

Kłopoty z krwinką



BEATA BURZYŃSKA

Instytut Biochemii i Biofizyki, Warszawa

Polska Akademia Nauk

atka@ibb.waw.pl

Dr hab. Beata Burzyńska interesuje się chorobami genetycznymi krwi

Wrodzona niedokrwistość może być spowodowana różnymi czynnikami genetycznymi. Leczenie zależy od prawidłowej diagnozy, a genetyka krwi pozwala ją postawić

Krwinki czerwone są komórkami o bardzo uproszczonej strukturze, niezawierającymi aparatu biosyntezy białek oraz organelli komórkowych. Podstawowym zadaniem erytrocytów jest transport tlenu z płuc do komórek organizmu i transport dwutlenku węgla z komórek do płuc. Jest to możliwe dzięki hemoglobinie, która jest głównym składnikiem krwinek, a także dzięki ich specjalnej budowie.

Erytrocyt, jak każda komórka, otoczony jest błoną komórkową nadającą mu odpowiedni kształt i elastyczność. Specyficzna budowa i skład chemiczny tej struktury nadaje krwinkom unikatowy dyskooidalny kształt. Zapewnia on komórce większą wartość stosunku powierzchni do objętości niż w wypadku struktury kulistej. Ta specyficzna budowa stwarza korzystne warunki dla wymiany gazowej. Pozwala też na lepszą odkształcalność erytrocytów przy przechodzeniu przez wąskie naczynia włosowate.

Śmierć albo życie

Metabolizm krwinki jest bardzo ograniczony. Jednak na tyle wydajny, że pozwala im na przeżycie w krwiobiegu do 120 dni. Analizy proteomiczne wykazały obecność ponad 1500 białek krwinki. Są zaangażowane m.in. w: transport molekularny, syntezę, składanie i modyfikacje białek oraz procesy metaboliczne. Zdziwiająco wiele białek krwinkowych związanych jest z procesem apoptozy. Filozofię erytrocytu można określić: „uratuj się albo giń”. Kiedy komórka nie może obronić się przed czynnikami utleniającymi, obumiera.

Niezależnie od intensywnych analiz proteomu krwinki czerwonej prowadzone są badania dotyczące etiopatogenezy - przyczyny grupy chorób związanych z nieprawidłowym erytrocytem. Wrodzone niedokrwistości hemolityczne stanowią grupę kilkudziesięciu chorób, które charakteryzu-

je wcześniejszy rozpad krwinek czerwonych. Najczęściej spowodowane są one upośledzeniem aktywności enzymów krwinki, zaburzeniami w budowie błony krwinki lub nieprawidłowościami w strukturze lub syntezie hemoglobiny.

Enzymopatie – problem z enzymami

Dojrzałe krwinki czerwone nie mają jądra komórkowego ani organelli komórkowych, nie mogą syntetyzować białek ani lipidów. Potrzebują jednak energii zmagazynowanej w ATP oraz reduktorów NADPH i NADP, niezbędnych do ochrony przed reakcjami utleniania. Dla erytrocytów głównym źródłem tych związków jest glukoza fosforylowana przez heksokinazę do glukozy-6-fosforanu, który następnie jest metabolizowany w procesie glikolizy lub cyklu pentozofosforanowego. W te dwa główne szlaki metaboliczne erytrocytu zaangażowanych jest około 20 enzymów. Niedobór każdego z nich może spowodować występowanie anemii hemolitycznej. Główną przyczyną enzymopatii krwinki czerwonej jest niedobór dehydrogenazy-6-glukozy-fosforanowej (G6PD), rzadziej innych enzymów. W większości wypadków enzymopatii nie ma ścisłej zależności między stopniem niedoboru enzymu a obrazem klinicznym. Niedobory poszczególnych enzymów występują z różną częstością: od nielicznych do 400 mln przypadków na świecie spowodowanych niedoborem G6PD.

Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (G6PD) jest pierwszym enzymem szlaku pentozowego, redukującego NADP do formy NADPH (o silnym działaniu antyoksydacyjnym). Niedobór G6PD uniemożliwia krwince czerwonej wytworzenie takiej ilości NADPH, która w wystarczający sposób chroniłaby krwinkę przed stresem oksydacyjnym.

Diagnostyka wrodzonych niedokrwistości hemolitycznych polega na określeniu możliwej przyczyny hemolizy

Ludzki monomer G6PD składa się z 514 aminokwasów, a jego masa cząsteczkowa wynosi 59KDa. Gen kodujący G6PD zlokalizowany jest na chromosomie X. To oznacza, że pełny obraz niedoboru występuje u mężczyzn, natomiast kobiety są tylko nosicielkami mutacji w genie G6PD. Diagnostyka w kierunku nosicielstwa jest możliwa jedynie na poziomie DNA.

W naszym laboratorium badaliśmy efekt nowych mutacji metodami modelowania molekularnego. W wypadku scharakteryzowanego przez nas wariantu tzw. G6PD *Suwalki* na modelu zmutowanej cząsteczki G6PD widoczne

jest wyraźne zniekształcenie przebiegu łańcucha głównego białka. Zmiany oddziaływań między podjednostkami tetrameru są istotne dla funkcji enzymu i w znaczny sposób ją upośledzają. Wygląda na to, że istnieje korelacja między nasileniem obrazu klinicznego niedokrwistości hemolitycznej a lokalizacją zmian strukturalnych w cząsteczce enzymu.

