

Hemoglobinuria paroxística nocturna



Pilar M. Hernández-Campo, Julia Almeida y Alberto Orfao

Servicio General de Citometría. Centro de Investigación del Cáncer (IBMCC-USAL/CSIC). Hospital Universitario de Salamanca. Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es una enfermedad clonal adquirida que afecta a la célula hematopoyética pluripotencial. Se origina por una mutación somática en el gen *PIG-A* (glucosilfosfatidilinositol de clase A), que codifica para una proteína involucrada en la síntesis de glucosilfosfatidilinositol (GPI). Esta molécula actúa como anclaje a la membrana citoplásmica de numerosas proteínas, cuya expresión será total o parcialmente deficiente en pacientes con HPN. En la actualidad se reconoce que la constatación de esta deficiencia por citometría de flujo constituye el método de elección para el diagnóstico de la enfermedad. Entre las moléculas deficitarias en la HPN se encuentran las proteínas reguladoras del complemento CD55 y CD59, cuya deficiencia es responsable de la hemólisis intravascular característica de la enfermedad. Además, los pacientes presentan predisposición a desarrollar fenómenos trombóticos e infecciones, y un grado variable de insuficiencia medular. En este trabajo se revisan los avances más recientes en el conocimiento de la patogenia de la enfermedad y los métodos de diagnóstico y seguimiento de los pacientes con HPN.

Palabras clave: Hemoglobinuria paroxística nocturna. *PIG-A*. Glucosilfosfatidilinositol. Citometría de flujo.

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is an acquired clonal hematopoietic disorder characterized by the existence of somatic mutations in the *PIG-A* (phosphatidylinositolglycan complementation class A) gene, which encodes for a protein involved in the biosynthesis of the glycosyl phosphatidylinositol (GPI) molecule that serves as an anchor for many cell surface proteins. This genetic alteration translates into a total or partial deficiency in the PNH clone of surface proteins attached to the cell by a GPI anchor. Evaluation of deficient expression of GPI-associated proteins is currently used for the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Among other proteins, deficiency of CD55 and CD59 leads to an increased susceptibility of PNH cells to complement-mediated cell lysis. Variable degrees of cytopenia, an increased susceptibility to infections and recurrent thrombotic events are other symptoms of the disease. In this paper we review the recent advances in the knowledge about the pathogenic mechanisms of the disease and the current approaches for the diagnosis and monitoring of PNH patients.

Key words: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *PIG-A* gene. Glycosylphosphatidylinositol. Flow cytometry.

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es una enfermedad clonal adquirida. Se origina por una mutación somática en el gen *PIG-A* (glucosilfosfatidilinositol de clase A), que se localiza en el brazo corto del cromosoma X y que codifica para una proteína involucrada en la síntesis del glucosilfosfatidilinositol (GPI)^{1,2}, molécula esencial para el anclaje de una gran variedad de proteínas de la membrana cito-

plásmica. La mutación se produce en una célula madre hematopoyética pluripotencial y da lugar a una deficiencia total o parcial de la proteína *pig-a*, con la consiguiente alteración en la síntesis del GPI y del anclaje de las proteínas asociadas al GPI a la membrana citoplásmica; como resultado, una parte de las células sanguíneas derivadas de la diferenciación y maduración de la progenitora hematopoyética afectada serán deficientes en las proteínas que se unen a la membrana citoplásmica a través de GPI^{3,4}.

