

Justyna Hryniewicz, Roman Gondko

EMBRIONALNE HEMOGLOBINY CZŁOWIEKA

Praca przedstawia postępy badań na temat ilości i budowy hemoglobin embrionalnych u człowieka. Na podstawie licznych doniesień, opublikowanych w ostatnich latach, stwierdzono, że w rozwoju osobniczym człowieka występują hemoglobiny embrionalne, tj. Hb Gower 1, Hb Gower 2, Hb Portland oraz dwa rodzaje hemoglobin płodowych HbF, HbF₁ i trzy hemoglobiny typu dojrzalego. Omówiona została ich ilość, budowa chemiczna i poznane właściwości fizykochemiczne z uwzględnieniem powinowactwa tlenowego, ze szczególnym zwróceniem uwagi na hemoglobiny embrionalne. Przedstawiono także rozwój krwinki czerwonej i zależność pomiędzy rodzajami syntetyzowanej hemoglobiny a miejscem erytropoezy.

WSTĘP

Wymiana gazowa pomiędzy tkankami a środowiskiem jest podstawową fizjologiczną funkcją hemoglobiny (Hb), która stanowi ponad 90% białek erytrocytów człowieka [48, 49].

Po 22 latach od chwili rozpoczęcia badań rentgenograficznych w 1959 r. P é r u t z i wsp. [44] otrzymali trójwymiarową mapę gęstości elektronowej hemoglobiny, co pozwoliło na ustalenie, że w skład cząsteczki tego białka wchodzi dwa łańcuchy polipeptydowe α i dwa łańcuchy polipeptydowe β . Cząsteczka hemoglobiny ma więc budowę tetrameryczną o ogólnym wzorze $\alpha_2 \beta_2$ [45, 46].

Transport tlenu przez hemoglobinę zależy od specyficznej własności żelaza grupy prostetycznej (hemo). Żelazo to jest zdolne

do odwracalnego wiązania tlenu. Procesowi przyłączania tlenu cząsteczkowego nie towarzyszy utlenianie metalu [5].

Na łamach "Postępów Biochemii" i "Zeszytów Naukowych UŁ" przedstawiono szereg szczegółowych opracowań dotyczących budowy i funkcji hemoglobin [14, 15, 36, 42, 43].

Niniejszy artykuł poświęcono natomiast omówieniu własności hemoglobin fizjologicznych występujących w rozwoju człowieka ze szczególnym uwzględnieniem najmniej poznanych hemoglobin embrionalnych.

RODZAJE LUDZKICH HEMOGLOBIN

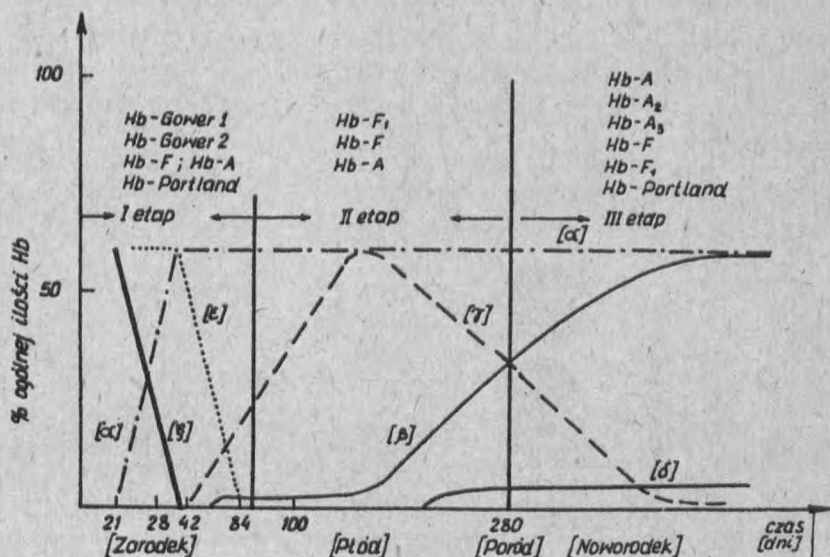
W rozwoju osobniczym człowieka wyróżnia się trzy charakterystyczne okresy syntezy hemoglobin. W pierwszym etapie zarodek syntetyzuje tzw. hemoglobiny embrionalne, tj. Hb Gower 1, Hb Gower 2, Hb Portland [27] (rys. 1).

Są to główne hemoglobiny fizjologiczne okresu zarodkowego. Oprócz nich w niewielkiej ilości występuje hemoglobina płodowa HbF ($\alpha_2\gamma_2$) która jest główną frakcją okresu drugiego. U dwumiesięcznego zarodka o długości ciemieniowo-krzyżowej (CR) równej 50 mm ilość HbF wynosi już 50% ogólnej ilości hemoglobin [28].

W pierwszym okresie życia zarodka stwierdzono ponadto występowanie HbA ($\alpha_2\beta_2$) w ilości 5-10% ogólnej ilości hemoglobin [32]. Ta forma hemoglobiny jest charakterystyczna dla okresu trzeciego pozapłodowego - dorosłego (adult). W ósmym tygodniu ciąży (zarodki powyżej 50 mm długości CR) jej ilość nie przekracza 10% i utrzymuje się na tym poziomie do trzydziestego-trzydziestego szóstego tygodnia ciąży [1, 20].

Hemoglobina dominującą w drugim etapie rozwoju, tj. w okresie płodowym, jest jak wspomniano HbF (foetal). W trzydziestym tygodniu ciąży stanowi ona ok. 90% ogólnej ilości hemoglobin. W miarę dalszego wzrostu płodu jej wartość spada z jednoczesnym wzrostem ilości HbA z 10 do 30% [11, 60]. Prawdopodobnie, zdaniem niektórych autorów, we krwi płodowej znajdują się też niewielkie ilości Hb-Bart's (γ^4) [51].

