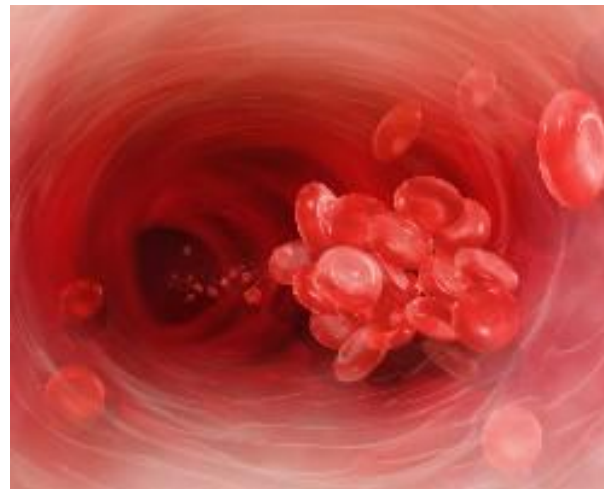




ΕΙΔΙΚΑ ΚΕΦΑΛΑΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

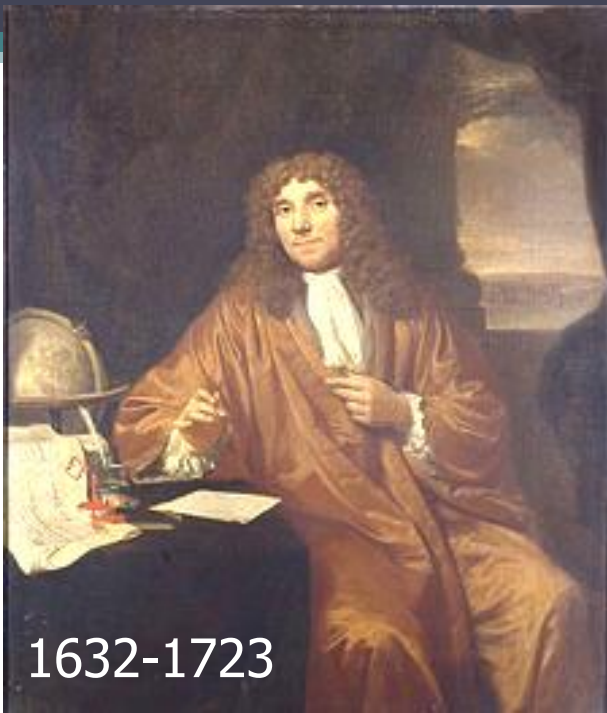
«ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΟΠΑΘΕΙΕΣ:
Η ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ
ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ»



Μαριάννα Χ. Αντωνέλου, *Ph.D.*

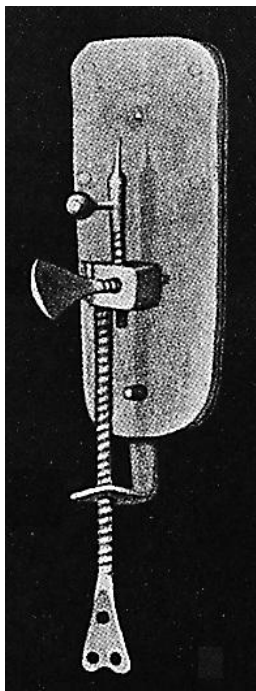
Λέκτορας Τμήματος Βιολογίας,
Πανεπιστημίου Αθηνών

2014



1632-1723

Anton Van Leeuwenhoek, 1675



... "when he was greatly disordered, the globules of his blood appeared hard and rigid, but grew softer and more pliable as his health returned: whence he infers that in a healthy body they should be soft and flexible..."

Extravascular (80-90%) or intravascular

• Αιμόλυση: μείωση του μέσου όρου του χρόνου επιβίωσης των ερυθρών

• 120days to 15days

• Αιμολυτική αναιμία

Hb εκτός RBCs = τοξική

ΑΝΑΙΜΙΑ

• Μη-αποδοτική ερυθροποίηση

• Περιφερική αιμόλυση

πχ. Συγγενείς Δυσερυθροποιητικές αναιμίες (CDA's)

πχ. β-Μεσογειακή αναιμία

BM erythroid hyperlasia
Reticulocytosis

• Αναπληρούμενη/αντισταθμιζόμενη
αιμολυτική ασθένεια (#ΔΕΚ)

Ασθένειες που σχετίζονται με αιμολυτική αναιμία

A. Επίκτητες

- Αυτοάνοσες αναιμίες
(αιμολυτική νόσος νεογνών)
- Φυσικός τραυματισμός RBC
- Μολυσματικοί παράγοντες
(ελονοσία)
- Χημικοί παράγοντες
- Σοβαρή ηπατική νόσος

B. Κληρονομικές αιμολυτικές ασθένειες

- Αναερόβια γλυκόλυση & μεταβολισμός γλουταθειόνης (πχ. ανεπάρκεια G6PDH)
- Δομή και σύνθεση σφαιρινών
(δρεπανοκυτταρική αναιμία)
- ερυθροκυτταρική μεμβράνη

Κληρονομικές μεμβρανοπαθειες

Η ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

inherited diseases due to mutations in various membrane or skeletal proteins

- Χρόνιες αιμολυτικές νόσοι
- Εγγενείς πρωταρχικές βλάβες στα γονίδια των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης
- μορφολογία των RBC's και τις μηχανικές ιδιότητες ή τη συγκέντρωση των μονοσθενών κατιόντων

❖ decreased red cell **deformability**

❖ reduced **life span**

❖ **premature removal** of the RBCs from the circulation

➤ hereditary spherocytosis

Altered RBC geometry (S/V, loss of surface area)

➤ hereditary elliptocytosis

➤ hereditary ovalocytosis

Altered membrane deformability

➤ hereditary stomatocytosis

OHS: Altered RBC geometry (S/V, increase in volume)

DHS: Increased cytosolic viscosity (dehydration)

Γενετικές ασθένειες της μηχανικής (δομικής οργάνωσης) του κυττάρου

Κληρονομική Σφαιροκυττάρωση (Hereditary Spherocytosis, HS)

Κληρονομική Ελλειπτοκυττάρωση (Hereditary Elliptocytosis, HE)

Κληρονομική Οβαλοκυττάρωση (SAO)

Γενετικές ασθένειες της παθητικής ροής μονοσθενών κατιόντων (altered membrane transport function)

Κληρονομικές στοματοκυτταρώσεις

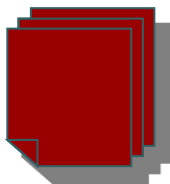
quantitative or a **qualitative defect** in the membrane protein(s) constituting the red cell cytoskeleton

Μοριακή βάση

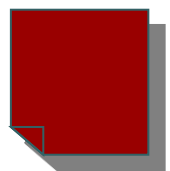
Hereditary spherocytosis, elliptocytosis, ovalocytosis

Hereditary stomatocytosis (πρόσφατα)

Μεταλλαγές



Hereditary spherocytosis, elliptocytosis, **stomatocytosis**



Hereditary ovalocytosis (single genetic defect)

ΠΡΟΤΥΠΟ ΚΛΗΡΟΝΟΜΗΣΗΣ ΒΛΑΒΗΣ

Επικρατές ή υπολειπόμενο

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

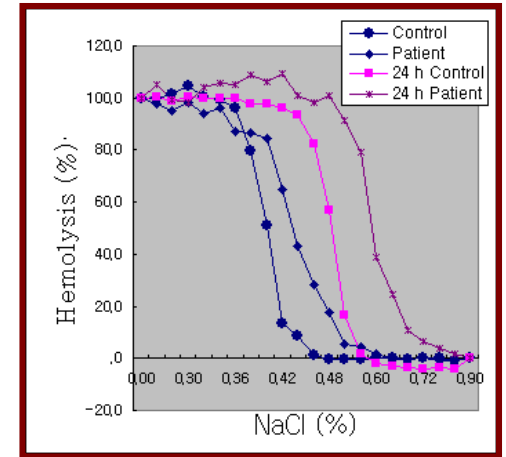
Σπληνεκτομή, μεταγγίσεις (10% περιοδικά), παροχή rEpo

Diagnosis

We need indexes of a **hemolytic** process and of a **membrane defect**

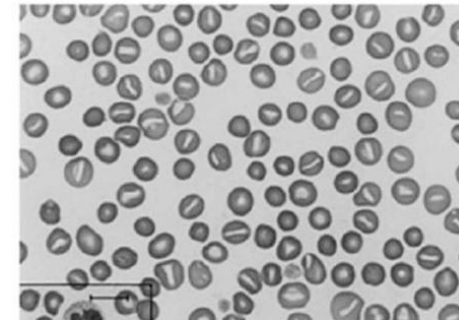
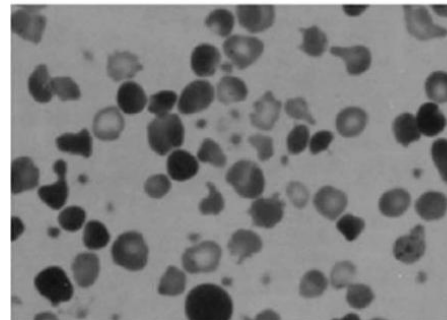
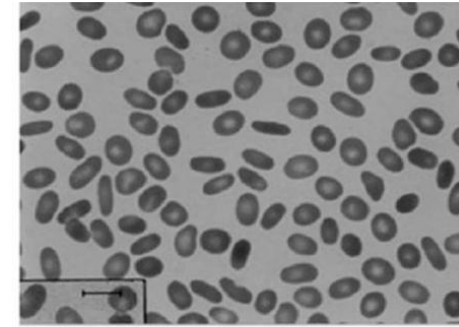
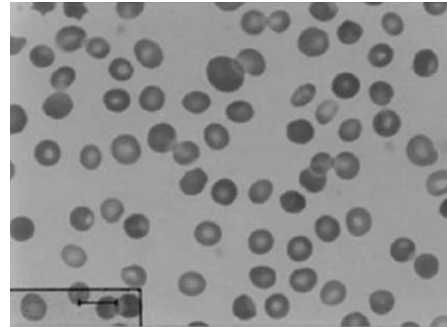
Diagnosis

- Family history
- red cell indices
- examination of a blood film
- osmotic fragility tests (? , traditional method)
- EMA-binding (eosin-5-maleimide dye) flow cytometric method



The best diagnostic reference technique is **osmotic gradient ektacytometry**

(deformability profile across a range of salinities)



Diagnosis

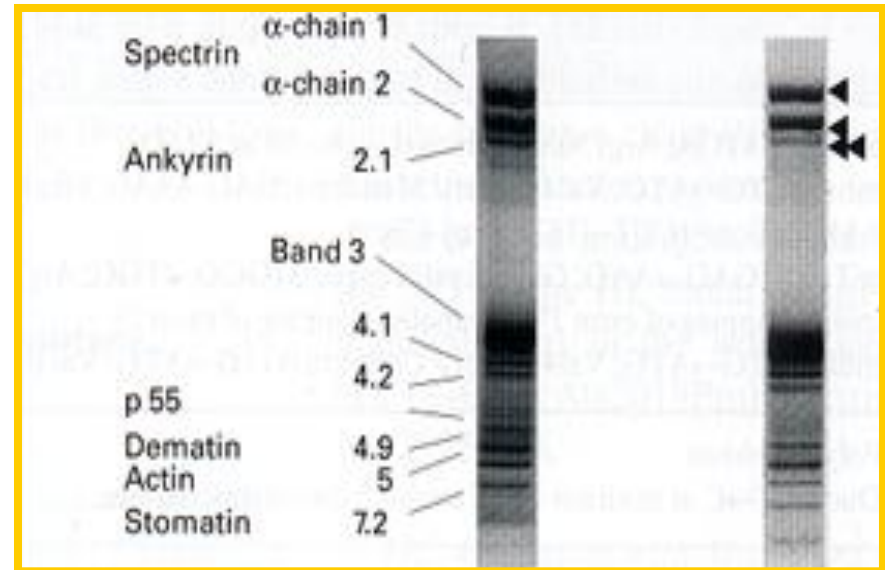
Table 1. Application of screening tests in the differential diagnosis of hereditary spherocytosis and other membrane-associated red cell disorders

Diagnosis	Osmotic fragility test	Acid glycerol lysis time test	EMA-binding test
Hereditary spherocytosis	↑ fragility	Shortened lysis time	↓ fluorescence
Auto-immune hemolytic anemia	↑ fragility	Shortened lysis time	Normal or ↑ with some cases
Hereditary pyropoikilocytosis	?	?	↓↓ fluorescence
Overhydrated hereditary stomatocytosis	↑ fragility	?	↑ fluorescence
Dehydrated hereditary stomatocytosis	↓ fragility	Normal lysis time	Normal or ↑ fluorescence
Cryohydrocytosis	?	?	↓ fluorescence
Congenital dyserythropoietic anemia type II	↑ fragility	Shortened lysis time with some cases	Normal or ↓ Fluorescence with some cases
Southeast Asian ovalocytosis	?	?	↓ fluorescence

?: No published data found.

