

Received: 2016.01.18
Accepted: 2016.06.02
Published: 2016.10.06

Czy mutacje w genie kodującym czynnik transkrypcyjny EKLF (Erythroid Krüppel-Like Factor) mogą chronić nas przed chorobami zakaźnymi i pasożytniczymi?*

Can mutations in the gene encoding transcription factor EKLF (Erythroid Krüppel-Like Factor) protect us against infectious and parasitic diseases?

Krzysztof Mikołajczyk^{1,2}, Radosław Kaczmarek¹, Marcin Czerwiński^{1,3}

¹Laboratorium Immunochemii Glikokoniugatów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

²Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, Opole

³Wydział Wychowania Fizycznego i Fizjoterapii, Politechnika Opolska, Opole

Streszczenie

Czynnik transkrypcyjny EKLF (Erythroid Krüppel-Like Factor) należy do grupy czynników Krüppel-podobnych, które regulują proliferację, różnicowanie, rozwój i apoptozę komórek w organizmach ssaków. Czynnik EKLF występuje w komórkach erytroidalnych i bierze udział m.in. w regulacji procesu hematopoezy, ekspresji genów kodujących enzymy szlaku biosyntezy hemu i białka transmembranowe (w tym antygeny grupowe krwi) oraz w procesie obniżania ekspresji γ -globin i aktywacji genu β -globiny. Zbudowany jest z dwóch domen: bogatej w prolinę domeny transaktywacyjnej oraz domeny wiążącej DNA, która zawiera motyw trzech palców cynkowych. EKLF może działać jako aktywator transkrypcji (przykładem jest gen β -globiny) oraz represor transkrypcyjny, co zależy od rodzaju modyfikacji potranslacyjnej jakiej został poddany (fosforylacja, SUMO-ylacja, ubikwitynacja i acetylacja). Mutacje w genie kodującym EKLF mogą powodować m.in. hemoglobinopatie, takie jak wrodzona trwałość hemoglobiny płodowej i β -talasemia intermedia oraz zaburzenie hematopoetyczne, jakim jest wrodzona anemia dyserytropoetyczna typu IV. Zmiany te mogą utrudniać wnikanie zarodźców malarii do wnętrza erytrocytów oraz powodować szybsze usuwanie krwinek zajętych przez merozoity. Ponadto, mutacje w genie KLF1 są odpowiedzialne za obniżenie liczby antygenów grupowych krwi na powierzchni komórek (należących m.in. do układów grupowych: MN, P1PK, Lutheran, Duffy, Diego i Ok). Antygeny te mogą być receptorami dla pierwotniaków (np. zarodźce malarii: *Plasmodium falciparum* i *Plasmodium vivax*), bakterii (np. uropatogenne szczepy *E.coli*, *Neisseria meningitidis*) i toksyn (np. toksyny Shiga). Patogeny te są przyczyną wielu groźnych dla zdrowia i życia człowieka chorób, takich jak malaria, odmiedniczkowe zapalenie nerek, krwotoczne zapalenie okrężnicy, zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS) i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. W niniejszej pracy przedstawiamy hipotezę na temat możliwych związków między mutacjami w genie kodującym EKLF i opornością na patogeny.

Słowa kluczowe: EKLF • układy grupowe krwi • patogeny • oporność • malaria

*Praca została przygotowana w ramach projektu grantowego Opus DEC-2014/13/B/NZ6/00227 z Narodowego Centrum Nauki.

Summary

Transcription factor EKLF (Erythroid Krüppel-Like Factor) belongs to the group of Krüppel-like factors, which regulate proliferation, differentiation, development and apoptosis of mammalian cells. EKLF factor is present in erythroid cells, where it participates in regulation of hematopoiesis, expression of genes encoding transmembrane proteins (including blood group antigens), and heme biosynthesis enzymes. It is also a key factor in downregulation of γ -globins and activation of β -globin gene expression. The EKLF factor consists of two domains: proline-rich transactivation domain and DNA-binding domain containing three zinc finger motifs, which recognize DNA. EKLF can act as a transcription activator (for example in the case of β -globin gene) or repressor, which depends on the type of posttranslational modification (phosphorylation, SUMOylation, ubiquitination and acetylation). Mutations in the gene encoding EKLF may cause hemoglobinopathies, such as hereditary persistence of fetal hemoglobin and β -thalassemia intermedia, and congenital dyserythropoietic anemia type IV, which is a hematopoietic disorder. These changes may impede invasion of red blood cells by malaria merozoites and cause faster removal of invaded erythrocytes. In addition, mutations in KLF1 may decrease the number of erythrocyte surface antigens that belong to blood group systems such as MN, P1PK, Lutheran, Duffy, Diego and OK. Such antigens can be receptors for protozoans (such as *Plasmodium falciparum* or *Plasmodium vivax*), bacteria (like uropathogenic strains of *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*), and toxins (Shiga toxins), which may cause several dangerous diseases including malaria, pyelonephritis, hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome (HUS) and meningitis. Here, we propose a hypothesis on possible liaisons between mutations in the gene encoding EKLF and resistance to pathogens.

Keywords: EKLF • blood groups • pathogens • resistance • malaria

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1221384>

Word count: 4753

Tables: 1

Figures: 4

References: 104

Adres autora: dr hab. Marcin Czerwiński, prof. PAN, Laboratorium Immunochemii Glikokoniugatów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: czerwins@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów:

AHSP – białko szaperonowe (α -Hemoglobin Stabilizing Protein); **BCAM** – cząsteczka adhezyjna (Basal cell adhesion molecule); **Bcl11a** – represor genu γ -globiny (B-cell CLL/lymphoma 11A); **CDA** – wrodzona anemia dyserytropoetyczna (Congenital Dyserythropoietic Anemia); **CR1** – receptor dla dopełniacza (Complement receptor 1); **EHEC** – enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli*; **EKLF** – czynnik transkrypcyjny EKLF (Erythroid Krüppel-like factor); **GATA1** – czynnik transkrypcyjny GATA1 (GATA binding protein 1); **GLUT1** – transporter glukozy; **HDAC1** – deacetylaza histonowa; **HIRA** – białko HIRA (Histone cell cycle regulator); **HPFH** – wrodzona trwałość hemoglobiny płodowej (Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin); **ICAM1** – cząsteczka adhezyjna (Intercellular Adhesion Molecule 1); **ICAM4** – cząsteczka adhezyjna (Intercellular adhesion molecule 4); **In(Lu)** – fenotyp In(Lu) (Inhibitor of Lutheran); **MCV** – średnia objętość krwinki czerwonej (Mean corpuscular volume); **MCH** – średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej (Mean corpuscular hemoglobin); **NSHA** – wrodzona anemia hemolityczna (Non-spherocytic hemolytic anemia); **PfEMP** – białko powierzchniowe na erytrocytach zajętych przez *Plasmodium falciparum* (*Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein-1); **PfRH5** – białko powierzchniowe *Plasmodium falciparum* (Reticulocyte-binding protein 5); **PK** – kinaza pirogronianowa; **RdCVF** – rod-derived cone viability factor; **Sin3A** – korepresor czynnika EKLF (SIN3 transcription regulator family member A); **STEC** – szczepy *Escherichia coli* wytwarzające toksynę Shiga (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*); **VTEC** – szczepy *Escherichia coli* wytwarzające werotoksynę (Verotoxin-producing *Escherichia coli*); **ZnPP** – protoporfiryna cynkowa

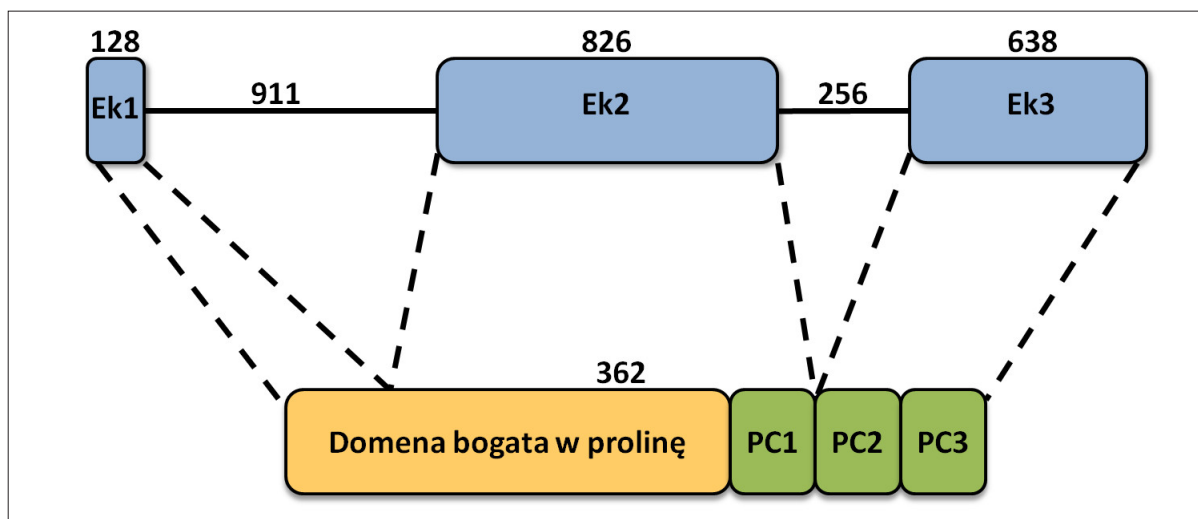
WSTĘP

Erythroid Krüppel-like factor (EKLF/KLF1), kodowany przez gen KLF1, należy do grupy Krüppel-podobnych czynników transkrypcyjnych (obecnie wyróżnia się ich 17). Wykazują homologię do białka Krüppel, które opisano w wywilżni karłowatej (*Drosophila melanogaster*), u której odpowiada za prawidłowy rozwój zarodka [57,75]. U ssaków lokalizacja ekspresji genu kodującego czynnik EKLF zmienia się w czasie rozwoju ontogenetycznego: zaczyna się w pęcherzyku żółtkowym zarodka, następnie jej największą aktywność obserwuje się w wątrobie płodu, a po narodzinach jest umiejscowiona w szpiku kostnym oraz miazdce czerwonej śledziony. Białko EKLF składa się z 362 reszt aminokwasowych [56] i zawiera dwie domeny: N-kończową bogatą w prolinę domenę transaktywacyjną oraz C-kończową domenę wiążącą DNA z motywem trzech palców cynkowych typu C_2H_2 , która rozpoznaje sekwencję 5'-CCM CRC CCN-3' (gdzie M: A/C, R: A/G i N: A/C/G/T) [75]. Czynnik ten reguluje ekspresję genów, w skład których wchodzi wymieniona sekwencja, a także takich, które zawierają kasety CACC lub motywy bogate w pary GC (stąd duże podobieństwo swoistości EKLF do czynnika transkrypcyjnego Sp1) [38]. Gen KLF1 ma długość około 3 kpz i składa się z trzech eksonów oraz dwóch intronów (ryc. 1) [8]. EKLF bierze udział w regulacji ekspresji wielu genów, które kodują białka występujące w komórkach erytroidalnych na różnych etapach rozwoju (ryc. 2). Może być aktywatorem transkrypcji m.in. dla ludzkiego genu β -globiny, a także działać jako represor transkrypcyjny przez oddziaływanie z korepresorami, jakimi są Sin3A i HDAC1 [38,76]. Białka kodowane przez geny, których ekspresja zależy od czynnika EKLF można podzielić na 7 grup: (1) białka transmembranowe, w tym antygeny grupowe krwi, (2) białka regulujące cykl komórkowy i/lub mitozę, (3) białka cytoszkieletu, (4) białka zaangażo-

