

## Abstract

---

**Project Code** : MRG5580049

**Project Title** : Role of mitophagy in erythropoiesis

**Investigator** : Orapan Sripichai, Ph.D.

Thalassemia Research Center, Institute of Molecular Biosciences,  
Mahidol University

25/25 Phutthamonthon4 Rd., Salaya, Phutthamonthon, Nakhonpathom 73170

Tel.: 0 2889 2557

Fax.: 0 2889 2559

**E-mail Address** : orapan.sri@mahidol.ac.th

**Project Period** : 2 years (2<sup>nd</sup> July 2012 – 1<sup>st</sup> July 2014)

Anemia in  $\beta$ -thalassemia/HbE patients is due to an overall reduction in hemoglobin production, ineffective erythropoiesis and hemolysis of mature erythrocytes. Immature reticulocyte is an indicator of stress erythropoiesis and is markedly increased in these patients. Significant increases in reticulocyte percentage and immature reticulocyte fraction were observed in severe and moderate cases compared to mild cases, suggesting a higher degree of bone marrow stimulation in the former groups. In addition, an *ex vivo* reticulocyte culture exhibited delay mitochondrial clearance in  $\beta$ -thalassemia/HbE reticulocytes compared to normal reticulocytes. Mitochondria in erythroblast are primarily responsible for ATP and heme synthesis, and undergo elimination during terminal differentiation. Removal of unwanted and damaged mitochondria, before it causes activation of cell death, occurs by mitochondrial autophagy (mitophagy). In order to study the mitochondria dynamic during erythropoiesis, an *ex vivo* erythroblast culture were performed. Inductions of autophagy in early stage of differentiation were observed in thalassemic erythroblast. The stimulation of autophagy was concomitant with the transcriptional upregulation of several mitophagy-related genes, in which modulation of its levels affects number of mitochondria and the amount of cell death. Together, these results suggested that the dysregulation of mitochondrial clearance in  $\beta$ -thalassemia/HbE may contribute to the pathophysiology of patients.

**Keywords** : erythropoiesis, reticulocyte, thalassemia, mitophagy

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการวิจัย : MRG5580049

หัวข้อโครงการวิจัย : การศึกษาบทบาทของไมโทฟาจีในกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดง

ผู้วิจัย : นางสาวอรพรรณ ศรีพิชัย

ศูนย์วิจัยเซลล์ซีเมีย สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล

25/25 ถนนพุทธมณฑลสายสี่ ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑลสาย จ.นครปฐม 73170

โทรศัพท์: 0 2889 2557

โทรสาร: 0 2889 2559

อีเมลล์ : orapan.sri@mahidol.ac.th

ระยะเวลาวิจัย : 2 ปี (2 กรกฎาคม 2555 – 1 กรกฎาคม 2557)

ภาวะโลหิตจางในผู้ป่วยโรคเบต้า-ธาลัสซีเมียเกิดจากการสร้างฮีโมโกลบินในเซลล์เม็ดเลือดแดงลดลง ร่วมกับมีกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีประสิทธิภาพ และเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดงตัวเต็มวัย ผู้ป่วยเบต้า-ธาลัสซีเมียมีจำนวนเรดติกคิวโลไซด์ระยะตัวอ่อนสูงขึ้นซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าการสร้างเม็ดเลือดแดงภายใต้ภาวะกดดัน โดยผู้ป่วยที่มีอาการมากและอาการปานกลางพบว่าปริมาณเรดติกคิวโลไซด์และสัดส่วนของเรดติกคิวโลไซด์ระยะตัวอ่อนที่สูงกว่าในผู้ป่วยที่มีอาการน้อยซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีระดับการกระตุ้นไขกระดูกให้สร้างเม็ดเลือดแดงที่สูงกว่า นอกจากนี้จากการเพาะเลี้ยงเรดติกคิวโลไซด์ในหลอดทดลองพบว่าเรดติกคิวโลไซด์โรคเบต้า-ธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีมีการกำจัดไมโทคอนเดรียช้ากว่าเรดติกคิวโลไซด์ปกติ ไมโทคอนเดรียเป็นแหล่งผลิตพลังงานและเป็นที่ยึดฮีมาสำหรับสร้างฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน และจะถูกกำจัดเมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนเจริญถึงระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโต ไมโทคอนเดรียที่เซลล์ไม่ต้องการแล้วหรือไมโทคอนเดรียที่เสียสภาพจะถูกกำจัดด้วยกระบวนการออโตฟาจีของไมโทคอนเดรีย (ไมโทฟาจี) ซึ่งจะเกิดขึ้นก่อนที่ไมโทคอนเดรียเหล่านี้จะกลายเป็นสาเหตุของการกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ จากการเพาะเลี้ยงเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนในหลอดทดลองเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงไมโทคอนเดรียในระหว่างกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดง พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนโรคธาลัสซีเมียมีการเพิ่มขึ้นของออโตฟาจีในระยะเริ่มต้นของการเจริญเติบโตของเซลล์ การกระตุ้นออโตฟาจีนี้พบว่าเกิดขึ้นพร้อมกับการเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไมโทฟาจีหลายตัว ซึ่งการเปลี่ยนแปลงปริมาณของยีนเหล่านี้จะส่งผลต่อจำนวนไมโทคอนเดรียในเซลล์และการตายของเซลล์ ผลจากการศึกษาวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการควบคุมกระบวนการกำจัดไมโทคอนเดรียที่ผิดปกติในเม็ดเลือดแดงโรคเบต้า-ธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีอาจส่งผลกระทบต่อพยาธิสภาพของโรคในผู้ป่วย

คำสำคัญ : กระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดง, เรดติกคิวโลไซด์, ธาลัสซีเมีย, ไมโทฟาจี