(King and Zanella, Int. Jnl. Lab. Hem. 35:237–243; 2013)

Ηλεκτροφορητική ανάλυση των ghosts

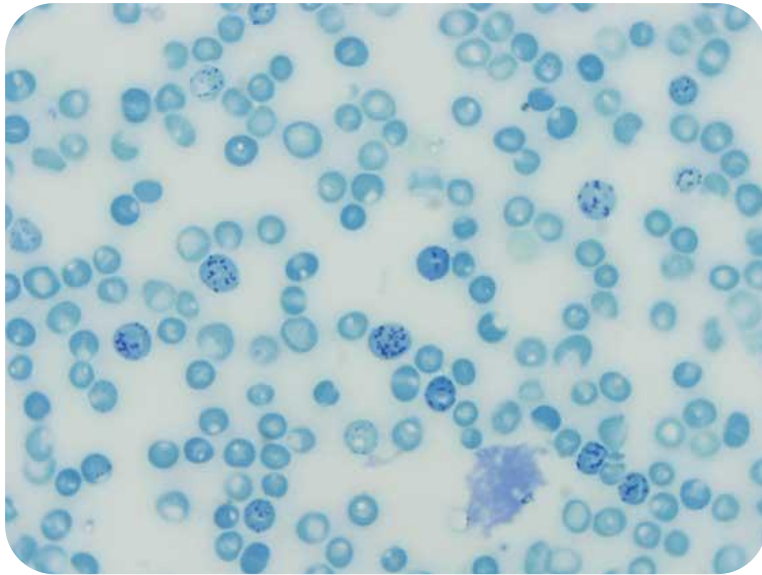


The definition of the red cell membrane defect has **no major clinical implications**. SDS-PAGE analysis may be useful for a **differential diagnosis** with other haematological disorders that mimic HS, such as congenital dyserythropoietic anaemia type II.



ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Ασυμπτωματική ή αναιμία, δικτυοερυθροκυττάρωση, ίκτερος, σπληνομεγαλία
mild-typical-severe



δικτυοερυθροκυττάρωση



ίκτερος



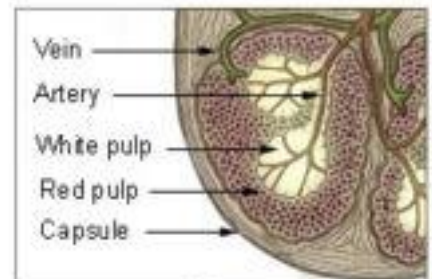
Normal spleen



Splenomegaly

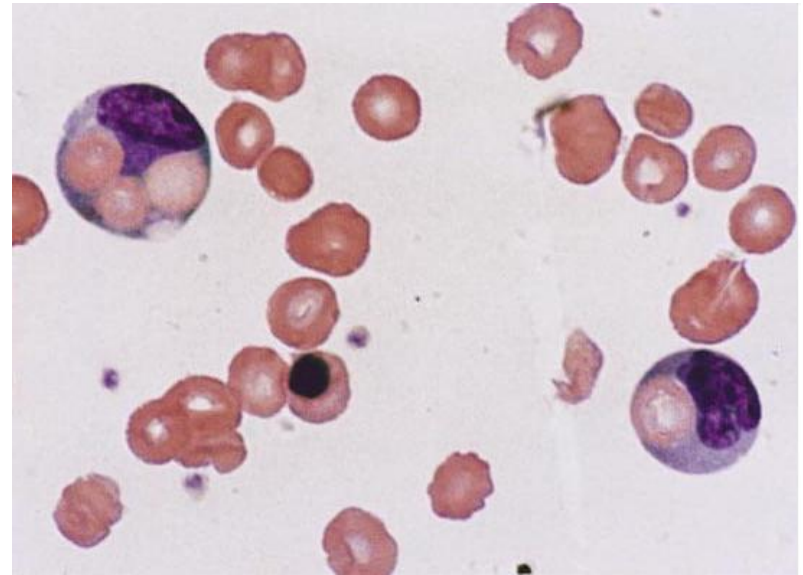
σπληνομεγαλία

Spleen

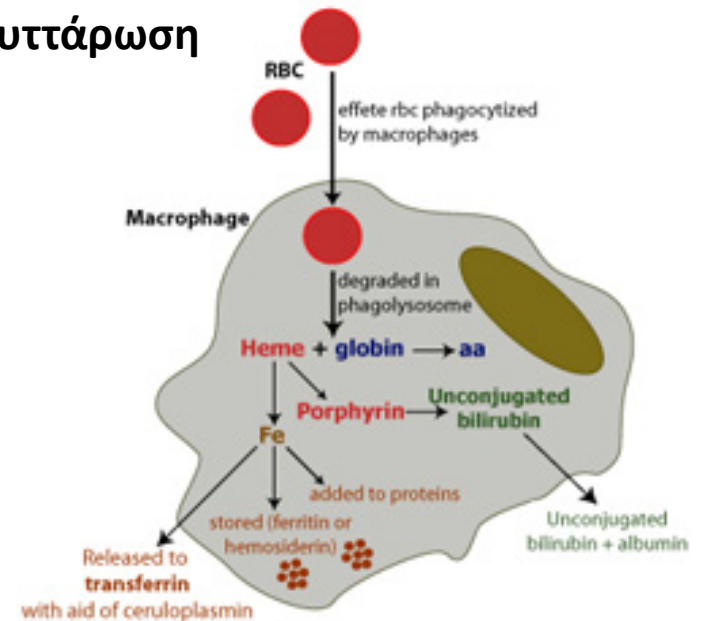
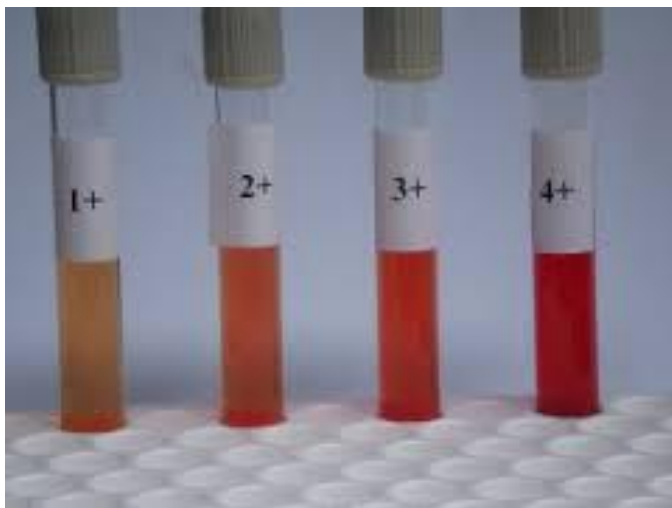




αιμόλυση



ερυθροφαγοκυττάρωση



**Mutations in inherited human RBC
membrane disorders**

***(An & Mohandas,
Br.J.Haematol., 141(3):367, 2008)***

Spherocytosis (HS)	%
Ankyrin	50–60
Spectrin	20
Band 3	15–20
Protein 4.2	<5
Rh complex	<1
Adducin	
No defect identified	10
Elliptocytosis (HE)	
a-spectrin	65
b-spectrin	30
Protein 4.1	5
GpC	
Ovalocytosis (SAO)	
Band 3	100
Stomatocytosis (HSt)	
RHAG	
Piezo 1	
16q24.2	
Band 3	

Πρωτεΐνη	Ερυθροειδική παθολογία	Έκφραση σε ιστούς	Μη-ερυθροειδική παθολογία
α-σπεκτρίνη	HS/HE	καρδιά, σκελετικός μυς, παρεγκεφαλίδα, οφθαλμός	Hydrops fetalis
β-σπεκτρίνη	HS/HE	καρδιά, σκελετικός μυς, παρεγκεφαλίδα, οφθαλμός	Hydrops fetalis
Παλλιδίνη (4.2)	HS	αιμοπετάλια, μελανοκύτταρα, νεφρός, ήπαρ, καρδιά, οφθαλμός, εγκέφαλος	(-)
Ζώνη 3	HS/SAO/HSt	νεφρός	distal Renal Tubular Acidosis
Πρωτεΐνη 4.1	HE	σε πολλούς μη-ερυθροειδείς ιστούς	Αταξία
Αγκυρίνη	HS	σκελετικός μυς, καρδιά, εγκέφαλος	Αταξία

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΣΦΑΙΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

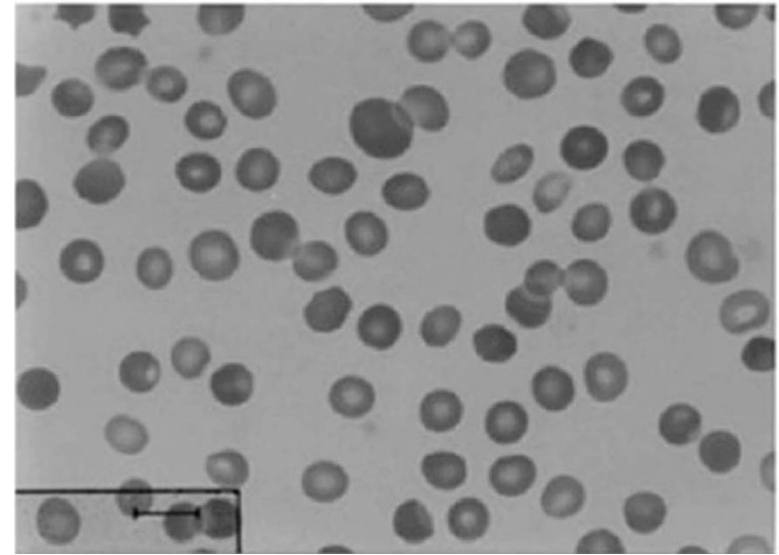
ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΣΦΑΙΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

the most **common** congenital haemolytic anaemia in Caucasians (1:2,000 to 1:5,000)

Σε όλες τις εθνικές ομάδες (πιο συχνή σε Β.Ευρωπαίους)