W chwili urodzenia (40 tydzień ciąży) krew noworodka zawiera ok. 30-40% i 60-70% HbF. Stosunek ten jednakże w czasie dalszego rozwoju ulega zmianie. U noworodków stężenie HbF szybko spada, tak że w szóstym miesiącu życia jej zawartość wynosi 10%, a w pierwszym roku stanowi ona zaledwie 2% ogólnej ilości hemoglobin. Równocześnie obserwuje się wzrost HbA do 80% i pojawienie się hemoglobiny HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) w ilości 2,5%.



Rys. 1. Procentowa zawartość łańcuchów polipeptydowych hemoglobin występujących w rozwoju człowieka [39]

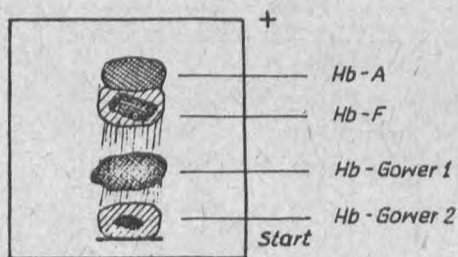
Percentage of human hemoglobin polypeptide chains present in human development [39]

Pourcentage des chaînes polypeptidiques des hémoglobines pendant l'ontogénèse [39]

Dzięki zastosowaniu nowoczesnych technik rozdzielu (elektroforeza, chromatografia kolumnowa) ostatnio wykryto szereg fizjologicznych hemoglobin, co spowodowało ponowny wzrost zainteresowania tymi białkami.

HEMOGLOBINY EMBRIONALNE

Pierwsze doniesienie o wykryciu hemoglobin embrionalnych pochodzi z roku 1954, kiedy to Drescher i Künzer [12] stwierdzili, że hemolizaty embrionów charakteryzuje pośrednie tempo denaturacji alkalicznej w stosunku do tempa denaturacji HbA czy HbF. Hemoglobiny te obdarzono nazwą hemoglobin embrionalnych HbU (Uterine). Odkrycie to zostało potwierdzone przez Halbrechta [16], Zilliacusa [65], Kaltsoya [32] i Huehnsa [7], którzy wykazali, że frakcje hemoglobiny 12-20-tygodniowych płodów wędrowały wolniej podczas elektroforezy na bibule w buforze barbituranowym (pH 8,6) niż hemoglobina HbA czy HbF.



Rys. 2. Rozdział elektroforetyczny hemolizatu embrionalnego na żelu skrobiowym. Bufor Tris-EDTA-boranowy, pH 8,6

Starch gel electrophoresis patterns of human embryonic hemolysates. Buffer system Tris-EDTA-borate, pH 8,6

Séparation électrophoretique de l'hémolysate embryonnaires sur gel d'amidon. Tempon Tris-EDTA-borate, pH 8,6

Szczegółowe badania ustalające własności tych białek podjął Huehns [22]. Dla okresu embrionalnego człowieka wyróżnił on dwie hemoglobiny, tzw. Hb-Gower 1 i Hb-Gower 2 [23-25], wykazując że wymienione hemoglobiny różnią się swymi właściwościami fizykochemicznymi od właściwości poznanych do tej pory hemoglobin. Do badań tych użyto hemolizatu krwi embrionalnej pobieranej w ilości 0,1 ml. przez kaniulację żył pępowinowych zarodka. Hemolizat ten następnie poddano elektroforezie na żelu skrobiowym w różnych układach buforowych [24]. Zaobserwowano [41],

że w przypadku użycia buforu Tris-EDTA-baron (pH 8,6) ujawniły się cztery frakcje hemoglobinowe (rys. 2).

Po rozdzieleniu obliczono ich procentową zawartość w zależności od wieku zarodka (tab. 1). Największy procent hemoglobin embrionalnych stwierdzono u najmłodszych zbadanych embrionów, a w miarę wzrostu płodu zawartości ich maleją. U embrionów o długości CR 65-85 mm (70-80 dzień ciąży) białka te występowały w śladowych ilościach a w 90 dniu ciąży (CR 100 mm) były nieobecne.

Tabela 1

Procentowa zawartość hemoglobin embrionalnych [24]

Percentage of human embryonic hemoglobins [24]

Pourcentage des hémoglobines embryonnaires [24]

Przybliżony czas ciąży	Długość CR mm	Hb-Gower 2 %	Hb-Gower 1 %
37 $\pm$ 1 dzień ciąży	16,3 [*]	24,0	42,0
39 " "	18,2 [*]	17,0	42,0
41 " "	21,3 [*]	24,0	27,0
	25,0	13,0	24,0
	34,0	16,0	17,0
	46,0	1,7	20,0
Ok. 2 miesiąc ciąży	50,0	1,3	5,0
	63,0	0,5	3,4
	65,0	+	1,0
	66,0	+	+
	68,0	+	+
	70,0	+	+
Ok. 2,5 miesiąc ciąży	85,0	+	+
	90,0	-	-
3 miesiąc ciąży (90 dni)	100,0	-	-

(+) - w przybliżeniu 1%, (+) - ślad, (-) - brak występowania, * - literatura poz. [18].

Na uwagę zasługuje fakt, że we krwi wszystkich przebadanych embrionów bez względu na wiek Hb-Gower 1 w porównaniu z Hb-Gower 2 występowała w przewadze.