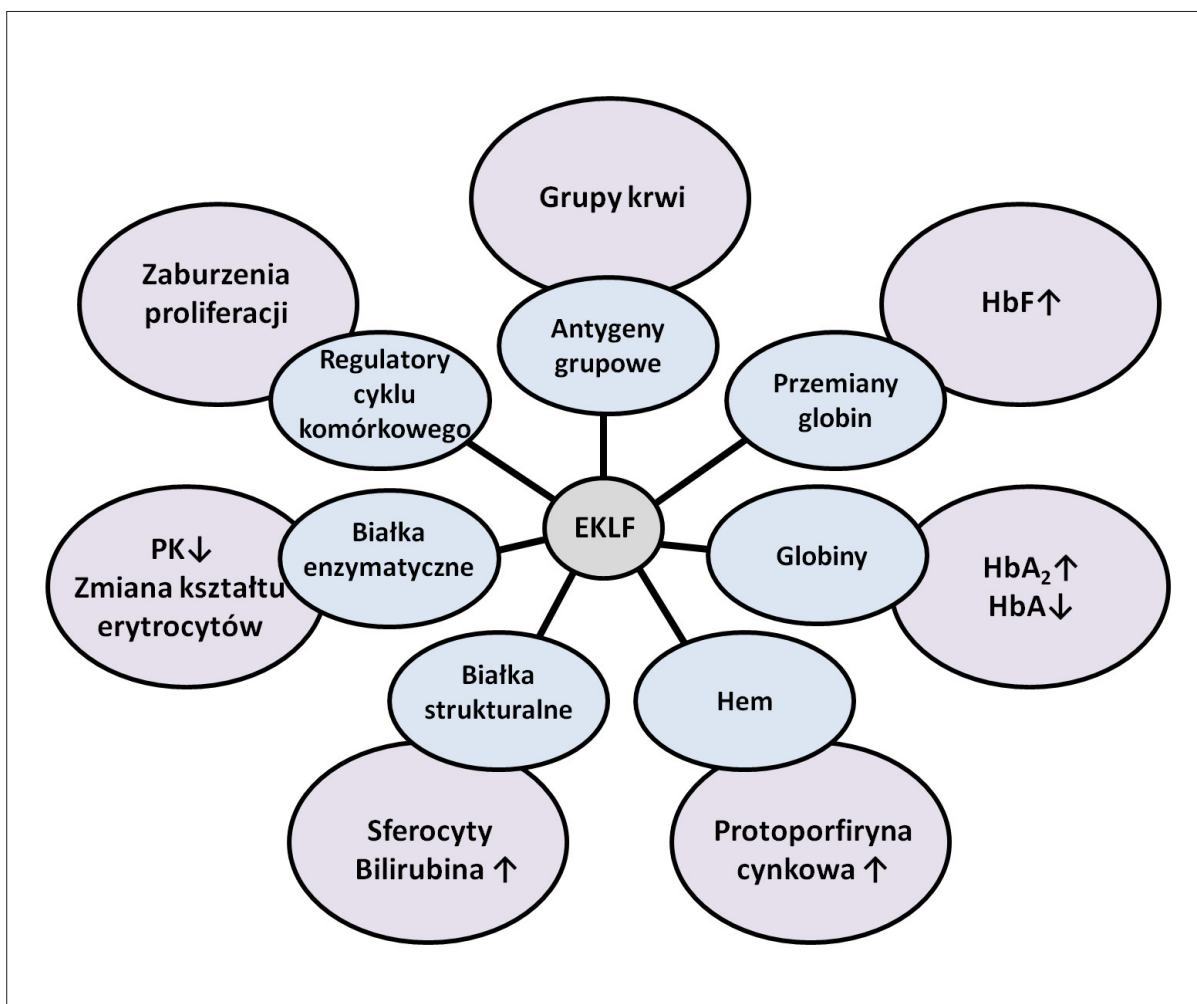
wane w przemiany hemu i globin, (5) cytoplazmatyczne cząsteczki sygnałowe (6) czynniki transkrypcyjne i inne białka jądrowe oraz (7) inne białka, niesklasyfikowane do żadnej z sześciu wyżej wymienionych grup [53]. EKLF może podlegać modyfikacjom potranslacyjnym, takim jak fosforylacja, SUMO-ilacja, ubikwitynacja i acetylacja, które zmieniają jego zdolność do oddziaływania z czynnikami remodelującymi chromatinę [79].

MUTACJE GENU KLF1 I ICH WPŁYW NA ORGANIZM CZŁOWIEKA

W genie KLF1 znanych jest obecnie 109 mutacji (tab. 1), które mogą powodować zaburzenia, takie jak hemoglobinopatie (zalicza się do nich wrodzoną trwałość hemoglobiny płodowej w skrócie HPFH i β -talasemię intermedia), wrodzoną anemię dyserytropoetyczną typu IV (CDA IV) oraz ciężką wrodzoną anemię hemolityczną (NSHA). W zależności od fenotypu, mutacje można podzielić na cztery klasy, które przedstawiono w tabeli 2. Osoby ze zmutowanym genem KLF1 mogą mieć obniżone wartości dwóch wskaźników opisujących erytrocyty: MCV (średnia objętość krwinki czerwonej) oraz MCH (średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej), jednak w większości przypadków mieszczą się w zakresie prawidłowym [67]. Mutacje w KLF1 mogą również powodować obniżenie liczby antygenów grupowych krwi na powierzchni erytrocytów, czyli pojawienie się fenotypu In(Lu) (Inhibitor of Lutheran). Pojawia się skutek haploinsuficencji genu KLF1, czyli sytuacji, kiedy jeden prawidłowy allel KLF1 w komórce diploidalnej nie wystarcza, aby wykazywała prawidłowy fenotyp. U osób z fenotypem In(Lu) zaobserwowano zmniejszenie liczby antygenów grupowych Lutheran, a także innych, należących do układów: MN (glikoforyna A), P1PK, Duffy, Diego, Scianna, Colton, Indian i Ok [23]. Mutacje klasy 1, 2 i 3 powodują fenotyp In(Lu), a za rozwój HPFH (także będący skutkiem haploinsuficencji genu KLF1) są odpowiedzialne mutacje klasy 2



Ryc. 1. Schemat budowy genu KLF1 oraz kodowanego przez niego białka EKLF. Gen KLF1 składa się z trzech eksonów (Ek1 - Ek3) i dwóch intronów (nad każdym z elementów podano długość w pz). Białko EKLF jest zbudowane z domeny bogatej w prolinę oraz trzech palców cynkowych (oznaczonych symbolami PC1-PC3). Nad schematem genu podano liczbę par zasad, a nad schematem białka liczbę reszt aminokwasowych.



Ryc. 2. Białka erytroidalne regulowane przez czynnik EKLK oraz skutki zaburzeń ich ekspresji. HbA i HbA₂ - prawidłowe hemoglobiny dorosłych; HbF - hemoglobina płodowa; PK - kinaza pirogronianowa (wg [67] zmodyfikowano)

i 3. U osób z wrodzoną anemią dyserytropoetyczną typu IV wykryto jedną charakterystyczną mutację zmiany sensu, którą zakwalifikowano do klasy 4. Ponadto, mutacje klasy 2 i 3 mogą mieć wpływ na rozwój β -talasemii intermedia, a także wzrost stężenia hemoglobiny HbA₂ ($\alpha 2\delta 2$) [67,68,97]. Za pojawienie się ciężkiej wrodzonej anemii hemolitycznej (NSHA) również odpowiadają mutacje należące do klasy 2 i 3; charakteryzuje się wzmożoną hemolizą krwinek, której towarzyszy niski poziom haptoglobiny (białko odpowiedzialnego za wychwyt wolnej hemoglobiny we krwi) oraz wzrost poziomu bilirubiny i dehydrogenazy mleczanowej [90,67]. Ponieważ czynnik EKLK reguluje ekspresję genu kodującego kinazę pirogronianową (PK), mutacje w genie KLF1 mogą powodować jej niedobór w erytrocytach. We krwi pojawiają się wtedy krwinki o nieprawidłowej budowie (schistocyty i mikrocyty), a wewnątrz komórek obecne są wtręty cytoplazmatyczne [67]. Z badań przeprowadzonych na myszach wynika, że mutacje całkowicie znoszące funkcje obu alleli KLF1 są letalne. Jak na razie wykryto jeden taki przypadek u ludzi (określony jako fenotyp KLF1 null); było to dziecko, które urodziło się żywe, jednak wykryto

u niego cechy obrzęku uogólnionego płodu (hydrops fetalis), ciężką niedokrwistość, żółtaczkę, porażenie mózgowe oraz podwyższone stężenie hemoglobiny płodowej (HbF, $\alpha 2\gamma 2$). Okazało się, że rodzice byli nosicielami dwóch mutacji w genie KLF1 należących do klasy 3: p.R319E-fsX34 i p.W30X. Nie wiadomo dlaczego dziecko przeżyło; bierze się pod uwagę możliwość „przejęcia” funkcji KLF1 przez inne geny, a także utrzymanie wysokiego stężenia HbF [53,67]. Wykazano również, że EKLK reguluje ekspresję genu kodującego białko szaparonowe AHSP (α Hemoglobin Stabilizing Protein), które wiąże wolne łańcuchy α -globin. Globiny mogą się wytrącać, gdy występują w komórce w dużym stężeniu, przyczyniając się do wzrostu wytwarzania reaktywnych form tlenu. Przypuszcza się, że podwyższony lub obniżony poziom EKLK może odpowiednio zwiększać lub zmniejszać nasilenie objawów β -talasemii intermedia, ponieważ udowodniono rolę AHSP w łagodzeniu objawów tego typu hemoglobinopatii. Rola ta jest szczególnie widoczna u chorych z pięcioma kopiami genu kodującego α -globiny, czyli mających genotyp $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$. [48,59]. Chociaż wiele mutacji genu KLF1 opisano u pojedynczych osób lub rodzin, istnieją dwie

Tabela 1. Mutacje w genie KLF1 (wg [67] zmodyfikowany)

Reszta aminokwasowa	Zmiana sekwencji białka	Klasa mutacji	Zmiana sekwencji nukleotydowej	Liczba opisanych przypadków	SNP	MAF	Źródło
Promotor							
			-251C>G: NC_000019.10:g.12887391G>C		rs3817621	0.325	[103]
			-154C>T: NC_000019.10:g.12887294G>A	11	rs372651309	0.001	[90]
			-149dupC: NC_000019.10:g.12887288_12887289insG		rs552824864		[97]
			-148G>A: NC_000019.10:g.12887288C>T	22	rs79334031	0.016	[60,70]
			-124T>C: NC_000019.10:g.12887274A>G	1			[77]
			-120T>G: NC_000019.10:g.12887242A>C	1	rs548543206	0.000	[67]
			-114C>A: NC_000019.10:g.12887254G>A	1			[67]
5'UTR							
			c.-23_-21delC				[103]
Domena transaktywacyjna							
2	p.A2GfsX14	3	c.4_5insCG		rs150268373		[97]
3	p.T3HfsX24	3	c.6dupC		rs151251208		[97]
5	p.ESK	2	c.13G>A	1	rs483352842	0.001	[50,97]
6	p.T6S	1	c.16A>T	2			[50]
7	p.A7T	1	c.19G>A		rs201164683		dbSNP
14	p.L14P	1	c.41T>C	1			[50]
21	p.P21L	1	c.62C>T		rs559879342	0.000	dbSNP
28	p.L28F	1	c.82C>T		rs375248069		dbSNP
30	p.W30X	3	c.89G>A	2			[53]
30	p.W30X	3	c.90G>A	1			[81]
34	p.E34K	1	c.100G>A		rs368908352		dbSNP
39	p.M39L	1	c.115A>C	11	rs112631212	0.014	[9,67]
51	p.L51R	1	c.152T>G	1			[30]
52	p.H52P	1	c.155A>C		rs541471724	0.000	dbSNP
53	p.V53L	1	c.157G>C		rs143927401	0.000	dbSNP
54	p.K54PfsX9	3	c.159_169delGAAGTCTGAGG	1			[30]
58	p.Q58X	3	c.172C>T	3			[67,90]

cd. Tabela 1. Mutacje w genie KLF1 (wg [67] zmodyfikowany)

Reszta aminokwasowa	Zmiana sekwencji białka	Klasa mutacji	Zmiana sekwencji nukleotydowej	Liczba opisanych przypadków	SNP	MAF	Źródło
79	p.L79F	1	c.235C>T		rs150150802		dbSNP
83	p.S83L	1	c.248C>T		rs374473630		dbSNP
102	p.S102P	1	c.304T>C		rs2072597	0.444	[4,36,60,67,70,103]
104	p.A104V	1	c.311C>T		rs182276666	0.001	[36,67]
104	p.A104GfsX249	3	c.310dupG	1			[36]
109	p.P109S	1	c.325C>T		rs117351327	0.016	dbSNP, [67]
111	p.E111YfsX239	3	c.330_344delinsAGCATAT				[97]
116	p.Y116X	3	c.348T>G				[97]
127	p.L127X	3	c.380T>A	1			[77]
137	p.R137C	1	c.409C>T		rs111888566		dbSNP
143	p.R143W	1	c.427C>T		rs576714319	0.000	dbSNP
157	p.P157A	1	c.469C>G		rs555308232	0.000	dbSNP
158	p.A158T	1	c.472G>A	2			[50]
173	p.P173PfsX64	3	c.517-519delC	1			[80]
174	p.G174C	1	c.520G>T		rs566095433	0.000	dbSNP
174	p.G174RfsX179	3	c.519_520insC	1			[36]
176	p.G176RfsX179	3	c.525_526insCGGCGCC	33	rs483352838		[36,39,51,90,93]
176	p.G176AfsX179	3	c.526_527insCGGCGCC	138			[30,50,85,90,103]
181	p.Y181N	1	c.541T>A		rs547785696	0.001	dbSNP
182	p.F182L	1	c.544T>C		rs2072596	0.050	[60,67,103]
184	p.R184W	1	c.550C>T		rs571697524	0.000	dbSNP
184	p.G184EfsX167	3	c.551-556GGACCG>A	1			[80]
188	p.S188R	1		1			[90]
190	p.P190LfsX47	3	c.569delC	7			[36,77]
191	p.A191V	1	c.572C>T		rs552126408	0.001	dbSNP
197	p.Y197X	3	c.591C>G	1			[36]
210	p.P210R	1	c.629C>G		rs530729436	0.000	dbSNP
213	p.Q213X	3	c.637C>T	2			[80]
217	p.Q217X	3	c.649C>T	1			[67]
222	p.L222SfsX15	3	c.663delG	1			[36]

cd. Tabela 1. Mutacje w genie KLF1 (wg [67] zmodyfikowany)

