

ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗ-ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗ

Αλεξάνδρα Κουράκλη-Συμεωνίδου

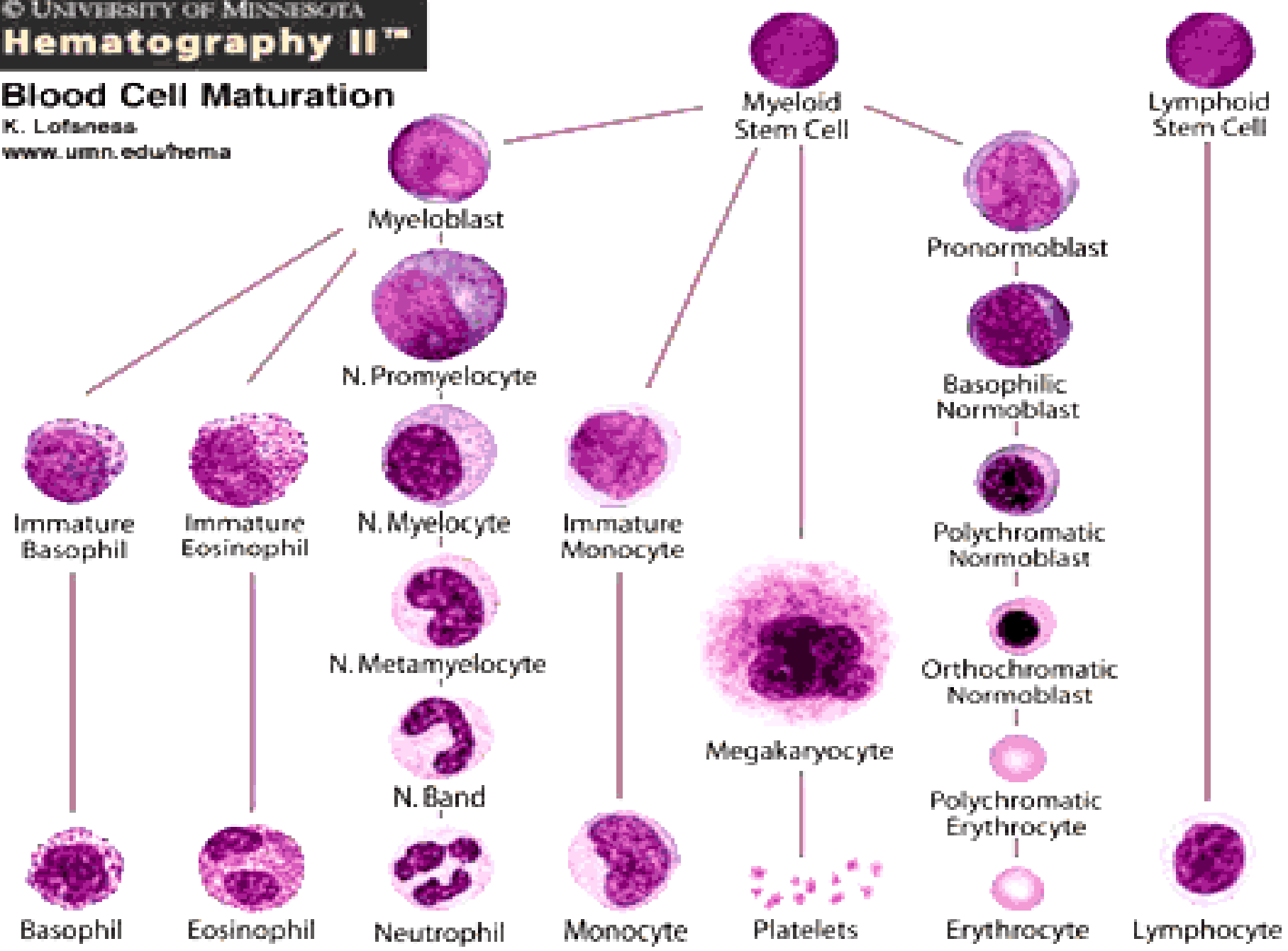
*Απαρτιωμένη διδασκαλία
Φεβρουάριος-Μάρτιος 2016*

Ορισμός της Αιμοποίησης

- **Αιμοποίηση** καλείται το σύνολο των διεργασιών που επιτελούνται κατά την συνεχή αναπαραγωγή των κυττάρων του αίματος (γένεση ώριμων κυττάρων από τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα στο μυελό).