Po elucji z żelu skrobiowego poszczególne frakcje poddane zostały dalszym badaniom. W toku tych analiz Huehns [24] stwierdził, że Hb-Gower 2 zbudowana jest z czterech łańcuchów polipeptydowych, tj. pary α^A łańcuchów połączonych z parą komplementarnych łańcuchów różniących się od dotąd poznanych łańcuchów β , γ , δ więcej niż jedną resztą aminokwasową. Łańcuchy te nazwano ε (epsilon), stąd wzór Hb-Gower 2 ma postać $\alpha_2 \varepsilon_2$ [24]. Obecność α^A łańcuchów potwierdzono po dysocjacji Hb-Gower 2 na podjednostki i rekombinacji z HbH (β_4^A) [12, 38]. W wyniku rekombinacji uzyskano frakcję HbA uprzednio nieobecną w roztworze.

Sporządzono też mapę peptydową Hb-Gower 2, którą porównano z mapami peptydowymi HbA i HbF. Porównanie to dostarczyło następujących wniosków. Po pierwsze potwierdziło istnienie w cząsteczce Hb-Gower 2 łańcucha α^A . Po drugie wykazano różnicę w składzie aminokwasowym pomiędzy łańcuchem ε a poznanymi łańcuchami β i γ . W zakresie pH 7,4-8,6 ruchliwość elektroforetyczna Hb-Gower 2 nie ulega zmianie i frakcja ta umiejscawia się w porównaniu z Hb-Gower 1 bliżej katody [47, 55]. Hb-Gower 2 wykryto w niewielkich ilościach (0,1-0,7%) w erytrocytach przedwcześnie urodzonych płodów z zespołem Trisomii D₁ [24].

Przeprowadzono także hybrydyzację Hb-Gower 1 z HbH (β_4^A) nie stwierdzając w tym przypadku pojawiania się HbA, natomiast Hb-Gower 1 ulegała precypitacji [13]. Wydaje się, że hemoglobina ta nie zawiera w swej cząsteczce α^A łańcuchów. Wszystkie bowiem hemoglobiny zawierające ten łańcuch w podobnym doświadczeniu formowały HbA. Prawdopodobnie Hb-Gower 1 to tetramer zbudowany tylko z jednego rodzaju łańcucha np. ε_4 . Przyjmując takie założenie podczas hybrydyzacji Hb-Gower 1 z hemoglobina zawierającą α^A łańcuch (np. HbF) powinien powstać tetramer typu $\alpha_2 \varepsilon_2$, tj. Hb-Gower 2. Doświadczenie hybrydyzacji wykonał Huehns po wcześniejszym oddzieleniu Hb-Gower 1 od Hb-Gower 2 na kolumnie z karboksymetylosefadem G-50 [24]. Hybrydyzacja Hb-Gower 1 doprowadziła do utworzenia frakcji migrującej z szybkością równą szybkości Hb-Gower 2. Wynik ten sugeruje, że Hb-Gower 1 zawiera łańcuchy polipeptydowe o takim samym ładunku jak i nie- α łańcuchy Hb-Gower 2. Hemoglobiny nie posiadające w cząsteczce łańcuchów α , np. Hb β_4 , i Hb γ_4 , wędrują zawsze szybciej

w kierunku anody niż hemoglobiny zbudowane z par różnoimiennych łańcuchów. Podobne właściwości wykazała Hb-Gower 1, która wędrowała szybciej w kierunku anody niż Hb-Gower 2.

W pH 8,6 hemoglobina ta wędruje wolniej od HbC, w pH 7,6 umiejscawia się pomiędzy frakcjami HbC i HbA. Fakty te potwierdziły przypuszczenie, że Hb-Gower 1 zbudowana jest wyłącznie z łańcuchów ϵ (ϵ_4) i nie zawiera łańcuchów α . Niestety ilość hemolizatu (Hb-Gower 1) otrzymana z jednego zarodka była niewystarczająca do przeprowadzenia innych badań (finger-printing, wyznaczanie ciężaru cząsteczkowego, punktu izoelektrycznego itp.) [21]. Założenie, że Hb-Gower 1 to tetramer zbudowany tylko z ϵ łańcuchów sugeruje, iż we wczesnych etapach rozwoju zarodka ilość α łańcucha powinna być mniejsza od ilości wszystkich pozostałych łańcuchów (β i γ).

Jest charakterystyczne dla rozwoju embrionalnego hemoglobin, że łańcuchy ϵ zostają u dwumiesięcznego zarodka [CR 5 cm] zastąpione przez γ łańcuchy.

Obecność hemoglobin A i F we wczesnym etapie rozwoju ludzkiego zarodka świadczy o równoległej syntezie łańcuchów α , β i γ , oczywiście w znacznie mniejszych ilościach w stosunku do ilości syntetyzowanych łańcuchów ϵ . W 1967 r. Capp, Rigas, Jones wykazali istnienie trzeciej hemoglobiny embrionalnej Hb-Portland [8]. Jest to tetramer o ciężarze cząsteczkowym 66 000, zbudowany z pary γ łańcuchów oraz pary łańcuchów oznaczonych wówczas jako x. Początkowo Hb-Portland 1 wykryto w hemolizacie nowo narodzonych niemowląt z wrodzonymi różnorodnymi anomaliami np. Trisomią D_1 , a także we krwi u samoistnie poronionych płodów z zespołem erythroblastosis foetalis spowodowanym homozygotyczną α -talasemią [57, 59]. W trzy lata później wspomniani autorzy oznaczyli skład aminokwasowy łańcucha x i nadali mu nazwę dzeta (ζ) [9].