Reszta aminokwasowa	Zmiana sekwencji białka	Klasa mutacji	Zmiana sekwencji nukleotydowej	Liczba opisanych przypadków	SNP	MAF	Źródło
249	p.G249R	1	c.745G>A		rs201935177	0.000	dbSNP
256	p.G256S	1	c.766G>A		rs141784467		dbSNP
264	p.S264T	1	c.790T>C	1			[50]
268	p.R268X	3	c.802C>T	1			[80]
268	p.R268L	1	c.803G>T		rs199685739	0.001	dbSNP
270	p.S270X	3	c.809C>A	45			[68,73]
270	p.S270W	2	c.809C>G	2	rs558942739	0.000	[50,51]
272	p.A272P	1	c.814G>C		rs540601454	0.000	dbSNP
278	p.A278V	1	c.833C>T		rs372605116		dbSNP
279	p.H279Q	2	c.837C>G				[97]
Palec cynkowy 1							
280	p.T280_H283del	2	c.838_849delACGTGCGGCAC	2			[68, 97]
283	p.H283N	2	c.847G>T		rs371057187		dbSNP
288	p.K288X	3	c.862A>T	11	rs267607202		[9]
288	p.K288E	2	c.862A>G	1			[36]
292	p.K292X	3	c.874A>T	1	rs137852687		[77]
298	p.A298P	2	c.892G>C	26	rs387907598		[39,50,51,67,90, 103]
299	p.H299D	2	c.895C>G	13	rs137852688		[50,51,103]
299	p.H299Y	2	c.895C>T	1	rs137852688		[77]
300	p.L300P	2	c.899T>C	1			[80]
301	p.R301C	2	c.901C>T	1			[30]
301	p.R301H	2	c.902G>A	3			[30,90]
301	p.R301LfsX52	3	c.902insT	1			[80]
302	p.T302AfsX52	3	c.900_903dupGCGC	1			[90]
Miejsce splicingowe							
			c.914-4_914-1del CTAG	1			[30]
			c.913+1G>A	1	rs483352840		[30,50]
„Łącznik” 1							
306	p.E306RfsX	3	c.916delG		rs35891202		[94]
310	p.A310P	2	c.928G>C		rs145551738		dbSNP

cd. Tabela 1. Mutacje w genie KLF1 (wg [67] zmodyfikowano)

Reszta aminokwasowa	Zmiana sekwencji białka	Klasa mutacji	Zmiana sekwencji nukleotydowej	Liczba opisanych przypadków	SNP	MAF	Źródło
Palec cynkowy 2							
313	p.W313C	2	c.939G>T	1			[30]
316	p.C316Y	2	c.947G>A	10			[62]
316	p.C316X	3	c.948C>A		rs572756401	0.000	dbSNP
319	p.R319EfsX34	3	c.954dupG	15	rs397514445		[36,53,68,77]
322	p.R322S	2	c.964C>A	1	rs376711350		dbSNP, [67]
323	p.S323W	2	c.968C>G	1			[80]
325	p.E325K	4	c.973G>A	6	rs267607201		[4, 41, 67]
326	p.L326R	2	c.977T>G	2	rs397514634		[36,68]
327	p.T327S	2	c.979A>T	1			[68]
327	p.T327S	2	c.980C>G	1			[68]
328	p.R328AfsX31	3	c.982delC	1			[51]
328	p.R328L	2	c.983G>T	2			[30,77]
328	p.R328H	2	c.983G>A	4	rs140252918		[30,77,85]
329	p.H329R	2	c.986A>G				[97]
331	p.R331G	2	c.991C>G	1			[77]
331	p.R331W	2	c.991C>T	3			[90]
332	p.K332Q	2	c.994A>C	5			[68,73]
„łącznik” 2							
334	p.T334K	2	c.1001C>A	1			[30]
334	p.T334R	2	c.1001C>G	17	rs483352841		[30,50,51,67,85, 103]
335	p.G335R	2	c.1003G>A	7			[67,90]
338	p.P338T	2	c.1012C>A	1			[51]
338	p.P338S	2	c.1012C>T	3	rs387907599		[39,97,103]
Palec cynkowy 3							
341	p.C341Y	2	c.1022G>A	3	rs483352839		[50, 51]
342	p.Q342H	2	c.1026G>C		rs146658904	0.000	dbSNP
345	p.P345L	2	c.1034C>T		rs370574267		dbSNP
357	p.H357P	2	c.1070A>C				[97]
357	p.H357Q	2	c.1071C>A	1	rs398122931		[36]

MAF (Minor allele frequency) - częstość rzadszego allelu

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) - polimorfizm pojedynczego nukleotydu

mutacje, które występują z większym prawdopodobieństwem w pewnych populacjach. Są to: mutacja powodująca przesunięcie ramki odczytu (c.525_526insCGGCGCC, p.G176RfsX179) opisana u mieszkańców Korei, Wietnamu i Chin oraz mutacja skutkująca skróceniem ramki odczytu (c.809C>A, p.S270X) wykryta u mieszkańców Włoch [97]. Istnieje coraz więcej dowodów na to, że mutacje w KLF1 mogą się pojawiać o wiele częściej niż dotychczas przypuszczano. W południowych Chinach, które są regionem endemicznego występowania hemoglobinopatii, częstość mutacji klasy 2 i 3 jest wyższa (1,3% zbadanej populacji) niż w północnych regionach tego kraju (0,1%). Istnieje więc duże prawdopodobieństwo, że mutacje w genie KLF1 są częstsze także w tych regionach świata, gdzie hemoglobinopatie występują endemicznie (basen Morza Śródziemnego, południowo-wschodnia Azja i Afryka) [67,50].

Można wyróżnić dwa mechanizmy zwiększenia oporności na patogeny przez mutacje genu KLF1: (1) zmiany poziomu ekspresji genów: kodujących podjednostki hemoglobiny, związanych z metabolizmem żelaza oraz genu kodującego kinazę pirogronianową i (2) zmiany poziomu ekspresji genów związanych z syntezą antygenów grupowych krwi. Z pierwszym mechanizmem jest związana dobrze udokumentowana oporność na malarię; drugi nie był do tej pory przedmiotem badań [20,15].

Wrodzona anemia dyserytropoetyczna (CDA) typu IV

Zaburzenie to należy do grupy rzadkich chorób charakteryzujących się wrodzoną anemią, nieefektywną erytropoezą ze zróżnicowanymi cechami morfologicznymi późnych erytroblastów w szpiku kostnym oraz rozwojem wtórnej hemochromatozy [99]. U chorych obserwuje się także żółtaczkę, powiększenie śledziony, obniżoną liczbę retikulocytów oraz zmiany w ekspresji genów kodujących globiny. Wrodzoną anemię dyserytropoetyczną dzieli się na siedem grup (I-VII), różniących się między sobą przede wszystkim morfologią erytroblastów [35,84,100]. Podłoże genetyczne postaci I-III tej choroby jest już dość dobrze poznane, jednak w przypadku kolejnych postaci CDA nie zostały jeszcze scharakteryzowane. Pod uwagę bierze się wpływ mutacji w genach kodujących czynniki transkrypcyjne EKLF i GATA1.

Mutacja w trzecim eksonie KLF1 (c.973G>A), będąca przyczyną wrodzonej anemii dyserytropoetycznej typu IV wywołuje zamianę reszty kwasu glutaminowego w pozycji 325 na resztę lizyny w drugim palcu cynkowym [40,41]. W konsensowym mysim białku EKLF opisana reszta aminokwasowa znajduje się w obrębie α -helisy drugiego motywu palca cynkowego, który dopasowuje się do dużego rowka DNA, umożliwiając bezpośrednie oddziaływanie ze środkowym nukleotydem sekwencji 5'-CCM CRC CCN-3', związanej przez EKLF. U niektórych pacjentów zaobserwowano również inne nieprawidłowości, do których należą: wysoki poziom hemoglobiny płodowej (>40%), utrzymanie ekspresji genów kodujących globiny embrionalne, dodatkowe

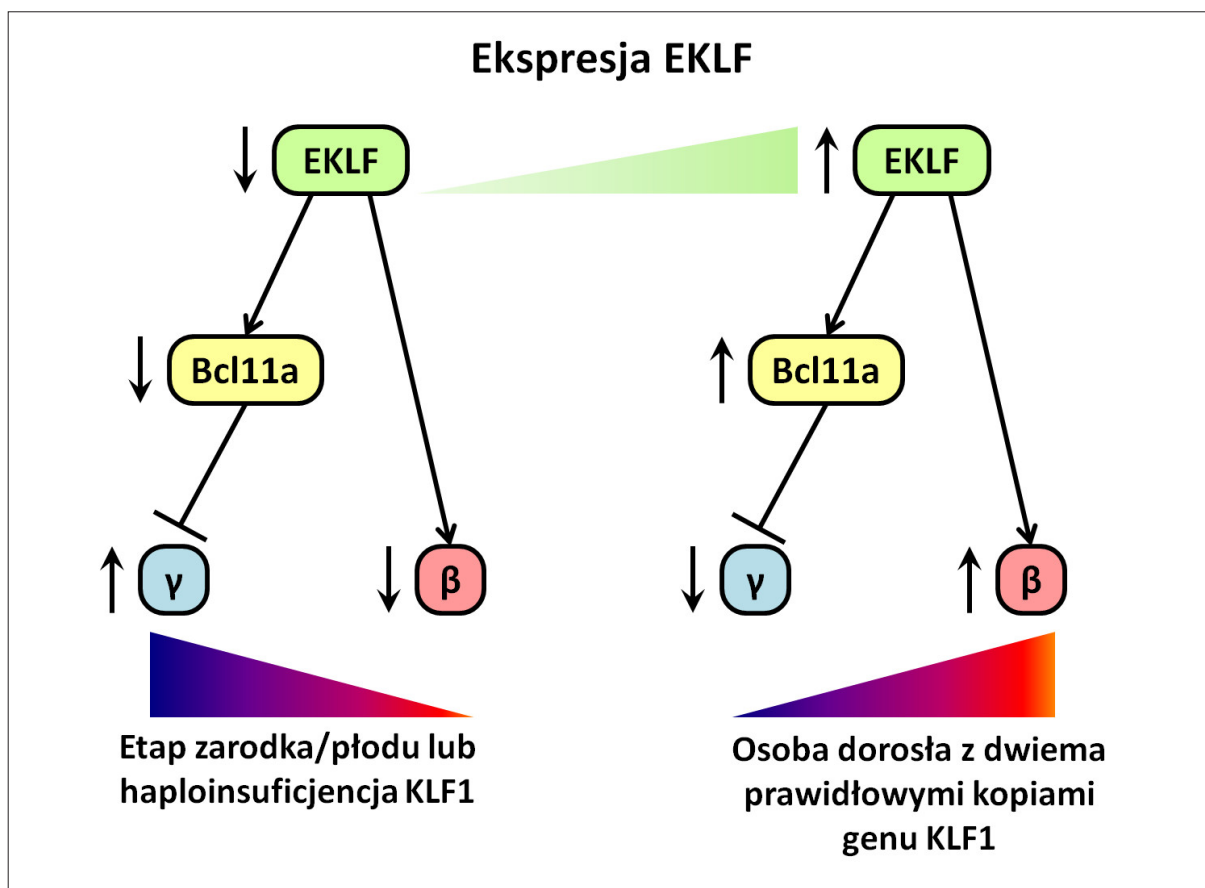
cytoplazmatyczne wtręty w erytroblastach i erytrocytach oraz niedobór charakterystycznych dla erytrocytów cząstek adhezyjnych CD44, BCAM i ICAM4, a także niedobór akwaporyny 1 (AQP1) [40,75,67]. Do tej pory zdiagnozowano sześć przypadków tego typu anemii [67].