Blood Cell Maturation

K. Lofness
www.umn.edu/hema



Το αίμα αποτελείται από:

- ερυθρά αιμοσφαίρια
 - λευκά αιμοσφαίρια
 - αιμοπετάλια
 - πλάσμα
-
- Όλα τα κύτταρα του αίματος προέρχονται από το **αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο (pluripotent stem cell)**

Τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα (PHSC) έχουν τις εξής ιδιότητες:

- **αυτοανανέωση**
- **πολλαπλασιασμός**
- **διαφοροποίηση** σε προγονικά κύτταρα τα οποία προορίζονται για συγκεκριμένη κυτταρική σειρά
- **ικανότητα να επαναφέρουν την αιμοποίηση (πχ μετά από μεταμόσχευση)**
- **αποτελούν στόχο για μεταλλαγή σε λευχαιμικά κύτταρα**
- **ικανότητα να παραμένουν σε ηρεμία (quiescence, G₀ φάση)**

Τα **προγονικά** (progenitor) κύτταρα σε αντίθεση με τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα έχουν τις εξής ιδιότητες:

- **περιορισμένη πολλαπλασιαστική ικανότητα**
- **δεν αυτοανανεώνονται**
- **μη αναστρέψιμη διαφοροποίηση** προς κάποια σειρά
- **δεν έχουν ικανότητα να επαναφέρουν την αιμοποίηση** (πχ μετα από μεταμόσχευση)

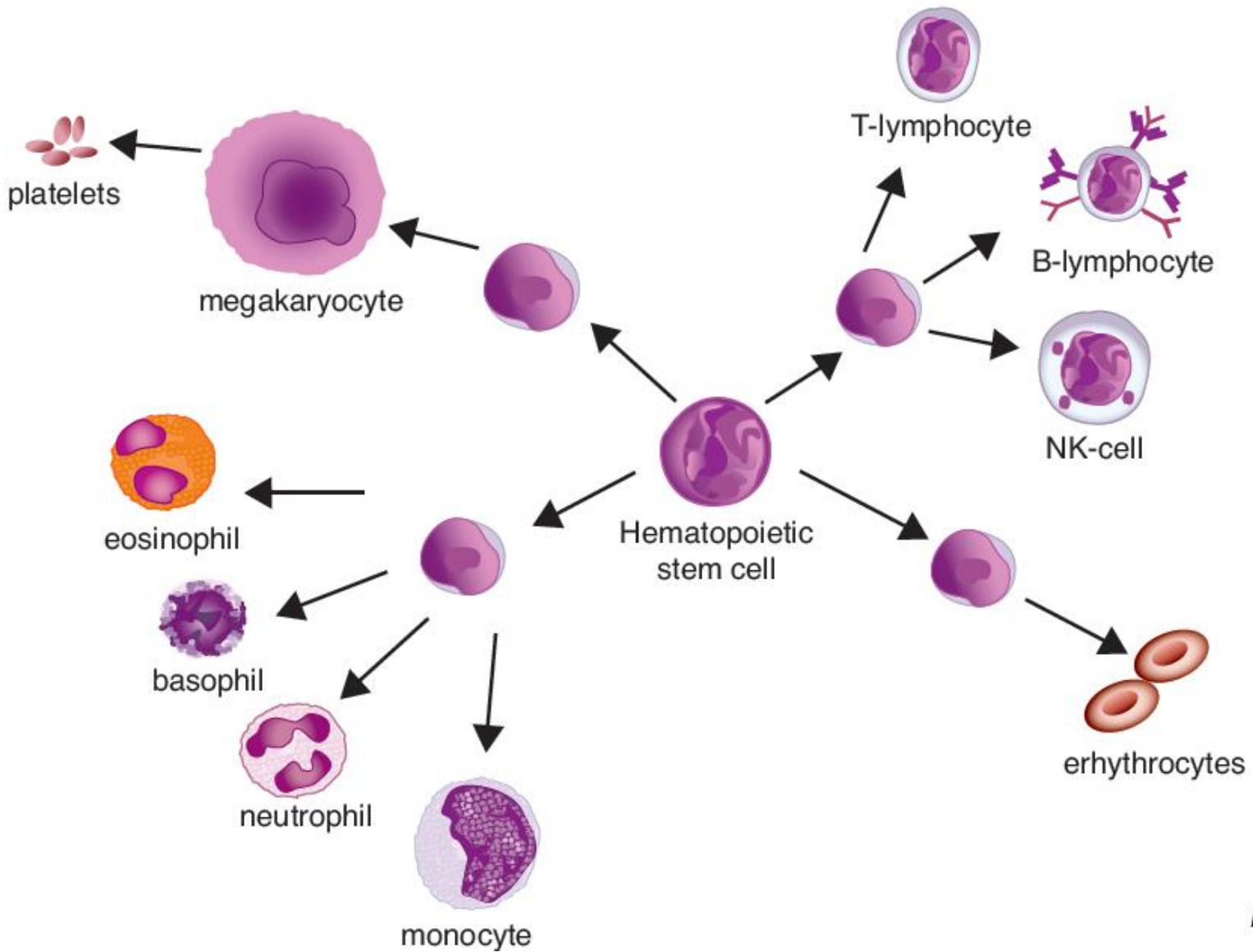


FIGURE 1:
Hematopoiesis.

