

# Θαλασσαιμικά σύνδρομα:

Γονίδια αλύσων, Δομή αιμοσφαιρίνης,

Μεταλλάξεις

Θεραπεία

Α.Αθανασιάδου 21.2.2012

# Εκπαιδευτικοί Στόχοι:

## Να γνωρίζετε

1. ποιά γονίδια κωδικοποιούν τις αιμοσφαιρινικές αλυσούς ( γενετικοί τόποι, τοπογραφία γονιδίων)
2. πώς τα τελικά προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων αυτών συνδυάζονται για την παραγωγή αιμοσφαιρίνης
3. ότι πολλές μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά ευθύνονται για αναιμία και ποια είναι η ακριβής φύση και θέση των μεταλλάξεων αυτών

## Να κατανοείτε

1. τις επιπτώσεις της παρουσίας κάθε μιας από αυτές τις μεταλλάξεις στην έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου (μοριακή παθολογία)
2. τη συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική και την γονοτυπική ετερογένεια της νόσου

# Εκπαιδευτικοί Στόχοι:

## Να γνωρίζετε

1. ποιά γονίδια κωδικοποιούν τις αιμοσφαιρινικές αλυσούς ( γενετικοί τόποι, τοπογραφία γονιδίων)
2. πώς τα τελικά προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων αυτών συνδυάζονται για την παραγωγή αιμοσφαιρίνης
3. ότι πολλές μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά ευθύνονται για αναιμία και ποια είναι η φύση και η ακριβής θέση των μεταλλάξεων αυτών

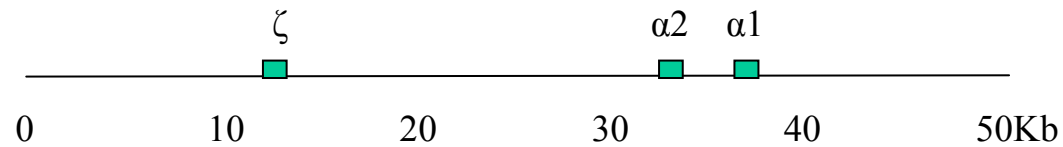
## Να κατανοείτε

1. τις επιπτώσεις της παρουσίας κάθε μιας από αυτές τις μεταλλάξεις στην έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου (μοριακή παθολογία)
2. τη συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική και την γονοτυπική ετερογένεια της νόσου

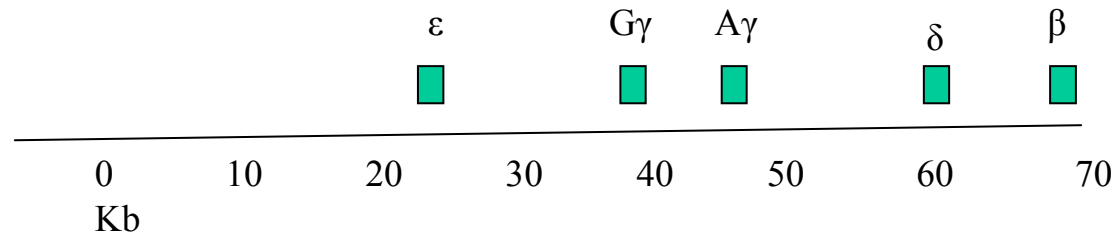
Τα σφαιρινικά γονίδια του Ανθρώπου είναι :

α, για τις αλύσους τύπου α , εδράζονται στο χρωμόσωμα 16 και β, για τις αλύσους τύπου β, εδράζονται στο χρωμόσωμα 11

**Χρωμόσωμα 16**



**Χρωμόσωμα 11**



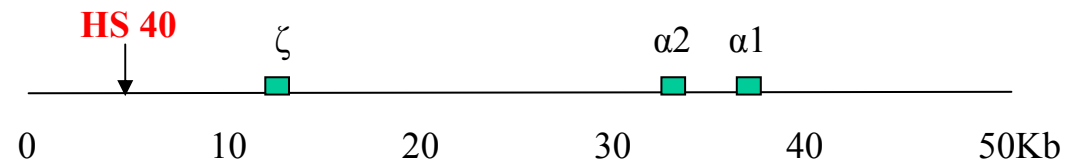
# Τα σφαιρινικά γονίδια έχουν παρόμοια δομή

Εξαιρετικά μεγάλη ομολογία αλληλουχιών εντός κάθε οικογένειας  
αλλά μεγάλη απόκλιση αλληλουχιών μεταξύ των δύο οικογενειών

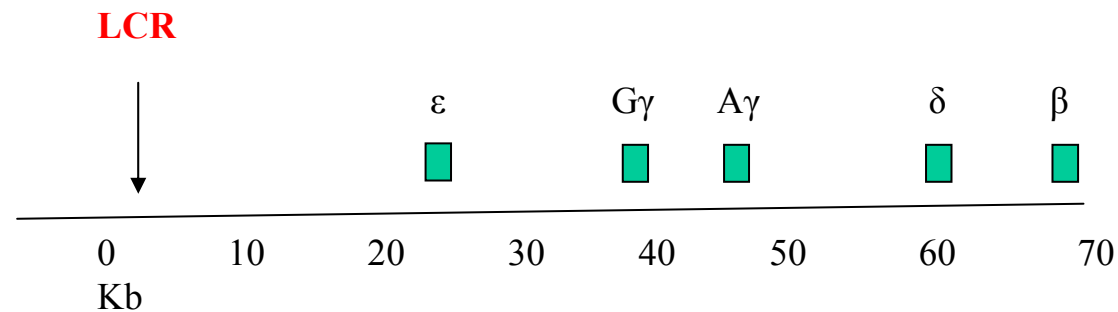
Globin Chain	5' region	Exon I	Intron I	Exon II	Intron II	Exon III	3' region	
ε	53	90	122	222	850	126	118	Bases
		1-30		31-104		105-146		Amino acids
Aγ	53	90	122	222	866	126	87	Bases
		1-30		31-104		105-146		Amino acids
Gγ	53	90	122	222	866	126	87	Bases
		1-30		31-104		105-146		Amino acids
δ	49	90	128	222	866	126	128	Bases
		1-30		31-104		105-146		Amino acids
β	50	90	122	222	850	126	132	Bases
		1-30		31-104		105-146		Amino acids
α	37	93	113	204	141	129	112	Bases
		1-31		32-99		100-141		Amino acids

Ειδικές **περιοχές του DNA** ρυθμίζουν την ιστική και αναπτυξιακή ειδικότητα της έκφρασης των γονιδίων σε κάθε ομάδα