Wrodzona trwałość hemoglobiny płodowej (HPFH)

U osób z HPFH obserwuje się trwałą, wysoki poziom hemoglobiny płodowej, mikrocytozę oraz podwyższony poziom protoporfiryny cynkowej (ZnPP) [71,73]. Poziom HbF w zależności od mutacji waha się w granicach 3-30,9%, w porównaniu do około 1% u osób zdrowych [86]. Zmniejszenie ekspresji γ -globin, występujących w hemoglobinie płodowej oraz rozpoczęcie ekspresji β -globiny, która wchodzi w skład hemoglobiny HbA ($\alpha\beta_2$) jest regulowane przez EKLF; bezpośrednio przez aktywację genu β -globiny i pośrednio przez aktywację białka Bcl11a, które jest represorem γ -globin kodowanym przez gen Bcl11a (ryc. 3) [75,97]. Dlatego obniżona ilość czynnika EKLF może powodować utrzymywanie się zbyt wysokiej ekspresji łańcuchów γ -globinowych, co wiąże się z podwyższonym poziomem HbF.

U członków rodziny z Malty wykryto dwie mutacje (p.K288X) oraz (p.M39L), które były charakterystyczne dla osób z HPFH. Pierwsza z nich powoduje utratę zdolności wiązania DNA przez EKLF, a druga najprawdopodobniej nie powoduje żadnych zmian w funkcjonowaniu tego białka. Inna mutacja (p.K332Q) opisana u członków rodziny z Sardynii, którzy również chorowali na HPFH, zmniejsza wiązanie EKLF do BCL11A, ale nie do genu β -globiny. Ponadto, monoalleliczne występowanie tej mutacji powoduje prawidłowy (czyli niski) poziom hemoglobiny płodowej [75,73]. W przeciwieństwie do rodziny z Malty, u członków rodziny z Sardynii jedynie jednoczesna obecność dwóch mutacji (p.S270X i p.K332Q) powoduje wzrost poziomu HbF (22,1-30,9% w rodzinie z Sardynii, w porównaniu do 3,3-19,5% w rodzinie z Malty), a także protoporfiryny cynkowej (ZnPP). Osoby, u których wykryto tylko mutację p.S270X mają fenotyp In(Lu) oraz prawidłowy poziom hemoglobiny płodowej [78,75]. Innymi objawami HPFH mogą być także: łagodna hemoliza (prawdopodobnie w wyniku destabilizacji błony komórkowej erytrocytów) oraz niewielki wzrost poziomu bilirubiny [73]. Z dwóch niezależnych badań wynika, że częstość występowania mutacji w genie KLF1 u zbadanych osób z HPFH wyniosła odpowiednio 8,4% (11/131) [30] i 3,6% (5/140) [92]. Za pojawienie się HPFH mogą odpowiadać także mutacje w genach bezpośrednio związanych z syntezą łańcuchów globinowych. Ich omówienie wykracza poza zakres tego opracowania, jednak warto wspomnieć, że są to przede wszystkim delecje genu β -globiny (HBB) oraz mutacje punktowe w promotorach HBG1 oraz HBG2, które kodują izoformy łańcuchów γ -globiny [30].

Czy podwyższony poziom HbF może wpływać na oporność na patogeny? Wykazano, że istnieje związek między wysokim poziomem HbF, a przebiegiem zarażenia zarodźcem malarii *P. falciparum*. Wnikanie oraz rozwój



Ryc. 3. Regulacja ekspresji genów kodujących γ -globiny i β -globiny przez czynnik EKLF. W czasie rozwoju zarodkowego i płodowego lub w przypadku haploinsuficjencji KLF1 u dorosłych, poziom EKLF jest niski, czego wynikiem jest niska ekspresja genu β -globiny oraz czynnika Bcl11a, a wysoki poziom ekspresji genu kodującego γ -globinę (lewa strona ryc.). U osób dorosłych mających dwie funkcjonalne kopie KLF1 zwiększa się ilość EKLF w komórkach erytroidalnych, co powoduje podwyższenie ilości β -globin oraz Bcl11a i obniżenie ekspresji genów kodujących γ -globiny (wg [75] zmodyfikowano)

pasożyta w erytrocytach z dużą ilością HbF przebiega prawidłowo, jednak dochodzi do zaburzeń w wiązaniu się białka PfEMP-1 do komórek śródbłonna [2]. Białko to, wytwarzane przez merozoity *P. falciparum* w zajętych erytrocytach, jest włączane do błony komórkowej krwinek, gdzie działa jako receptor dla cząsteczek, takich jak CD36, ICAM1, CR1 i antygenów grupowych A i B, które są obecne m.in. na komórkach śródbłonna, erytrocytach oraz monocytach. Powoduje to sekwestrację zajętych erytrocytów i umożliwia pasożytowi uniknięcie zniszczenia w wątrobie oraz śledzionie, gdzie nieprawidłowe krwinki są usuwane [13,54]. Wykazano również, że niemowlęta, u których dochodzi do zarażenia *P. falciparum* w pierwszych miesiącach życia, przechodzą zimnicę łagodniej. Wydaje się, że rolę ochronną u niemowląt pełni przede wszystkim wysoki poziom hemoglobiny płodowej, która w chwili urodzenia stanowi 50-95% całkowitej hemoglobiny, a po trzech miesiącach spada do <5% [2].

β -talasemia intermedia

Choroba ta należy do złożonej grupy zaburzeń genetycznych nazywanych ogólnie talasemiami lub niedokrwistościami tarczowatokrwińkowymi [98]. Termin β -talasemia

intermedia wskazuje na pośredni stan kliniczny między ciężką postacią choroby określaną jako β -talasemia major, a jej łagodną postacią, czyli β -talasemią minor. Charakteryzuje się zmniejszeniem lub całkowitym brakiem ekspresji genów kodujących β -globiny i jest dziedziczona autosomalnie recesywnie [74]. Jednoczesna obecność mutacji w KLF1 oraz innych mutacji powodujących β -talasemię intermedia może korzystnie wpływać na obraz choroby; wynika to najprawdopodobniej z częściowego „przejęcia” funkcji hemoglobiny HbA przez hemoglobinę płodową, której stężenie jest wtedy podwyższone (>30% całkowitej hemoglobiny). Ponadto, w β -talasemii intermedia obserwuje się łagodne podwyższenie poziomu hemoglobiny HbA₂ (>3,5% całkowitej hemoglobiny, w porównaniu do ~2,5% w organizmie zdrowym), co również może mieć związek z mutacjami w genie KLF1 [97,67]. Wykazano, że pojedyncze mutacje w samych sekwencjach CACC mogą spowodować nawet całkowite zniesienie ekspresji genów β -globin u pacjentów z β -talasemią [64,48]. Niedawno opisano wpływ czynnika EKLF na ekspresję genu kodującego białko HIRA, które wiąże się z histonem H3.3 i jest niezbędne do ekspresji genu β -globin [79]. Częstość mutacji w genie KLF1 zbadana w Chinach u osób mieszkających na terenach endemicznego wystę-

powania talasemii jest wyższa w porównaniu do terenów, gdzie talasemia nie występuje (częstość mutacji wyniosła odpowiednio 1,3 i 0,1%). Porównując pacjentów chorujących na β -talasemię major z chorującymi na β -talasemię intermedia, ujawniono że mutacje w KLF1 występują tylko u tych drugich (3,4% zbadanych przypadków), a u osób z odmianą major nie wykryto ich wcale [50].

Czy β -talasemia może chronić przed zarodźcami malarii? Wykazano, że osoby z α - i β -talasemią mogą być mniej podatne na malarię, a β -talasemia może dodatkowo obniżać prawdopodobieństwo wystąpienia poważnych komplikacji będących skutkiem zarażenia *P. falciparum* [27]. Oporność na malarię może być związana z utratą zdolności pasożytów do atakowania kolejnych komórek gospodarza (głównie przez utrudnianie ich adhezji do komórek śródbłonna) lub wynikać ze zmniejszenia zdolności ich namnażania się w erytrocytach [29].

Zaburzenia w metabolizmie żelaza

EKLF reguluje ekspresję genów kodujących enzymy szlaku biosyntezy hemu (np. ALAS2, ALAD) oraz białka biorące udział w przetwarzaniu żelaza (np. TFR2, SLC25A37). U osób mających mutacje klasy 2 i 3 w genie KLF1 proces wbudowywania żelaza do protoporfiryny IX jest nieefektywny, co powoduje zastępowanie go cynkiem i tym samym wzrost poziomu protoporfiryny cynkowej (ZnPP) [67].

MUTACJE W GENIE KLF1 A UKŁADY GRUPOWE KRWI

Obecnie wyróżnia się 37 układów grupowych krwi, które są reprezentowane przez antygeny grupowe wchodzące w skład białek, glikoprotein lub glikosfingolipidów. Powstają w wyniku mutacji w genach kodujących białka integralne, powierzchniowe lub glikozylotransferazy (enzymy przenoszące zaktywowane reszty cukrowe na akceptory białkowe, lipidowe czy oligosacharydowe). Za antygeny grupowe krwi uważa się cząsteczki rozpoznawane przez alloprzeciwciała, które mogą powstać w wyniku immunizacji po przetoczeniu krwi niezgodnej grupowo lub na skutek kontaktu z antygenami występującymi w środowisku [21]. Są wykrywane głównie na erytrocytach, ale mogą występować również na innych komórkach, takich jak nabłonek czy śródbłonek oraz w wydzielinach, np. mleku, tak więc powinno się je raczej nazywać antygenami grupowymi krwi i tkanek (histo-blood group antigens) [12]. Uważa się, że antygeny grupowe mogą mieć związek ze zmianami podatności komórek na patogeny, ponieważ są receptorami dla pierwotniaków, bakterii i wirusów [20,15]. Ponadto, ich obecność na powierzchni nabłonka umożliwia oddziaływanie z bakteriami tworzącymi mikrobiom jelitowy, co także może mieć wpływ na wiązanie patogennych bakterii [25]. Antygeny te zajmują więc unikalną pozycję w złożonej sieci genów i mechanizmów patologicznych.

Ekspresja genów kodujących antygeny grupowe należące do układów: MN (glikoforyna A), Rh, RhAG, Kell,

Duffy, Kidd, Diego, Scianna, Dombrock, Colton, Landsteiner-Wiener i Kx jest regulowana przez EKLF. Wykazano, że może ona ulec obniżeniu nawet o ponad 90% (porównując komórki mające „wyłączony” gen KLF1, z komórkami z jego postacią konsensową) [53]. Obniżenie liczby antygenów grupowych, należących do układów: MN (glikoforyna A), Lutheran, P1PK, Duffy, Diego, Scianna, Colton, Indian i Ok jest przeważnie powiązane z fenotypem In(Lu) [23]. Przypuszcza się, że czynnik EKLF może również wpływać na ekspresję genu A4GALT, kodującego glikozylotransferazę, która syntezuje antygeny grupowe należące do układu P1PK [16,31,87].

Czynnik EKLF wpływa więc na ekspresję genów kodujących antygeny grupowe krwi, które są receptorami dla wielu patogenów (zarodźce malarii: *Plasmodium falciparum* i *P. vivax*, uropatogenne szczepy *E.coli*, *Streptococcus suis* i *Neisseria meningitidis*), a także toksyn wytwarzanych przez enterokrwotoczne szczepy *E.coli*. Można zatem wysunąć przypuszczenie, że obniżenie ich ekspresji będące wynikiem mutacji w genie KLF1 może zmieniać oddziaływanie komórek gospodarza z patogenami i toksynami. Mutacje te można więc uznać za czynnik pośrednio zwiększający lub zmniejszający podatność komórek gospodarza na dane choroby, podobnie jak w przypadku mutacji w genach kodujących antygeny grupowe [20]. Należy zaznaczyć, że antygeny grupowe układu ABO, który jest najważniejszym klinicznie układem grupowym, nie podlegają regulacji przez ten czynnik transkrypcyjny.

Układ Lutheran (005)

Lutheran jest pierwszym układem grupowym krwi, w przypadku którego stwierdzono związek między czynnikiem EKLF i genem kodującym antygeny grupowe. Antygeny tego układu są częścią glikoproteiny Lutheran (CD239), która jest kodowana przez gen LU (ryc. 4). Jak dotąd zidentyfikowano 22 antygeny grupowe, które powstały wskutek mutacji w genie LU. Glikoproteina Lutheran należy do cząsteczek nadrodziny immunoglobulinowej (IgSF) i występuje w dwóch izoformach (o masach cząsteczkowych: 85 i 78 kDa). Jej główną funkcją jest wiązanie lamininy, będącej składnikiem macierzy zewnątrzkomórkowej występującej w śródbłonie naczyń [24,65]. Część zewnątrzkomórkowa glikoproteiny CD239 jest zbudowana z pięciu domen białkowych (dwóch określanych jako domeny zmienne V i trzech domen stałych C) [83]. Mutacje w KLF1 mogą być odpowiedzialne za pojawienie się fenotypu In(Lu), którego obecność zawsze świadczy o mutacji w genie KLF1. Fenotyp ten nie powoduje żadnych poważnych konsekwencji zdrowotnych, a jedynie częstszym występowaniem akantocytozy, czyli obecności we krwi erytrocytów o charakterystycznym kształcie (tzw. akantocytów) [24]. Ponadto stwierdzono, że erytrocyty osób z fenotypem In(Lu) mają podwyższony poziom HbF oraz HbA₂ [36], co w przypadku hemoglobiny płodowej może dodatkowo chronić przed zarodźcami malarii.

