

От направения преглед е видно, че състоянията на HPFH формират изключително хетерогенна група. Независимо от изясняването на молекулярните нарушения на много от тях, все още не са изяснени напълно механизмите, водещи до персистирането на γ -глобиновата верижна синтеза, както и причините за различния начин на разпределяне на Hb F в червените кръвни клетки.

11. АБНОРМНИ ХЕМОГЛОБИНИ

ВЪВЕДЕНИЕ

Хемоглобинът е най-проучваният протеин, който изигра изключително голяма роля за развитието на химията, биологията, медицината. Той се оказва най-подходящия модел за проучване ефектите на соматичните мутации върху структурата и функцията на протеиновата молекула. Откриването на атомната структура на хемоглобина с помощта на рентгеновите лъчи, направи възможно проучването на стероохимичната роля на аминокиселинните остатъци, които са заменени или делетирани в отделни хемоглобинови варианти.

Хемоглобинът представлява прекрасен модел за изучаване регулацията на генната експресия.

В началото на тази книга са представени кратки данни за функцията на хемоглобина като основен преносител на кислорода от белите дробове до отделните тъкани на организма. Разгледани са и механизмите за свързването на кислорода, ефекта на Bohr и 2,3 DPG, чрез които приблизително 300 милиона хемоглобинови молекули във всеки еритроцит ефикасно осигуряват кислород по време на всяко свое преминаване през тялото.

Функцията на този комплексен механизъм е зависима от структурата на хемоглобина, която има способността да се приспособява към различни условия. Едновременно с това тя е подложена на генетични или придобити увреждания, които обуславят различни патологични състояния. Функцията на хемоглобина е обусловена от редица фактори - стабилността на глобуларната пространствена конфигурация на всяка от 4-те полипептидни вериги, които изграждат хемоглобиновата молекула, стабилността на хема във всяка полипептидна верига, поддържането на връзката между $\alpha\beta$ димерите и ефективно свързване на O_2 за двувалентното желязо, свързването на CO_2 , протоните и 2,3 DPG. Каквато и да е промяна в първичната структура на хемоглобина, която уврежда един или повече от тези фактори, води до формирането на хемоглобин с ненормална стабилност или функция.

В този раздел за вродените болести на хемоглобина са представени принципите и механизмите, чрез които мутациите или придобитите промени в хемоглобина довеждат до патологични промени в неговата структура и функция.

11.1. КЛАСИФИКАЦИЯ НА АБНОРМНИТЕ ХЕМОГЛОБИНИ

11.1.1. МОЛЕКУЛЯРНА КЛАСИФИКАЦИЯ

От откриването на първия абнормен хемоглобин (HbS) през 1949г. до днес, са открити и характеризирани *около 800 абнормни хемоглобина или хемоглобинови варианти* (табл.11.1). Те са предимно последица от *мутации в кодиращия участък на глобиновите гени*, които довеждат до замяна, загуба или внос на един, по-рядко два нуклеотида. Поради това повечето от абнормните хемоглобини се характеризират със заместването на една аминокиселина с друга, по-рядко със заместването на две аминокиселини, с по-дълга или по-къса полипептидна верига или с хибридна верига (табл.11.1)

Табл. 11.1 Класификация на абнормните хемоглобини според мястото и локализацията на молекулярния дефект

Молекулярна основа на дефекта	Брой на известни хемоглобинови варианти според локализацията на дефекта						бр	Общ брой
	α	β	γ				δ	
			Gγ	Aγ	H*	C**		
Заместване на една аминокиселина	217	362	39	21	3	7	32	681
Заместване на две аминокиселини	1	18						19
По-дълга полипептидна верига	7	6						13
Варианти с делеции (1 – 5 аминокиселини)	6	11						17
Варианти с инсерции	4	2						6
Варианти с делеции / инсерции		4						4
Общо	235	403	70				32	750

H* - Неизвестни

C** - Специфични

Около 90% от известните абнормни хемоглобини се характеризират със заместването на *една аминокиселина с друга*. От тях приблизително 50% са β-варианти, а останалите 50% α-, γ- и δ-варианти. Причините за различния брой α-, β-, γ- и δ-варианти са различни. По-малкия брой на α-в сравнение с β-варианти се обуславя от по-леката клинична изява на α-вариантите, поради което те по-трудно се откриват. По-малкият брой на известни γ-варианти е последица от тяхното присъствие във фетал-

ния живот и първите 6 до 12 месеца след раждането. Тяхното откриване се осъществява най-често при скринингови изследвания на новородени деца.

