. 1 (12,5%) пациент из данной выборки характеризовался высоким уровнем ферритина в сочетании с низким уровнем Hb. Причиной анемии у данного пациента, вероятно, является хроническое воспаление. Однако остальные 7 пациентов (87,5%) имели нормальные уровни Hb. Низкие значения расчетных индексов объясняются наличием у всех пациентов данной группы эритроцитоза, а также снижением показателей MCV и MCH ниже референсных значений. Стоит отметить, что в данном исследовании 88,3% пациентов подгруппы MUT- характеризуются повышенным количеством эритроцитов. Это подчеркивает важность определения причин эритроцитоза у пациентов, не страдающих БТ.

В большинстве случаев гипохромные микроцитарные анемии, независимо от причины, характеризуются схожими лабораторными проявлениями, что значительно осложняет их дифференциальную диагностику. В данном исследовании в группу больных БТ на основании значений расчетных индексов Mentzer и Sirdah попали пациенты с различными причинами анемических состояний. При сравнении показателей ОАК пациентов подгруппы MUT+ и лиц, не имеющих патогенных вариантов в гене *HBB*, но имеющих пониженное содержание сывороточного железа и/или ферритина, была показана статистически значимая разница для RDW и Sirdah. В частности, значения RDW и индекса Sirdah у лиц подгруппы MUT+ были статистически значимо ниже. Однако остальные показатели эритроцитарного звена ОАК не имели статистически значимых различий у лиц данных подгрупп.

Носители патогенных вариантов гена *HBB* не всегда характеризуются наличием анемии, а именно снижением гемоглобина и/или эритроцитов ниже референсных значений. Однако в данном исследовании при сравнении показателей ОАК у лиц подгрупп MUT+

и MUT-, которые имели анемию, была показана статистически значимая разница между значениями показателей RDW и индекса Sirdah. Многообещающим является использование значений показателя RDW для диагностики БТ. Вероятно, разработка параметров, учитывающих значения данного показателя позволит увеличить чувствительность используемых методов для диагностики БТ в нашей стране.

К ограничениям данного исследования относится строгий отбор пациентов на основании значений обоих расчетных индексов, а также обследование только части пациентов на наличие у них сопутствующей ЖДА.

Диагностика различных форм БТ является важной клинической задачей. Своевременно начатое лечение, исключение неправильной терапии, а также эффективное семейное консультирование для предупреждения развития более тяжелых форм БТ у потомства носителей патогенных вариантов гена *HBB* являются целями выявления БТ. В связи с активной миграцией населения БТ все чаще встречается в неэндемических зонах распространения, к которым относят и РФ. Полученные данные подчеркивают актуальность диагностики БТ и ее высокую встречаемость среди пациентов различных групп риска. Следует подчеркнуть, что в связи со строгостью критериев включения для генотипирования истинная распространенность БТ может быть несколько выше.

Наиболее специфичным методом диагностики бета-талассемии является молекулярно-генетическое исследование, однако вследствие дороговизны данный метод не может широко применяться для выявления данного заболевания. Диагностика БТ на основании значений показателей ОАК и расчетных эритроцитарных индексов представляется сложной задачей вследствие схожести лабораторной картины различных микроцитарных гипохромных анемий. Тем не менее, в данном исследовании была показана статистически значимая разница между некоторыми показателями ОАК у пациентов, имеющих те или иные патогенные варианты гена *HBB* и пациентов, не имеющих патогенных вариантов в данном гене. Необходимы дальнейшие исследования для разработки более эффективных методов диагностики БТ у лиц, находящихся в различных группах риска.