Jak wynika z tab. 2, łańcuchy polipeptydowe okresu dojrzałego (α , β , δ) charakteryzują się brakiem izoleucyny, podczas gdy aminokwas ten obecny jest w łańcuchach γ i ζ . Różnice w składzie aminokwasowym łańcucha ζ i pozostałych łańcuchów α , β , γ i δ wskazują na istnienie oddzielnego genowego locus dla tego łańcucha.

T a b e l a 2

Skład aminokwasowy łańcuchów α , β , γ , δ i ϵ [9]The aminoacid composition of α , β , γ , δ and ϵ polipeptide chains [9]Composition en aminoacides des chaines peptidiques
 α , β , γ , δ , ϵ [9]

Aminokwas	α	β	γ	δ	ϵ
Lizyna	11	11	12	11	10
Histydyna	10	9	7	7	7
Arginina	3	3	3	4	4
Kwas asparaginowy	12	13	13	15	12
Treonina	9	7	10	5	11
Seryna	11	5	11	6	12
Kwas glutaminowy	5	11	12	12	11
Prolina	7	7	4	6	5
Glicyna	7	13	13	13	10
Alanina	21	15	11	15	14
S-aminoetylocysteina	1	2	1	2	1
Walina	13	18	13	17	12
Metionina	2	1	2	2	2
Izoleucyna	0	0	4	0	5
Leucyna	18	18	17	18	18
Tyrozyna	3	3	2	3	3
Fenylalanina	7	8	8	8	8
Tryptofan	1	2	3	2	7

POWINOWACTWO TIENOWE HEMOGLOBIN EMBRIONALNYCH

W roku 1975 po raz pierwszy Heu h n s i F a r o o q u i [28] opublikowali parametry powinowactwa tlenowego erytrocytów embrionalnych (Hb-Gower 1, Hb-Gower 2). Z danych tych wynika, że powinowactwo tlenowe (p_{50}) tych erytrocytów nie różniło się od wartości p_{50} wyznaczonych dla erytrocytów płodu. Efekt Bohra i wartość n wykładnika Hilla dla badanych erytrocytów okazały się również bardzo podobne tak przy niskim jak i wysokim ciśnieniu parcjalnym tlenu (tab. 3).

T a b e l a 3

Powinowactwo tlenowe erytrocytów embrionalnych
 Oxygen affinity of human embryonic red cells
 L'affinité pour l'oxygène des érythrocytes embryonnaires

Erytrocyty zawieszone w izoton. buforze fosf. o pH 7.13, temp. 37°C [39]	Erytrocyty okresu embrionalnego (mm Hg)	Erytrocyty okresu płodowego (mm Hg)
P ₂₀	13-17	12-16
P ₅₀	25-30	22-27
P ₈₀	38-46	38-46
n	~2,5	~2,6
Erytrocyty w buforze fos- foranowym o pH 7,46		Erytrocyty dojrzałe
P ₂₀	7,5-9,5	9 -10,5
P ₅₀	18 -20	17,5-18
P ₈₀	29 -32	27,5-28
Efekt Bohra $\emptyset$	0,43-0,49	0,42-0,52

Efekt kooperatywności tzw. interakcja hem-hem wyrażony wartością $n > 1$ zachodzi w cząsteczkach hemoglobin pomiędzy parami różnych łańcuchów, np. $\alpha_2 \beta_2$. Interakcji nie stwierdzono natomiast w tetramerach zawierających tylko jeden typ łańcucha, Hb β_4 , Hb γ_4 .

Wyniki pomiarów powinowactwa tlenowego przeczą wcześniejszym sugestiom jakoby Hb-Gower I była tetramerem homologicznym (ϵ_4). Huehns w oparciu o wartości interakcji hem-hem ($n > 1$) zweryfikował poprzednie stanowisko i obecnie uważa, że Hb-Gower I zawiera pary różnych łańcuchów, podobnie jak ma to miejsce w

przypadku Hb-Gower 2. Według Huehnsa uproszczony wzór Hb-Gower 1 poprzez analogię do Hb-Portland 1 jest następujący: $\zeta_2 \epsilon_2$. Nie wyklucza on także istnienie Hb-Gower 1 w formie $\alpha_2 \zeta_2$.

Sugeruje się też, że hemoglobina ta ma budowę $\zeta_2 \beta_2$ [36]. Tak więc dla hemoglobin okresu zarodkowego charakterystyczne byłyby dwa łańcuchy ϵ i ζ . Huehns [28] i Lehmann [33, 34, 37, 58] stoją na stanowisku, że w tym przypadku ζ łańcuch jest odpowiednikiem α łańcucha. Wniosek ten wysuwają z porównania składu aminokwasowego ζ łańcucha ze składem aminokwasowym ludzkich i zwierzęcych α łańcuchów [28, 33, 34]. W oparciu o podobną analizę Melderis, Steinheider, Ostertag [39] stwierdzili, że ludzki α łańcuch wykazuje pokrewieństwo z łańcuchami x hemoglobin niektórych ssaków, np. embrionów myszy i królików.

Embrionalny łańcuch x tych zwierząt w składzie aminokwasowym jest bardzo podobny do ludzkiego ζ łańcucha wyizolowanego z Hb-Portland 1. W obrębie jednego gatunku łańcuchy x i α również wykazują znaczne podobieństwo. Znalezione mniej strukturalnych podobieństw pomiędzy x łańcuchami różnych gatunków zwierząt niż pomiędzy łańcuchami x i α tego samego gatunku.

Dodatkowym argumentem do poparcia tezy, że ζ łańcuch wydaje się być prekursorem α łańcucha to obecność w nim dwupeptydu Tyr-Arg charakterystycznego dla karboksylowego końca α łańcucha [29]. Ponadto procent spiralizacji, identyfikacja reszt aminokwasowych uczestniczących w $\alpha\beta$ -kontaktach [34] i kooperatywne wiązanie tlenu przez Hb-Portland 1 [28, 33, 34] sugerują, że ζ łańcuch pełni funkcję konstytucyjną, podobną jak w późniejszym okresie łańcuch α .