self-renewal
proliferation

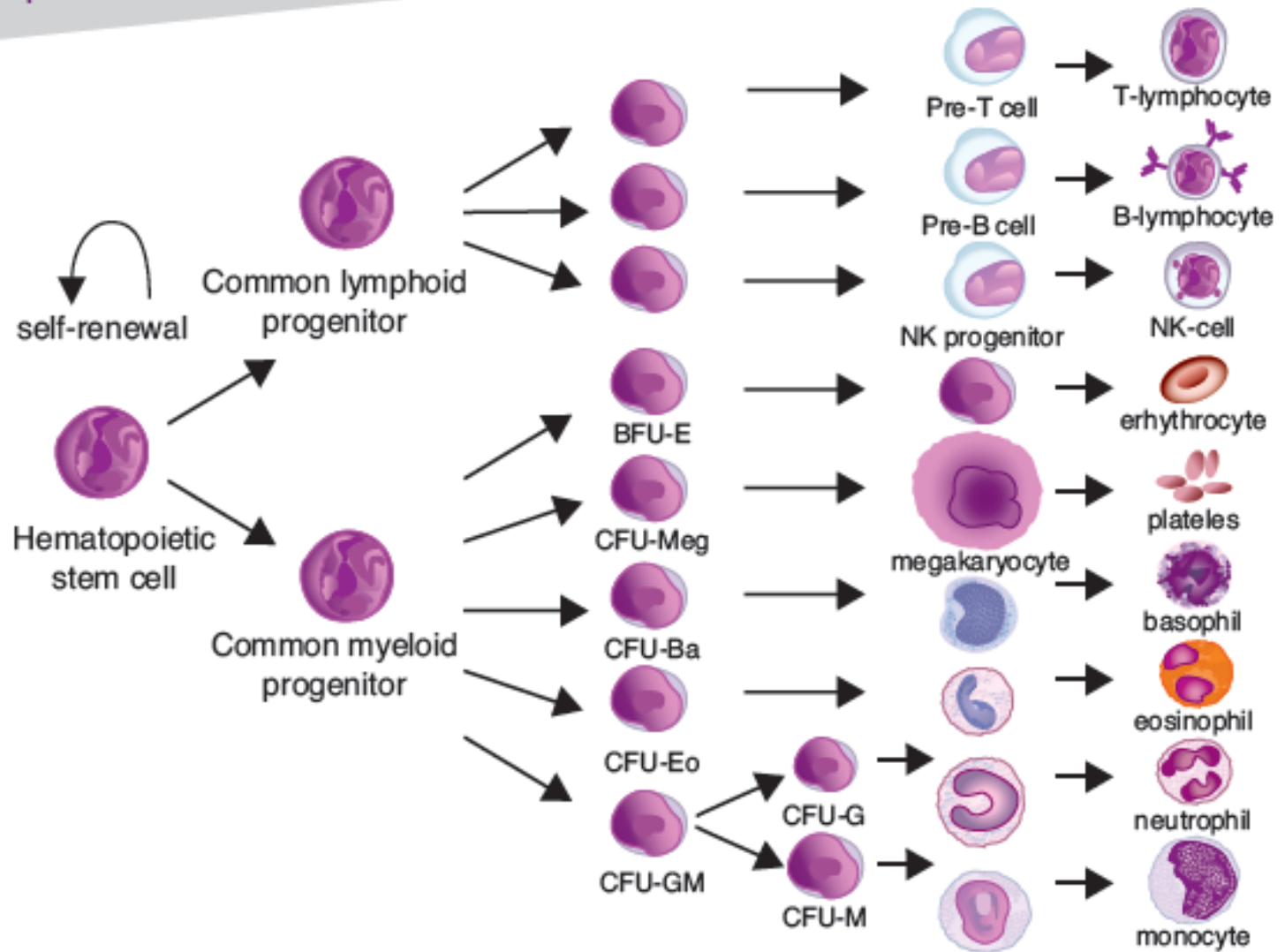


FIGURE 2:
hierarchical model of hematopoiesis.