Броят на δ-вариантите е също така малък и това вероятно зависи от тяхното наличие в малки количества (1-1,5%), поради което откриването им може да бъде пропуснато.

Приблизително 90% от абнормните хемоглобини, при които има заместване на една аминокиселина с друга, са последица от заместване на първия или втория нуклеотид от мутирания кодон. При повечето от кодоните заместването на 3-я нуклеотид не води до заместване на аминокиселина.

Абнормните хемоглобини, при които има заместване на *две аминокиселини* са последица от мутации на предходно мутиран ген или crossover между два мутирани гена. *Хемоглобиновите варианти с по-дълга полипептидна верига* са последица от точкови мутации в кодона за терминиране, frameshift мутация, задръжка на инициращия метионин или инсерция на един или повече триплети. *Хемоглобиновите варианти с по-къса полипептидна верига* са последица от делеция на една до пет аминокиселини или последица на nonsense мутация. Абнормните хемоглобини със смесена полипептидна верига са последица на нехомоложен crossover между несъответните участъци от двете хромозоми.

11.1.2. КЛИНИЧНА КЛАСИФИКАЦИЯ

От клинично гледище абнормните хемоглобини се разделят на следните 5 групи:

- варианти с абнормна разтворимост
- с увеличен афинитет към кислорода
- с намален афинитет към кислорода
- с нестабилност
- с метхемоглобинемия

11.2. ХЕМОГЛОБИНОВИ ВАРИАНТИ С АБНОРМНА РАЗТВОРИМОСТ (Hb S - синдром)

Между множеството абнормни хемоглобини 4 Варианти: Hb S, Hb C, Hb D Punjab и Hb O_{Arabia} (Efremov, 1999) показват ненормална разтворимост. Поради голямото разпространение на Hb S между негърската популация, хората от Средния изток и Средиземноморието, той е с *най-голямо клинично значение*. Този абнормен хемоглобин се установява в 8% от американските негри. Неговата честота е най-висока в Централна Африка, особено в ендемичните райони с малария. В някои области на Нигерия честотата на Hb S достига до 30%. Неговото съхранение и голямо разпространение в маларичните райони се обяснява с устойчивостта на хетерозиготите към маларията.

Носителството на Hb S, респект. *хетерозиготното състояние* за този хемоглобин е известно под името сърповидно-клетъчен признак (Sickle cell trait), *хомозиготното състояние* се обозначава като сърпоклетъчна анемия, дрепаноцитоза или Sickle cell anaemia, докато *двойната хетерозиготност* за Hb S и група хемоглобинопатия (β -thalassaemia или абнормен хемоглобин) под името сърповидно-клетъчна болест или Sickle cell disease.

11.2.1. ХЕТЕРОЗИГОТНО СЪСТОЯНИЕ ЗА Hb S (Sickle cell trait)

Поради намалената разтворимост на геоксигенирания HbS, *диагноза-та* на хетерозиготното състояние за Hb S (Sickle cell trait), се поставя въз основа на настъпващо *осърпяване на еритроцитите* при намалено парциално налягане на кислорода. Осърпяването на еритроцитите се постига с натриев дитионат (метабисулфит), който отнема кислорода, респект. редуцира хемоглобина. При микроскопски преглед на цяла кръв, в присъствието на метабисулфит се доказва наличието на сърповидни клетки (*тест за осърпяване*). При поставяне на хемоглобинов разтвор в концентриран фосфатен буфер при наличието на сърповидни клетки настъпва помътняване на хемоглобиновия разтвор (*тест за разтворимост*). Когато един от тези тестове е положителен, присъствието на Hb S се потвърждава и чрез някои от електрофоретичните методи. Хетерозиготите за Hb S съдържат около 40% абнормен хемоглобин. Те поставят минимални клинични проблеми. Кризи съпътствувани с осърпяване на еритроцитите настъпват само при условия на тежка хипоксия. Възможни са развитието на инфаркт на слезката, намалена концентрационна способност на бъбреците, рекурентни епизоди с болезнена хематурия.