### Χρωμόσωμα 16



### Χρωμόσωμα 11



# Εκπαιδευτικοί Στόχοι:

## Να γνωρίζετε

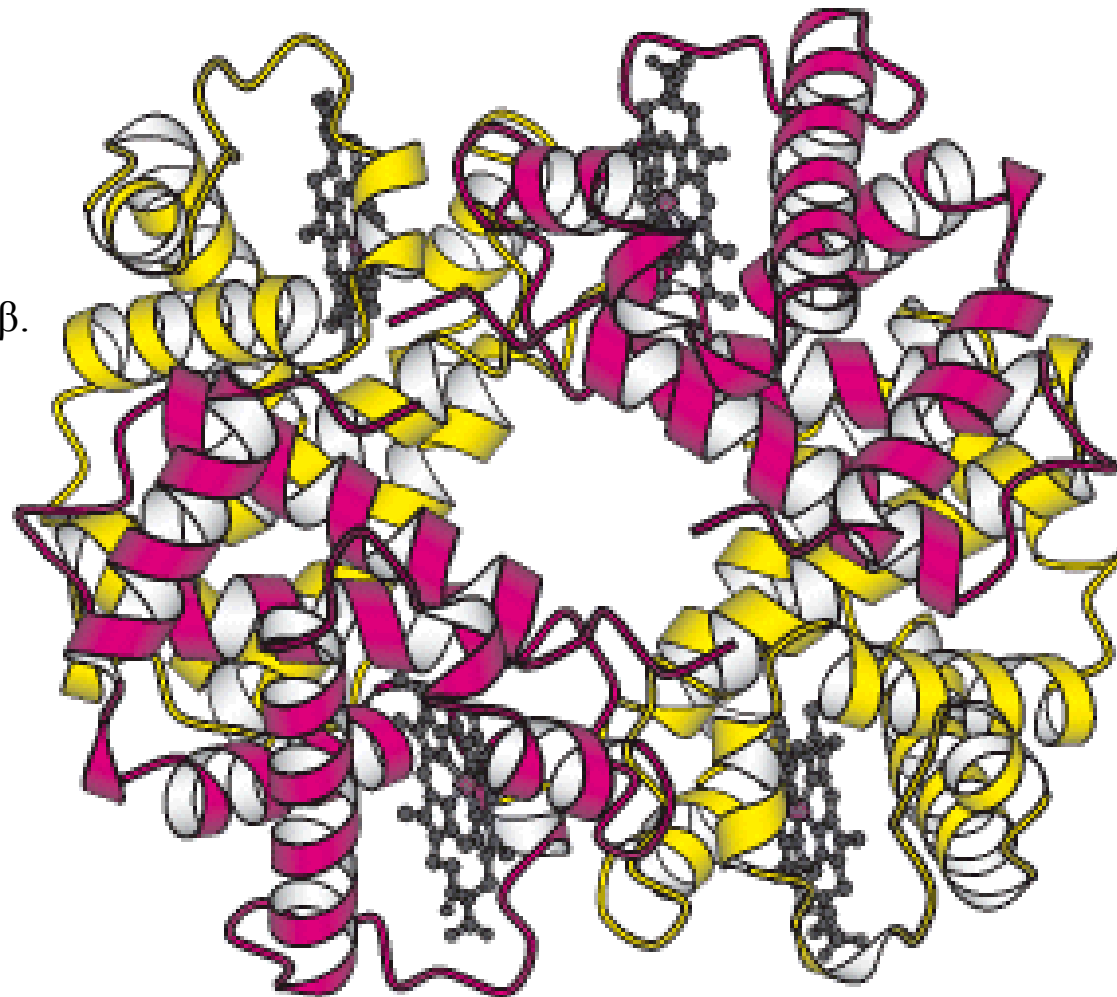
1. ποιά γονίδια κωδικοποιούν τις αιμοσφαιρινικές αλυσούς ( γενετικοί τόποι, τοπογραφία γονιδίων)
2. πώς τα τελικά προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων αυτών συνδυάζονται για την παραγωγή αιμοσφαιρίνης
3. ότι πολλές μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά ευθύνονται για αναιμία και ποια είναι η φύση και η ακριβής θέση των μεταλλάξεων αυτών

## Να κατανοείτε

1. τις επιπτώσεις της παρουσίας κάθε μιας από αυτές τις μεταλλάξεις στην έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου (μοριακή παθολογία)
2. τη συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική και την γονοτυπική ετερογένεια της νόσου

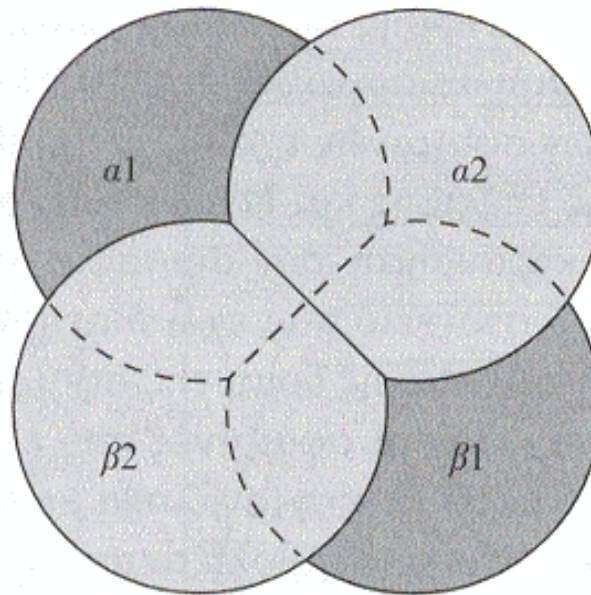
Δομή της Αιμοσφαιρίνης Α (HbA) του Ανθρώπου  
Κίτρινο:α αλυσοί, Κόκκινο:β αλυσοί, Μαύρο: αίμη, Μώβ: Σίδηρος

Το μόριο κάθε  
Αιμοσφαιρίνης  
αποτελείται από  
Δύο αλυσούς τύπου α  
και δύο αλυσούς τύπου β.  
Τέσσερα μόρια αίμης  
και τέσσερα σιδήρου