commitment
differentiation

ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ

- Μυελός των οστών
- Ήπαρ
- Σπλήνας
- Θύμος αδένας
- Λεμφαδένες

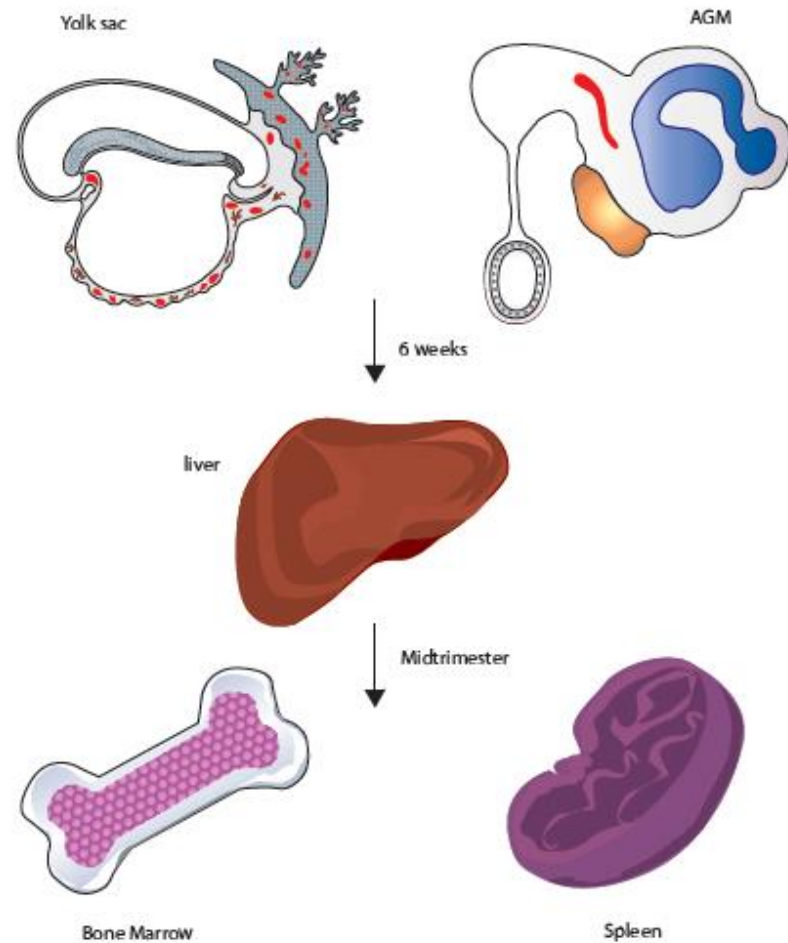
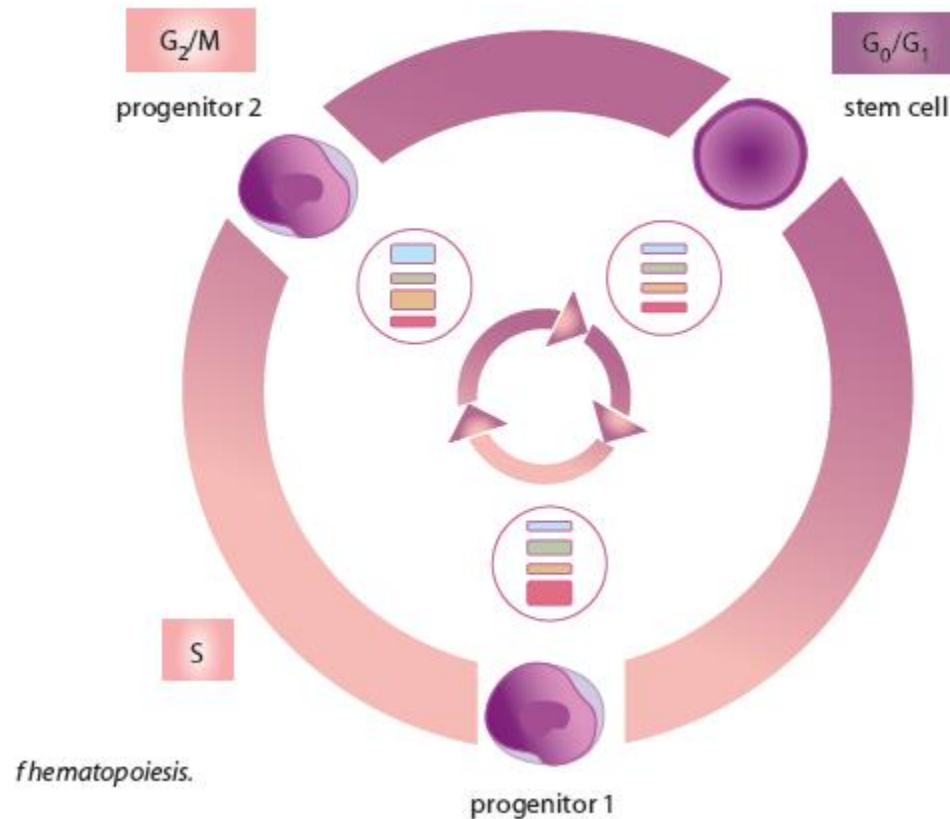