Tabela 2. Klasy mutacji w genie KLF1 (wg [67] zmodyfikowano)

Klasa	Mutacja	Aktywność czynnika EKL	Skutki fenotypowe
1	Zmiany sensu poza domeną wiążącą DNA	Prawidłowa aktywność lub niewielkie obniżenie	In(Lu)
2	Zmiany sensu w domenie wiążącej DNA	Obniżenie aktywności	In(Lu), HPFH, NSHA, β -talasemia intermedia, HbA ₂ ↑, HbF↑, MCV↓, MCH↓, ZnPP↑, CD44↓, PK↓
3	Kodony STOP lub zmiany ramki odczytu	Silne obniżenie lub utrata funkcji	In(Lu), HPFH, NSHA, β -talasemia intermedia, hydrops fetalis, HbA ₂ ↑, HbF↑, MCV↓, MCH↓, ZnPP↑, CD44↓, PK↓
4	p.E325K w domenie wiążącej DNA	Utrata funkcji	CDA IV

Układ MNS (002)

Antygeny grupowe krwi układu MNS znajdują się na glikoforynach A, B i E (kodowanych odpowiednio przez geny GYPA, GYPB i GYPE), które są białkami bogato glikozylowanymi i uszajowanymi, występującymi tylko na erytrocytach [49]. Glikoforyny C i D (kodowane przez gen GYPC) zawierające antygeny grupowe Gerbich występują również na innych komórkach, poza erytrocytami [23]. Należy podkreślić, że geny GYPB i GYPC nie są regulowane przez czynnik EKL, a pod jego kontrolą znajdują się jedynie GYPA i GYPE (jednak jak dotąd nie wykryto na erytrocytach kodowanej przez ten gen glikoforyny E) [95]. Glikoforyna A znajdująca się na powierzchni erytrocytów bierze udział w wiązaniu zarodźców malarii *P. falciparum*. Można więc przypuszczać, że mutacje w genie KLF1 mogą zwiększać oporność na te pasożyty przez zmniejszanie ilości glikoforyny A na krwinkach, co powodowałoby obniżenie liczby oddziaływań receptor-ligand (ligandem w tym wypadku jest cząsteczka na powierzchni zarodźca). Brak glikoforyny A, znany jako fenotyp En(a-), który został opisany tylko w pięciu rodzinach, powoduje około dziesięciokrotnie mniejszą podatność komórek gospodarza na inwazję merozoitów *P. falciparum*, w porównaniu z krwinkami zawierającymi prawidłową glikoforynę A [66]. Analogicznie, fenotyp S-s-U – (glikoforyna B nieobecna), skutkuje podwyższoną opornością na malarię; fenotyp ten spotyka się z częstością 36% u Pigmejów z Konga [28]. Wpływ mutacji w genie KLF1 na ekspresję glikoforyn nie był dotychczas badany.

Układ P1PK (003)

Układ P1PK obejmuje trzy glikosfingolipidowe antygeny: P^k i P1 z terminalną sekwencją cukrową Gal α 1→4Gal oraz antygen NOR z sekwencją terminalną Gal α 1→4GalNAc [43]. Antygeny P^k i NOR należą do szeregu globo glikosfingolipidów, a antygen P1 do szeregu neolakto. Antygeny P1 i P^k są syntezowane przez α 1,4-galaktozylotransferazę (zwaną też syntazą P^k), kodowaną przez A4GALT [44]. Dwa najczęściej spotykane fenotypy układu P1PK to: P₁, kiedy na erytrocytach są obecne antygeny P1 i P^k oraz P₂, kiedy obecny jest tylko antygen P^k. Wykazano, że ilość transkryptu genu A4GALT u osób z fenotypem P₁ jest większa niż u osób z fenotypem P₂, co może być związane z regulacją eks-

presji genu A4GALT przez czynnik EKL lub inne czynniki transkrypcyjne [37]. Antygeny NOR są syntezowane przez α 1,4-galaktozylotransferazę, w której w wyniku mutacji punktowej w genie A4GALT (c.631C>G) doszło do zamiany reszty glutaminy na resztę kwasu glutaminowego w pozycji 211 łańcucha polipeptydowego. Fenotyp NOR zidentyfikowano jak na razie tylko u członków dwóch rodzin, w Stanach Zjednoczonych i w Polsce [82].

Wykazano, że u osób z fenotypem In(Lu) częściej występuje fenotyp P₂, w którym antygen P1 jest nieobecny [72]. Jak dotąd nie wyjaśniono przyczyny tego zjawiska, ale prawdopodobnie dzieje się tak wskutek mutacji w genie KLF1, powodujących fenotyp In(Lu), w którym obserwuje się obniżony poziom antygenów układu P1PK, w tym także P1, co może prowadzić do pojawienia się fenotypu P₂.

Antygen P^k jest receptorem dla toksyn Shiga, bakterii *Streptococcus suis* (powodującej choroby odzwierzęce) [46] i uropatogennych szczepów *E. coli* (powodujących odmiedniczkowe zapalenie nerek) [102]. Toksyny Shiga są wytwarzane przez bakterie *Shigella dysenteriae* o serotypie 1 oraz enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* (EHEC – enterohaemorrhagic *Escherichia coli*), które określa się także skrótami STEC (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*) lub VTEC (Verotoxin-producing *Escherichia coli*). Mogą wywoływać u ludzi krwotoczne zapalenie okrężnicy oraz zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS) [42]. Toksyny Shiga po związaniu do antygeny P^k na powierzchni komórki, wnikają do jej wnętrza, gdzie działają jako N-glikozydazy odcinające adeninę w 28S RNA podjednostki 60S rybosomu, co uniemożliwia wiązanie tRNA w trakcie translacji. Powoduje to zahamowanie syntezy białek i śmierć komórki w wyniku apoptozy [14].

U osób z fenotypem P₂ chorujących na robaczycę przewodu pokarmowego zauważono występowanie podwyższonego miana przeciwciał anti-P1 w porównaniu do osób zdrowych (w zarażeniu motylicą o 20-200 razy, a w przypadku 10% przebadanych osób zarażonych tasiemcem wąłkowcowym, o 5-20 razy) [7,11]. Wyjaśnienie tego zjawiska może mieć związek z obecnością terminalnych struktur Gal α 1→4Gal (takich samych jak w antygenach P^k i P1) na mucynach pasożytów należących do następujących rodzin: *Echinococcus*, *Fasciola*, *Paragonimus* i *Ascaris*, które są rozpoznawane przez

Tabela 3. Zaburzenia hematopoetyczne i fenotypy związane z mutacjami w genie KLF1 oraz ich możliwy związek z opornością na patogeny. (wg [75] zmodyfikowano)

Nazwa zaburzenia lub fenotypu	Mutacja lub zmiana aminokwasu w genie KLF1	Skutki fenotypowe	Oporność na patogeny i toksyny	Źródło
Wrodzona anemia dyserytropoetyczna typu IV	p.E325K	- objawy anemii - wzrost poziomu HbF (>40%), utrzymanie ekspresji globin embrionalnych, dodatkowe wtęty cytoplazmatyczne w erytroblastach i erytrocytach - obniżenie liczby cząsteczek CD44, BCAM, ICAM4 i AQP1	- <i>Plasmodium spp.</i> (?)	[39,75]
β-talasemia intermedia	p.G176RfsX179 p.H299D	- objawy anemii - obniżenie ekspresji genów kodujących β-globiny - łagodne podwyższenie poziomu hemoglobiny HbA2	- <i>Plasmodium falciparum</i>	[50, 97]
Fenotyp In(Lu)	Promotor (c. -124T>C) p.W30X p.S102P p.A104GfsX249 p.L127X p.P173PfsX64 p.G174RfsX179 p.G176RfsX179 p.G184EfsX167 p.P190LfsX47 p.Y197X p.E213X p.L222SfsX15 p.R268X p.S270X p.K288E p.K292X p.L300P p.H299Y p.R301LfsX52 p.C316Y p.R319EfsX34 p.S323W p.L326R p.R328L p.R328H p.R331G p.K332E p.H357Q	- obniżenie liczby antygenów grupowych układów: Lutheran, MN (glikoforyna A), P1PK, Duffy, Diego, Scianna, Colton, Indian i Ok	- <i>Plasmodium falciparum</i> i <i>Plasmodium vivax</i> (?) - pasożyty należące do rodzajów <i>Echinococcus</i> , <i>Fasciola</i> , <i>Paragonimus</i> , <i>Ascaris</i> (?) - <i>Neisseria meningitidis</i> (?) - uropatogenne szczepy <i>Escherichia coli</i> (?) - <i>Streptococcus suis</i> (?) - toksyny Shiga (?)	[18,36,63,66,73,75,77]

c.d. Tabela 3. Zaburzenia hematopoetyczne i fenotypy związane z mutacjami w genie KLF1 oraz ich możliwy związek z opornością na patogeny. (wg [75] zmodyfikowano)

Nazwa zaburzenia lub fenotypu	Mutacja lub zmiana aminokwasu w genie KLF1	Skutki fenotypowe	Oporność na patogeny i toksyny	Źródło
Wrodzona trwałość hemoglobiny płodowej (HPFH)	p.M39L p.K288X	-wzrost poziomu hemoglobiny płodowej (3,3-19,5%) - mikrocitoza	- <i>Plasmodium falciparum</i>	[73,75]
	p.S270X p.K332Q	- wzrost poziomu hemoglobiny płodowej (22,1-30,9%) - wzrost poziomu protoporfiryny cynkowej		

przeciwciała anty-P1, wytwarzane najprawdopodobniej w odpowiedzi na kontakt układu odpornościowego z pasożytami [55,69]. Wysokie miano tych przeciwciał może sprzyjać zwalczaniu tych pasożytów [15].

Potwierdzenie związku między czynnikiem EKLF, a ekspresją A4GALT mogłoby pomóc w znalezieniu nowych metod zapobiegania, a także zwalczaniu chorób spowodowanych przez toksyny Shiga, bakterie *Streptococcus suis*, uropatogenne szczepy *E. coli* oraz pasożyty odpowiedzialne za robaczycę przewodu pokarmowego.

Układ Duffy (008)

Antygeny układu grupowego Duffy znajdują się na glikoproteinie o tej samej nazwie (kodowanej przez gen DARC), która składa się z 336 reszt aminokwasowych. Jest obecna m.in. na erytrocytach oraz komórkach śródbłonna [52], a jej główną funkcją jest wiązanie nadmiaru chemokin z osocza bez aktywacji szlaków sygnałowych, dlatego nazywa się ją także „cichym” receptorem chemokin lub nietypowym receptorem chemokin (ACR) [94,32]. Oprócz trzech głównych fenotypów, jakimi są Fy(a+b+), Fy(a+b-) i Fy(a-b+) [52], istnieje również fenotyp Duffy-ujemny spotykany głównie w Afryce, w którym białko Duffy jest obecne na śródbłonnku, ale nie ma go na erytrocytach. U osób z tym fenotypem zidentyfikowano mutację (c.-46T>C), która powoduje utratę zdolności wiązania czynnika transkrypcyjnego GATA1 do promotora genu DARC, co może chronić przed inwazją zarodźców *P. vivax*, chociaż osoby Duffy-ujemne sporadycznie mogą również być zarażane [33,88,89]. Wykazano, że białko Duffy jest jednym z dwóch receptorów dla merozoitów tego gatunku [34]. Jest to dobry przykład wykazujący związek między czynnikiem transkrypcyjnym, ekspresją genu kodującego antygen grupowy i powstaniem oporności na patogen. Można zatem przypuszczać, że obniżenie ilości białka Duffy w wyniku mutacji w KLF1 również mogłoby hamować wnikanie zarodźców do erytrocytów i rozwój malarii.