Antecedentes históricos

La primera referencia inequívoca a la HPN la realizó William Gull en 1866⁵, pero no fue hasta 1882 cuando Paul Strübing⁶ identificó la enfermedad como una entidad diferente de la hemoglobinuria paroxística desencadenada por el frío y la asociada a la marcha. Este autor demostró que el pigmento que oscurece la orina de estos pacientes es la hemoglobina procedente de la destrucción de los hematíes, hecho que atribuyó al paso de éstos por el riñón. Casi medio siglo más tarde, en 1928, Ennekin acuñó de forma definitiva el nombre de HPN. En 1911 Hijmans van den Bergh⁷ demostró que la acidificación con dióxido de carbono de sueros de pacientes con HPN inducía la lisis de los eritrocitos, hecho que no ocurría con sueros de personas sanas. Posteriormente Ham relacionó este hallazgo con un aumento de la susceptibilidad de estas células a la lisis mediada por las proteínas del sistema del complemento⁸, además de crear una prueba hemolítica sencilla para el diagnóstico de la HPN, que se ha empleado desde entonces para el diagnóstico de la enfermedad. Tras un análisis detallado de la lisis eritrocitaria cuando empleaban el test de Ham en pacientes con HPN, Rosse y Dacie^{9,10} constataron que había una importante heterogeneidad en lo que hacía referencia a la sensibilidad de los hematíes de estos pacientes a la lisis mediada por el complemento. De esta forma identificaron 3 poblaciones de hematíes de acuerdo con su sensibilidad al complemento: hematíes de tipo I, II y III, con una sensibilidad normal, moderada y alta, respectivamente⁹. Con anterioridad DeSandre¹¹ había referido que los eritrocitos de pacientes con HPN no expresaban acetilcolinesterasa. Unos años más tarde, se identificaron otras moléculas cuya expresión era deficiente en la membrana de los eritrocitos de estos pacientes; entre ellas figuraban la fosfatasa alcalina¹², el factor que acelera la degradación de las convertasas del complemento (DAF, de *decay accelerating factor*, o CD55)¹³ y el inhibidor de membrana de la lisis reactiva (MIRL o CD59)¹⁴. Todas estas proteínas tienen en común el estar ancladas a la membrana celular a través de GPI, y en 1992 se demostró que en la HPN había un defecto en la síntesis de esta molécula^{15,16}. La demostración del defecto fenotípico llevó a la identificación de la alteración genética subyacente a la HPN en 1993 por Miyata et al¹⁷, quienes clonaron el gen *PIG-A* y demostraron su participación en la

Correspondencia: Prof. A. Orfao.
Servicio General de Citometría. Hospital Universitario de Salamanca.
P.º San Vicente, 58-182. 37007 Salamanca. España.
Correo electrónico: orfao@usal.es

Recibido el 29-1-2008; aceptado para su publicación el 24-4-2008.

síntesis del primer compuesto intermedio en la ruta de síntesis de GPI. Asimismo, estos autores identificaron una mutación somática que ocasionaba la pérdida de la función del gen *PIG-A*¹⁸ y determinaron que la HPN afectaba de igual modo a varones y mujeres¹⁸. Actualmente se sabe que la mutación en el gen *PIG-A* es condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo de la HPN, puesto que se han descrito mutaciones de este gen en personas sanas¹⁹, lo que induce a pensar que para la expansión del clon mutado podrían ser necesarios otros factores²⁰.

Glucosilfosfatidilinositol (GPI)

Estructura

La molécula de GPI tiene una estructura altamente conservada a lo largo de la evolución, siendo muy similar en los organismos unicelulares más sencillos y en los mamíferos²¹⁻²³. Consta de una molécula de fosfatidilinositol, un núcleo glucano formado por una molécula de N-glucosamina y 3 manosas, y una molécula de fosfoetanolamina^{1,24} (fig. 1). La unión a la membrana se realiza a través de la molécula de fosfatidilinositol, que se inserta en la bicapa lipídica mediante los ácidos grasos situados en los carbonos 1 y 2 del glicerol. El primero de ellos se une a través de un enlace éter²⁵, mientras que el segundo suele ser un ácido graso altamente insaturado, como el ácido araquidónico, que se une como radical acilo. En los mamíferos hay un tercer ácido graso, generalmente ácido palmítico, que se une al inositol²⁶. Esta estructura proporciona a la molécula de GPI resistencia frente a la fosfolipasa C producida por bacterias como *Bacillus thuringiensis*²⁷ y *Staphylococcus aureus*²⁸.

El núcleo glucano de GPI está formado por una molécula de N-glucosamina que se une mediante un enlace $\alpha(1-6)$ al inositol. Éste, a su vez, está unido a 3 manosas a través de diferentes enlaces alfa-glucosídicos¹. La manosa terminal

está unida, a través de su sexto carbono, a una molécula de fosfoetanolamina, cuya amina reacciona con el grupo carboxilo terminal de la proteína que va a ser anclada a la membrana^{29,30}.