W roku 1976 Black [3] przedstawił diametralnie różną hipotezę. Porównując mapy peptydowe ζ i γ łańcuchów stwierdził istnienie 46 różnic na 131 porównywanych aminokwasów. Porównanie sekwencji łańcuchów ζ i α przynosi 47 różnic na 135 porównywanych reszt. Sugeruje to, że ζ łańcuch jest bardziej spokrewniony z γ łańcuchem.

Te przeciwstawne sobie hipotezy wynikają z niedostatku danych eksperymentalnych dotyczących sekwencji obu łańcuchów.

HEMOGLOBINY PŁODOWE I DOJRZAŁE

Drogą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym wykazano istnienie dwóch frakcji hemoglobiny płodowej HbF i HbF₁ [54].

Różnica między tymi białkami uwarunkowana jest istnieniem dwóch typów łańcucha γ . HbF zbudowana jest z pary łańcuchów α i pary łańcuchów γ ($\alpha_2 \gamma_2$). HbF₁ zbudowana jest natomiast z pary łańcuchów α , łańcucha γ i drugiego acetylowanego od końca aminowego łańcucha γ ($\alpha_2 \gamma \gamma^{\text{acetyl}}$) [51].

HbF₁ stanowi ok. 10% ogólnej ilości hemoglobin płodowych. U noworodka ilość HbF zmniejsza się, a w trzecim-szóstym miesiącu po urodzeniu jest jej mniej niż 0,4% [54]. Niezależnie od polimorfizmu zależnego od acetylacji stwierdzono występowanie dwóch form HbF różniących się substytucją aminokwasu w 136 pozycji w łańcuchu γ . W pozycji tej występować może glicyna bądź alanina [17, 52, 53], co zapisujemy $\alpha_2^{\text{Ala}} \gamma_2$ lub $\alpha_2^{\text{Gly}} \gamma_2$.

Synteza łańcuchów γ poprzedza syntezę łańcuchów α . Tak więc w okresie płodowym stosunek łańcuchów γ do łańcuchów α wynosi jak 3:1. Wartości te pozostają niezmienione przez cały okres trwania ciąży [40].

U noworodków następuje liniowy wzrost syntezy łańcuchów α .

We krwi dojrzałego człowieka dominuje hemoglobina HbA ($\alpha_2 \beta_2$). Ponadto u osób dorosłych stwierdzono istnienie w niewielkim stężeniu frakcji HbA₂ i HbA₃. Tak np. HbA₃ stanowi ok. 10-15% ogólnej ilości hemoglobin i wydaje się być kompleksem HbA₁ z glutationem [30, 53]. W oparciu o chromatografię kolumnową i elektroforezę na żelu poliakrylamidowym C l e g g i S c h r o e d e r oraz S h e n c k i S c h r o e d e r w hemolizacie dorosłego człowieka zidentyfikowali szereg innych jeszcze hemoglobin takich jak: A_{1a}, A_{1b}, A_{1c}, A_{1d}, A_{1e} [10, 50]. HbA_{1c} stanowi ok. 5% ogólnej ilości hemoglobin. Białko to zawiera dwa łańcuchy α oraz obok łańcucha β drugi łańcuch β , w którym do N-końca przyłączona jest nie zidentyfikowana heksoza [4, 6, 19].

Budowa i sekwencja łańcuchów polipeptydowych hemoglobin HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1d}, HbA_{1e} nie została jeszcze ustalona. Nie uwarunkowana genetycznie HbA_{1b} powstaje prawdopodobnie w okresie post-

-translacyjnym i stanowi 0,5-1,0% ogólnej ilości HbA. W oparciu o strukturalne dane oraz wartości powinowactwa tlenowego i efektu Bohra wysnuto hipotezę, że HbA_{1b} jest asymetrycznym hybrydem z jednym tylko β łańcuchem chemicznie zmodyfikowanym, co wpływa na zakłócenia w kontaktach międzyłańcuchowych [35].

Tabela 4

Fizjologiczne hemoglobiny człowieka i ich procentowa zawartość
na poszczególnych etapach ludzkiego rozwoju

Percentage of physiological human hemoglobins on separate stages
of onthogenesis

Pourcentage des hémoglobines humaines physiologiques pendant
l'ontogénese

Zarodek		Płód		Osobnik dojrzały	
Rodzaj Hb	%	Rodzaj Hb	%	Rodzaj Hb	%
Hb Gower 1 ($\epsilon_2 \zeta_2$)	1,0-42,0	HbF ($\alpha_2 \gamma_2$)	90,0-60,0	HbF ($\alpha_2 \gamma_2$)	60,0 [*] -2,0
Hb Gower 2 ($\alpha_2 \epsilon_2$)	0,5-24,0	HbA ($\alpha_2 \beta_2$)	10,0-40,0	HbF ₁ ($\alpha_2 \gamma_2$ acetyl)	10,0 [*] -0,4
Hb Portland ($\gamma_2 \zeta_2$)	?	Hb Bart's (γ_4)	?	HbA ₂ ($\alpha_2 \delta_2$)	0,2 [*] -2,5
HbF ($\alpha_2 \gamma_2$)	20,0-50,0	Hb Portland ($\gamma_2 \zeta_2$)	?	HbA ₃	10
HbA ($\alpha_2 \beta_2$)	ok. 10			Hb Portland ($\gamma_2 \zeta_2$)	?
Hb Bart's (γ_4)	?			HbA ₁ ($\alpha_2 \beta_2$)	40,0 [*] -80,0
				HbA _{1a}	ilość śladowa
				HbA _{1b}	0,5-1,0
				HbA _{1c}	5,0
				HbA _{1d}	?
				HbA _{1e}	?