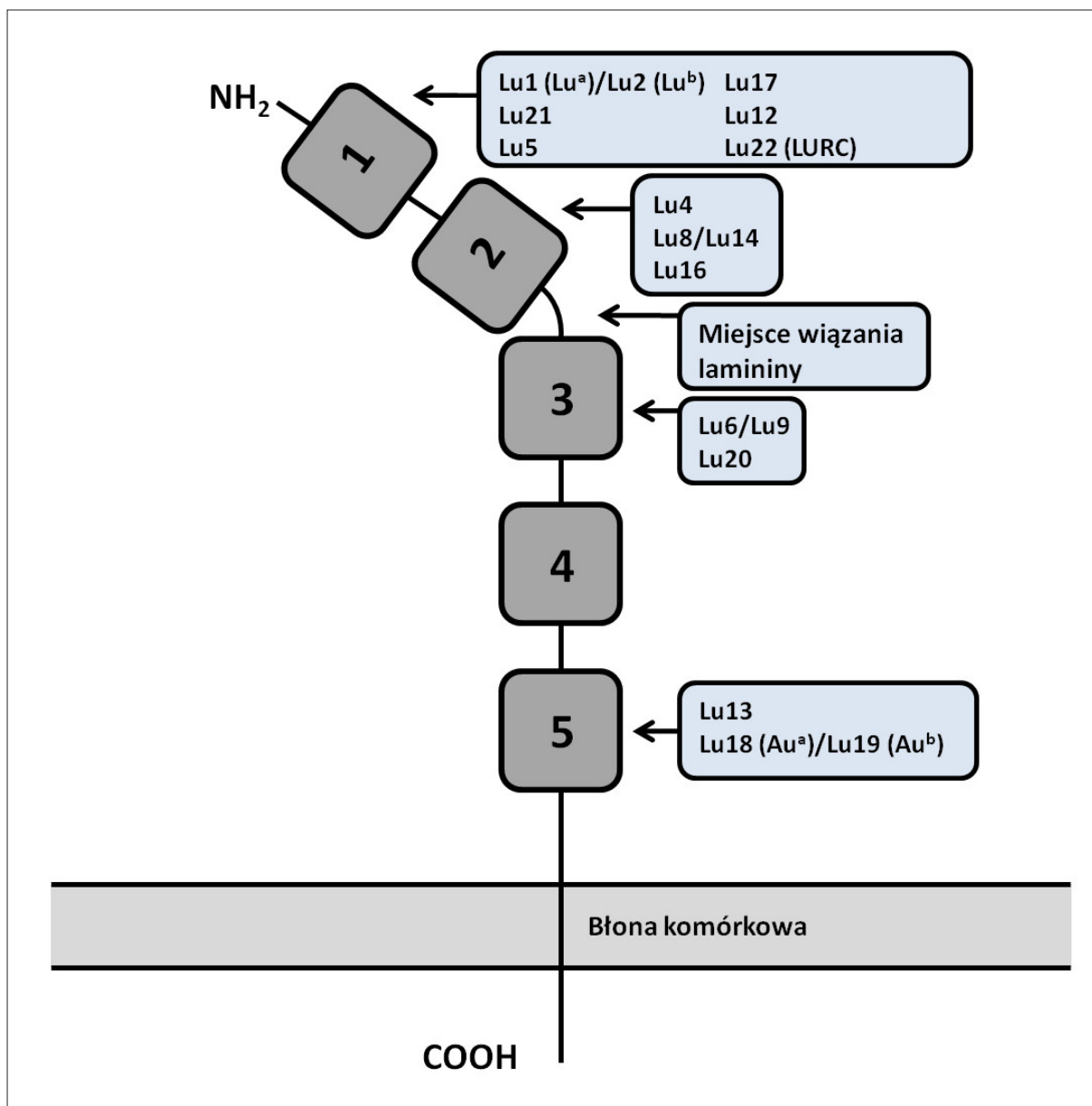
Układ Diego (010)

Układ grupowy Diego obejmuje 22 antygeny grupowe znajdujące się na białku pasma 3, które jest główną transmembranową glikoproteiną występującą na erytrocytach, komórkach nabłonka żołądka oraz kanalikach nerkowych [26]. Białko to odpowiada za wymianę anionu HCO^- na jon Cl^- przez błonę komórkową oraz oddziałuje ze szkieletem komórkowym, tworząc swoiste kompleksy z wieloma białkami (m.in. glikoforinami). Wykazano, że białko pasma 3 ulega stopniowej degradacji w czasie życia erytrocytu, co powoduje rozpoznawanie i usuwanie starych erytrocytów w wątrobie i śledzionie [22]. Ostatnio udowodniono także związek między strukturą białka pasma 3, a takimi zaburzeniami, jak dziedziczna anemia hemolityczna i dystalna kwasica kanalików nerkowych [3].

Mutacje w genie SLC4A1, który koduje białko pasma 3, mogą powodować powstanie nieprawidłowo sfałdowanego białka i utratę zdolności przenoszenia anionów. Obecność takich mutacji stwierdzono w południowo-azjatyckiej owalocytocie, w której erytrocyty mają podwyższoną sztywność oraz zmieniony kształt [10]. Uważa się, że fenotyp ten może spowodować podwyższenie oporności na malarię, bo prawidłowe białko pasma 3 bierze udział w sekwestracji erytrocytów zajętych przez merozoity *P. falciparum* [1]. Ponieważ czynnik EKLF może regulować ekspresję genu kodującego białko pasma 3 (w dodatku u osób z fenotypem In(Lu) stwierdzono obniżoną liczbę antygenów grupowych układu Diego), teoretycznie mutacje w genie KLF1 mogą sprzyjać ochronie tych osób przed mózgową postacią malarii, powodowaną przez ten gatunek zarodźca.

Układ Ok (024)

Antygeny układu Ok znajdują się na basiginie (BSG, CD147), która jest białkiem adhezyjnym obecnym na erytrocytach, leukocytach, komórkach nerwowych, komórkach siatkówki oraz śródbłonnku. Basigina oddziałuje z wieloma



Ryc. 4. Struktura białka Lutheran (CD239) wraz z zaznaczonymi pięcioma domenami (numery 1-5) oraz lokalizacją antygenów grupowych (wg [23] zmodyfikowano)

białkami, do których zalicza się m.in. transportery kwasów monokarboksylowych (MCT), czynnik RdCVF, transporter glukozy GLUT1, cyklofilinę, integryny czy apolipoproteinę D [58]. Wykazano, że basigina bierze udział w wiązaniu patogenów, takich jak bakterie *Neisseria meningitidis* (przez oddziaływanie z ich pili i umożliwienie adhezji do komórek śródbłonna naczyniowego) i zarodźce *P. falciparum* (basigina jest ligandem dla receptora PfRH5 występującego na ich powierzchni) [58]. Zmniejszona liczba cząsteczek basiginy może więc zmniejszać ryzyko zachorowania na choroby spowodowane przez te patogeny (odpowiednio zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i malarię). Wykazano także, że powinowactwo receptora PfRH5 do basiginy występującej u szympanów jest co najmniej dziesięciokrotnie mniejsze niż do jej ludzkiego

odpowiednika oraz że w przypadku BSG goryli w ogóle nie dochodzi do powstawania kompleksów PfRH5-basigina. Doniesienia te tłumaczą małą podatność szympanów na *P. falciparum*, który jest zarodźcem swoistym dla człowieka, i całkowitą oporność goryli na ten gatunek [91]. Erythrocyty osób z fenotypem Ok(a-), u których basigina ma podstawienie p.E92K wykazują obniżone powinowactwo wobec receptora PfRH5 w porównaniu z erythrocytami z konsensową formą basiginy. Fenotyp ten występuje rzadko; jak dotąd znaleziono go jedynie u członków ośmiu japońskich rodzin, ale obecność wariantowych form basiginy w regionach endemicznych dla malarii nie była badana [104,17]. U osób z fenotypem In(Lu) także dochodzi do obniżenia ekspresji genu kodującego BSG, co przypuszczalnie może zwiększać oporność na *P. falciparum*.

PODSUMOWANIE

Wiadomo, że mutacje genu kodującego czynnik transkrypcyjny EKLF mogą mieć związek z hemoglobinopatiami, do których zalicza się HPFH i β -talasemię intermedia oraz z CDA typu IV, która należy do zaburzeń hematopoetycznych. Zmiany będące skutkiem pojawienia się tych zaburzeń mogą podwyższać oporność na zarodźca malarii. Wysoki poziom hemoglobiny płodowej w zajętych zarodźcem erytrocytach powoduje zmniejszenie powierzchniowej ekspresji białka PfEMP-1 i utrudnia wiązanie krwinek do śródbłonna naczyniowego oraz innych erytrocytów. Sprzyja to rozpoznaniu zarażonych krwinek w wątrobie i śledzionie, a następnie ich degradacji. Podobny mechanizm zaobserwowano u osób z anemią sierpowatokrwinkową mających wariantową hemoglobinę HbS oraz w przypadku obecności hemoglobiny HbC [101]. Niedobór kinazy pirogronianowej w erytrocytach (wywołany zmniejszeniem ilości EKLF) może utrudniać wnikanie merozoitów *P. falciparum* do krwinek oraz przyspieszać degradację zajętych przez zarodźce erytrocytów. Prawdopodobnie ma to związek ze spadkiem ilości adenosynotrifosforanu (ATP) oraz nagromadzeniem przejściowych produktów glikolizy; dochodzi wtedy do zaburzeń w oddziaływaniach między cytoszkieletem i błoną komórkową (co najprawdopodobniej hamuje wnikanie zarodźca do krwinki), a także przyczynia się do zmian w samej błonie, które powodują eliminację erytrocytów zajętych przez zarodźce przez układ odpornościowy [5].

Mutacje w genie KLF1 mogą także powodować obniżenie ekspresji genów kodujących antygeny grupowe krwi należące do kilkunastu różnych układów grupowych: MN (glikoforyna A), Rh, RhAG, Kell, Duffy, Kidd, Diego, Scianna, Dombrock, Colton, Landsteiner-Wiener i Kx, Indian i Ok. Ponieważ niektóre z tych antygenów są receptorami dla patogenów, zmniejszenie ich liczby na powierzchni komórek może zmieniać podatność na choroby [20,96]. Związek między antygenami grupowymi krwi i opornością na zarodźca malarii udowodniono dla wielu układów grupowych, m.in. ABO. Wykazano, że antygeny tego układu uczestniczą w wiązaniu erytrocytów zajętych przez *P. falciparum* do komórek śródbłonna i uniemożliwiają w ten sposób ich zniszczenie w śledzionie. Jest to dobry przykład wpływu presji patogenów na wykształcenie takich cech organizmu, które zwiększają zdolność jego przetrwania [6,19].

Analizując ogólny związek między układami grupowymi krwi i chorobami, można wziąć pod uwagę dwie teorie ewolucyjne. Pierwsza z nich sugeruje pozytywny wpływ mutacji na cechy organizmu, co umożliwia lepsze dostosowanie się do warunków środowiskowych [61]. Druga teoria, zwana teorią molekularnej ewolucji, mówi że mutacje mają charakter przypadkowy, a większość zmian ewolucyjnych jest neutralna pod względem selekcyjnym [45]. Jak więc odnieść do tych teorii mutacje w genie KLF1? Uważa

się, że istnieje związek między mutacjami w KLF1 i zmniejszeniem podatności na malarię; można więc mówić w tym przypadku o presji selekcyjnej. Istnieją jednak także przesłanki mówiące o neutralności, a nawet szkodliwości mutacji w genie KLF1, szczególnie tych związanych z poważnymi hemoglobinopatiami, które mogą kończyć się śmiercią. Pozytywny wpływ na organizm sugeruje się jedynie w przypadku wzrostu stężenia HbF u osób z łagodnymi postaciami β -hemoglobinopatii [67].

Związek między układami grupowymi krwi i patogenami jest obecnie zagadnieniem szeroko dyskutowanym i nie ogranicza się jedynie do układów przedstawionych w poniższym opracowaniu [20]. Spośród 37 układów grupowych można wyróżnić dziewięć, których antygeny mają związek z opornością na pierwotniaki: ABO, MNS, Rh, Lewis, Duffy, Gerbich, Knops, Ok i Sid; siedem układów związanych jest z opornością na bakterie: ABO, P1PK, Lutheran, Lewis, Cromer, Knops i FORS; pięć układów związanych jest z opornością na wirusy: P1PK, Lewis, Duffy, Cromer i GLOB [20]. Tak więc 14 układów grupowych krwi może mieć związek ze zmianami oporności na patogeny, z czego trzy z nich: MN (glikoforyna A), Rh i Duffy są bezpośrednio regulowane przez czynnik EKLF, a antygeny należące do układów: Ok i Lutheran mogą być regulowane pośrednio, ponieważ ich ekspresja spada pod wpływem mutacji powodujących fenotyp In(Lu). W przypadku układu P1PK powiązania z tym czynnikiem pozostają jak na razie w sferze domysłów, m.in. dlatego, że molekularne podstawy tego układu grupowego są w dalszym ciągu nie do końca poznane.

Istnieje zgodność poglądów, że mutacje w genie KLF1 powodujące hemoglobinopatie, niedobór kinazy pirogronianowej i zmiany w metabolizmie żelaza mogą być czynnikiem chroniącym przed malarią. Nieznany jest natomiast związek między czynnikiem EKLF, antygenami grupowymi krwi i podatnością na choroby zakaźne oraz pasożytnicze. Badania te stają się obecnie częścią nurtu medycyny personalizowanej, która kładzie nacisk na powiązanie cech genetycznych pacjenta z metodami leczenia. W przypadku genu KLF1 i grup krwi odkrycie takich powiązań byłoby nowym elementem tej koncepcji. Ostatnio większego znaczenia nabrało prowadzenie na większą skalę badań diagnostycznych u osób z trudnymi do sklasyfikowania zaburzeniami, ale również tych z już zdiagnozowanymi chorobami, ponieważ mutacje w genie KLF1 mogą mieć o wiele poważniejszy wpływ na organizm człowieka niż wcześniej przypuszczano. Dostęp do nowoczesnych metod diagnostycznych, takich jest sekwencjonowanie całych genomów, może ułatwić wykrycie tych zmian [67].

PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują dr hab. Kazimierze Waśniowskiej za przeczytanie manuskryptu i cenne uwagi, a także mgr Katarzynę Szymczak za pomoc w przygotowaniu rycin do pracy.

PÍSMIENICTWO

- [1] Allen S.J., O'Donnell A., Alexander N.D., Mgone C.S., Peto T.E., Clegg J.B., Alpers M.P., Weatherall D.J.: Prevention of cerebral malaria in children in Papua New Guinea by southeast Asian ovalocytosis band 3. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1999; 60: 1056-1060
- [2] Amaratunga C., Lopera-Mesa T.M., Brittain N.J., Cholera R., Arie T., Fujioka H., Keefer J.R., Fairhurst R.M.: A role for fetal hemoglobin and maternal immune IgG in infant resistance to *Plasmodium falciparum* malaria. *PLoS One*, 2011; 6: e14798
- [3] Arakawa T., Kobayashi-Yurugi T., Alguet Y., Iwanari H., Hatae H., Iwata M., Abe Y., Hino T., Ikeda-Suno C., Kuma H., Kang D., Murata T., Hamakubo T., Cameron A.D., Kobayashi T., Hamasaki N., Iwata S.: Crystal structure of the anion exchanger domain of human erythrocyte band 3. *Science*, 2015; 350: 680-684
- [4] Arnaud L., Saison C., Helias V., Lucien N., Steschenko D., Giarratana M.C., Prehu C., Foliguet B., Montout L., de Brevern A.G., Francina A., Ripoché P., Fenneteau O., Da Costa L., Peyrard T. i wsp.: A dominant mutation in the gene encoding the erythroid transcription factor KLF1 causes a congenital dyserythropoietic anemia. *Am. J. Hum. Genet.*, 2010; 87: 721-727
- [5] Ayi K., Liles W.C., Gros P., Kain K.C.: Adenosine triphosphate depletion of erythrocytes simulates the phenotype associated with pyruvate kinase deficiency and confers protection against *Plasmodium falciparum* in vitro. *J. Infect. Dis.*, 2009; 200: 1288-1299
- [6] Barragan A., Kremsner P.G., Wahlgren M., Carlson J.: Blood group A antigen is a coreceptor in *Plasmodium falciparum* rosetting. *Infect. Immun.*, 2000; 68: 2971-2975
- [7] Ben-Ismael R., Rouger P., Carme B., Gentilini M., Salmon C.: Comparative automated assay of anti-P₁ antibodies in acute hepatic distomiasis (fascioliasis) and in hydatidosis. *Vox Sang.*, 1980; 38: 165-168
- [8] Bieker J.J.: Isolation, genomic structure, and expression of human erythroid Krüppel-like factor (EKLF). *DNA Cell Biol.*, 1996; 15: 347-352
- [9] Borg J., Papadopoulos P., Georgitsi M., Gutiérrez L., i wsp.: Haploinsufficiency for the erythroid transcription factor KLF1 causes hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Nat. Genet.*, 2010; 42: 801-805
- [10] Bruce L.J.: Hereditary stomatocytosis and cation-leaky red cells – recent developments. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2009; 42: 216-222
- [11] Cameron G.L., Staveley J.M.: Blood group P substance in hydatid cyst fluids. *Nature*, 1957; 179: 147-148
- [12] Cartron J.P., Colin Y.: Structural and functional diversity of blood group antigens. *Transfus. Clin. Biol.*, 2001; 8: 163-199
- [13] Cholera R., Brittain N.J., Gillrie M.R., Lopera-Mesa T.M., Diakité S.A., Arie T., Krause M.A., Guindo A., Tubman A., Fujioka H., Diallo D.A., Doumbo O.K., Ho M., Wellems T.E., Fairhurst R.M.: Impaired cytoadherence of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes containing sickle hemoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 991-996
- [14] Cilmi S.A., Karalius B.J., Choy W., Smith R.N., Butters J.R.: Fabry disease in mice protects against lethal disease caused by Shiga toxin-expressing enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.*, 2006; 194: 1135-1140
- [15] Cooling L.: Blood groups in infection and host susceptibility. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2015; 28: 801-870
- [16] Crawford M.N., Tippet P., Sanger R.: Antigens Au^a, i and P₁ of cells of the dominant type of Lu(a-b-). *Vox Sang.*, 1974; 26: 283-287
- [17] Crosnier C., Bustamante L.Y., Bartholdson S.J., Bei A.K., Theron M., Uchikawa M., Mboup S., Ndir O., Kwiatkowski D.P., Duraisingh M.T., Rayner J.C., Wright G.J.: Basigin is a receptor essential for erythrocyte invasion by *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 2011; 480: 534-537
- [18] Crowley J., Vege S., Lukasavage P. i wsp.: Novel mutations in EKLF/KLF1 encoding In(Lu) phenotype. *Transfusion*, 2010; 50: 47A-48A [Abstract]
- [19] Cserti-Gazdewich C.M.: *Plasmodium falciparum* malaria and carbohydrate blood group evolution. *ISBT Sci. Ser.*, 2010; 5: 256-266
- [20] Czerwinski M.: Grupy krwi – minusy i plusy. Czy antygeny grupowe krwi chronią nas przed chorobami zakaźnymi? *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2015; 69: 703-722
- [21] Czerwinski M., Kaczmarek R.: Genetyczne podstawy syntezy cukrowych antygenów grupowych krwi. *Acta Haematol. Pol.*, 2013; 44: 251-259
- [22] Czerwinski M., Waśniowska K., Steuden I., Duk M., Wiedłocha A., Lisowska E.: Degradation of the human erythrocyte membrane band 3 studied with the monoclonal antibody directed against an epitope on the cytoplasmic fragment of band 3. *Eur. J. Biochem.*, 1988; 174: 647-654
- [23] Daniels G.: Human Blood Groups, 3rd. Edition. Wiley-Blackwell, Oxford, UK 2013
- [24] Daniels G.: Lutheran. *Immunohematology*, 2009; 25: 152-159
- [25] Dotz V., Wührer M.: Histo-blood group glycans in the context of personalized medicine. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016; 1860: 1596-1607
- [26] Figueroa D.: The Diego blood group system: a review. *Immunohematology*, 2013; 29: 73-81
- [27] Flint J., Hill A.V., Bowden D.K., Oppenheimer S.J., Sill P.R., Serjeantson S.W., Bana-Koiri J., Bhatia K., Alpers M.P., Boyce A.J., Weatherall D.J., Clegg J.B.: High frequencies of α -thalassaemia are the result of natural selection by malaria. *Nature*, 1986; 321: 744-750
- [28] Fraser G.R., Giblett E.R., Motulsky A.G.: Population genetic studies in the Congo. 3. Blood groups (ABO, MNSs, Rh, Jsa). *Am. J. Hum. Genet.*, 1966; 18: 546-552
- [29] Friedman M.J.: Oxidant damage mediates variant red cell resistance to malaria. *Nature*, 1979; 280: 245-247
- [30] Gallienne A.E., Dréau H.M., Schuh A., Old J.M., Henderson S.: Ten novel mutations in the erythroid transcription factor KLF1 gene associated with increased fetal hemoglobin levels in adults. *Haematologica*, 2012; 97: 340-343
- [31] Gibson T.: Two kindred with the rare dominant inhibitor of the lutheran and p1 red cell antigens. *Hum. Hered.*, 1976; 26: 171-174
- [32] Groducecka M., Waśniowska K.: Interceptor – “ciche” receptory chemokin. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 231-239
- [33] Gruszczyk J., Lim N.T., Arnott A., He W.Q., Nguitragool W., Roobsoong W., Mok Y.F., Murphy J.M., Smith K.R., Lee S., Bahlo M., Mueller I., Barry A.E., Tham W.H.: Structurally conserved erythrocyte-binding domain in *Plasmodium* provides a versatile scaffold for alternate receptor engagement. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2016; 113: E191-E200
- [34] Hadley T.J., Peiper S.C.: From malaria to chemokine receptor: the emerging physiologic role of the Duffy blood group antigen. *Blood*, 1997; 89: 3077-3091
- [35] Heimpel H., Wendt F.: Congenital dyserythropoietic anemia with karyorrhexis and multinuclearity of erythroblasts. *Helv. Med. Acta*, 1968; 34: 103-115
- [36] Helias V., Saison C., Peyrard T., Vera E., Prehu C., Cartron J.P., Arnaud L.: Molecular analysis of the rare In(Lu) blood type: toward decoding the phenotype outcome of haploinsufficiency for the transcription factor KLF1. *Hum. Mutat.*, 2013; 34: 221-228
- [37] Hellberg Å., Westman J.S., Thureson B., Olsson M.L.: P1PK: The blood group system that changed its name and expanded. *Immunohematology*, 2013; 29: 25-33