Литература

- Goonasekera H.W., Paththininge C.S., Dissanayake V.H.W. Population Screening for Hemoglobinopathies. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2018 Aug 31;19:355-380. doi: 10.1146/annurev-genom-091416-035451.
- Galanello R., Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2010 May 21;5:11. doi: 10.1186/1750-1172-5-11.
- Croteau S.E., Luo H.Y., Lehmann L.E., et al. Novel dominant β -thalassemia: Hb Boston-Kuwait [codon 139/140(+T)]. *Pediatr Blood Cancer.* 2013 Oct;60(10):E131-4. doi: 10.1002/pbc.24611.
- Origa R. β -Thalassemia. *Genet Med.* 2017 Jun;19(6):609-619. doi: 10.1038/gim.2016.173.
- Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med.* 2010 Feb;12(2):61-76. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed.
- Верлинский О.Ю., Жиленкова Ю.И., Козлов А.В., Бессмельцев С.С. Лабораторные маркеры выявления носительства бета-талассемии. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (3): 149-153. <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-149-153>
- Grech L., Borg K., Borg J. Novel therapies in β -thalassaemia. *Br J Clin Pharmacol.* 2022 Jun;88(6):2509-2524. doi: 10.1111/bcp.14918.
- Qari M.H., Wali Y., Albagshi M.H., et al. Regional consensus opinion for the management of Beta thalassemia major in the Arabian Gulf area. *Orphanet J Rare Dis.* 2013 Sep 17;8:143. doi: 10.1186/1750-1172-8-143.
- Aydinok Y. Thalassemia. *Hematology.* 2012 Apr;17 Suppl 1:S28-31. doi: 10.1179/102453312X13336169155295.
- Needs T., Gonzalez-Mosquera L.F., Lynch D.T. Beta Thalassemia. 2023 May 1. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan—.
- Brancaleoni V., Di Pierro E., Motta I., Cappellini M.D. Laboratory diagnosis of thalassemia. *Int J Lab Hematol.* 2016 May;38 Suppl 1:32-40. doi: 10.1111/ijlh.12527.
- Luo H.Y., Chui D.H. Diverse hematological phenotypes of β -thalassemia carriers. *Ann N Y Acad Sci.* 2016 Mar;1368(1):49-55. doi: 10.1111/nyas.13056.
- Зейналова Л.Э., Алиева СР. Биохимические изменения в крови при β -талассемии. Метгемоглобиновый фактор. Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2013;(5):31-34
- Ali S., Mumtaz S., Shakir H.A., et al. Current status of beta-thalassemia and its treatment strategies. *Mol Genet Genomic Med.* 2021 Dec;9(12):e1788. doi: 10.1002/mgg3.1788.
- Chauhan W., Shoaib S., Fatma R., et al. Beta-thalassemia and the advent of new interventions beyond transfusion and iron chelation. *Br J Clin Pharmacol.* 2022 Aug;88(8):3610-3626. doi: 10.1111/bcp.15343.
- Kwiatkowski J.L. Clinical Challenges with Iron Chelation in Beta Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2023 Apr;37(2):379-391. doi: 10.1016/j.hoc.2022.12.013.
- Hoffmann J.J., Urrechaga E., Aguirre U. Discriminant indices for distinguishing thalassemia and iron deficiency in patients with microcytic anemia: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2015 Nov;53(12):1883-94. doi: 10.1515/cclm-2015-0179.
- Bajwa H., Basit H. Thalassemia. 2023 Aug 8. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan—.
- Хачатурян А.Г., Назаров В.Д., Лапин С.В. и др. Лабораторная характеристика гемоглобинопатий. Гематология и трансфузиология. 2024;69(1):40–51. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-40-51>
- Thein S.L. The molecular basis of β -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013 May 1;3(5):a011700. doi: 10.1101/cshperspect.a011700.
- Weatherall D.J. Genetic variation and susceptibility to infection: the red cell and malaria. *Br J Haematol.* 2008 May;141(3):276-86. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07085.x.
- Shah T.P., Shrestha A., Agrawal J.P., et al. Role of Mentzer Index for Differential Diagnosis of Iron Deficiency Anaemia and Beta Thalassemia Trait. *J Nepal Health Res Coun.* 2023 Sep 8;21(1):99-102. doi: 10.33314/jnhrc.v21i1.4479.