* Procentowa zawartość poszczególnych hemoglobin u noworodka.

Reasumując w tab. 4 zgrupowano dotychczas poznane fizjologiczne hemoglobiny człowieka okresu zarodkowego, płodowego i dojrzalego. Pomimo licznych badań wiele pytań dotyczących niektórych z tych hemoglobin (ilość, rodzaj podjednostek, skład aminokwasowy, powinowactwo tlenowe) pozostaje nadal nie wyjaśnionych.

ROZWÓJ KRWINKI CZERWONEJ I WPŁYW MIEJSCA ERYTROPOEZY
NA RODZAJ SYNTETYZOWANEJ HEMOGLOBINY

W rozwoju krwinek czerwonych, jak powszechnie wiadomo, wyróżnia się dwa typy erytropoezy: megaloblastyczną i normoblastyczną. W czasie trwania erytropoezy megaloblastycznej krwinki tworzą się w mezenchymie ciała żółtego [61]. Komórka najmłodszego stadium rozwojowego generacji megaloblastycznej nosi nazwę megaloblastu. Jest to komórka duża o pyknotycznym jądrze zawierającym jąderka.

Pierwsze komórki krwi produkowane przez ciało żółte zawierające hemoglobinę, pojawiają się już w drugim tygodniu ciąży [63]. W około piątym tygodniu ciąży ilość megaloblastów ulega zmniejszeniu i zanikają one w płodowym krążeniu po upływie około dwunastu tygodni ciąży [63]. W tym też okresie funkcje tworzenia krwinek przejmują kształtujące się w tym samym czasie narządy głównie wątroba.

W toku erytropoezy wątrobowej, produkowane są bezjądrzaste makrocyty, których rozmiar zmniejsza się w przebiegu ciąży.

Rola śledziony w procesie krwiotwórczym jest mniejsza, a pewną rolę w tym procesie przypisuje się także grasicy [31].

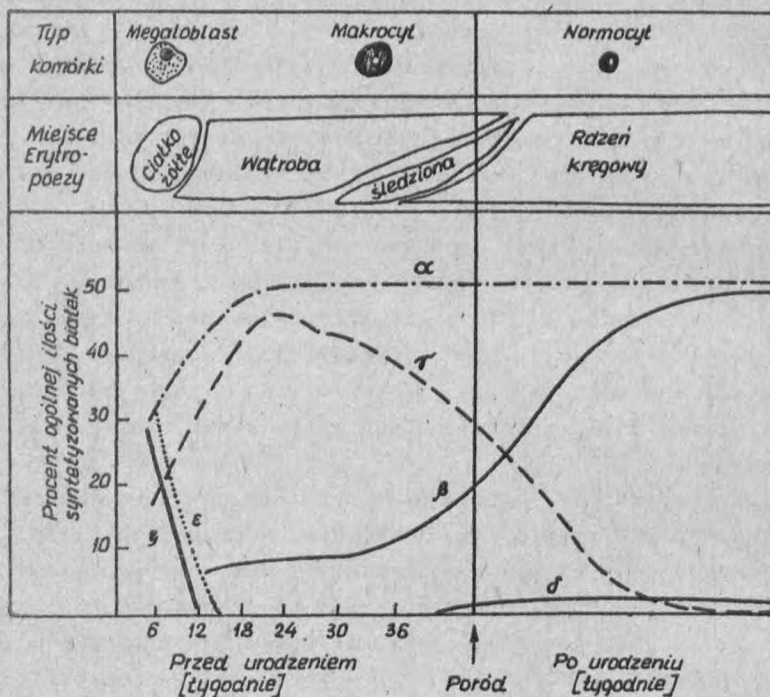
W okresie wątrobowym pojawia się także erytropoeza normoblastyczna powstająca z rozrzuconych w wątrobie niezróżnicowanych komórek mezenchymy. Erytropoeza megaloblastyczna przechodzi stopniowo w normoblastyczną, tak że przez pewien okres czasu występują obie równolegle.

Czynność krwiotwórcza szpiku kostnego rozpoczyna okres pozawątrobowy, rozpoczynający się mniej więcej od szóstego miesiąca życia płodowego. Szpik kostny zaczyna tworzyć się w trzecim miesiącu życia płodowego, głównie w kościach płaskich.

Początkowo powstają w nim krwinki białe, podczas gdy w wą-

trobie w przeważającej większości krwinki czerwone. W początkowym okresie syntezy produkowane są krwinki erytropoezy megaloblastycznej. W końcowym okresie życia płodowego i w życiu pozapłodowym szpik kostny wytwarza w warunkach prawidłowych krwinki czerwone erytropoezy normoblastycznej.

U myszy erytropoeza ciała żółtego i wątroby płodu jest pod kontrolą erytropoetyny [63]. W okresie ludzkiego życia płodowego maksimum działania erytropoetyny przypada na drugi trymestr [21]. Znaczne ilości erytropoetyny zostały znalezione w surowicy krwi łożyska.