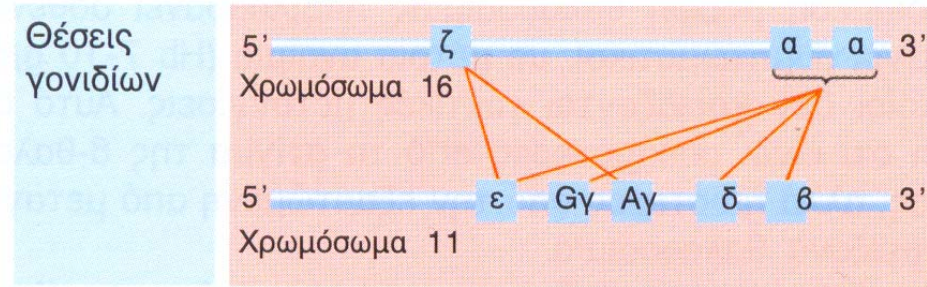


## Φυσιολογική Αιμοσφαιρίνη Α



**Εικόνα 11-1.** Αναπαράσταση ενός τετραμερούς μορίου  $\alpha_2\beta_2$  της φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης των ενηλίκων (Hb A). Υπάρχουν δύο αλυσίδες  $\alpha$  και δύο  $\beta$ , κάθε μια συνδεδεμένη με ένα τμήμα αίμης. Καθώς η αιμοσφαιρίνη μετατρέπεται από την οξυ- στη δεοξυ- κατάσταση, συντελείται μιας ιδιαίτερης σημασίας μετακίνηση των αλυσίδων στα σημεία επαφής  $\alpha_1 : \beta_2$ . Υποκαταστάσεις στα σημεία επαφής των υπομονάδων μπορεί να αλλοιώσουν τη συγγένεια προς το οξυγόνο (π.χ. Hb Kempsey και Hb Kansas· βλ. κείμενο) ή τη σταθερότητα του μορίου.

## Τα διάφορα αιμοσφαιρινικά γονίδια εκφράζονται σε διάφορα στάδια κατά την ανάπτυξη



**Παρατηρείστε :**  
ποια ακριβώς γονίδια εκφράζονται σε κάθε στάδιο και ποιες αιμοσφαιρίνες σχηματίζουν

Αιμοσφαιρίνες (αλυσίδες)	Gower 1 (ζ <sub>2</sub> ε <sub>2</sub> )	HbF (α <sub>2</sub> γ <sub>2</sub> )	HbA <sub>2</sub> (α <sub>2</sub> δ <sub>2</sub> )
	Gower 2 (α <sub>2</sub> ε <sub>2</sub> )		HbA (α <sub>2</sub> β <sub>2</sub> )
	Portland (ζ <sub>2</sub> γ <sub>2</sub> )		
	Εμβρυο-νικό	Εμβρυϊ-κό	Ενηλίκου

Τα στάδια παραγωγής αιμοσφαιρίνης στον άνθρωπο διακρίνονται σε:

*Εμβρυονικό στάδιο:* τρεις πρώτοι μήνες κύησης

*Εμβρυϊκό στάδιο :* τρεις έως έξι μήνες κύησης

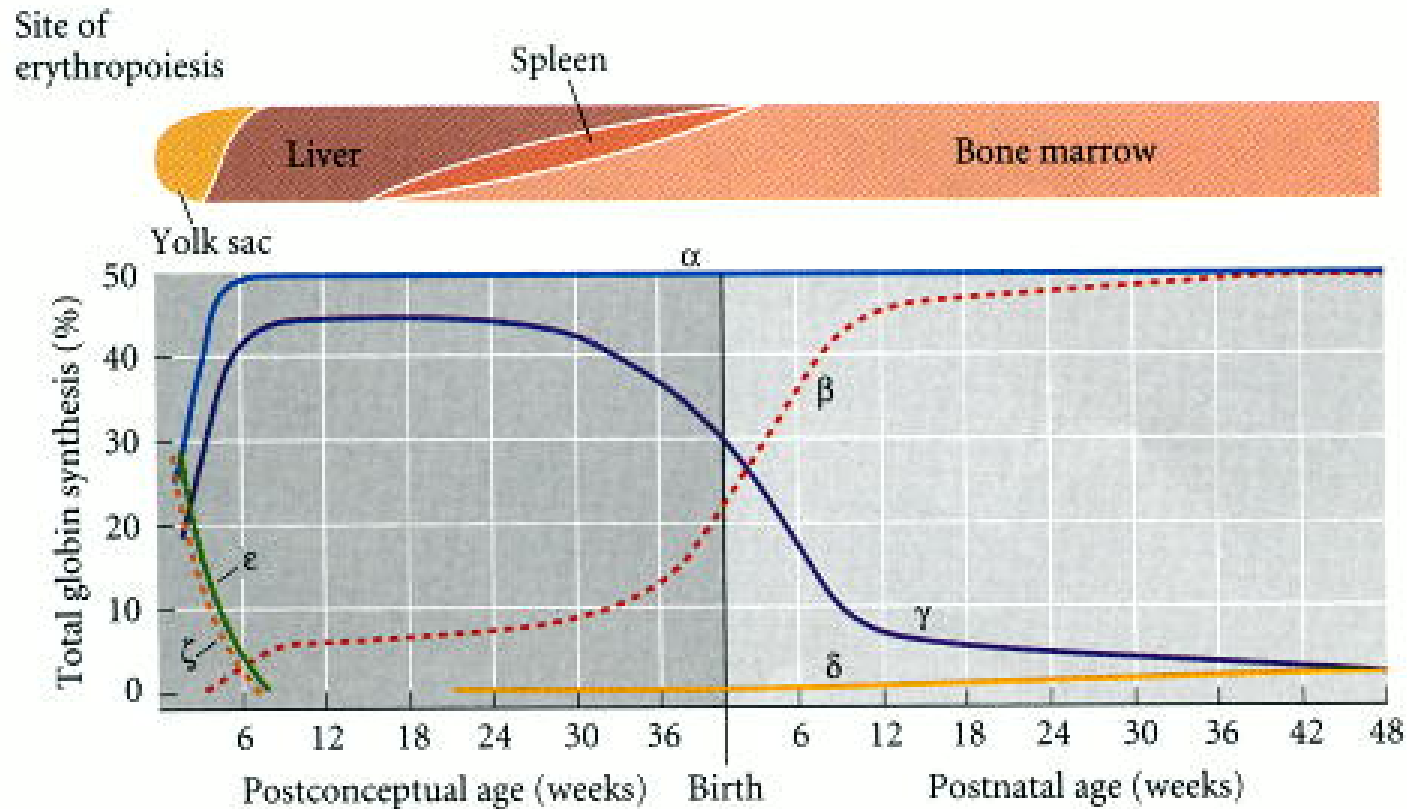
*Στάδιο Ενηλίκου:* έξι μήνες μετά τη γέννηση και εντεύθεν