11.2.2. СЪРПОКЛЕТЪЧНА АНЕМИЯ (Дрепаноцитоза, Sickle cell anaemia)

Сърпоклетъчната анемия представлява *хомозиготно състояние за Hb S*. Тя заема важно място в заболяемостта и смъртността при чернокожите. Болестта се установява в 0,15% от децата на американските негри. *Клиничната изјава* на болестта е последица от специфична молекулярна лезия, която представлява заместване на *глутаминовата киселина с валин на 6-та позиция в β -полипептидната верига*. Тази специфична лезия прави геоксигенираният Hb S по-слабо разтворим и с готовност да формира полимери. При геоксигениране на хемоглобина, еритроцитите, които съдържат Hb S се променят от биконкавни в сърповидни. Сърповидната форма на еритроцитите е последица от формиране на фибрили с диаметър от около 20 nm, като всяка фибрила представлява спираловиден полимер съставен от 14 микрофибрили. Полимерната фибрила е стабилизирана чрез хидрофобни връзки между валинът в 6-та позиция на β -

полипептидни вериги. Присъствието на фибрилите в еритроцитите ги прави ригидни, поради което те могат да блокират протичането на кръвта в капиларите с последващо развитие на тъканна хипоксия.

Възникналата хипоксия създава предпоставки за по-нататъшно осърпяване, което довежда до инфаркт на по-голям тъканен участък. *Осърпяването*, респект. полимеризацията е *обратим процес*, тъй като чрез оксигениране той изчезва. Все пак при многократно преминаване от биконкавна в сърповидна форма, мембраната на еритроцитите се уврежда. В резултат на това червените кръвни клетки губят своя калий и вода, което довежда до тяхното необратимо осърпяване. Отношението между необратимо и обратимо сърповидно променените еритроцити варира при отделните пациенти и не корелира с тежестта на клиничната картина. Между *впрочем, степента на осърпяване на еритроцитите е зависима и от присъствието на друг хемоглобин*. При хомозиготи за Hb S е налице Hb F в количество от 2 до 20% от общия хемоглобин. Той е хетерогенно разпределен в еритроцитите и инхибира полимеризацията на Hb S. Поради това еритроцитите, които съдържат повече Hb F са защитени от осърпяване, докато еритроцитите с по-малко Hb F претърпяват необратимо осърпяване и поради тяхната ригидност се отстраняват от циркулацията и *секвестрират в слезката*.

Непрекъснатото образуване и отстраняване на необратимо променените сърповидни еритроцити допринася за развитието на тежката анемия, докато ригидността на еритроцитната мембрана води до развитието на оклузи в малките кръвни капилари.

В присъствието на фактори, които намаляват афинитета на еритроцитите към кислорода, каквито са *ацидозата* и увеличеното количество на 2,3 - DPG, се засилват процесите на полимеризация и осърпяване. Осърпяването е също така зависимо от *концентрацията на хемоглобина*. Всеки процес, който предизвиква *дехидратация на еритроцитите*, които съдържат Hb S води до тяхното осърпяване. Поради това, хипертоничната среда в бъбречната медула може да доведе до локално осърпяване и образуване на папиларни инфаркти, даже и при хетерозиготи за Hb S.

Клиничната картина на дрепаноцитозата е много *вариабилна*. Симптомите на болестта се появяват след първите 6 месеца от раждането когато увеличеното количество на Hb F се замести от Hb S. Между постоянните симптоми са забавянето на растежа и развитието, склонността към тежки инфекции, особено пневмококови, последица от инсуфициентната функция на слезката за отстраняване на бактериите от циркулацията. С течение на времето в слезката се развиват рекурентни инфаркти, а понякога и фиброзни изменения.