Rys. 3. Zmiana typów komórek i miejsc erytropoezy oraz rodzajów łańcuchów podczas ludzkiego rozwoju [63]

Changes in erythroid cell type, site of erythropoiesis and globin-chain synthesis during human development [63]

Changements des types des cellules, sites d'érythropoïèse ainsi que des genres des chaînes pendant le développement de l'homme [63]

Wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach wskazują, że produkcja erytropoetyny płodowej pozostaje pod kontrolą płodu i nie jest zależna od poziomu hormonów matki. Prawdopodobnie źródłem płodowej erytropoetyny jest wątroba i śledziona, a nie nerka, tak jak ma to miejsce u osobników dojrzałych [64]. Różnice w budowie i funkcji erytropoetyny płodowej i dojrzałej nie zostały jeszcze ustalone.

Opisane wyżej zmiany erytropoezy oraz zmiany polegające na zastąpieniu hemoglobin embrionalnych hemoglobinami płodowymi a później hemoglobinami dojrzałymi wykazują znaczne podobieństwo, co sugeruje ściśle powiązanie tych dwóch procesów (rys. 3).

Wydaje się, że obecność hemoglobin embrionalnych (Gower 1 i 2, Portland 1) ograniczona jest do megaloblastów powstałych z ciała żółtego, co wykazano u myszy i innych gryzoni [63]. U owiec i bydła (hemoglobiny tych zwierząt są bardzo podobne do ludzkich) na bardzo wczesnych etapach rozwoju embrionalnego produkowane są wyłącznie hemoglobiny embrionalne. Wskazuje to na fakt korelacji procesu erytropoezy ciała żółtego i syntezy hemoglobin embrionalnych.

W roku 1960 po raz pierwszy wykazano, że synteza HbF i HbA nie jest związana z określonymi miejscami erytropoezy [56]. W komórkach 9- 17-tygodniowych płodów syntetyzowane były obydwie hemoglobiny. Makrocyty pojawiające się w toku erytropoezy wątrobowej zawierają zarówno HbF jak i HbA. Jak wykazano, w komórkach czerwonych 13- 34-tygodniowych ludzkich płodów syntetyzowanych przez erytroidalne komórki wątroby, śledziony lub rdzenia kręgowego względne stosunki HbF i HbA nie różniły się [62]. W końcowym okresie życia płodowego i w życiu pozapłodowym po przejściu erytropoezy megaloblastycznej na tor normoblastyczny w komórkach erytroidalnych szpiku kostnego pojawiają się wyłącznie dojrzałe formy hemoglobin.

LITERATURA

- [1] Bard H., Makowski E. L., Meschia G., Battaglia F. C., "Pediatrics" 45, 766-772 (1970).
- [2] Basch R. S., "Blood" 39, 530-541 (1972).

- [3] Black J. A., "Nature" 261, 348-349 (1976).
- [4] Bookchin R. M., Gallop P. M., Biochem. Biophys. Res. Commun. 32, 86-93 (1968).
- [5] Braunitzer, "Nature" 190, 480-482 (1961).
- [6] Bunn H. F., Haney D. N., Gabby K. H., Gallop P. M., Biochem. Biophys. Res. Commun. 67, 103-109 (1975).
- [7] Butler E. A., Flynn F. V., Huehns E. R., Clin. Chim. Acta, 5, 571-579 (1960).
- [8] Capp G. L., Rigas D. A., Jones R. T., "Science", 157, 65-66 (1967).
- [9] Capp G. L., Rigas D. A., Jones R. T., "Nature" 228, 278-280 (1970).
- [10] Clegg M. D., Schroeder W. A., J. Am. Chem. Soc. 81, 6065-6069 (1959).
- [11] Cook C. D., Brodie H. R., Allen D. W., "Pediatrics" 20, 272-278 (1957).
- [12] Drescher H., Künzer W., Klin. Wschr. 32, 92-96 (1954).
- [13] Gammach D. B., Huehns E. R., Shooter E. M., Gerald P. S., J. Mol. Biol. 2, 372-378 (1960).
- [14] Gondko R., Post. Biochem. 18, 323-336 (1972).
- [15] Gondko R., Alikhan M. A., Leyko W., Zesz. Nauk. UŁ, S. II 19, 279-331 (1976).
- [16] Halbrecht I., Klibański Ch., "Nature" 178, 794-795 (1956).
- [17] Hamlyn P., "Nature" 263, 193-193 (1976).
- [18] Hecht F., Motulsky A. G., Lemire R. J., Shepard T. E., "Science" 152, 91-92 (1966).
- [19] Helmquist W. R., Schroeder W. A., "Biochemia" 5, 2489-2490 (1966).
- [20] Hollenberg M. D., Kaback M. M., Kazazian H. H., "Science" 174, 698-702 (1971).
- [21] Huehns E. R., Shooter E. M., Dance N., Beaven G. H., Shooter K. V., "Nature" 192, 1057-1059 (1961).
- [22] Huehns E. R., Flynn F. V., Butler E. A., Beaven G. H., "Nature" 189, 496-497 (1961).
- [23] Huehns E. R., Hecht F., Keil J. V., Motulsky A. G., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 51, 89-97 (1964).
- [24] Huehns E. R., Dance N., Beaven G. H., Keil J. V., Hecht F., Motulsky A. G., "Nature" 201, 1095-1097 (1964).