75% of cases: autosomal **dominant** pattern of inheritance

25%: recessive forms and **de novo** mutations (μεγαλύτερη κλινική σοβαρότητα)



haemolytic anaemia (compensated to severe, sometimes requiring exchange transfusion at birth and/or repeated blood transfusions)

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΣΦΑΙΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Κλινική σοβαρότητα

Ασυμπτωματική (Infection, pregnancy)

HS classification.	20%	60%	10%	3-5%
	Minor HS	Moderate HS	Moderate to severe HS	Severe HS
Hb (g/l)	Normal	> 80	60-80	<60
Reticulocytes (%)	<6%	6-10%	> 10%	> 10%
Bilirubin (μmol/l)	17.1-34.2	> 34.2	> 34.2-51.3	> 51.3
Red blood smear	Few spherocytes	Spherocytes	Spherocytes	Microspherocytes and poikilocytosis
Osmotic fragility (fresh blood)	Normal or slight increased	Increased	Increased	Increased
Osmotic fragility (incubation at 37 °C)	Increased	Increased	Increased	Increased
Splenectomy	Rarely	If the capacity level is decreased and depending on certain cases	Necessary > 5 y-old	Necessary > 2-3 y-old
Transfusions	0-1	0-2	>2	Regularly
SDS-PAGE (protein defect)	Normal	Sp, Ank + Sp, band 3, protein 4.2	Sp, Ank + Sp, band 3	Sp, Ank + Sp, band 3
Inheritance	AD	AD, <i>de novo</i> ,	AD, <i>de novo</i>	AR

(Da Costa et al., Blood Reviews 27:167-178; 2013)

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΣΦΑΙΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

diagnosis

↑MCHC, smears, history

Osmotic Fragility test, Glycerol Lysis Test

EMA test (FC/ eosin-5-maleimide)

Some testing centers use a combination of tests (e.g., AGLT and EMA)

SDS-PAGE of RBC membrane proteins: to confirm the diagnosis for **atypical** HS

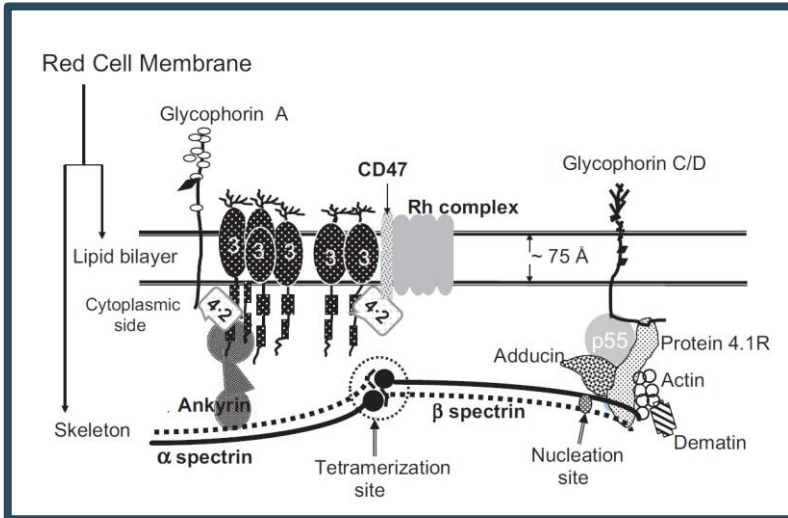
None of screening tests can detect all HS cases

Routine screening for mutations in various HS-genes is **not well established**. Knowledge of the molecular defect **doesn't influence the clinical management** of HS.

molecular defect

Ανεπάρκεια ή δυσλειτουργία σε οποιαδήποτε διαμεμβρανική ή περιφερική πρωτεΐνη πρόσδεσης

Highly heterogeneous



(Bolton-Maggs et al., *Br J Haematology* 156:37, 2011)

Protein	gene	HS frequency
Band 3	SLC4A1	54% (15-20%)
RhAG	RH, RHAG	(<1%)
ankyrin	ANK1	(50-60%)
Protein 4.2	EPB42	(<5%)
Spectrin	SPTB, SPTA1	31% (20%)
Adducin	ADD2	<
No defect	(-)	(10%)

Sp deficiency was more frequently diagnosed in childhood
Band 3 deficiency in adulthood

molecular defect

Proteins

Band 3

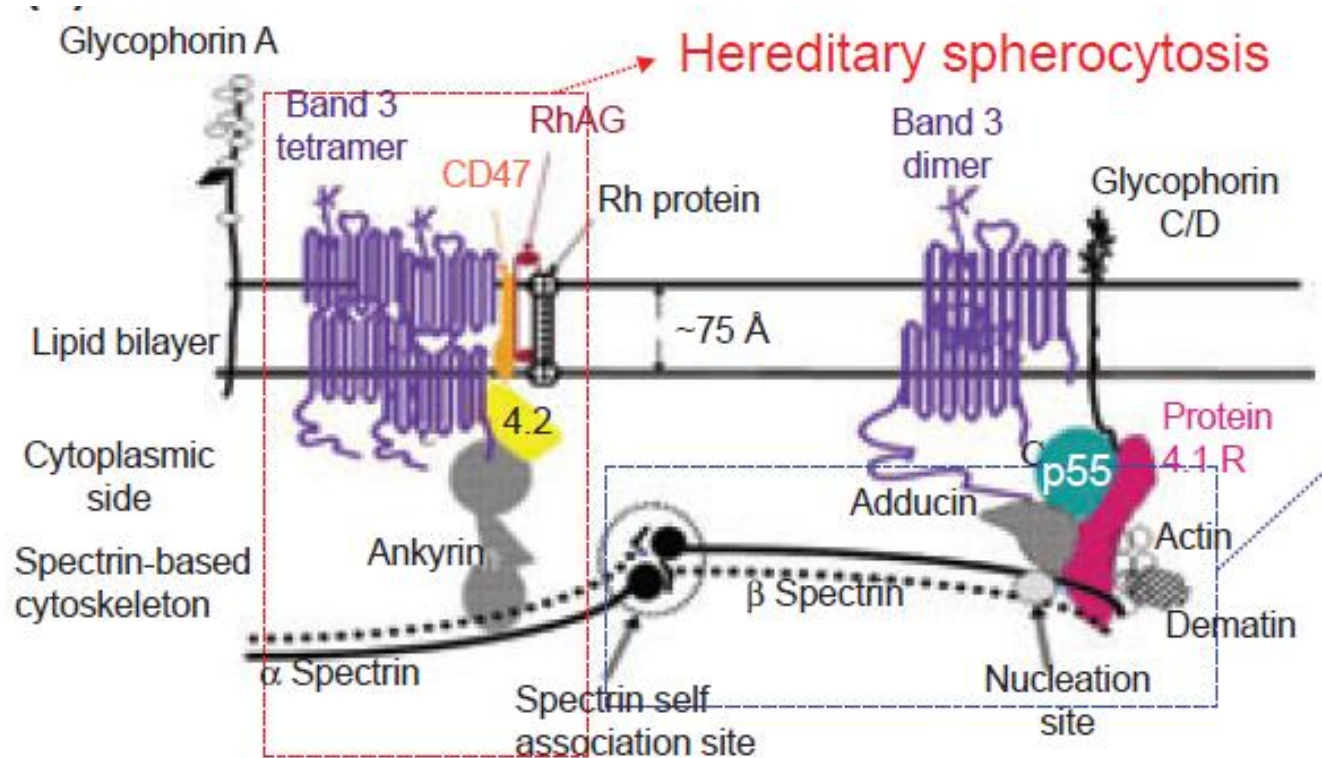
RhAG

ankyrin

Protein 4.2

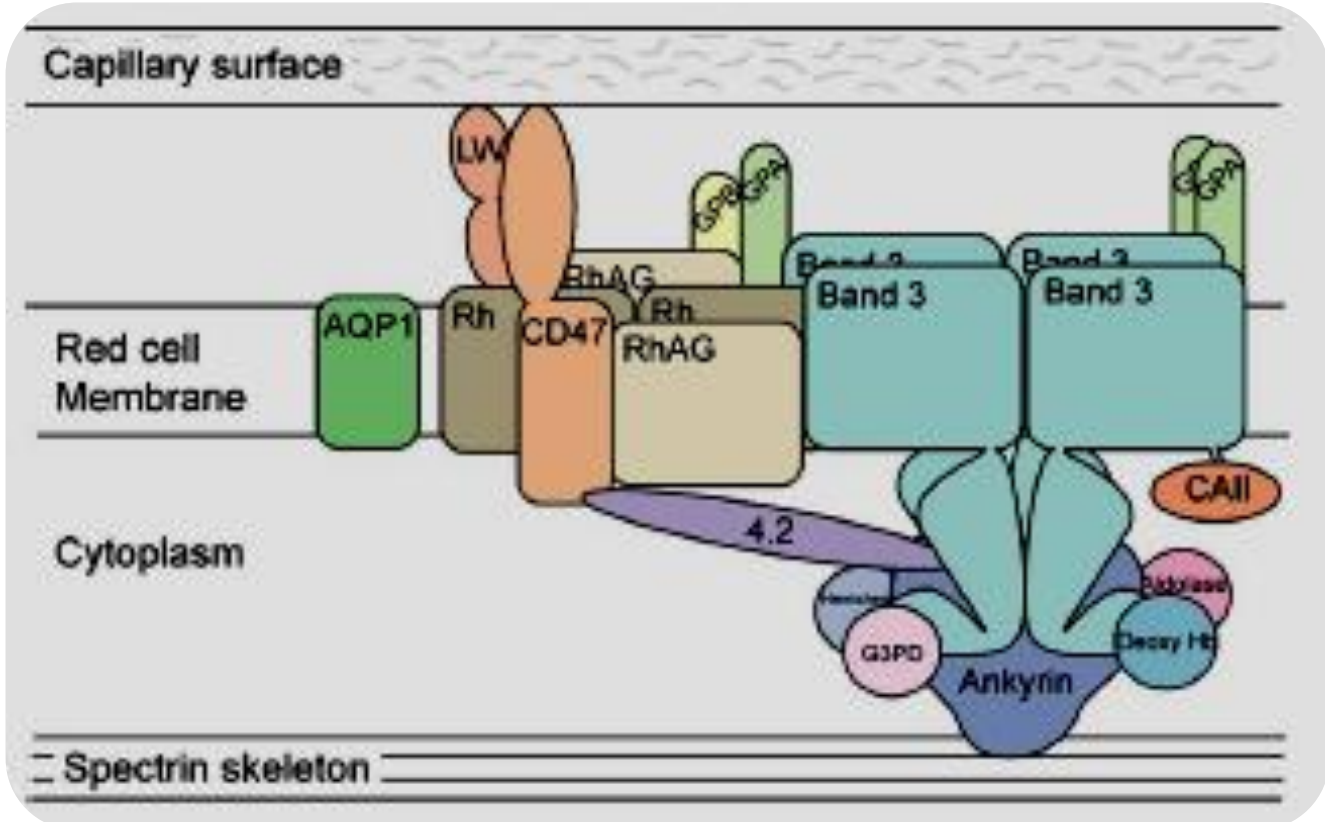
Spectrin

Adducin



(King and Zanella, *Int. Jnl. Lab. Hem.* 35:237–243; 2013)

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΣΦΑΙΡΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ



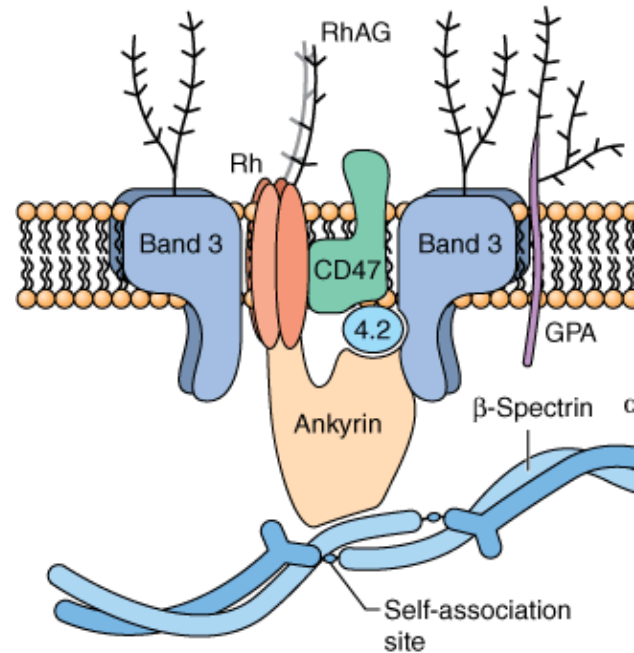
(L. Bruce, *Blood Cells Mol. Dis*, 2006)

Human 4.2(-)HS → CD47 (80%-)
 ank(-)HS → (-) Rh, (-)RhAG



pathophysiology

«κάθεται» αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα και το MSK



Defective anchoring



Decreased membrane cohesion (detachment)



Vesiculation - Loss of membrane surface area (severity of anemia)



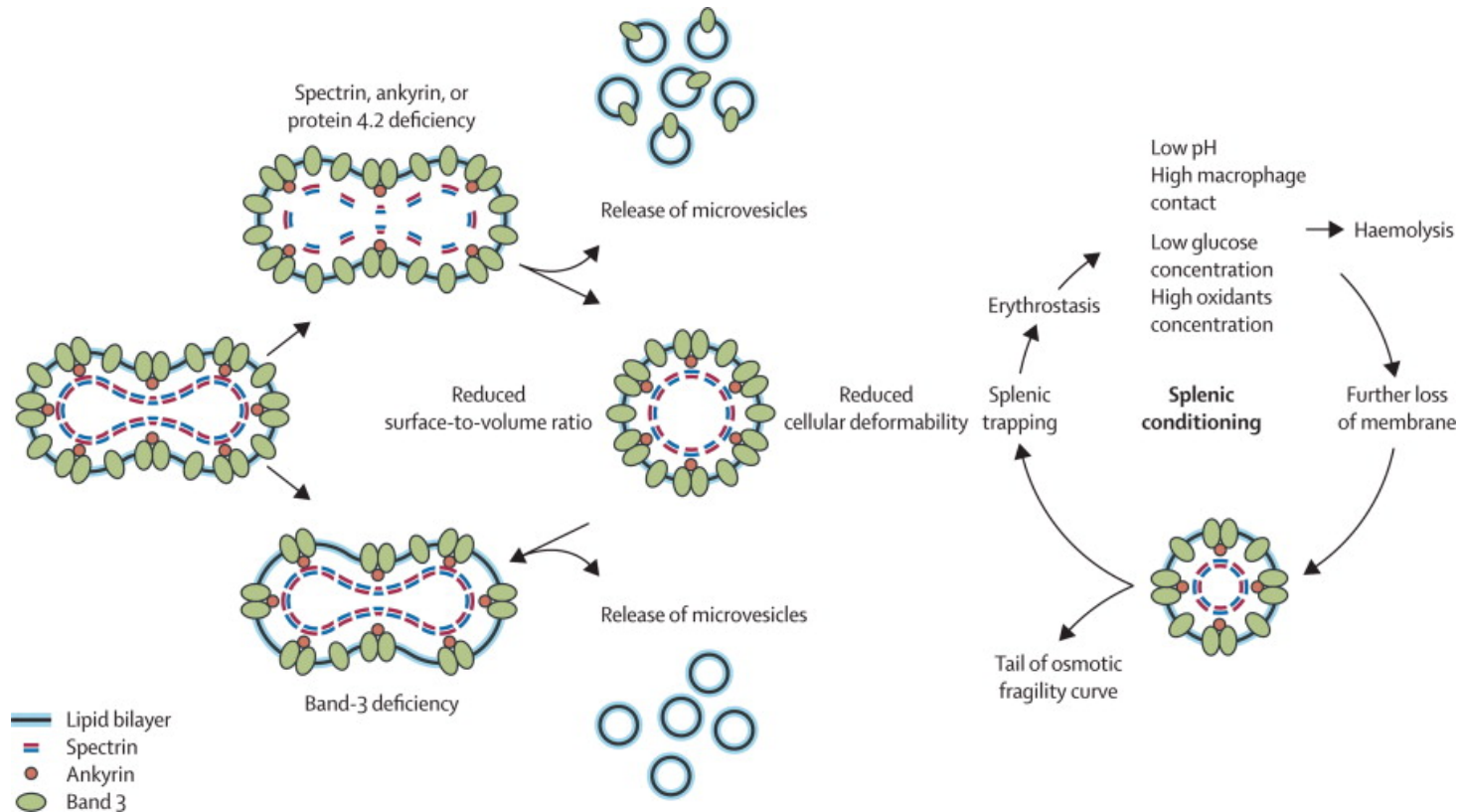
Discocytes → **spherocytes**

μειωμένη ικανότητα ελαστικής παραμόρφωσης



selectively trapped in the spleen

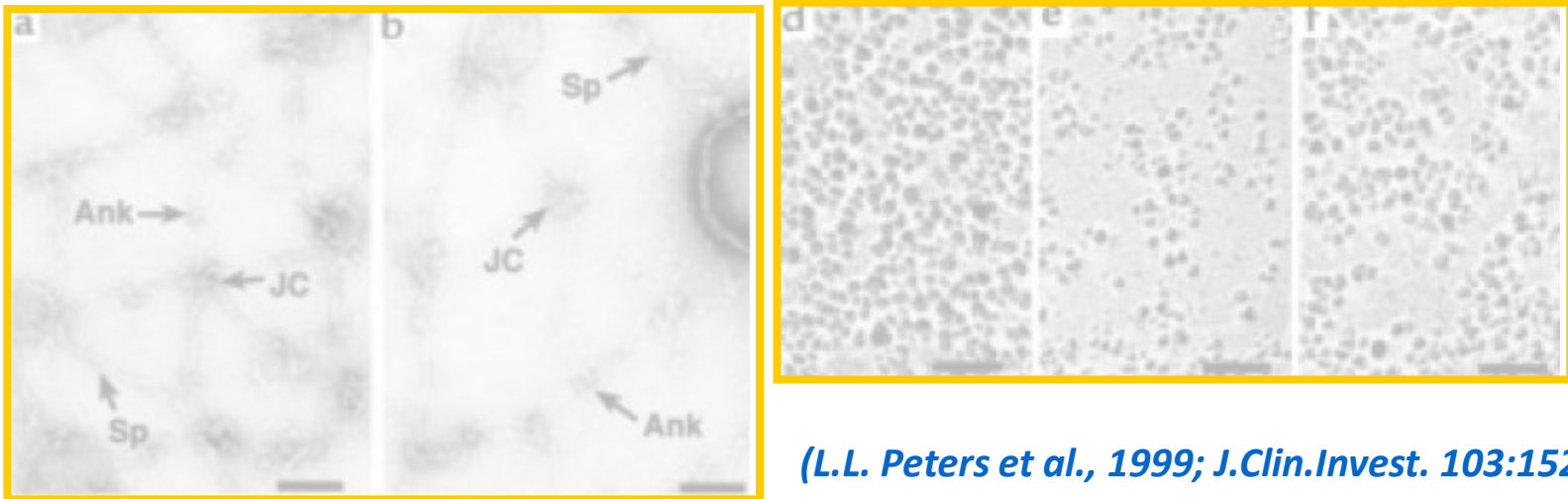
Διατάραξη των **κάθπτων** αλληλεπιδράσεων



(Gallagher PG; 2005; Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 13-18)

Η κλινική σοβαρότητα της HS είναι ανάλογη της μείωσης κυτταρικής επιφάνειας/ απώλειας της μεμβράνης

pathophysiology

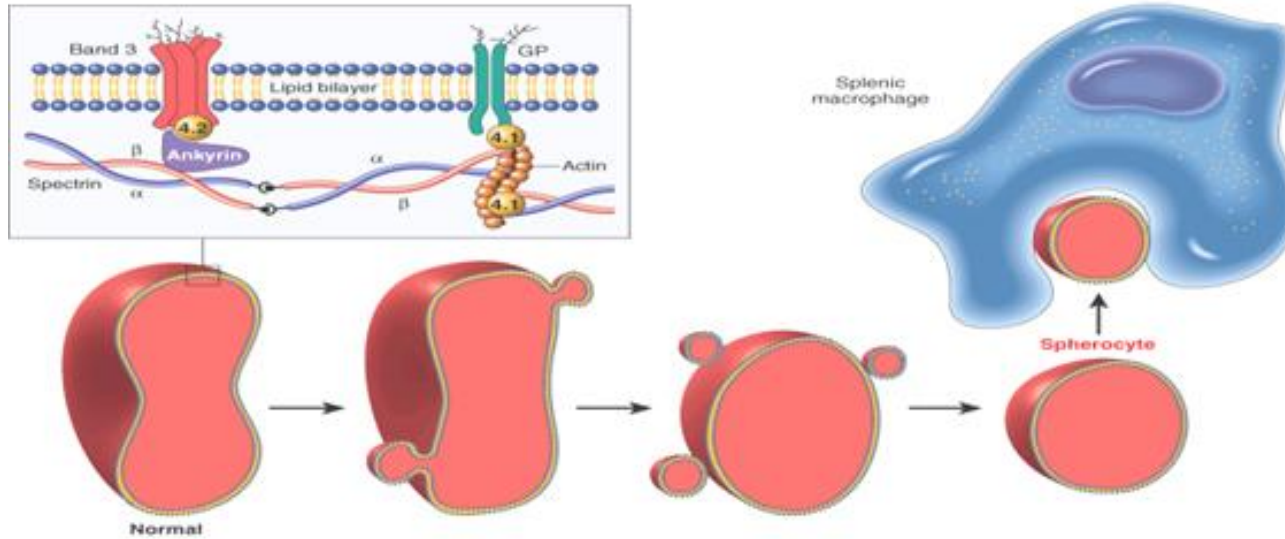


(L.L. Peters et al., 1999; J.Clin.Invest. 103:1527)

➤ **ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ** (ήπια αλλοίωση MSk)

❖ The **decreased surface area** is a feature of both the **reticulocytes** and **mature red cells** in HS

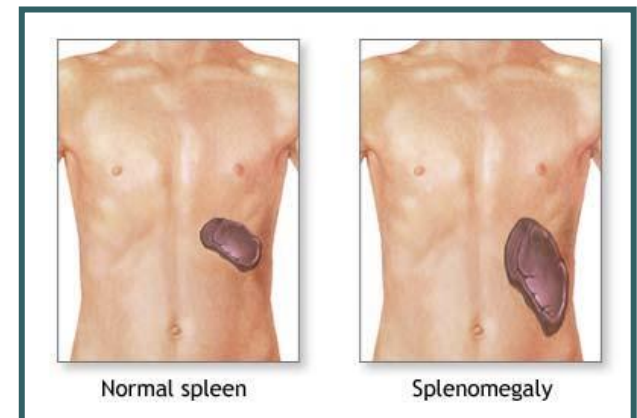
pathophysiology



Membrane exovesiculation

Splenectomy reduces the severity of anemia:

1. By increasing the **survival** of pathologic RBCs
2. absence of the **vesiculation**-promoting activity of the spleen
 \Rightarrow **increase of surface area** \Rightarrow decrease in osmotic fragility



Normal spleen

Splenomegaly

Ank(-) HS (50% of HS cases)

Mouse ank(-)HS → (-) Rh, (-)RhAG

«Ιδιωτικού τύπου» αλλοιώσεις (σπάνια επανεμφάνιση ίδιας μεταλλαγής, eg. **ankyrin Florianopolis** one nucleotide insertion in exon 14: has been found in three unrelated severe HS patients)

Sporadic or *de novo* μεταλλαγές

No homozygous mutation has been identified to date

σε όλο το εύρος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας

Επικρατής

SDS-PAGE electrophoresis: ankyrin defect (when present) is sometimes associated with reduced **spectrin** content and consistently with decreased levels of **band 4.2**

SPTA1(-) HS

Υπολειπόμενη HS

Extremely **rarely** associated with HS

When present, only **homozygous** mutation or **compound heterozygous** mutations are responsible for HS

Σοβαρή κλινική εικόνα

SPTB(-) HS 20% of HS

Επικρατής HS (α:β, 3:1) ή **de novo** μεταλλαγές

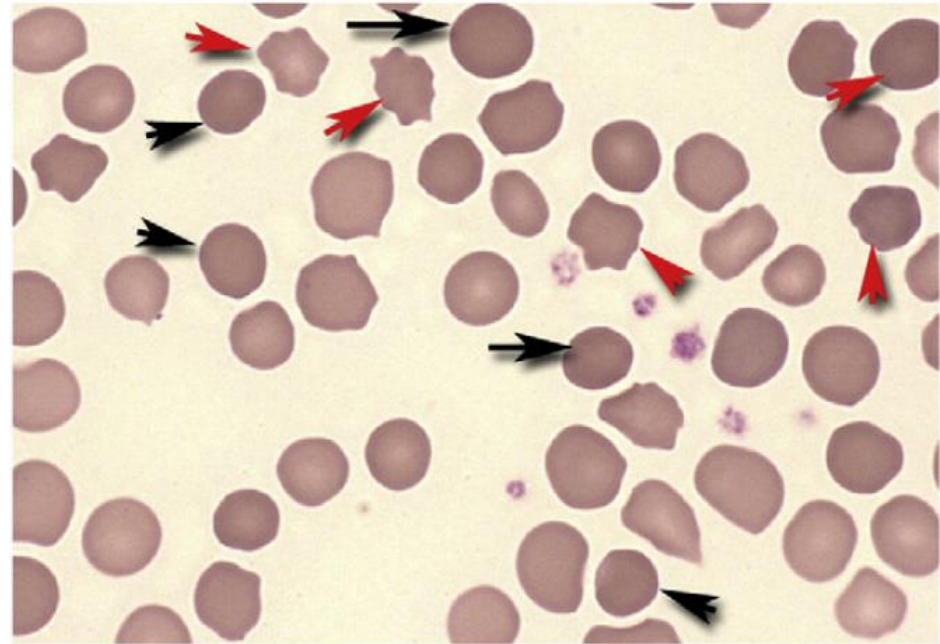
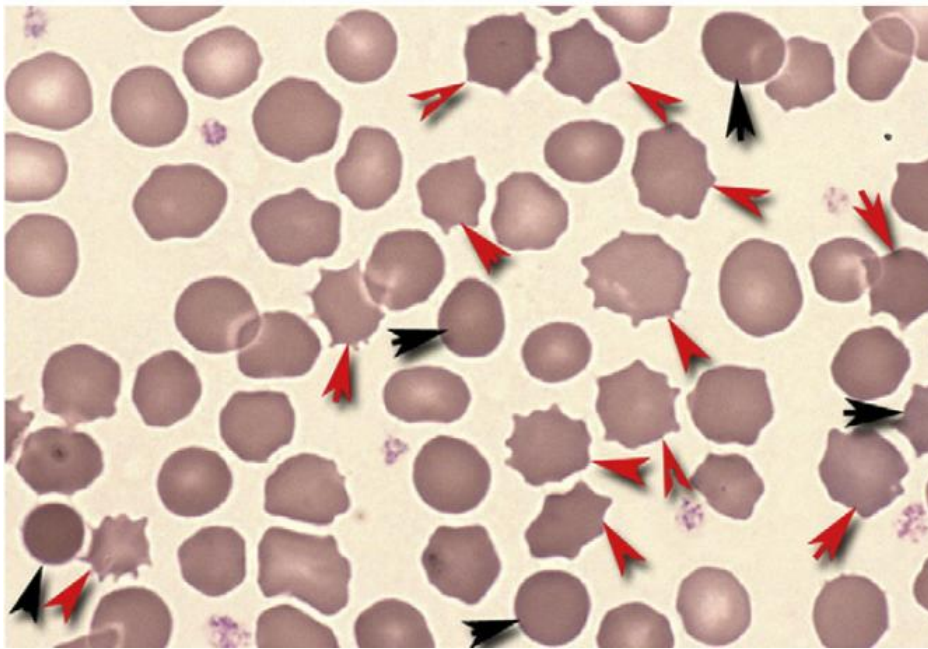
20 διαφορετικές μεταλλαγές (No homozygous mutation has been identified to date)

Ασταθή πεπτίδια β-σπεκτρίνης

Κλινική εικόνα: **μέτρια-σοβαρή**

SDS-PAGE: only the **spectrin** bands are reduced

➤ β-σπεκτρίνη **Kissimmee** (TGG → CGG, Arg202→His), τροποποιεί τη σύνδεση με 4.1R

SPTB(-) HS 20% of HS

β spectrin (SPTB) defect with a lot of acanthocytes (red arrows) in association with spherocytic red cells (black arrows).

(Da Costa et al., Blood Reviews 27:167-178; 2013)

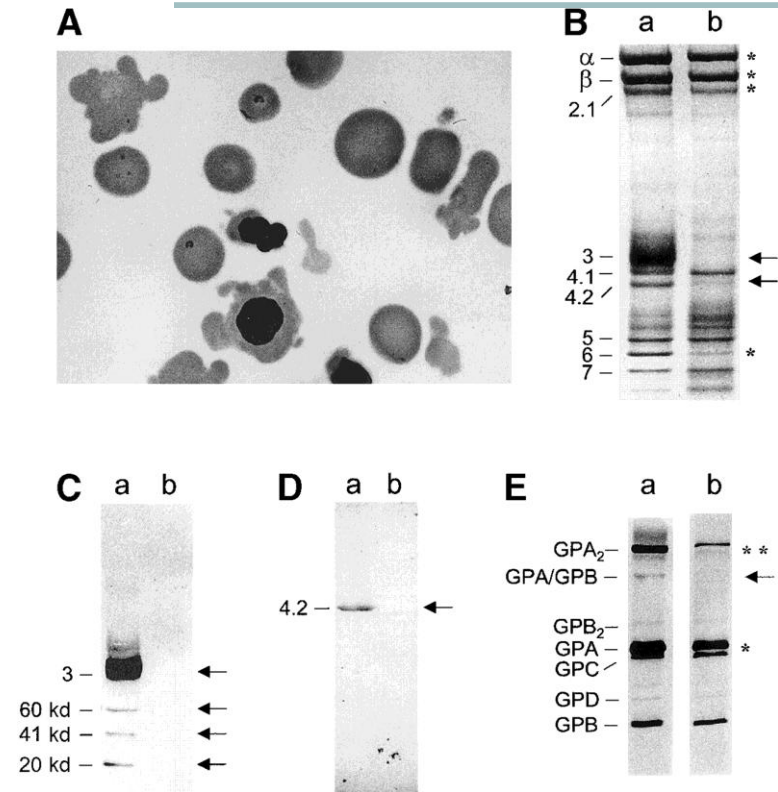
SLC4A1(-) HS 15-20% of HS

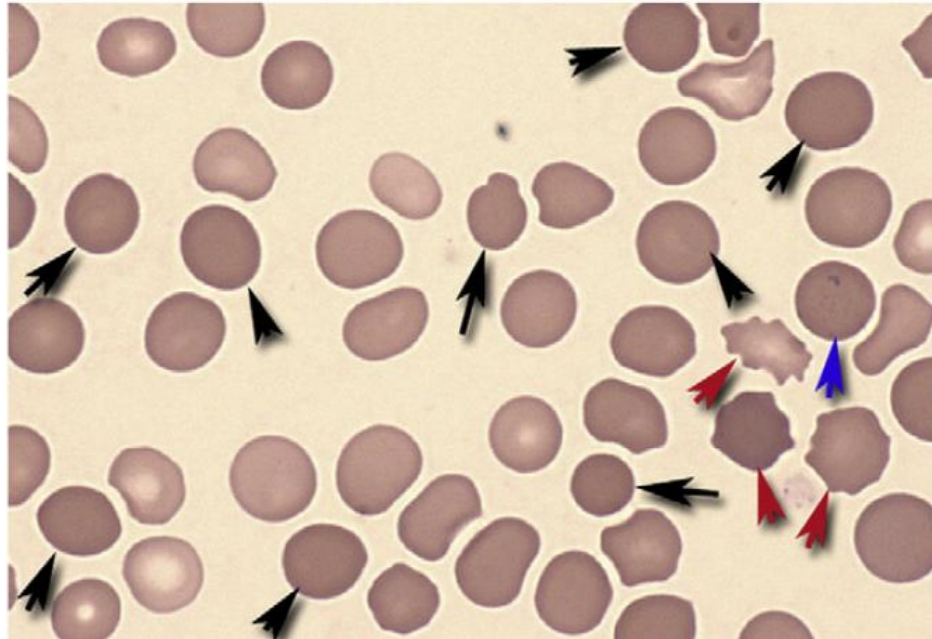
- Σε όλο το εύρος της πρωτεΐνης
- Μανιταρόσχημα RBCs/ποικίλα
- Επικρατής HS-Μέτρια σοβαρότητα
- A case of **homozygous null mutation (Coimbra mutation)** results in complete deficiency of band 3 and very severe anemia

• SDS-PAGE: 20-40% μείωση της ζώνης-3 (δευτερογενώς της **4.2, CD47**)

μειώνεται η **σταθερότητα μεμβράνης** ή/και η ανταλλαγή ανιόντων

Mutations affecting the **anion transport function** of band 3: **severe chronic haemolytic anaemia** that is not compatible with the small reduction of band 3 protein detected by SDS-PAGE



SLC4A1(-) HS 15-20% of HS

(Da Costa et al., Blood Reviews 27:167-178; 2013)

Band 3 defect with the classical **mushroom** feature (green arrow) in association with typical spherocytic red cells, which appear **dense** and hyperchromic (black arrows), few **acanthocytes** (red arrows) and basophilic red cell due to the hematopoietic stress (blue arrow)