## Φυσιολογικές Αιμοσφαιρίνες ενηλίκου και παραδείγματα παθολογικών Αιμοσφαιρινών

**Πίνακας 8.10**  
Μερικοί τύποι αιμοσφαιρίνης

	Αιμοσφαιρίνη	Δομή	Σχόλιο
Φυσιολογική	A	$\alpha_2\beta_2$	Αποτελεί το 97% της αιμοσφαιρίνης του ενηλίκου
	A <sub>2</sub>	$\alpha_2\delta_2$	Αποτελεί το 2% της αιμοσφαιρίνης του ενηλίκου Αυξημένη στη β-θαλασσαιμία
	F	$\alpha_2\gamma_2$	Φυσιολογική αιμοσφαιρίνη στο έμβρυο από τον 3ο έως τον 9ο μήνα Αυξημένη στη β-θαλασσαιμία
Παθολογική παραγωγή της αλυσίδας	H	$\beta_4$	Αποτελεί <1% της αιμοσφαιρίνης του ενηλίκου Ανευρίσκεται στην α-θαλασσαιμία Βιολογικώς μη λειτουργική
	Barts	$\gamma_4$	Αποτελεί το 100% της αιμοσφαιρίνης στην ομόζυγη α-θαλασσαιμία Βιολογικώς μη λειτουργική
Παθολογική δομή της αλυσίδας	S	$\alpha_2\beta_2^s$	Αντικατάσταση του γλουταμινικού οξέος από βαλίνη στη θέση 6 της αλυσίδας β
	C	$\alpha_2\beta_2^c$	Αντικατάσταση του γλουταμινικού οξέος από λυσίνη στη θέση 6 της αλυσίδας β

Οι τύποι αιμοσφαιρινικών αλύσων που παράγονται στις διάφορες φάσεις της ανάπτυξης και σε διάφορους ιστούς



Παρατηρείστε ότι υπάρχουν **μεταστροφές στην έκφραση γονιδίων** (expression switches):  
Μια μεταστροφή έκφρασης στα γονίδια τύπου α, **από ζ σε α**, στην πρώιμη εμβρυονική φάση, και  
Δύο μεταστροφές έκφρασης στα γονίδια τύπου β, μία περί την έκτη εβδομάδα κύησης, **από ε σε γ** και μία περί την τρίτη εβδομάδα μετά την γέννηση, **από γ σε β**.  
Συσχετίστε την ύπαρξη αυτών των μεταστροφών γονιδιακής έκφρασης με την παρουσία συγκεκριμένων αιμοσφαιρινών σε κάθε στάδιο ανάπτυξης.

# ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ:

## Να γνωρίζετε

1. ποιά γονίδια κωδικοποιούν τις αιμοσφαιρινικές αλυσούς ( γενετικοί τόποι, τοπογραφία γονιδίων)
2. πώς τα τελικά προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων αυτών συνδυάζονται για την παραγωγή αιμοσφαιρίνης
3. ότι πολλές μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά ευθύνονται για αναιμία και ποια είναι η ακριβής φύση και θέση των μεταλλάξεων αυτών

## Να κατανοείτε

1. τις επιπτώσεις της παρουσίας κάθε μιας από αυτές τις μεταλλάξεις στην έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου (μοριακή παθολογία)
2. τη συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική και την γονοτυπική ετερογένεια της νόσου

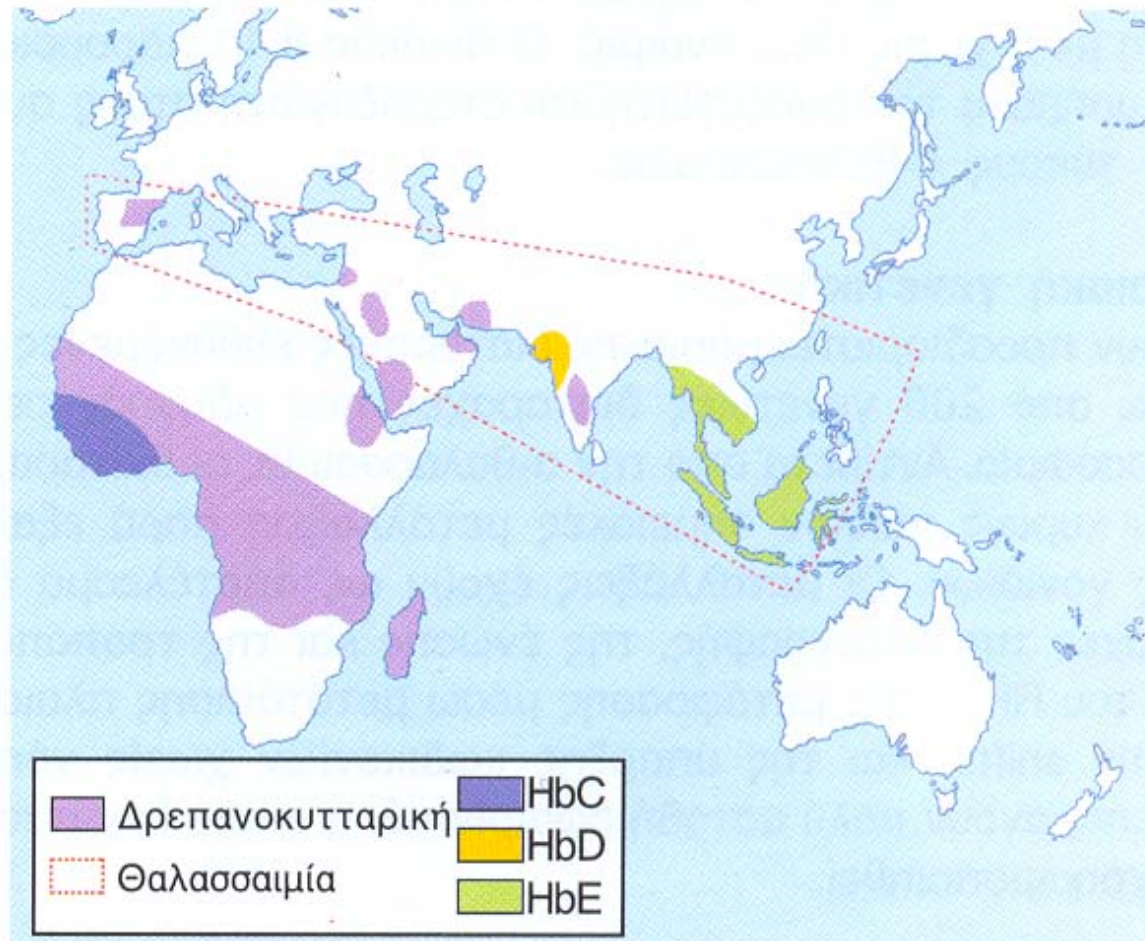
- Οι παθήσεις Αιμοσφαιρίνης οφείλονται, κατά κύριον λόγο, σε μεταλλάξεις στα γονίδια της α- ή της β-σφαιρίνης
- Τα θαλασσαιμικά σύνδρομα οφείλονται σε μεταλλάξεις που επηρεάζουν το ποσό της παραγόμενης αλυσίδας