Анемията е тежка, с хематокрит между 18 до 30%. Разграждането на еритроцитите не е обусловено от тяхната старост. Средната преживяемост на еритроцитите е от 10 до 15 дни. Независимо, че хемолизата е предимно екстраваскуларна, нивото на хемоглобина е намалено, докато това на хемоглобина в кръвната плазма е увеличено. Анемията се утежнява, когато се подтисне еритропоезата. Основна причина за развитието на апластични кризи са инфекциите и дефицита на фолиевата киселина.

Заболеваемостта и причината за леталния изход най-често са последи-

ца на рекурентния *вазооклузивен синдром*. В течение на своя живот болните от сърпоклетъчна анемия са подложени на повтарящи се *болезнени кризи*. Те се появяват внезапно и в различни части на тялото, особено в абдомена, гърдите и ставите. Обикновено те са свързани с вирусни и бактериални инфекции. Честотата на болезнените кризи е извънредно променлива, от много често до няколко в течение на една или повече години. При някои от болните болезнените кризи се появяват при хладно време, вероятно поради рефлекторен вазоспазм. При други те се наблюдават при горещо време, когато настъпи дехидратация на болния.

При хомозиготи за Hb S, често се наблюдават пристъпи от остра плеврална болка, съпътствувана с температура. Когато болката е локализирана в крайниците тя може да се проявява като остеомиелит, остър артрит, а често и като остър синовит. Понякога процесът на осърпяване може да засегне централната нервна система с развитието на епилептични гърчове, мозъчен оток или кома. Церебралната тромбоза е основното неврологично усложнение. Макар, че тези кризи най-често са обратими, те могат да бъдат и фатални.

В по-късната възраст, поради кумулативният ефект на вазооклузивните епизоди, болните със сърпоклетъчна анемия показват признаци на *органични и функционални увреждания на различни тъкани и органи*. Най-често се засягат белите дробове, бъбреците, черният дроб, скелетът и кожата. Често усложнение е нарушението на белодробната функция. Артериалното PO_2 е обикновено снижено, частично, поради интрапулмоналния артериовенозен шънт. Тъй като еритроцитите, които съдържат Hb S имат намален афинитет към кислорода, артериалната кръв е много по-слабо оксигенирана, което довежда до увеличено осърпяване на еритроцитите. Често усложнение е конгестивната сърдечна недостатъчност. Като последица от хипердинамичната циркулация, при повечето от пациентите се установява шумова находка (систоличен шум).

Както при болните от други вродени хемолитични анемии, така и при тези със сърпоклетъчна анемия се наблюдава иктер и подчертана тенденция към развитието на холелитиаза. При някои от тях се развиват чернодробни инфаркти. Хипертоничната и кисела среда в бъбречната медула благоприятствува образуването на сърповидни еритроцити, което от своя страна води до възникването на *микроинфаркти*. Почти при всички пациенти се наблюдава шизостенурия. Нарушената способност за образуване на концентрирана урина увеличава риска за дехидратация. Като последица от възникването на папиларни инфаркти се наблюдава продължителна болезнена хематурия, която може да доведе до недоимък на желязо. При малък брой от болните може да се стигне до бъбречна недостатъчност. При мъжете е възможно да настъпи приапизъм.

Като последица от разрастването на костния мозък и развитието на инфаркти при болни от сърпоклетъчна анемия се установяват рентгенологични промени в костите. Характерен е биконкавният изглед (fish mouth) на гръбначните прешлени. Честите инфаркти довеждат до създаване на трабекули и склероза на костите. Нерядко се установява асептична некроза на главата на femura.

Патологични промени в очите като: ретинален инфаркт, артериове-

нозни аномалии, хеморагии в стъкловидното тяло, ретинит и аблация на ретината са характерна находка при болни от сърпоклетъчна анемия, S β -таласемия и SC-болестта.

Хронична *улцерация* на кожата в дисталните участъци на краката може да се наблюдава при болните от сърпоклетъчна анемия.