SLC4A1(-) HS

Μεταλλαγές B3 και ασθένειες

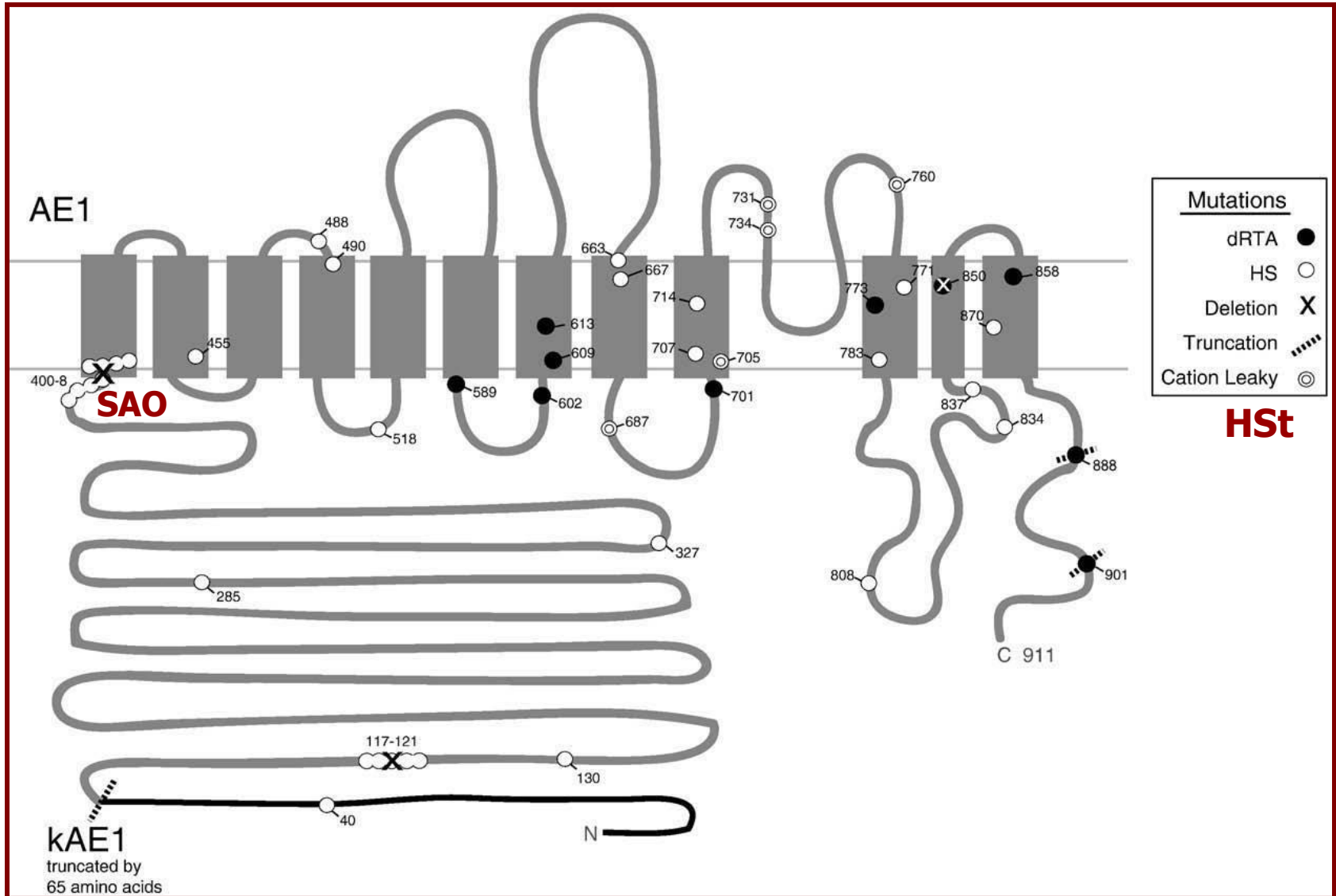
(1) Red cell-specific disease: HS, SAO, HSt

(2) Kidney-specific disease: Distal Renal Tubular Acidosis (dRTA)

Defective acid secretion to urine by the α -intercalated cells

Metabolic acidosis, nephrocalcinosis, hypokalaemia, metabolic bone disease

SLC4A1(-) HS



EPB42(-) HS

- **10** μεταλλαγές στην **NH2**-περιοχή του μορίου (**B3-binding**)
- **Υπολειπόμενη** αιμολυτική αναιμία (όχι τυπική HS)/**μέτρια** αναιμία
- Συνήθως σε **ομοζυγωτία** ή **σύνθετη ετεροζυγωτία** (ασυμπτωματική στην απλή ετεροζυγωτία)
 - Σπάνια σφαιροκύτταρα (**ovalocytes, stomatocytes, ογκώδη RBCs**, διάφορες μορφολογικές τροποποιήσεις)

RhAG (-) HS

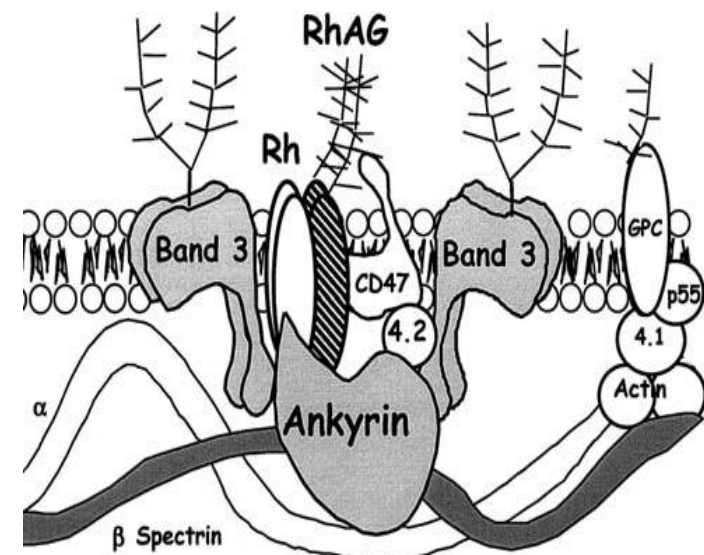
Mild to moderate hemolytic anemia

Παλιότερα: Rh null syndrome = “άτυπη HS”

Between **stomatocytes** and **spherocytes**

Το **Rh-complex** συνεισφέρει στις μηχανικές ιδιότητες της μεμβράνης (in association with **ankyrin, 4.2**)

(Nicolas et al., *Transf Clin Biol* 13:23, 2006)



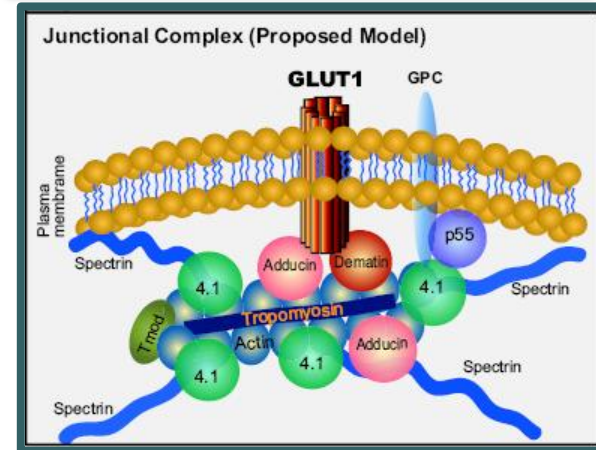
ADD2(-) HS

Περιστασιακά στον άνθρωπο

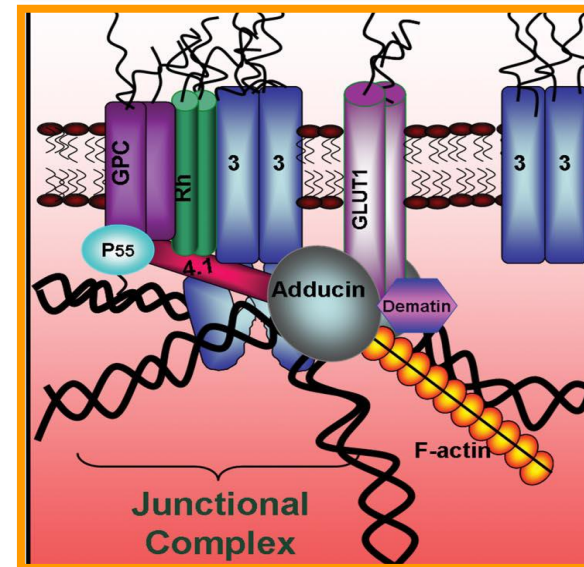
Σαν σφαιροκυτταρική κληρονομική ελλειπτοκυττάρωση

ΚΟ σε ποντικό: αυξημένη οσμωτική ευθραυστότητα, σφαιρο- και ελλειπτοκύτταρα

Dematin-Adducin –GluT1



B3-Adducin–Sp



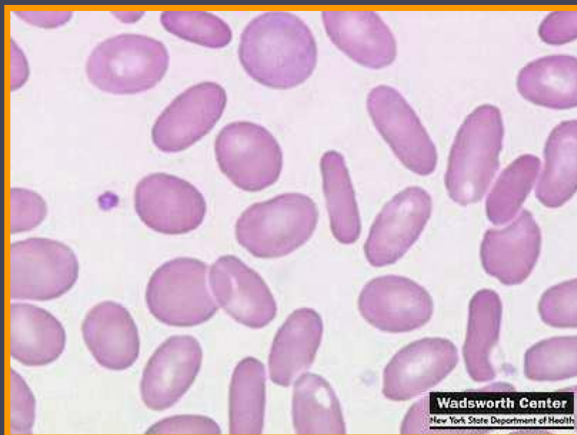
ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

autosomal **dominant** disorder

Elliptically shaped RBCs on peripheral blood smear

More common in **malaria** endemic regions in West Africa (prevalence 2%)

1/5.000 to 3-5/10.000 (1/2.500 USA)



diagnosis

abnormal red cell **morphology**

detection of **protein 4.1R deficiency** using gel electrophoresis

detection of **spectrin variants** using gel electrophoresis

Κλινική και γενετική ετερογένεια (asymptomatic to *hydrops foetalis*)

Heterozygous: asymptomatic HE

Homozygous or **compound heterozygous**: mild to severe HE (“**HPP**” **hereditary pyropoikilocytosis**)

HPP: *important* skeleton **fragmentation** and reduced membrane **surface area**

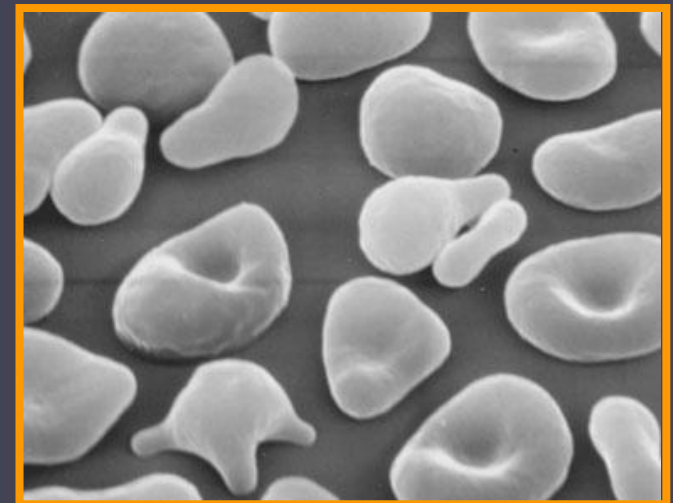
ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Ο βαθμός της αιμόλυσης δε συσχετίζεται με το %ποσοστό των ελλειπτοκυττάρων