**Human Hemoglobin Mutations**

**Globin Gene Server**

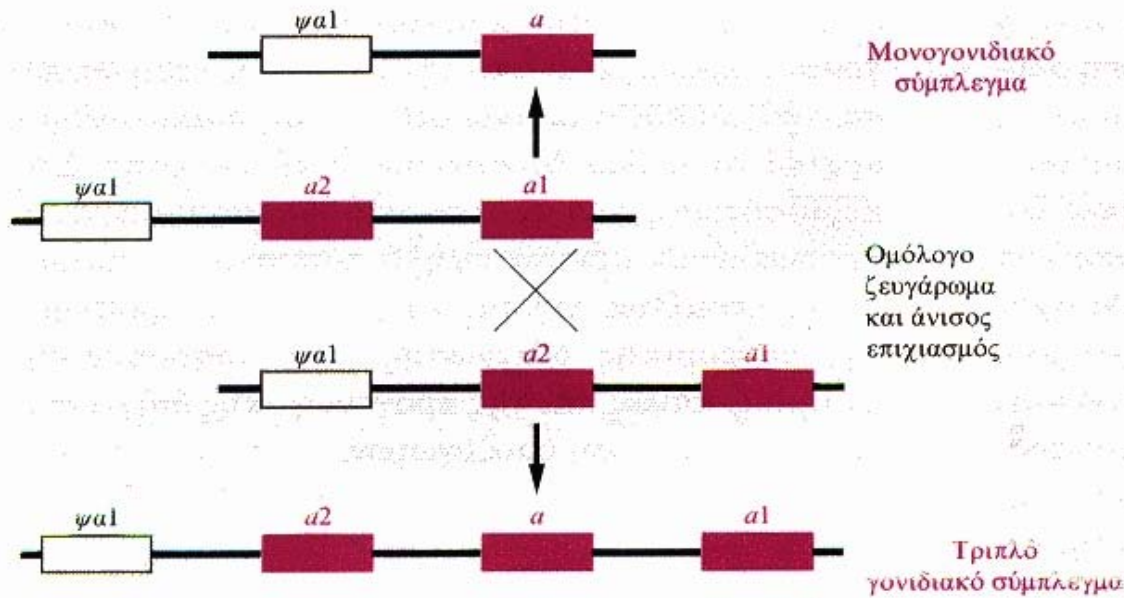
<http://globin.cse.psu.edu/>

Τα θαλασσαιμικά σύνδρομα παρουσιάζουν μεγάλο εύρος γεωγραφικού εντοπισμού



# I. α-Θαλασσαιμία

Ελλείψεις στο γονίδιο της α-σφαιρίνης αποτελούν τις συνήθεις μεταλλάξεις α-Θαλασσαιμίας



**Εικόνα 11-12.** Πιθανός μηχανισμός της συνηθέστερης μορφής α-θαλασσαιμίας, η οποία οφείλεται σε ελλείμματα ενός από τα δύο γονίδια α-σφαιρίνης σε ένα χρωματόσωμα. Το έλλειμμα του γονιδίου  $\alpha$  οφείλεται σε εσφαλμένη ευθυγράμμιση, ομόλογο ζευγάρωμα και ανισοεπιχιασμό μεταξύ του γονιδίου  $\alpha 1$  στο ένα χρωματόσωμα και του γονιδίου  $\alpha 2$  στο ομόλογο χρωματόσωμα. [Επανασχεδίαση από: Orkin, S.H. (1987). «Disorders of hemoglobin synthesis: The thalassemias», στο Stamatoyannopoulos, G., Nienhuis, A.W., Leder, P. & Majerus, P.W. (eds). *The molecular basis of blood diseases*. WB Saunders, Philadelphia, pp. 106-126.]



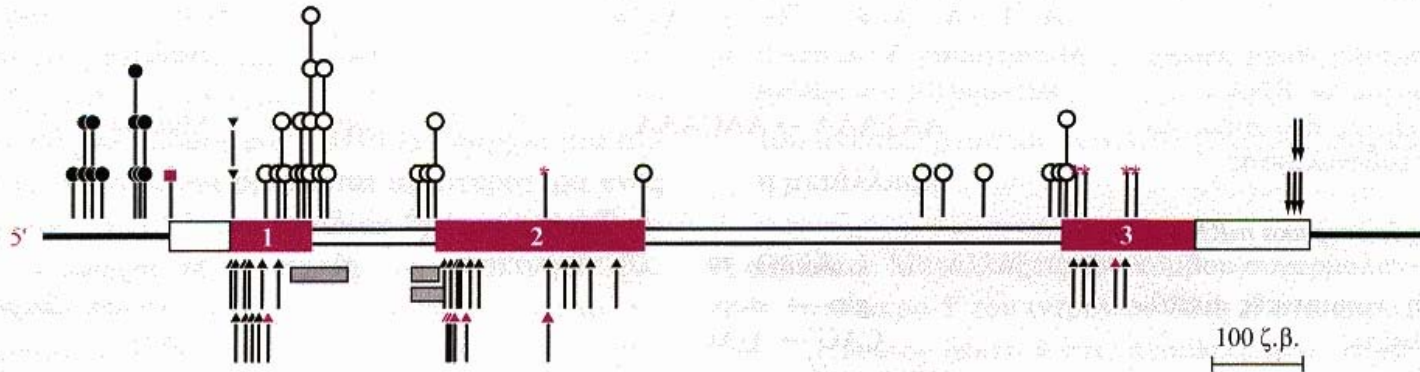
## II. β-Θαλασσαιμία

Σημειακές μεταλλάξεις αποτελούν τις συνήθεις μεταλλάξεις στο γονίδιο β –σφαιρίνης και επηρεάζουν

- Είτε τη **δομή** της παραγόμενης πρωτεΐνης → δομικές παραλλαγές
- Είτε το **ποσό** της παραγόμενης πρωτεΐνης → β-Θαλασσαιμία

# Σημειακές Μεταλλάξεις β-Θαλασσαιμίας

Υποκινητής



- |   |                          |   |                                  |
|---|--------------------------|---|----------------------------------|
| ● | Μεταγραφή                | ↑ | Μετατόπιση αναγνωστικού πλαισίου |
| ○ | Συναρμολόγηση RNA        | ↑ | Μη νοηματικό κωδικόνιο           |
| ■ | Θέση καλύμματος του mRNA | * | Ασταθής σφαιρίνη                 |
| ↓ | Διάσπαση RNA             | ■ | Μικρό έλλειμμα                   |
| ⊥ | Εναρκτήριο κωδικόνιο     |   |                                  |

**Εικόνα 11-15.** Σημειακές μεταλλάξεις που προκαλούν β-θαλασσαιμία. Προσέξτε τη διασπορά των μεταλλάξεων κατά μήκος του γονιδίου και το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις προσβάλλουν σχεδόν κάθε διαδικασία που απαιτείται για την παραγωγή φυσιολογικής β-σφαιρίνης. [Επανασχεδίαση από: Kazazian, H.H. (1990). «The thalassemia syndromes: Molecular basis and prenatal diagnosis in 1990», στο Miescher, L.A. & Jaffé, E.R. (eds). *Seminars in Hematology* 27(3). WB Saunders, Philadelphia, pp. 209-228.]