Sferocytoza wrodzona

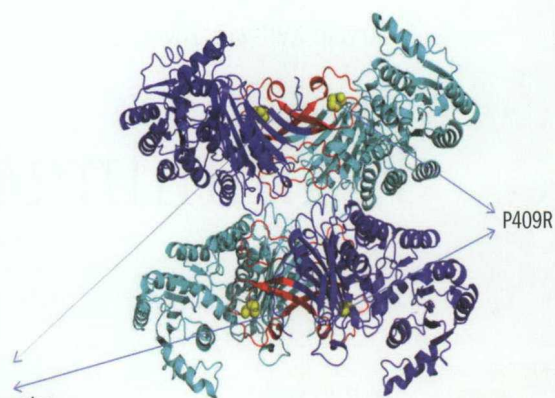
Defekty białek budujących membranę erytrocytów prowadzą do sferocytozy wrodzonej (HS), dającej objawy anemii hemolitycznej o zróżnicowanym obrazie klinicznym i molekularnym. Jest ona najczęstszą przyczyną anemii hemolitycznej w naszej populacji. Występuje u 1 na 2000 osób.

Błona krwinek czerwonych składa się z warstwy lipidowej, integralnych białek błonowych oraz białek szkieletu błonowego. W skład lipidów błony wchodzi głównie fosfolipidy oraz cholesterol w jednakowych ilościach. Białka błonowe stanowią grupę białek występujących w różnych ilościach w komórce, od kilkuset do kilku milionów kopii. Dużą ich część (około 25) stanowią różne antygeny krwinkowe. Pozostałe białka błonowe pełnią w komórce funkcje białek transportowych, adhezyjnych, śródbłonkowych. W wyniku mutacji genetycznych dochodzi do zmian ilościowych lub jakościowych białek cytoszkieletu. Głównym powodem obniżonych poziomów poszczególnych białek błonowych u chorych są mutacje w obrębie kodujących je genów.

W większości wypadków zmianami odpowiedzialnymi za objawy sferocytozy są mutacje prowadzące do zamiany aminokwasów w łańcuchu białkowym. Zwykle są to mutacje „prywatne”, charakterystyczne dla danej rodziny. To ogromnie utrudnia diagnostykę genetyczną tej choroby. Badania biochemiczne, takie jak cytometria przepływową czy elektroforeza białek, nie są w stanie zweryfikować rozpoznania sferocytozy wrodzonej u ponad 10% chorych. Prowadzone są więc badania poszukujące innych metod diagnostycznych, tym bardziej że nie tylko geny kodujące główne białka błonowe wydają się odpowiedzialne za wystąpienie objawów chorobowych.

Talasemie – defekty hemoglobiny

Kolejna grupa chorób erytrocytów jest związana z zaburzeniami hemoglobiny. Talasemie to jedne z najczęstszych chorób jednogenowych. Na świecie występuje około 270 mln ich nosicieli, zwłaszcza w regionach tropikalnych. Zmiany w strukturze hemoglobiny zwiększają oporność na malarię, więc bycie nosicielem talasemii w tych regionach było korzystne ewolucyjnie. Dziś zarówno z powodu migracji ludzi, jak i rozwoju diagnostyki wiele przypadków choroby stwierdza się na innych terenach, np. w Anglii, Skandynawii czy w Niemczech. Talasemie są bardzo różnorodną grupą anemii hemolitycznych charakteryzujących się zredukowaną lub całkowicie zahamowaną syntezą jednego lub więcej łańcuchów globinowych tworzących hemoglobinę. Dotychczas opisano ponad 80 mutacji wy-



Obszary zmian
w strukturze białka
spowodowane mutacją

Danuta Plochcka

Model cząsteczki G6PD z wprowadzoną mutacją P409R G6PD Suwalki

wołujących talasemię α , polegających zwykle na usunięciu części lub całości segmentu α -globinowego. Natomiast talasemia β spowodowana jest w większości przez mutacje punktowe. Opisano ich ponad 200. Niektóre prowadzą do częściowego obniżenia poziomu globiny, inne do całkowitego zablokowania syntezy. Kliniczny obraz talasemii jest bardzo zróżnicowany. Niektórzy nosiciele nigdy nie mają objawów choroby, inni przechodzą łagodną anemię (*talasemia minor*). Są też przypadki ostrej niedokrwistości, wymagającej regularnych przetoczeń krwi (*talasemia major*).

Nowe przypadki

Do niedawna uważano, że talasemie nie występują w populacji polskiej. Jednak badania przeprowadzone w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii, Katedrze i Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii WUM oraz Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN dowiodły, że w Polsce występuje zarówno odmiana α , jak i β . To głównie mutacje śródziemnomorskie, ale też mutacje dotychczas nienotowane w literaturze, często powstające *de novo*. Bardzo charakterystyczną zmianę, tzw. heterozygotę złożoną (dwie mutacje w jednej kopii genu), zidentyfikowaliśmy u rodzin pochodzenia tatarskiego. Prawdopodobnie mutacja ta trafiła do Polski wraz z migracją Tatarów i zachowała się do dziś.

Wrodzone niedokrwistości hemolityczne stanowią poważny problem medyczny. Diagnostyka różnicowa wrodzonych niedokrwistości hemolitycznych polega na określeniu możliwej przyczyny hemolizy, ale stosowane metody nie zawsze umożliwiają postawienie prawidłowej diagnozy. W niektórych wypadkach rozstrzygające są badania genetyczne. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

- Burzyńska B., Adamowicz-Salach A., Plochcka D., Gołaszewska E., Witos I. (2009). Mutacja C1155G genu dehydrogenazy-6-glukozylofosforanowej krwinek czerwonych u chorego z ciężką wrodzoną niesferocytową niedokrwistością hemolityczną. *Med. Wieku Rozwoj.*, 13 (2), 136-140.
- Pawlowski P.H., Burzyńska B., Zielenkiewicz P. (2008). Theoretical model of thalassaemic erythrocyte shape transformation. *J. Theor. Biol.*, 254 (3), 575-9.