Elliptocytes vs. Poikilocytes, fragmented RBCs \Rightarrow severe anaemia

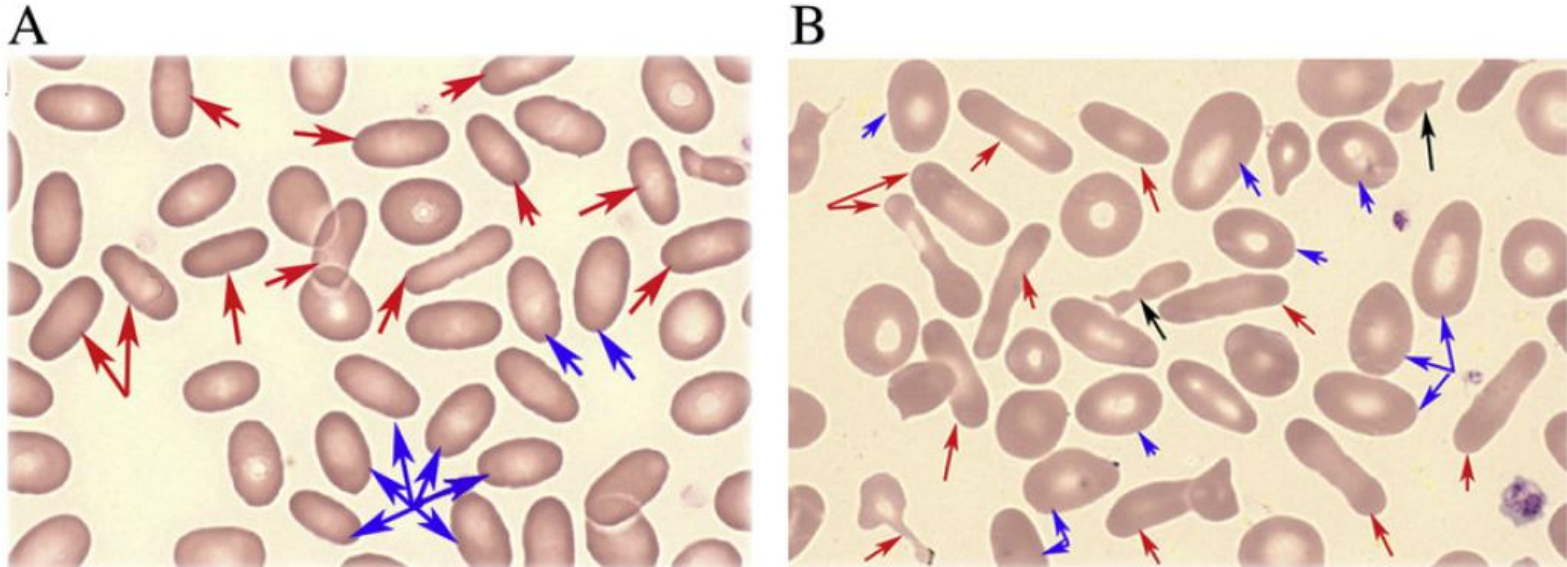
•HM: έντονη διάσπαση του σκελετικού δικτύου & μείωση των SpT/per JC

•Το ελλειπτικό σχήμα των HE-RBC's είναι το αποτέλεσμα μόνιμης πλαστικής παραμόρφωσης που συμβαίνει στη μικροκυκλοφορία



(An & Mohandas, Br.J.Haematol., 141(3):367, 2008)

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ VS. ΠΥΡΟΠΟΙΚΙΛΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ



(Da Costa et al., Blood Reviews 27:167-178; 2013)

- A) hereditary elliptocytosis** with the **classical** form (red arrows) and more **ovalocytic** red cells (blue arrows).
- B) severe form of HE, pyropoikilocytosis (HPP): elliptic** (red arrows), **ovalocytic** red cells (red arrows) and **fragmented** cells (black arrows)

HEREDITARY PYROPOIKILOCYTOSIS

severe form of HE- often diagnosed in **early childhood** (regular **transfusions** soon after birth)

RBCs of typical HPP: **low MCV**, predominantly (**micro**) **spherocytes** and some **elliptocytes**.

Additional deficiency in **spectrin/band 3 ratio** is observed on the SDS-PAGE electrophoresis and explains the presence of spherocytes on the blood smears amongst with fragmented cells)

the patient is either a **homozygote** for spectrin mutation or a **compound heterozygote** for a SpHE allele together with a low expression spectrin polymorphism known as SpaLELY allele.

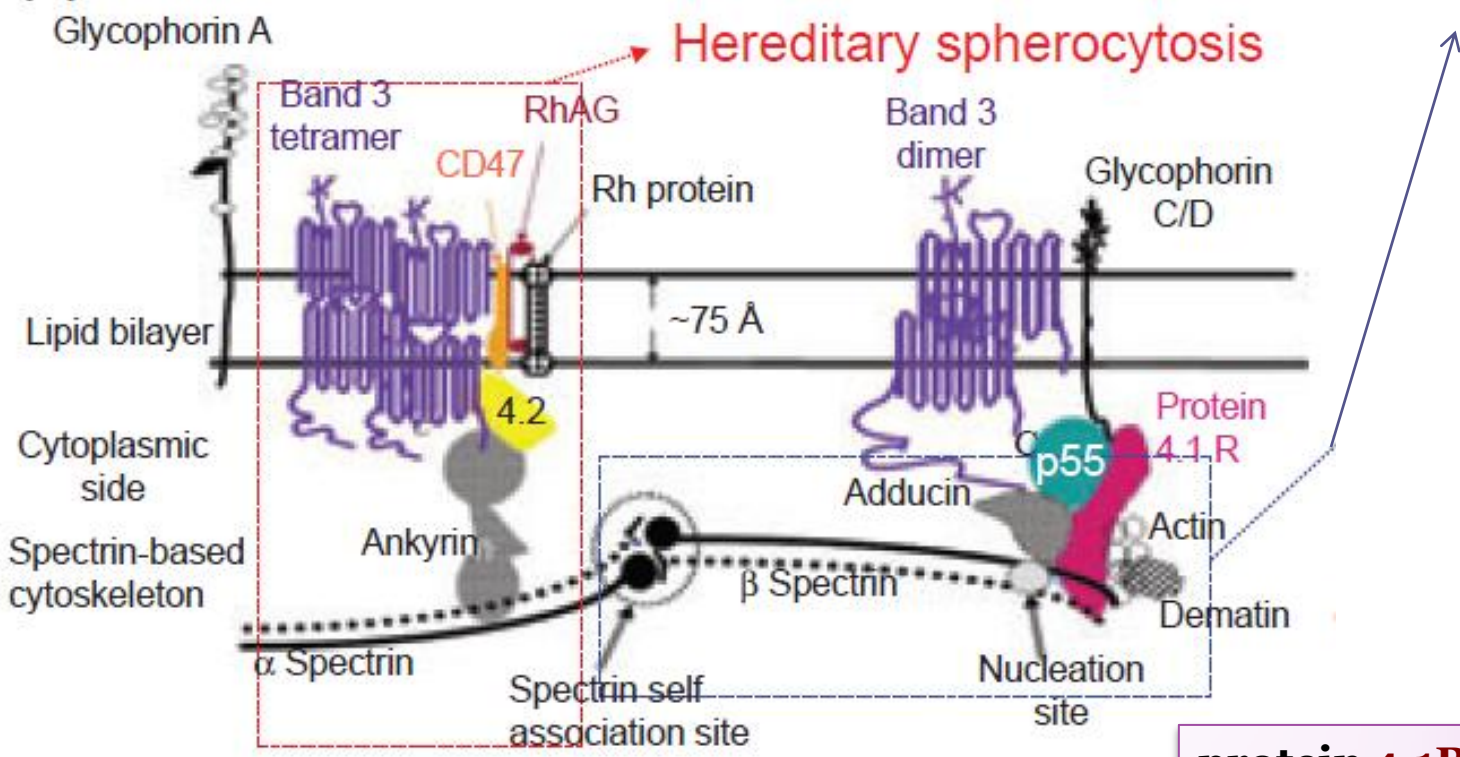
Poikilocytes seen in HPP represent increased **RBC fragmentation** due to a greater amount of **SpD content** in these red cell membranes

The **severity** of the disease is directly related to the extent of the decrease in membrane **mechanical stability** and membrane **loss**

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Hereditary elliptocytosis
Hereditary pyropoikilocytosis

	<u>HE</u>	<u>HPP</u>
Sp dimer	↑	↑↑
Sp variants	Yes	Yes
αSp content	Normal	slight ↓



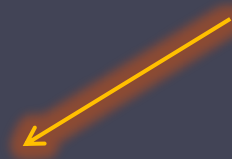
protein 4.1R deficiency or spectrin abnormalities

(King and Zanella, *Int. Jnl. Lab. Hem.* 35:237–243; 2013)

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

defective Sp
dimer-dimer
interaction

defective Sp-actin-4.1R
junctional complex



weakened "horizontal" linkages
in membrane skeleton

Μηχανική εξασθένιση μεμβράνης (membrane
stability/deformability/fragmentation)
(severity of the disease)

Απώλεια επιφάνειας

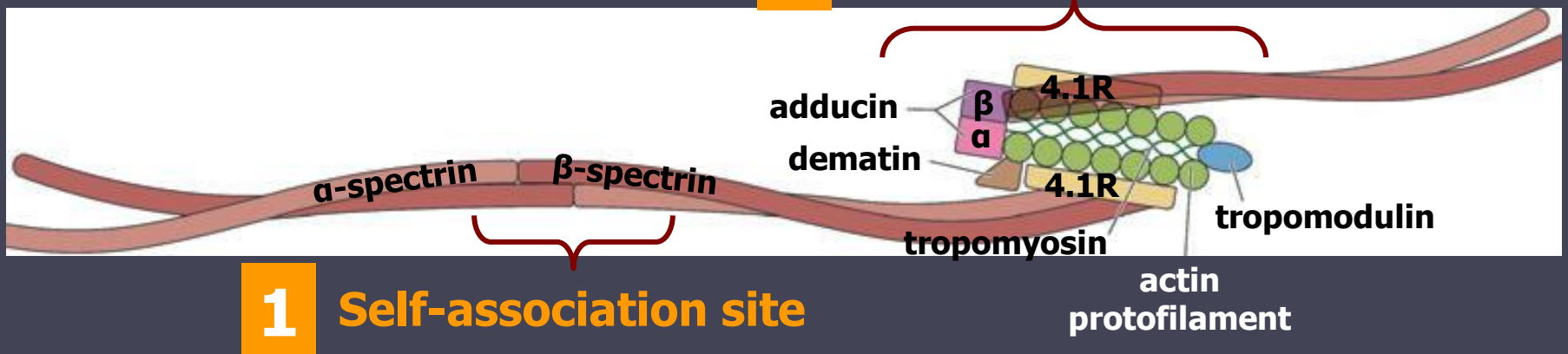
Απομάκρυνση από την κυκλοφορία μέσω του σπλήνα

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Εξασθένιση των «οριζόντιων» αλληλεπιδράσεων

Μειωμένη μηχανική σταθερότητα μεμβράνης

2 Junctional complex



1 Self-association site

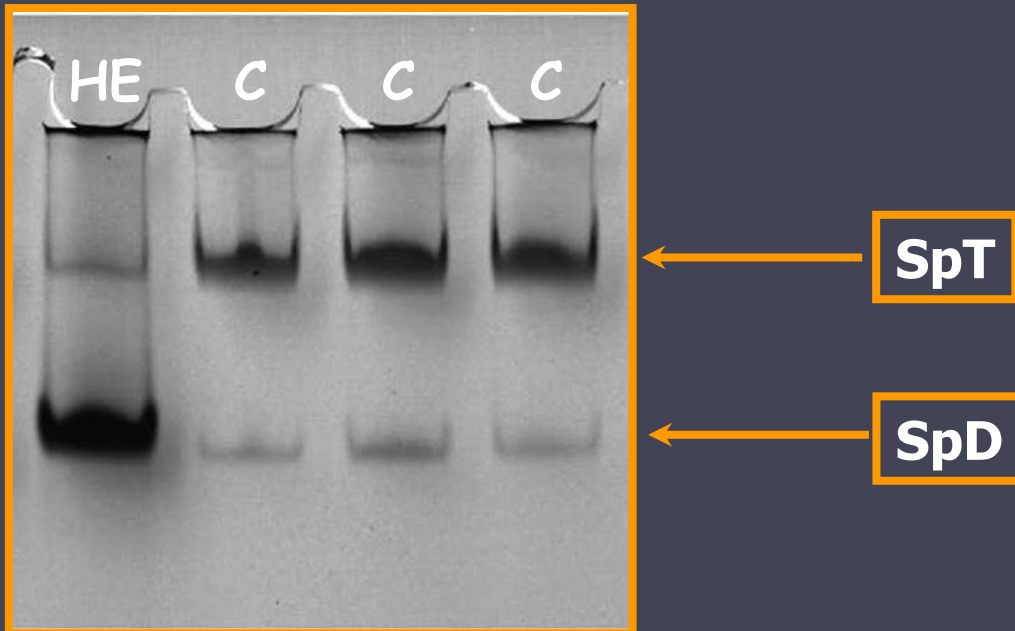
(An & Mohandas, Br.J.Haematol., 141(3):367, 2008)

Spectrin tetramers are the **functional units** that provide resistance to shear stresses in circulation.