За изграждане на *диагнозата* от значение са анамnestичните данни за развитието на болестта (епизоди от болести кризи, артропатии, улцерации на подбедрицата и т.н.). Съществуват доста лабораторни тестове за разграничаването на сърпоклетъчната анемия от другите хемоглобинопатии. В натривка от периферната кръв се установяват нормохромни, нормоцитни еритроцити, таргетни клетки, телца на Howell-Jolly, сидероцити и понякога иреверзибилни сърповидни клетки и нормобласти. Положителният *тест за осърпяване* на еритроцитите или *за разтворимост на хемоглобина* е признак за присъствието на Hb S. Тези тестове са положителни, както при единичните, така и при двойните хетерозиготи за Hb S. Диагнозата се поставя въз основа на резултата от електрофорезата на еритроцитен хемолizat, хроматографски или чрез DNA методи. В кръвта на болните от сърпоклетъчна анемия се установяват от 2 до 20% Hb F и от 2 до 4% Hb A₂. Останалата част от общия хемоглобин е Hb S. Болните от S β -таласемия имат 0 до 30% HbA

За *лечение* са предложени доста схеми с противоосърпяващо действие, но нито една не е достатъчно ефикасна. Терапията е предимно *симптоматична*. Препоръчва се ранно откриване на инфекциите и своевременно приложение на антибиотици, както и орално използване на фолиева киселина. За овладяване на болезнените кризи се прилагат адекватни аналгетици и съответна рехидратираща терапия.

Трансфузията има лимитиращ характер в лечението. Частичното заместване на еритроцитите на пациента с трансфузирани дарителски еритроцити, предотвратява настъпването на вазооклузивни кризи. С оглед снижаването на вискозитета на кръвта е необходимо да се замени повече от 50% от кръвта на пациента с донорска кръв.

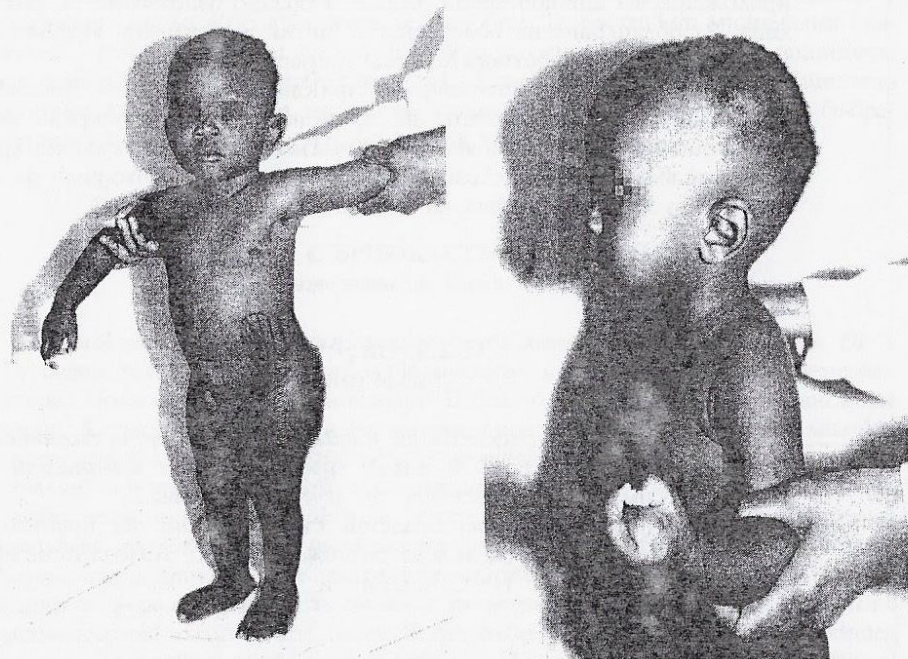
11.2.3. Hb S – БОЛЕСТ (Sickle cell disease)

Hb S - болестта представлява *двойно хетерозиготно състояние за Hb S и β -таласемия или Hb S и някой друг абнормен хемоглобин*. Клинична значимост имат S β -таласемия, SC и SD болестта.

Като отделна подгрупа болести предизвикани от присъствието на абнормен хемоглобин с намалена разтворимост е хомозиготното състояние за HbC, респект. Hb C болестта.