23. Shchemeleva E., Salomashkina V.V., Selivanova D., et al. Active spread of β -thalassemia beyond the thalassaemia belt: A study on a Russian population. *Clin Genet*. 2024 Aug 14. doi: 10.1111/cge.14606.
24. Kuliev A.M., Rasulov I.M., Dadasheva T., et al. Thalassaemia in Azerbaijan. *J Med Genet*. 1994 Mar;31(3):209-12. doi: 10.1136/jmg.31.3.209.
25. Kattamis A., Forni G.L., Aydinok Y., Viprakasit V. Changing patterns in the epidemiology of β -thalassemia. *Eur J Haematol*. 2020 Dec;105(6):692-703. doi: 10.1111/ejh.13512.
26. Kościelak J. Prevalence of beta-thalassaemia minor in Poland. *Probl Hig Epidemiol* 2009, 90(3): 322-324.
27. Troitskaia O.V., Kuznetsov V.I., Iushkova N.M. Gemoglobinopatii u studentov Rossijskogo universiteta druzhby narodov [Hemoglobinopathies in students at the Russian University of the Friendship of Peoples]. *Klin Lab Diagn*. 1999 May;(5):19-24, 41-6.
28. Liang P., Xu Y., Zhang X., et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell*. 2015 May;6(5):363-372. doi: 10.1007/s13238-015-0153-5.
29. Guo X., Liu Z., Mu Y., et al. Spatial and Temporal Expression Characteristics of the HBB Gene Family in Six Different Pig Breeds. *Genes (Basel)*. 2022 Oct 9;13(10):1822. doi: 10.3390/genes13101822.
30. Жиленкова Ю.И. Особенности лабораторной диагностики различных форм гемоглобинопатий: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.1. – СПб., 2017. – 24 с.
31. Демидова Е.Ю., Селиванова Д.С., Саломашкина В.В. и др. Эпидемиология бета-талассемии в России. *Гематология и трансфузиология*, 2022;67;(S2):104-104.
32. Jalilian M., Azizi Jalilian F., Ahmadi L., et al. The Frequency of HBB Mutations Among β -Thalassemia Patients in Hamadan Province, Iran. *Hemoglobin*. 2017 Jan;41(1):61-64. doi: 10.1080/03630269.2017.1302468.
33. Guzelgul F., Seydel G.S., Aksoy K. β -Globin Gene Mutations in Pediatric Patients with β -Thalassemia in the Region of Çukurova, Turkey. *Hemoglobin*. 2020 Jul;44(4):249-253. doi: 10.1080/03630269.2020.1792489.
34. Ghoti H., Fibach E., Rachmilewitz E.A., et al. New Insights on β -Thalassemia in the Palestinian Population of Gaza: High Frequency and Milder Phenotype Among Homozygous IVS-1-1 (HBB: c.92+1G>A) Patients with High Levels of Hb F. *Hemoglobin*. 2017 Mar;41(2):144-146. doi: 10.1080/03630269.2017.1339611.
35. Hussain A., Ahmed S., Ali N., et al. Rare β -Globin Gene Mutations in Pakistan. *Hemoglobin*. 2017 Mar;41(2):100-103. doi: 10.1080/03630269.2017.1339612.
36. Baliyan M., Kumar M., Nangia A., Parakh N. Can RBC Indices be Used as Screening Test for Beta-Thalassemia in Indian Antenatal Women? *J Obstet Gynaecol India*. 2019 Dec;69(6):495-500. doi: 10.1007/s13224-019-01220-8.
37. Sherali A., Ahad A., Tikmani S.S., et al. Screening of Iron Deficiency Anemia in Children Using Mentzer Index in Pakistan: A Cross Sectional Study. *Glob Pediatr Health*. 2023 Feb 11;10:2333794X221130986. doi: 10.1177/2333794X221130986.
38. Huang T.C., Wu Y.Y., Chen Y.G., et al. Discrimination index of microcytic anemia in young soldiers: a single institutional analysis. *PLoS One*. 2015 Feb 13;10(2):e0114061. doi: 10.1371/journal.pone.0114061.
39. Shahmirzalou P., Hamze M.S., Sadagheyani H.E. A New Formula Based on Simple Blood Indices to Differentiate Beta Thalassemia Trait from Iron Deficiency Anemia. *Iran J Public Health*. 2024 May;53(5):1192-1199. doi: 10.18502/ijph.v53i5.15601.
40. Vucak J., Turudic D., Milosevic D., et al. Genotype-phenotype Correlation of β -Thalassemia in Croatian Patients: A Specific HBB Gene Mutations. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2018 Mar;40(2):e77-e82. doi: 10.1097/MPH.0000000000001039.