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Αυτοσυγκρότηση Sp (95% of all HE cases)

- Στην HE ο παθολογικός παράγοντας δεν είναι η μειωμένη σύνθεση Sp (HS), αλλά **τροποποιήσεις** της που παρεμποδίζουν τον **τετραμερισμό** (περίσσεια διμερών) Κλινική σοβαρότητα



ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Αυτοσυγκρότηση Sp (95% of all HE cases)

- Θέση αυτοσυγκρότησης ετεροτετραμερούς (περιοχή τετραμερισμού ή πλησίον)
- Η απόσταση της μεταλλαγής από τη θέση τετραμερισμού είναι αντιστρόφως ανάλογη της κλινικής σοβαρότητας



- Σαφής ομαδοποίηση και οριοθέτηση μεταλλαγών
- Η οριοθετημένη περιοχή εμπλέκεται στην εγκαθίδρυση των μηχανικών ιδιοτήτων του σκελετού (ελαστικότητα και σταθερότητα)
- 20 αHE μεταλλαγές, λιγότερες οι β-HE

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

4.1R HE

5% of HE cases

Ανεπάρκεια ή δυσλειτουργία 4.1R

- Επικρατής,
- ήπια/ασυμπτωματική HE (σε ετεροζυγωτία, σπάνια ομοζυγωτία)
- partial protein 4.1R reduction: milder hemolytic anemia than in patients having spectrin variant(s)
- Complete absence of protein 4.1R (null phenotype) is expected to result in a severe hemolytic anemia



- Πολυάριθμα (100%) και καλοσχηματισμένα ελλειπτοκύτταρα

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

4.1R HE

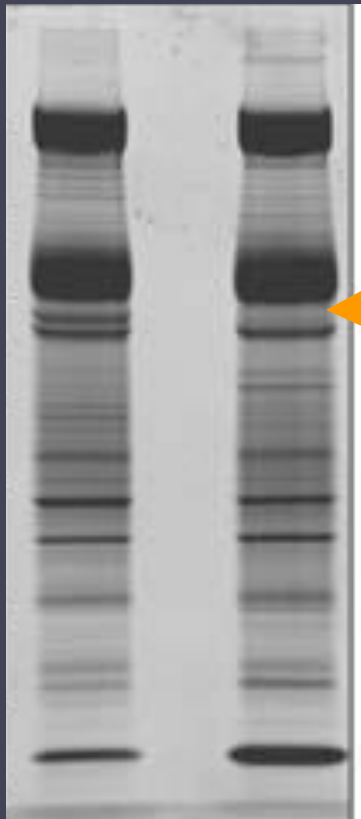
- Περίπου **10** διαφορετικές μεταλλαγές
- Μεταλλαγές στα κωδικόνια έναρξης της ΜΦΡ και στην **περιοχή Sp/Actin** → σοβαρό κλινικό φαινότυπο
- Μεταλλαγές στην **COOH-περιοχή**: ήπια HE

70Kb έλλειψη σε γονίδιο πρωτεϊνών της μεμβράνης

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

4.1R HE

- Δευτερευόντως, σημαντική μείωση της **GpC** και της **p55** (70%)



Ανεπάρκεια ή δυσλειτουργία 4.1R



weakened Sp-actin junctional complex



decreased membrane mechanical stability

(Jeremy et al., Haematologica 2009)

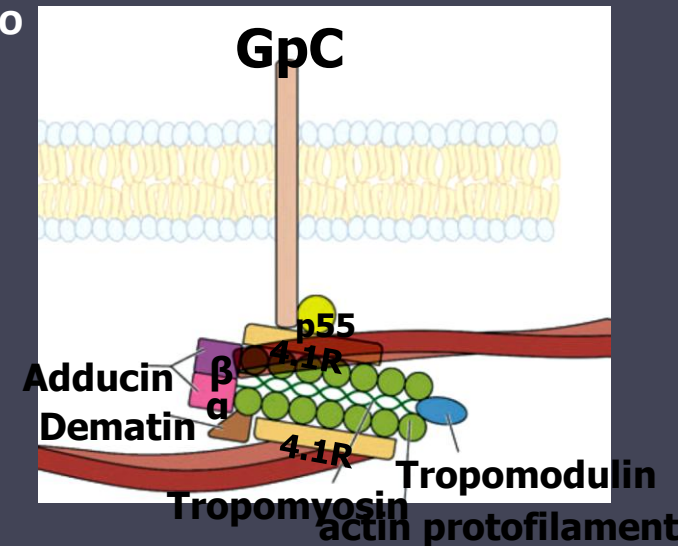
ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΗ ΕΛΛΕΙΠΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

GpC(-) HE (φαινότυπος Leach)

- Ολική ανεπάρκεια δευτερευουσών γλυκοφορινών (GpC/GpD)

- **4.1R** και **p55** (τριμερές σύμπλοκο 4.1/GpC/p55 γειτονικά στο σύμπλοκο ζεύξης)

- Ελλειπτικές ή μη-ελλειπτικές μεταλλαγές



- Άλλες παραλλαγές είναι **ασυμπτωματικές**: Gerbich, Yus, Webb (ανεπάρκεια φυσιολογικών πρωτεϊνών αλλά αναπλήρωση από μεταλλαγμένες αντίστοιχες). Αυτές οι μεταλλαγές **δεν επιδρούν στην cyt περιοχή**

Εντοπισμός μεταλλαγών στην HS και στην HE

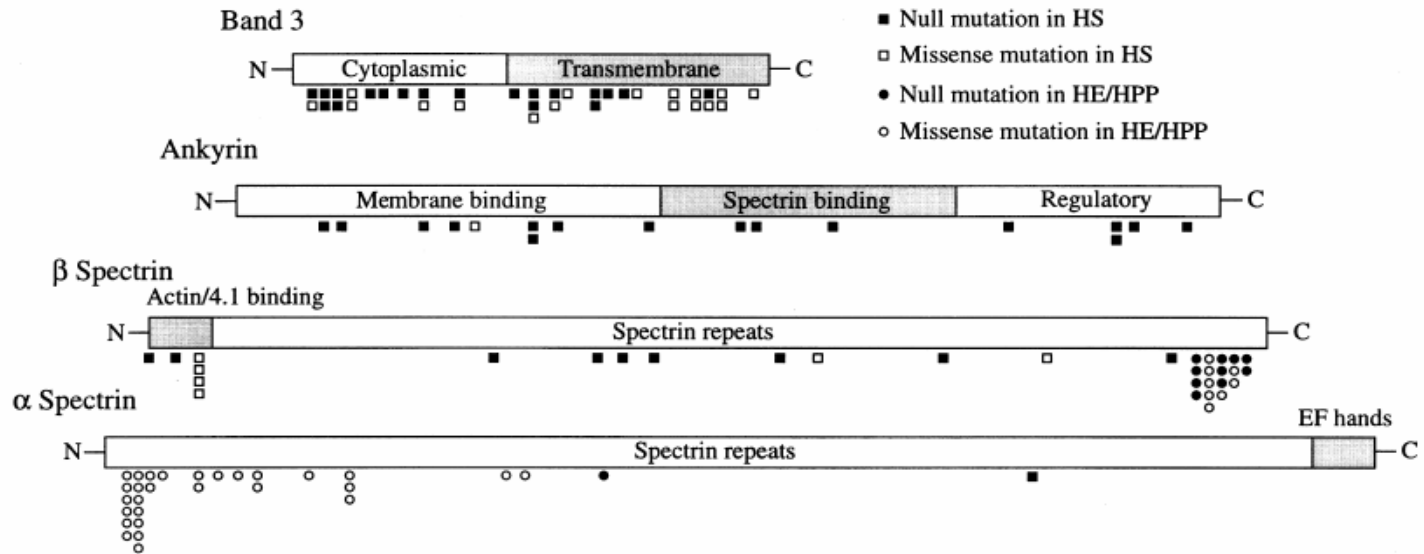


Fig 2. Domain structure of band 3, ankyrin, β spectrin and α spectrin, with positions of known mutations causing HS and HE/HPP indicated beneath each protein.

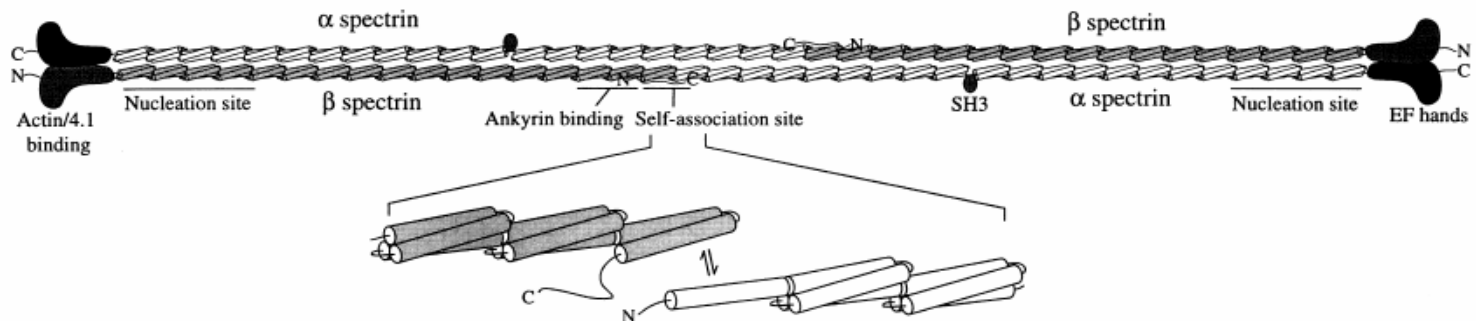


Fig 3. Structure of the spectrin tetramer, showing the triple helical coiled-coil repeats of the spectrin peptides, the head-to-head spectrin self-association sites, and the nucleation sites that initiate the side-to-side interaction between α and β spectrin chains.