Aunque la estructura del núcleo glucano de la molécula de GPI es similar en organismos unicelulares sencillos y en mamíferos, puede haber diferencias en las moléculas que se unen como «cadenas laterales». Así, el grupo hidroxilo del C-2 de la manosa que se une a glucosamina puede estar unido a una molécula de fosfoetanolamina que no forma enlace con ninguna cadena polipeptídica. Además, el grupo hidroxilo del C-4 de esa misma manosa aparece unido a N-acetilgalactosamina o a oligosacáridos². Finalmente, en el C-2 de la manosa terminal puede haber una o más manosas unidas al grupo hidroxilo³¹.

Biosíntesis

La síntesis de GPI comienza en la cara externa del retículo endoplásmico³² y se completa en la cara interna del aparato de Golgi. El primer paso de la síntesis (fig. 2) consiste en la unión de N-acetilglucosamina (GlcNAc) a fosfatidilinositol por acción de la enzima glucosiltransferasa, que utiliza uridina difosfato-GlcNAc como sustrato³³; el producto resultante de esta unión se desacetila para obtener glucosamina-fosfatidilinositol (GlcN-PI)³⁴. A continuación la dolicol-fosfato-manosa y la fosfatidil-etanolamina actúan como donadores de manosa y fosfoetanolamina, respectivamente^{35,36}. Luego se forma un complejo que se compone de proteínas que se combinan con el precursor de GPI sintetizado y que es transportado al aparato de Golgi, donde las proteínas sufren una modificación de su unión a la molécula de GPI para insertarse finalmente en la membrana plasmática como proteínas ancladas a GPI maduras.

Con el fin de identificar los genes implicados en las rutas de síntesis de GPI se han empleado como modelo las eucario-

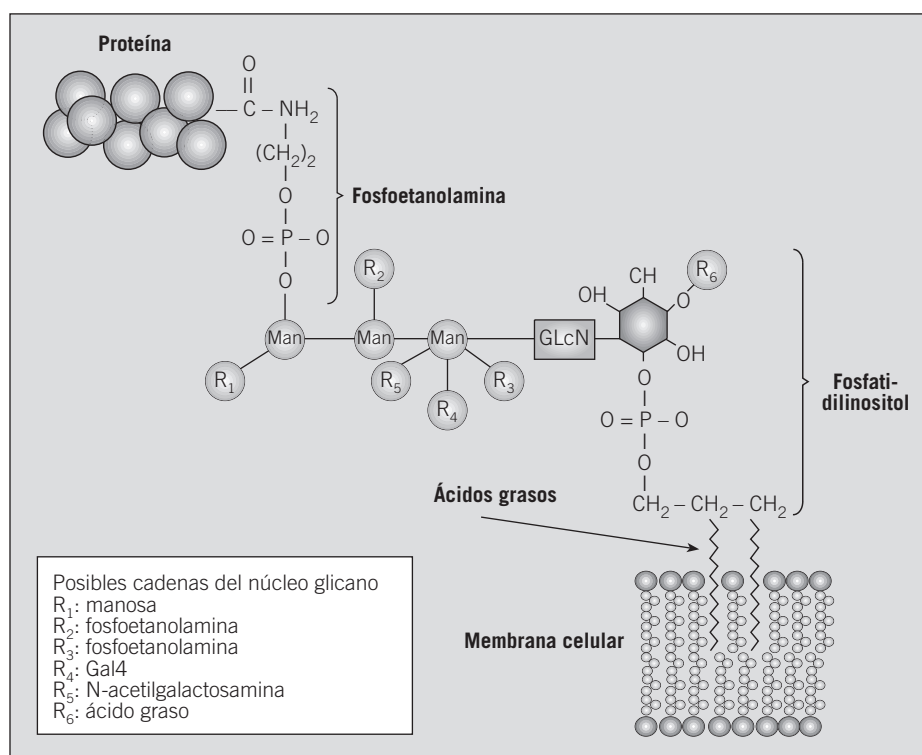


Fig. 1. Estructura bioquímica de la molécula de glucosilfosfatidilinositol (GPI). GlcN: glucosamina; Man: manosa.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3801531>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3801531>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)