11.2.3.1. Hb S/ β -THALASSEMIA

Тази хемоглобинопатия е извънредно *вариабилна в клиничната си изява* и усложненията, които предизвиква. Среща се често между хората от Средиземноморието и Африканския континент. Клиничното протичане е по-леко при негрите, отколкото при болни от Средиземноморския регион. В приблизително 70 % от пациентите се наблюдава различна по тежест хемолитична анемия, спленомегалия и вазооклузивни симптоми, подобни на тези, които се наблюдават при сърпоклетъчната анемия. В еритроцитите на тези пациенти се установява Hb S от 60 до 90% и Hb F от 10 до 30%. Хемоглобин А е налице при Hb S/ β^+ -таласемия от 10 до 30 %, докато той липсва при Hb S/ β^0 -таласемия, поради което е необходимо да се определи генотипа на родителите за да се отиференцира това състояние от хомозиготното за Hb S. Hb S/ β^0 -таласемията е клинически по-тежка от Hb S/ β^+ -таласемия. Съчетанието на HbS/ β -таласемия наблюдавахме у момче от Танзания, при което заболяването протича с прояви на хемолитична анемия изискваща периодично хемотрансфузии (фиг.11.1).



Фиг.11.1 Дете болно от HbS/ β - Thalassemia

11.2.3.2. SC - ХЕМОГЛОБИНОПАТИЯ

Тя представлява *двойно хетерозиготно състояние за Hb S и Hb C*. Макар че, честотата на гена за Hb C е 4 пъти по-рядка (представлява една четвърт) от тази за Hb S, разпространението на SC хемоглобинопатия е почти еднакво с това на хомозиготното състояние за Hb S. Това се обуславя от нормалната преживяемост на пациентите с хемоглобинопатия SC. Тези хора имат лека до средно тежка *анемия*, обикновено придружена със *спленомегалия*. Развитието на инфаркти, които се появяват от време на време се съпътствува от силно *болестни кризи*. Често се наблюдават усложнения от страна на очите, като поява на пролиферативна *ретинопатия* и *аблацио* на ретината. Поради инфаркти в реналната медула относително честа е появата на *хематурия*. Понякога се развива *аваскуларна некроза* на главата на фемура. При бременните с тази хемоглобинопатия съществува риск от възникването на усложнения. В натривка от периферната кръв се установяват таргетни, а понякога и сърповидни еритроцити. При електрофореза на еритроцитен хемолизат се откриват в еднакво количествено отношение Hb S и Hb C.

Покрай SC хемоглобинопатията относително честа е *двойната хетерозиготност за Hb S и Hb O_{arabia}* при която електрофоретичната находка е подобна на SC-хемоглобинопатията, но клиничната изява на болестта е много по-тежка.

Двойната хетерозиготност за Hb S и Hb D (SD-болест) се отличава с по-лека клинична картина.

Хомозиготното състояние за Hb C (Hb C болест) се изявява с *лека хемолитична анемия*, придружена със *спленомегалия*. Hb C има свойството да създава интраеритроцитни кристали, особено когато еритроцитите се намират в хипертонична среда. Поради загубата на калий и вода от цитоплазмата се повишава концентрацията на хемоглобин в еритроцитите, което води до появата на таргетни клетки.

11.3. ХЕМОГЛОБИНОВИ ВАРИАНТИ С УВЕЛИЧЕН АФИНИТЕТ КЪМ КИСЛОРОДА

От описването на първия хемоглобин с увеличен афинитет към кислорода (Hb Chesapeake) през 1966 г. до сега са съобщени повече от 150 варианти с това свойство на агулния хемоглобин (Huisman et al., 1998; Efremov 2002). Само една четвърт от тях (около 40) обаче са причина за развитието на фамилната еритроцитоза (полицитемия). *Молекулярната лезия* обуславяща повишения афинитет към кислорода е *заместването на една аминокиселина с друга* в тези места на молекулата на хемоглобина, които са отговорни за неговата функция (контакта между субединиците на тетрамерния хемоглобин: $\alpha 1 \beta 2$ контакта, C-терминалния дял на β -