References

1. Goonasekera H.W., Paththinige C.S., Dissanayake V.H.W. Population Screening for Hemoglobinopathies. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2018 Aug 31;19:355-380. doi: 10.1146/annurev-genom-091416-035451.
2. Galanello R., Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2010 May 21;5:11. doi: 10.1186/1750-1172-5-11.
3. Croteau S.E., Luo H.Y., Lehmann L.E., et al. Novel dominant β -thalassaemia: Hb Boston-Kuwait [codon 139/140(+T)]. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Oct;60(10):E131-4. doi: 10.1002/pbc.24611.
4. Origa R. β -Thalassaemia. *Genet Med*. 2017 Jun;19(6):609-619. doi: 10.1038/gim.2016.173.
5. Cao A., Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med*. 2010 Feb;12(2):61-76. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed.
6. Verlinsky O.Yu., Zhilenkova Yu.I., Kozlov A.V., Bessmeltsev S.S. Laboratornyye markery vyyavleniya nositel'stva beta-talasseмии [The laboratory markers of detection of beta-thalassaemia carriage]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2017; 62 (3): 149-153. (In Russ.) <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-149-153>
7. Grech L., Borg K., Borg J. Novel therapies in β -thalassaemia. *Br J Clin Pharmacol*. 2022 Jun;88(6):2509-2524. doi: 10.1111/bcp.14918.
8. Qari M.H., Wali Y., Albagshi M.H., et al. Regional consensus opinion for the management of Beta thalassaemia major in the Arabian Gulf area. *Orphanet J Rare Dis*. 2013 Sep 17;8:143. doi: 10.1186/1750-1172-8-143.
9. Aydinok Y. Thalassemia. *Hematology*. 2012 Apr;17 Suppl 1:S28-31. doi: 10.1179/102453312X13336169155295.
10. Needs T., Gonzalez-Mosquera L.F., Lynch D.T. Beta Thalassemia. 2023. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
11. Brancaloni V., Di Pierro E., Motta I., Cappellini M.D. Laboratory diagnosis of thalassaemia. *Int J Lab Hematol*. 2016 May;38 Suppl 1:32-40. doi: 10.1111/ijlh.12527.
12. Luo H.Y., Chui D.H. Diverse hematological phenotypes of β -thalassaemia carriers. *Ann N Y Acad Sci*. 2016 Mar;1368(1):49-55. doi: 10.1111/nyas.13056.
13. Zeynalova L.E., Alieva S.R. Biokhimicheskiye izmeneniya v kro vi pri β -talasseмии. Metgemoglobinovyy factor [Biochemical changes in the blood in β -thalassaemia. Methemoglobin factor. Aktual'nyye problemy gumanitarnykh i yestestvennykh nauk [Actual problems of humanitarian and natural sciences]. 2013;(5):31-34. (In Russ.)
14. Ali S., Mumtaz S., Shakir H.A., et al. Current status of beta-thalassaemia and its treatment strategies. *Mol Genet Genomic Med*. 2021 Dec;9(12):e1788. doi: 10.1002/mgg3.1788.
15. Chauhan W., Shoaib S., Fatma R., et al. Beta-thalassaemia and the advent of new interventions beyond transfusion and iron chelation. *Br J Clin Pharmacol*. 2022 Aug;88(8):3610-3626. doi: 10.1111/bcp.15343.
16. Kwiatkowski J.L. Clinical Challenges with Iron Chelation in Beta Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2023 Apr;37(2):379-391. doi: 10.1016/j.hoc.2022.12.013.
17. Hoffmann J.J., Urrechaga E., Aguirre U. Discriminant indices for distinguishing thalassaemia and iron deficiency in patients with microcytic anemia: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med*. 2015 Nov;53(12):1883-94. doi: 10.1515/cclm-2015-0179.
18. Bajwa H., Basit H. Thalassemia. 2023 Aug 8. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–.
19. Khachatryan A.G., Nazarov V.D., Lapin S.V., et al. Laboratornaya kharakteristika gemoglobinopatii [Laboratory features of hemoglobinopathies]. *Gematologiya i transfuziologiya [Russian journal of hematology and transfusiology]*. 2024;69(1):40-51. (In Russ.) <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-40-51>