- [38] Hodge D., Coghill E., Keys J., Maguire T., Hartmann B., McDowall A., Weiss M., Grimmond S., Perkins A.: A global role for EKLF in definitive and primitive erythropoiesis. *Blood*, 2006; 107: 3359-3370
- [39] Huang J., Zhang X., Liu D., Wei X., Shang X., Xiong F., Yu L., Yin X., Xu X.: Compound heterozygosity for KLF1 mutations is associated with microcytic hypochromic anemia and increased fetal hemoglobin. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2015; 23: 1341-1348
- [40] Iolascon A., Heimpel H., Wahlin A., Tamary H.: Congenital dyserythropoietic anemias: molecular insights and diagnostic approach. *Blood*, 2013; 122: 2162-2166
- [41] Jaffray J.A., Mitchell W.B., Gnanapragasam M.N., Seshan S.V., Guo X., Westhoff C.M., Bieker J.J., Manwani D.: Erythroid transcription factor EKLF/KLF1 mutation causing congenital dyserythropoietic anemia type IV in a patient of Taiwanese origin: review of all reported cases and development of a clinical diagnostic paradigm. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2013; 51: 71-75
- [42] Johannes L., Römer W.: Shiga toxins – from cell biology to biomedical applications. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2010; 8: 105-116
- [43] Kaczmarek R., Buczkowska A., Mikołajewicz K., Krotkiewski H., Czerwinski M.: P1PK, GLOB, and FORS blood group systems and GLOB collection: biochemical and clinical aspects. Do we understand it all yet? *Transfus. Med. Rev.*, 2014; 28: 126-136
- [44] Kaczmarek R., Duk M., Szymczak K., Korchagina E., Tyborowska J., Mikołajczyk K., Bovin N., Szweczyk B., Jaskiewicz E., Czerwinski M.: Human Gb3/CD77 synthase reveals specificity toward two or four different acceptors depending on amino acid at position 211, creating P^k, P1 and NOR blood group antigens. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2016; 470: 168-174
- [45] Kimura M.: *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, UK 1983
- [46] Kouki A., Haataja S., Loimaranta V., Pulliainen A.T., Nilsson U.J., Finne J.: Identification of a novel streptococcal adhesin P (SadP) protein recognizing galactosyl- α 1-4-galactose-containing glycoconjugates: convergent evolution of bacterial pathogens to binding of the same host receptor. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 38854-38864
- [47] Kulozik A.E., Bellan-Koch A., Kohne E., Kleihauer E.: A deletion/inversion rearrangement of the β -globin gene cluster in a Turkish family with δ β zero-thalassemia intermedia. *Blood*, 1992; 79: 2455-2459
- [48] Lai M.I., Jiang J., Silver N., Best S., Menzel S., Mijovic A., Colella S., Ragoussis J., Garner C., Weiss M.J., Thein S.L.: α -Haemoglobin stabilising protein is a quantitative trait gene that modifies the phenotype of β -thalassaemia. *Br. J. Haematol.*, 2006; 133: 675-682
- [49] Lisowska E.: Antigenic properties of human glycophorins – an update. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2001; 491: 155-169
- [50] Liu D., Zhang X., Yu L., Cai R., Ma X., Zheng C., Zhou Y., Liu Q., Wei X., Lin L., Yan T., Huang J., Mohandas N., An X., Xu X.: KLF1 mutations are relatively more common in a thalassemia endemic region and ameliorate the severity of β -thalassemia. *Blood*, 2014; 124: 803-811
- [51] Lou J.W., Li D.Z., Zhang Y., He Y., Sun M.N., Ye W.L., Liu Y.H.: Delineation of the molecular basis of borderline hemoglobin A₂ in Chinese individuals. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2014; 53: 261-264
- [52] Łukasik E., Waśniowska K.: Duffy blood group antigens: structure, serological properties and function. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2016; 70: 143-161
- [53] Magor G.W., Tallack M.R., Gillinder K.R., Bell C.C., McCallum N., Williams B., Perkins A.C.: KLF1-null neonates display hydrops fetalis and a deranged erythroid transcriptome. *Blood*, 2015; 125: 2405-2417
- [54] Maier A.G., Cooke B.M., Cowman A.F., Tilley L.: Malaria parasite proteins that remodel the host erythrocyte. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2009; 7: 341-354
- [55] Makni S., Ayed K.H., Dalix A.M., Oriol R.: Immunological localization of blood P1 antigen in tissues of *Echinococcus granulosus*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1992; 86: 87-88
- [56] Mas C., Lussier-Price M., Soni S., Morse T., Arseneault G., Di Lello P., Lafrance-Vanasse J., Bieker J.J., Omichinski J.G.: Structural and functional characterization of an atypical activation domain in erythroid Krüppel-like factor (EKLF). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 10484-10489
- [57] McConnell B.B., Yang V.W.: Mammalian Krüppel-like factors in health and diseases. *Physiol. Rev.*, 2010; 90: 1337-1381
- [58] Muramatsu T.: Basigin (CD147), a multifunctional transmembrane glycoprotein with various binding partners. *J. Biochem.*, 2016; 159: 481-490
- [59] Nasimuzzaman M., Khandros E., Wang X., Kong Y., Zhao H., Weiss D., Rivella S., Weiss M.J., Persons D.A.: Analysis of α hemoglobin stabilizing protein overexpression in murine β -thalassemia. *Am. J. Hematol.*, 2010; 85: 820-822
- [60] Ngo D., Bae H., Steinberg M.H., Sebastiani P., Solovieff N., Baldwin C.T., Melista E., Safaya S., Farrer L.A., Al-Suliman A.M., Albuali W.H., Al Bagshi M.H., Naserullah Z., Akinsheye I., Gallagher P. i wsp.: Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: genetic studies of the Arab-Indian haplotype. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2013; 51: 22-26
- [61] Nielsen R., Hellmann I., Hubisz M., Bustamante C., Clark A.G.: Recent and ongoing selection in the human genome. *Nat. Rev. Genet.*, 2007; 8: 857-868
- [62] Nitta T., Kawano F., Yamashiro Y., Takagi F., Murata T., Tanaka T., Ferania M., Adhiyanto C., Hattori Y.: A new Krüppel-like factor 1 mutation (c.947G>A or p.C316Y) in humans causes β -thalassemia minor. *Hemoglobin*, 2015; 39: 121-126
- [63] Ogasawara K., Tsuneyama H., Uchikawa M., Okazaki H., Tadokoro K.: KLF1 mutations in Japanese individuals with In(Lu) phenotype. *Vox Sang.*, 2012; 103, Suppl. 1: 214 [Abstract]
- [64] Orkin, S.H., Kazazian H.H. Jr, Antonarakis S.E., Goff S.C., Boehm C.D., Sexton J.P., Waber P.G., Giardina P.J.: Linkage of beta-thalassaemia mutations and β -globin gene polymorphisms with DNA polymorphisms in human β -globin gene cluster. *Nature*, 1982; 296: 627-631
- [65] Parsons S.F., Spring F.A., Chasis J.A., Anstee D.J.: Erythroid cell adhesion molecules Lutheran and LW in health and disease. *Baillieres Best. Pract. Res. Clin. Haematol.*, 1999; 12: 729-745
- [66] Pasvol G., Wainscoat J.S., Weatherall D.J.: Erythrocytes deficiency in glycophorin resist invasion by the malarial parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 1982; 297: 64-66
- [67] Perkins A., Xu X., Higgs D.R., Patrinos G.P., Arnaud L., Bieker J.J., Philippen S. and the KLF1 Consensus Workgroup: "Krüppeling" erythropoiesis: an unexpected broad spectrum of human red blood cell disorders due to KLF1 variants. *Blood*, 2016; 127: 1856-1862
- [68] Perseu L., Satta S., Moi P., Demartis F.R., Manunza L., Sollaino M.C., Barella S., Cao A., Galanello R.: KLF1 gene mutations cause borderline HbA₂. *Blood*, 2011; 118: 4454-4458
- [69] Ponce de León P., Valverde J.: P system antigenic determiners expression in *Ascaris lumbricoides*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 2003; 45: 53-54
- [70] Radmilovic M., Zukic B., Petrovic M.S., Bartsakoulia M., Stankovic B., Kotur N., Dokmanovic L., Georgitsi M., Patrinos G.P., Pavlovic S.: Functional analysis of a novel KLF1 gene promoter variation associated with hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Ann. Hematol.*, 2013; 92: 53-58
- [71] Rochette J., Craig J.E., Thein S.L.: Fetal hemoglobin levels in adults. *Blood Rev.*, 1994; 8: 213-224
- [72] Rowe G.P., Gale S.A., Daniels G.L., Green C.A., Tippet P.: A study on Lu-null families in South Wales. *Ann. Hum. Genet.*, 1992; 56: 267-272

- [73] Satta S., Perseu L., Moi P., Asunis I., Cabriolu A., Maccioni L., Demartis F.R., Manunza L., Cao A., Galanello R.: Compound heterozygosity for KLF1 mutations associated with remarkable increase of fetal hemoglobin and red cell protoporphyrin. *Haematologica*, 2011; 96: 767-770
- [74] Shawky R.M., Kamal T.M.: Thalassemia intermedia: An overview. *Egyptian J. Med. Human Genetics*, 2012; 13: 245-255
- [75] Siatecka M., Bieker J.J.: The multifunctional role of EKLF/KLF1 during erythropoiesis. *Blood*, 2011; 118: 2044-2054
- [76] Siatecka M., Soni S., Planutis A., Bieker J.J.: Transcriptional activity of erythroid Krüppel-like factor (EKLF/KLF1) modulated by PIAS3 (protein inhibitor of activated STAT3). *J. Biol. Chem.*, 2015; 290: 9929-9940
- [77] Singleton B.K., Burton N.M., Green C., Brady R.L., Anstee D.J.: Mutations in *EKLF/KLF1* form the molecular basis of the rare blood group In(Lu) phenotype. *Blood*, 2008; 112: 2081-2088
- [78] Singleton B.K., Lau W., Fairweather V.S., Burton N.M., Wilson M.C., Parsons S.F., Richardson B.M., Trakarnsanga K., Brady R.L., Anstee D.J., Frayne J.: Mutations in the second zinc finger of human EKLF reduce promoter affinity but give rise to benign and disease phenotypes. *Blood*, 2011; 118: 3137-3145
- [79] Soni S., Pchelintsev N., Adams P.D., Bieker J.J.: Transcription factor EKLF (KLF1) recruitment of the histone chaperone HIRA is essential for β -globin gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014; 111: 13337-13342
- [80] Special Issue: Abstracts of the 32nd International Congress of the International Society of Blood Transfusion in joint cooperation with the 10th Congress of AMMTAC, Cancun, Mexico, July 7-12, 2012. *Vox Sang.*, 2012; 103, Suppl. 1: 1-289
- [81] Special Issue: Abstract Presentations from the AABB Annual Meeting and CTTXPO, Baltimore, Maryland, USA, October 9-12, 2010. *Transfusion*, 2010; 50, Suppl. 2: 1A-231A
- [82] Suchanowska A., Kaczmarek R., Duk M., Lukasiewicz J., Smolarek D., Majorczyk E., Jaskiewicz E., Laskowska A., Wasniowska K., Grodecka M., Lisowska E., Czerwinski M.: A single point mutation in the gene encoding Gb3/CD77 synthase causes a rare inherited polyagglutination syndrome. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 38220-38230
- [83] Taliano V., Guévin R.M., Tippet P.: The genetics of a dominant inhibitor of the Lutheran antigens. *Vox Sang.*, 1973; 24: 42-47
- [84] Tang W., Cai S.P., Eng B., Poon M.C., Wayne J.S., Illum N., Chui D.H.: Expression of embryonic ζ -globin and ϵ -globin chains in a 10-year-old girl with congenital anemia. *Blood*, 1993; 81: 1636-1640
- [85] Tepakhan W., Yamsri S., Fucharoen G., Sanchaisuriya K., Fucharoen S.: Krüppel-like factor 1 mutations and expression of hemoglobins F and A2 in homozygous hemoglobin E syndrome. *Ann. Hematol.*, 2015; 94: 1093-1098
- [86] Thein S.L., Menzel S.: Discovering the genetics underlying fetal haemoglobin production in adults. *Br. J. Haematol.*, 2009; 145: 455-467
- [87] Thuresson B., Westman J.S., Olsson M.L.: Identification of a novel *A4GALT* exon reveals the genetic basis of the P₁/P₂ histo-blood groups. *Blood*, 2011; 117: 678-687
- [88] Tournamille C., Colin Y., Cartron J.P., Le Van Kim C.: Disruption of a GATA motif in the *Duffy* gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals. *Nat. Genet.*, 1995; 10: 224-228
- [89] Tournamille C., Le Van Kim C., Gane P., Cartron J.P., Colin Y.: Molecular basis and PCR-DNA typing of the Fya/fyb blood group polymorphism. *Hum. Genet.*, 1995; 95: 407-410
- [90] Viprakasit V., Ekwattanakit S., Rioueang S., Chalaow N., Fisher C., Lower K., Kanno H., Tachavanich K., Bejrachandra S., Saipin J., Juntaraniyom M., Sanpakit K., Tanphaichitr V.S., Songdej D., Babbs C., Gibbons R.J., Philipsen S., Higgs D.R.: Mutations in Krüppel-like factor 1 cause transfusion-dependent hemolytic anemia and persistence of embryonic globin gene expression. *Blood*, 2014; 123: 1586-1595
- [91] Wanaguru M., Liu W., Hahn B.H., Rayner J.C., Wright G.J.: RH5-Basigin interaction plays a major role in the host tropism of *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013; 110: 20735-20740
- [92] Wang T., He Y., Zhou J.Y., Xie X. M., Li J., Liao C., Li D.Z.: KLF1 gene mutations in Chinese adults with increased fetal hemoglobin. *Hemoglobin*, 2013; 37: 501-506
- [93] Wang Z., Luo G., Ji Y.: A novel 519_525dup mutation of KLF1 gene identified in a Chinese blood donor with Lu(a-b-) phenotype. *Transfusion*, 2013; 53: 1619-1620
- [94] Wasniowska K., Czerwinski M., Jachymek W., Lisowska E.: Expression and binding properties of a soluble chimeric protein containing the N-terminal domain of Duffy antigen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 273: 705-711
- [95] Wasniowska K., Drzeniek Z., Lisowska E.: The amino acids of M and N blood group glycopeptides are different. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1977; 76: 385-390
- [96] Wassmer S.C., Carlton J.M.: Glycophorins, blood groups, and protection from severe malaria. *Trends Parasitol.*, 2016; 32: 5-7
- [97] Wayne J.S., Eng B.: Krüppel-like factor 1: hematologic phenotypes associated with KLF1 gene mutations. *Int. J. Lab. Hematol.*, 2015; 37, Suppl. 1: 78-84
- [98] Weatherall D.: Thalassemias. *Nature Publishing Group, Encyclopedia of Life Sciences*, 2001
- [99] Wickramasinghe S.N.: Congenital dyserythropoietic anaemias: clinical features, haematological morphology and new biochemical data. *Blood Rev.*, 1998; 12: 178-200
- [100] Wickramasinghe S.N., Wood W.G.: Advances in the understanding of the congenital dyserythropoietic anaemias. *Br. J. Haematol.*, 2005; 131: 431-446
- [101] Williams T.N.: How do hemoglobins S and C result in malaria protection? *J. Infect. Dis.*, 2011; 204: 1651-1653
- [102] Yosief H.O., Iyer S.S., Weiss A.A.: Binding of P^k-trisaccharide analogs of globotriaosylceramide to Shiga toxin variants. *Infect. Immun.*, 2013; 81: 2753-2760
- [103] Yu L.H., Liu D., Cai R., Shang X., Zhang X.H., Ma X.X., Yan S.H., Fang P., Zheng C.G., Wei X.F., Liu Y.H., Zhou T.B., Xu X.M.: Changes in hematological parameters in α -thalassemia individuals co-inherited with erythroid Krüppel-like factor mutations. *Clin. Genet.*, 2015; 88: 56-61
- [104] Zenonos Z.A., Dummler S.K., Müller-Siennerth N., Chen J., Preiser P.R., Rayner J.C., Wright G.J.: Basigin is a druggable target for host oriented antimalarial interventions. *J. Exp. Med.*, 2015; 212: 1145-1151

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.