**Κόκκινες περιοχές :** εξώνια, **ενδιάμεσες περιοχές :** ιντρόνια

# Εκπαιδευτικοί Στόχοι:

## Να γνωρίζετε

1. ποιά γονίδια κωδικοποιούν τις αιμοσφαιρινικές αλύσους ( γενετικοί τόποι, τοπογραφία γονιδίων)
2. πώς τα τελικά προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων αυτών συνδυάζονται για την παραγωγή αιμοσφαιρίνης
3. ότι πολλές μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά ευθύνονται για αναιμία και ποια είναι η ακριβής φύση και θέση των μεταλλάξεων αυτών

## Να κατανοείτε

1. τις επιπτώσεις της παρουσίας κάθε μιας από αυτές τις μεταλλάξεις στην έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου (μοριακή παθολογία)
2. τη συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική και την γονοτυπική ετερογένεια της νόσου

Οι επιπτώσεις των μεταλλάξεων στον  
φαινότυπο εξαρτώνται από:

- Τη φύση της μετάλλαξης
- Τη θέση της μετάλλαξης στο αντίστοιχο γονίδιο

## Παθογένεση στην α-θαλασσαιμία

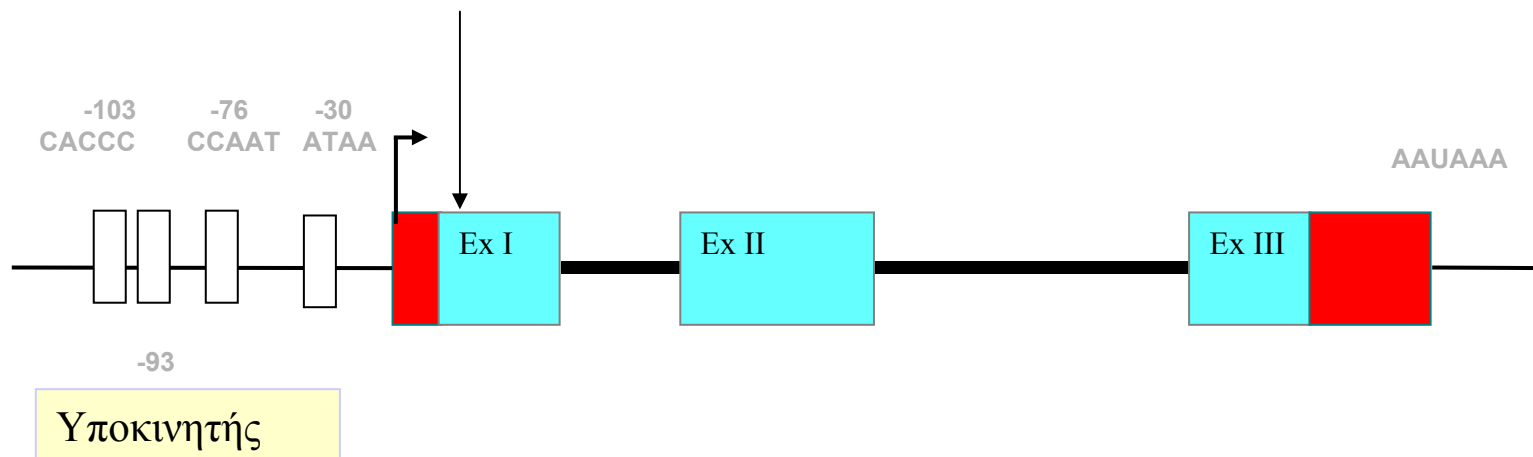
Οφείλεται σε απώλεια γονιδίων α-σφαιρίνης που οδηγεί σε ελάττωση αλυσίδων α-σφαιρίνης

Πίνακας 11-3. Κλινική εικόνα γονοτύπων α-θαλασσαιμίας

Κλινική εικόνα	Αριθμός λειτουργικών γονιδίων α	Γονότυπος	Παραγωγή αλυσίδων α
Φυσιολογική	4	αα/αα	100%
Σιωπηλός φορέας	3	αα/α-	75%
Στίγμα α-θαλασσαιμίας (ήπια αναιμία-μικροκυττάρωση)	2	α-/α- ή αα/--	50%
Νόσος Hb H ( $\beta_4$ ) (σχετικά σοβαρή αιμολυτική αναιμία)	1	α-/--	25%
Εμβρυϊκός ύδρωπας ή ομόζυγη α-θαλασσαιμία (Hb Bart's: $\gamma_4$ )	0	--/--	0%

Α. Μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη δομή της β-αλυσίδας  
Το παράδειγμα της Δρεπανοκυτταρικής Αναιμίας