20. Thein S.L. The molecular basis of β -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013 May 1;3(5):a011700. doi: 10.1101/cshperspect.a011700.
21. Weatherall D.J. Genetic variation and susceptibility to infection: the red cell and malaria. *Br J Haematol.* 2008 May;141(3):276-86. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07085.x.
22. Shah T.P., Shrestha A., Agrawal J.P., et al. Role of Mentzer Index for Differential Diagnosis of Iron Deficiency Anaemia and Beta Thalassemia Trait. *J Nepal Health Res Coun.* 2023 Sep 8;21(1):99-102. doi: 10.33314/jnhrc.v21i1.4479.
23. Shchemeleva E., Salomashkina V.V., Selivanova D., et al. Active spread of β -thalassemia beyond the thalassemia belt: A study on a Russian population. *Clin Genet.* 2024 Aug 14. doi: 10.1111/cge.14606.
24. Kuliev A.M., Rasulov I.M., Dadasheva T., et al. Thalassaemia in Azerbaijan. *J Med Genet.* 1994 Mar;31(3):209-12. doi: 10.1136/jmg.31.3.209.
25. Kattamis A., Forni G.L., Aydinok Y., Viprakasit V. Changing patterns in the epidemiology of β -thalassemia. *Eur J Haematol.* 2020 Dec;105(6):692-703. doi: 10.1111/ejh.13512.
26. Kościelak J. Prevalence of beta-thalassemia minor in Poland. *Probl Hig Epidemiol* 2009, 90(3): 322-324.
27. Troitskaia O.V., Kuznetsov V.I., Iushkova N.M. Gemoglobinopatii u studentov Rossijskogo universiteta druzhby narodov [Hemoglobinopathies in students at the Russian University of the Friendship of Peoples]. *Klin Lab Diagn.* 1999 May;(5):19-24, 41-6.
28. Liang P., Xu Y., Zhang X., et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell.* 2015 May;6(5):363-372. doi: 10.1007/s13238-015-0153-5.
29. Guo X., Liu Z., Mu Y., et al. Spatial and Temporal Expression Characteristics of the HBB Gene Family in Six Different Pig Breeds. *Genes (Basel).* 2022 Oct 9;13(10):1822. doi: 10.3390/genes13101822.
30. Zhilenkova Yu.I. Osobennosti laboratornoy diagnostiki razlichnykh form gemoglobinopatii. [Features of laboratory diagnostics of various forms of hemoglobinopathies]. St. Petersburg, 2017. – 24 p. (In Russ.)
31. Demidova E.Yu., Selivanova D.S., Salomashkina V.V., et al. Epidemiologiya beta-talasseмии v Rossii [Epidemiology of beta-thalassemia in Russia]. *Gematologiya i transfuziologiya* [Russian journal of hematology and transfusiology], 2022;67;(S2):104-104. (In Russ.)
32. Jalilian M., Azizi Jalilian F., Ahmadi L., et al. The Frequency of HBB Mutations Among β -Thalassemia Patients in Hamadan Province, Iran. *Hemoglobin.* 2017 Jan;41(1):61-64. doi: 10.1080/03630269.2017.1302468.
33. Guzelgul F., Seydel G.S., Aksoy K. β -Globin Gene Mutations in Pediatric Patients with β -Thalassemia in the Region of Çukurova, Turkey. *Hemoglobin.* 2020 Jul;44(4):249-253. doi: 10.1080/03630269.2020.1792489.
34. Ghoti H., Fibach E., Rachmilewitz E.A., et al. New Insights on β -Thalassemia in the Palestinian Population of Gaza: High Frequency and Milder Phenotype Among Homozygous IVS-1-1 (HBB: c.92+1G>A) Patients with High Levels of Hb F. *Hemoglobin.* 2017 Mar;41(2):144-146. doi: 10.1080/03630269.2017.1339611.
35. Hussain A., Ahmed S., Ali N., et al. Rare β -Globin Gene Mutations in Pakistan. *Hemoglobin.* 2017 Mar;41(2):100-103. doi: 10.1080/03630269.2017.1339612.
36. Baliyan M., Kumar M., Nangia A., Parakh N. Can RBC Indices be Used as Screening Test for Beta-Thalassemia in Indian Antenatal Women? *J Obstet Gynaecol India.* 2019 Dec;69(6):495-500. doi: 10.1007/s13224-019-01220-8.
37. SherAli A., Ahad A., Tikmani S.S., et al. Screening of Iron Deficiency Anemia in Children Using Mentzer Index in Pakistan: A Cross Sectional Study. *Glob Pediatr Health.* 2023 Feb 11;10:2333794X221130986. doi: 10.1177/2333794X221130986.
38. Huang T.C., Wu Y.Y., Chen Y.G., et al. Discrimination index of microcytic anemia in young soldiers: a single institutional analysis. *PLoS One.* 2015 Feb 13;10(2):e0114061. doi: 10.1371/journal.pone.0114061.
39. Shahmirzalou P., Hamze M.S., Sadagheyani H.E. A New Formula Based on Simple Blood Indices to Differentiate Beta Thalassemia Trait from Iron Deficiency Anemia. *Iran J Public Health.* 2024 May;53(5):1192-1199. doi: 10.18502/ijph.v53i5.15601.
40. Vucak J., Turudic D., Milosevic D., et al. Genotype-phenotype Correlation of β -Thalassemia in Croatian Patients: A Specific HBB Gene Mutations. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2018 Mar;40(2):e77-e82. doi: 10.1097/MPH.0000000000001039.