- [25] Huehns E. R., Shooter E. M., J. Med. Genet. 2, 48-90 (1965).
- [26] Huehns E. R., Bellingham, "Nature" 218, 924-926 (1968).
- [27] Huehns E. R., Beaven G. H., Clin. Dev. Med. 37, 175-203 (1971).
- [28] Huehns E. R., Farooqui A. M., "Nature" 254, 335-337 (1975).
- [29] Huisman T. H. J., Drinkwaard J., Biochem. Biophys. Acta 18, 588-588 (1955).
- [30] Huisman T. H. J., Horton B. F., J. Chromatog. 18, 116-123 (1965).
- [31] Ingram V. M., "Nature" 235, 338-339 (1972).
- [32] Kaltsoya A., Fessas P., Stavropoulos A., "Science" 153, 1417-1417 (1966).
- [33] Kamuzora H., Lehmann H., Jones R. T., FEBS Lett. 46, 390-391 (1974).
- [34] Kamuzora H., Lehmann H., "Nature" 256, 511-513 (1975).
- [35] Krishnamoorthy R., Gacon G., Labie D., FEBS Lett. 77, 99-102 (1977).
- [36] Kwiatkowska J., Post. Biochem. 14, 27-47 (1968).
- [37] Lehmann H., Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 68, 92-95 (1974).
- [38] Matsuda G., Schroeder W. A., Jones R. T., Weliky N., "Blood" 16, 984-996 (1960).
- [39] Melderis H., Steinheider G., Oster tag W., "Nature" 250, 774-775 (1974).
- [40] Nute P. E., Pataryas H. A., Stamatoyannopoulos G., Am. J. Hum. Genet. 25, 271-276 (1973).
- [41] Poulik M. D., "Nature" 180, 1477-1479 (1957).
- [42] Pawlak A. L., Post. Biochem. 16, 221-229 (1970).
- [43] Pawlak A. L., Post. Biochem. 23, 417-443 (1977).
- [44] Perutz M. F., J. Mol. Biol. 1, 402-404 (1959).
- [45] Perutz M. F., "Nature" 185, 416-422 (1960).
- [46] Perutz M. F., Sci. Amer. 211, 64-76 (1964).
- [47] Raper A. B., Gammach D. B., Huehns E. R., Shooter E. M., Brit. Med. J. 5208, 1257-1261 (1960).
- [48] Rossi-Fanelli A., Caputo A., Biochim. Biophys. Acta 30, 608-615 (1958).
- [49] Rossi-Fanelli A., Caputo A., Biochim. Biophys. Acta 35, 93-101 (1959).

- [50] Schenk A. G., Schroeder W. A., J. Am. Chem. Soc. 83, 1472-1478 (1961).
- [51] Schroeder W. A., Cua J. T., Matsuda G., Fenninger W. D., Biochim. Biophys. Acta 63, 532-534 (1962).
- [52] Schroeder W. A., Shelton J. R., Shelton J. B., Cormick J., Jones R. T., "Biochemia" 2, 992-1008 (1963).
- [53] Schroeder W. A., Huisman T. H. J., Shelton J. R., Shelton J. B., Kleihauer E. F., Dozy A. M., Robberson B., Proc. Natl. Acad. Sci USA 60, 537-544 (1968).
- [54] Stegink L. D., Meyer P. D., Chalkley R., Anal. Biochem. 41, 351-359 (1971).
- [55] Szeleneyi J. G., Hollan S. R., Acta Biochem. Biophys. Acad. Sci Hung. 4, 47-55 (1969).
- [56] Thomas E. D., Lochte H. L., Greenough W. B., Wales M., "Nature" 185, 396-397 (1960).
- [57] Tood, Lai, Beaven G. H., Huehns E. R., Brit. J. Haemat. 19, 27-31 (1970).
- [58] Tuchinda S., Nagai K., Lehmann H., FEBS Lett. 46, 195-199 (1974).
- [59] Weatherall D. J., Clegg J. B., Wong H. B., Brit. J. Haemat. 18, 357-367 (1970).
- [60] White J. C., Beaven G. H., Br. Med. Bull. 15, 33-39 (1959).
- [61] Wilt F. H., "Science" 147, 1588-1590 (1965).
- [62] Wood W. G., Weatherall D. J., "Nature" 244, 162-165 (1973).
- [63] Wood W. G., Br. Med. Bull. 32, 282-287 (1976).
- [64] Zanjani E. D., Peterson E. N., Gordon A. S., Wasserman L. R., J. Lab. Clin. Med. 83, 281-287 (1974).
- [65] Zilliacus H., "Nature" 188, 1202-1203 (1960).

Justyna Hryniewicz, Roman Gondko

HUMAN EMBRYONIC HEMOGLOBINS

There are a lot of contrary opinions concerning the number and structure of embryo hemoglobins. The aim of this paper is to gather the recent works on this subjects.

On the base of numerous papers published in the last years it has been assumed that in human ontogenesis there are different embryo hemoglobins: Hb Gower 1, Hb Gower 2, Hb Portland, two kinds of foetal hemoglobins and three kinds of adult hemoglobins. The number, chemical structure and physicochemical properties have been demonstrated together with oxygen-affinity especially concerning human embryonic hemoglobins.

The development of red cells has been presented together with relation between the site of erythropoiesis and different kinds of synthesised hemoglobins.

Justyna Hryniewicz, Roman Gondko

HÉMOGLOBINES HUMAINES EMBRYONNAIRES

A cause de la diversité des données concernant le nombre et la structure d'hémoglobines embryonnaires on a effectué dans ce travail la revue des publications les plus nouvelles sur ce sujet.

Au vertu des informations publiées dernièrement on a constaté que pendant l'ontogénèse de l'homme on trouve d'hémoglobines embryonnaires suivantes: Hb Gower 1, Hb Gower 2, Hb Portland, deux genres d'hémoglobines fœtales HbF et HbF₁ et trois genres d'hémoglobines normales. On a discuté la quantité, la structure et les propriétés physico-chimiques (connus jusqu'à présent) des particuliers genres d'hémoglobines, ainsi que leur affinité pour l'oxygène, surtout dans le cas d'hémoglobines embryonnaires.

On a présenté aussi le développement d'érythrocyte et la dépendance entre le genre de l'hémoglobine synthétisée et la lieu d'érythropoïèse.