Αλλαγή βάσης A>T στο 6ο κωδικόνιο  
➤ Αντικατάσταση του Glu από Val  
➤ HbS



# Εκπαιδευτικοί Στόχοι:

## Να γνωρίζετε

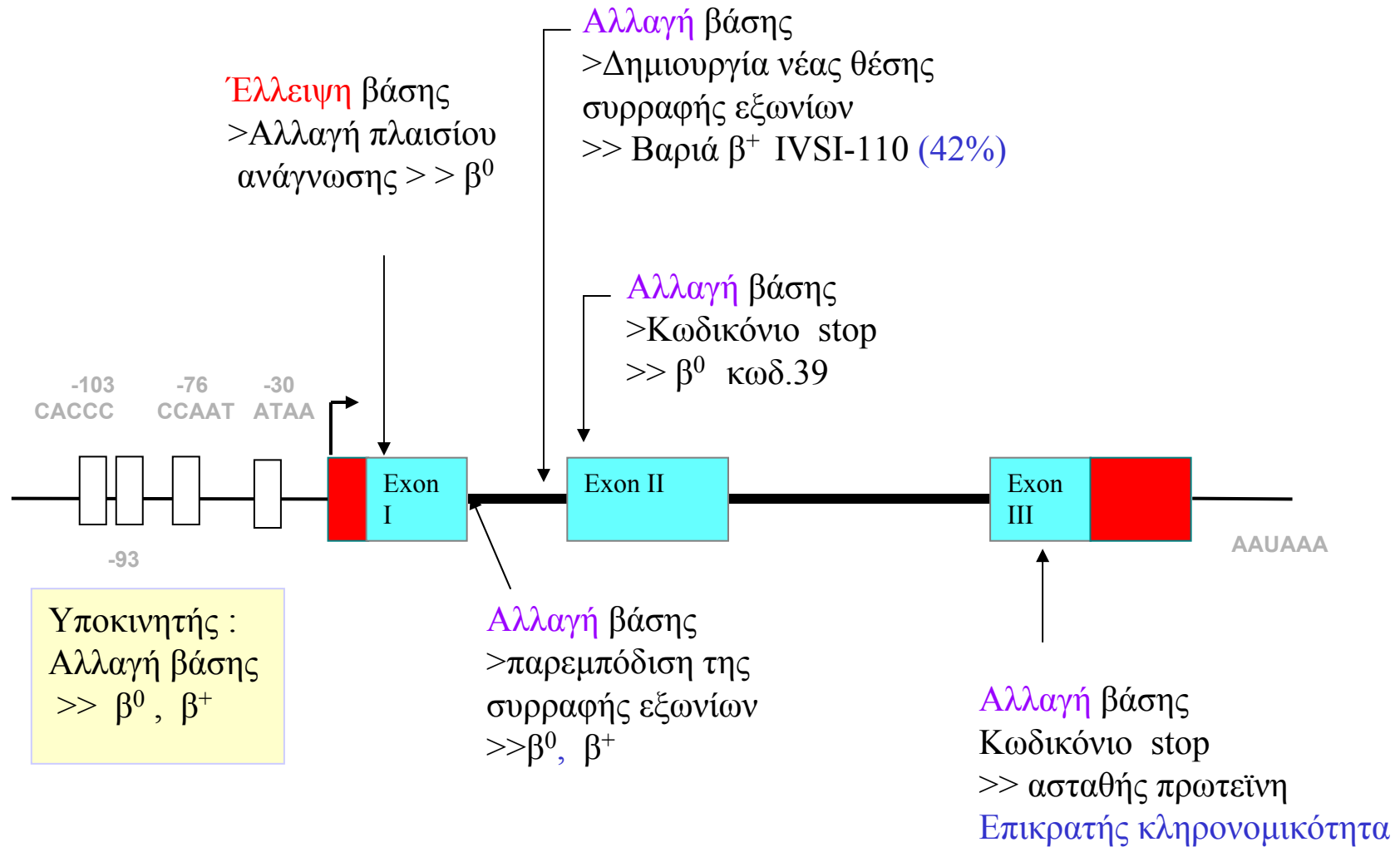
1. ποιά γονίδια κωδικοποιούν τις αιμοσφαιρινικές αλυσούς ( γενετικοί τόποι, τοπογραφία γονιδίων)
2. πώς τα τελικά προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων αυτών συνδυάζονται για την παραγωγή αιμοσφαιρίνης
3. ότι πολλές μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά ευθύνονται για αναιμία και ποια είναι η ακριβής φύση και θέση των μεταλλάξεων αυτών

## Να κατανοείτε

1. τις επιπτώσεις της παρουσίας κάθε μιας από αυτές τις μεταλλάξεις στην έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου (μοριακή παθολογία)
2. τη συσχέτιση ανάμεσα στην κλινική και την γονοτυπική ετερογένεια της νόσου

## Β. Παθογένεση στην β-θαλασσαιμία

Οφείλεται σε **σημειακές μεταλλάξεις** στο γονίδιο β-σφαιρίνης που οδηγούν σε **Έλλειψη ή ελάττωση παραγωγής β-σφαιρίνης (εκτός της μετάλλαξης στο τρίτο εξόνιο)**



$\beta^0$  : δεν παράγεται καθόλου β-σφαιρίνη  
 $\beta^+$  : παράγεται εν μέρει β-σφαιρίνη



Η Παθογένεση στη β-θαλασσαιμία

Οι μεταλλάξεις β<sup>0</sup> και β<sup>+</sup>, β-θαλασσαιμίας στο γονίδιο β-σφαιρίνης προκαλούν βλάβες στη **ρύθμιση της έκφρασης** δηλαδή:

**1.Μεταλλάξεις του Υποκινητή :**

*Ελάττωση του ρυθμού ή της επάρκειας της μεταγραφής*

**2. Stop κωδικόνια, μικρές ελλείψεις σε κωδικόνια:**

*Ελάττωση/έλλειψη παραγωγής μηνύματος*

**3. Μεταλλάξεις σε ιντρόνια :**

*Βλάβη στη διαδικασία ωρίμανσης του μηνύματος*

**4. Μεταλλάξεις στο 5' και στο 3' ακρο:**

*Ελάττωση στη βιωσιμότητα του μηνύματος*

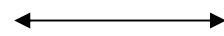
*Όλες αυτές οι μεταλλάξεις έχουν ως αποτέλεσμα*

*>>Ελάττωση/έλλειψη μηνύματος >>Ελάττωση/έλλειψη β-αλύσου*

*Ο βαθμός της ελάττωσης εξαρτάται από τη θέση και τη φύση της αντίστοιχης μετάλλαξης*

# Συσχέτιση

Κλινική  
Ετερογένεια



Γονοτυπική  
Ετερογένεια

---

α- έναντι β-  
Θαλασσαιμίας

ετερογένεια  
-γονιδίου

---

εντός της  
β-θαλασσαιμίας

ετερογένεια  
-αλληλομόρφου

## Θαλασσαιμικά σύνδρομα:

Γονίδια αλύσων, Δομή αιμοσφαιρίνης,

Μεταλλάξεις,

**Θεραπεία**

Η τρέχουσα θεραπεία είναι κυρίως συμπτωματολογική:  
**Μεταγγίσεις αίματος >> αύξηση της αιμοσφαιρίνης**

Μια δεύτερη προσέγγιση:

- **Μεταμόσχευση μυελού των οστών**  
από φυσιολογικό συμβατό δότη

Μια τρίτη προσέγγιση, σε ευρευνητικό ακόμα στάδιο:

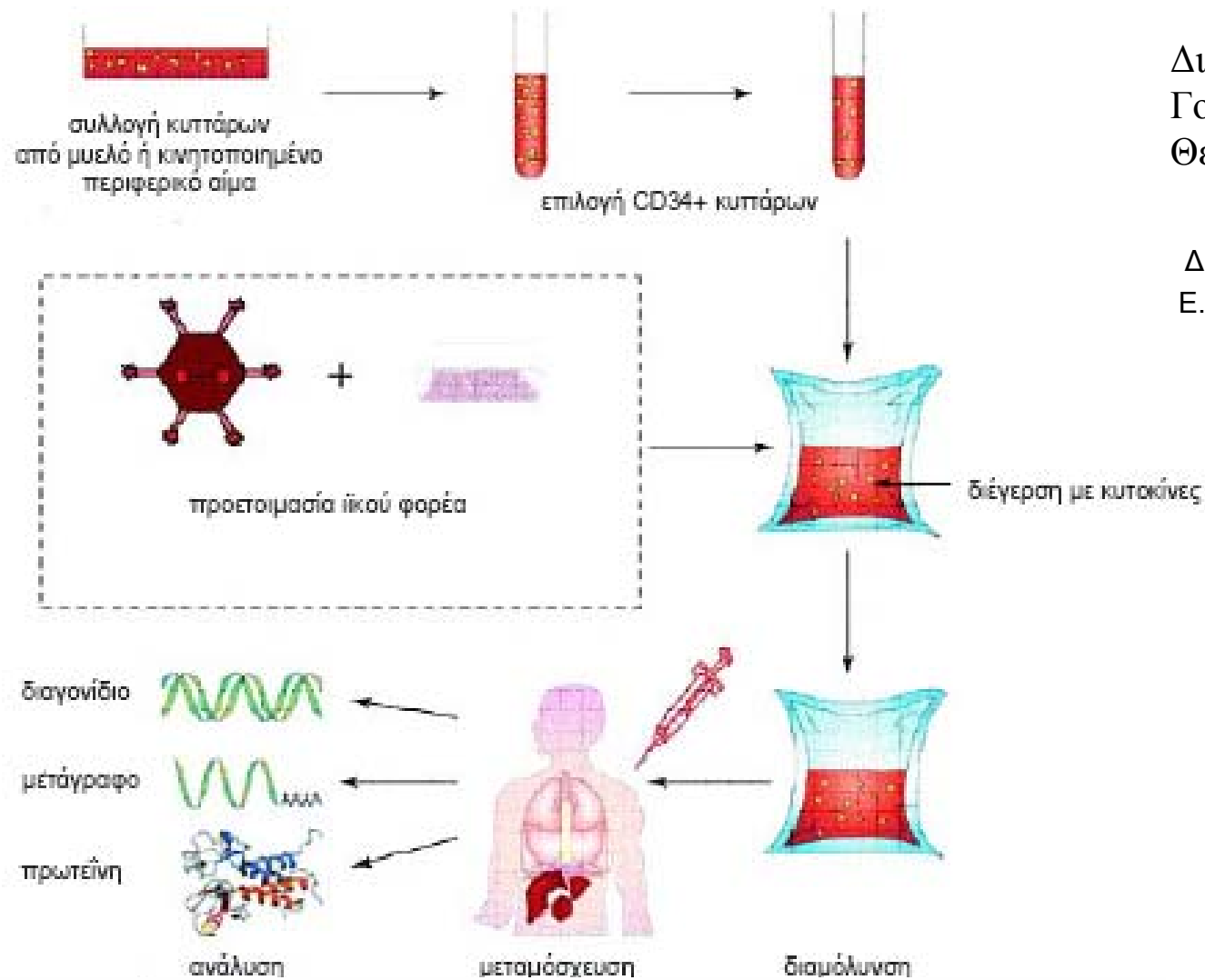
- **Γονιδιακή θεραπεία**

# Η γονιδιακή θεραπεία της β-Θαλασσαιμίας βρίσκεται σε φάση κλινικής δοκιμής

## Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human b-thalassaemia

Marina Cavazzana-Calvo<sup>1,2\*</sup>, Emmanuel Payen<sup>3,4,5\*</sup>, Olivier Negre<sup>3,4,5,6</sup>, Gary Wang<sup>7</sup>, Kathleen Hehir<sup>8</sup>,  
Floriane Fusil<sup>3,4,5</sup>, Julian Down<sup>8</sup>, Maria Denaro<sup>8</sup>, Troy Brady<sup>7</sup>, Karen Westerman<sup>8,9</sup>, Resy Cavallesco<sup>9</sup>,  
Beatrix Gillet-Legrand<sup>6</sup>, Laure Caccavelli<sup>1,2</sup>, Riccardo Sgarra<sup>10</sup>, Leila Maouche-Chre'tien<sup>3,4</sup>, Françoise Bernaudin<sup>11</sup>,  
Robert Girot<sup>12</sup>, Ronald Dorazio<sup>8</sup>, Geert-Jan Mulder<sup>8</sup>, Axel Polack<sup>8</sup>, Arthur Bank<sup>13</sup>, Jean Soulier<sup>5</sup>, Jérôme Larghero<sup>5</sup>,  
Nabil Kabbara<sup>5</sup>, Bruno Dalle<sup>5</sup>, Bernard Gourmel<sup>5</sup>, Gérard Socie<sup>5</sup>, Stany Chre'tien<sup>3,4,9</sup>, Nathalie Cartier<sup>14</sup>,  
Patrick Aubourg<sup>14</sup>, Alain Fischer<sup>1,2</sup>, Kenneth Cornetta<sup>15</sup>, Frédéric Galacteros<sup>16</sup>, Yves Beuzard<sup>3,4,5</sup>, Eliane Gluckman<sup>5</sup>,  
Frederick Bushman<sup>7</sup>, Salima Hacein-Bey-Abina<sup>1,2\*</sup> & Philippe Leboulch<sup>3,4,9</sup>

Nature. 2010 Sep 16;467(7313):318-22.



Διαδικασία  
Γονιδιακής  
Θεραπείας

Διατριβή  
Ε.Παπαπέτρου

Εικόνα 1.11. Διαγραμματική απεικόνιση των πρωτοκόλλων γονιδιακής θεραπείας που στοχεύει HSCs. Κύτταρα απομονώνονται από το μυελό ή από το περιφερικό αίμα μετά από κινητοποίηση, εμπλουτίζονται σε HSCs μέσω επιλογής των CD34+ κυττάρων, καλλιεργούνται παρουσία κυτοκινών και διαμολύνονται με το φορέα πριν επαναχορηγηθούν στον ασθενή. (Προσαρμογή από: Ferguson *et al* 2005, *Trends Biotechnol.*)