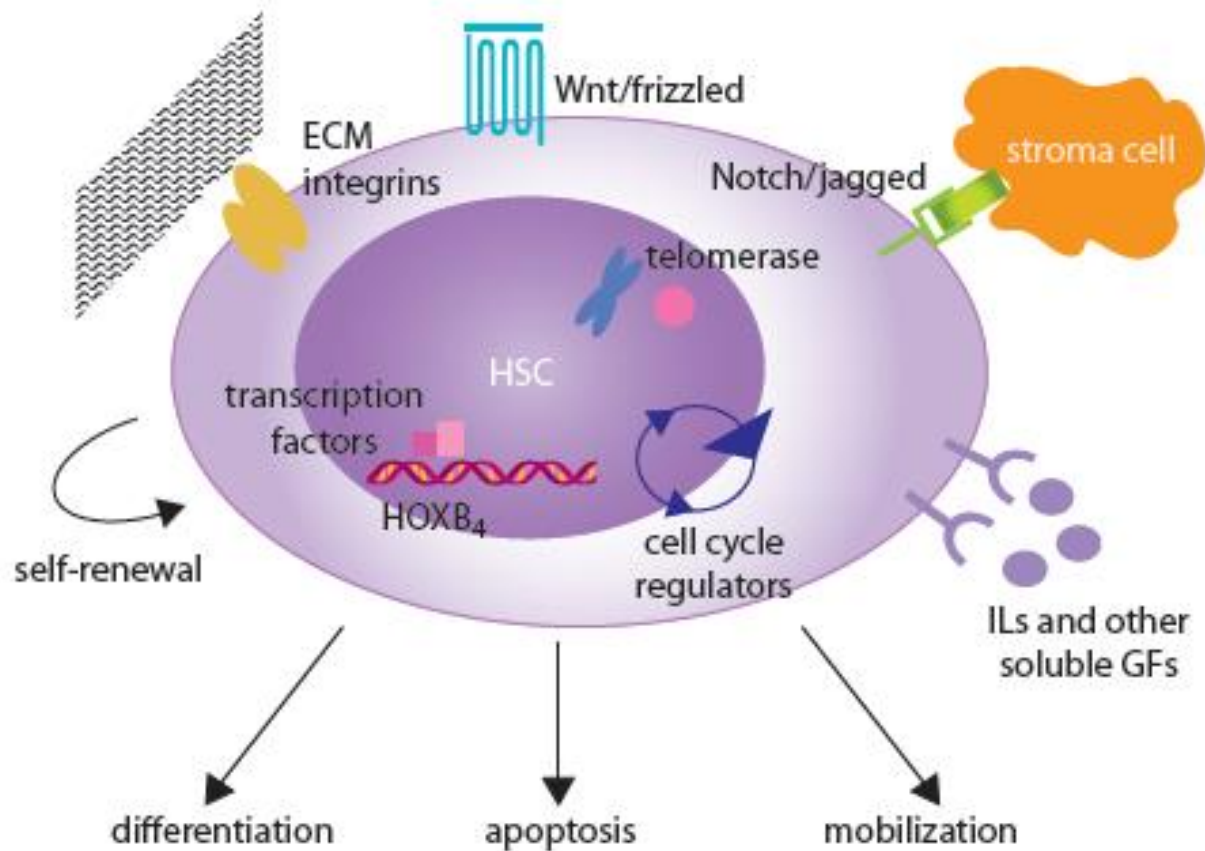
FIGURE 9:
Ontogeny of hematopoiesis.

Αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα (stem cells)

- Μικρή δεξαμενή
 - $1-2 \times 10^6$ / άτομο
- Τεράστιες δυνατότητες
 - Παραγωγή $> 10^{11}$ κυττάρων/ ημέρα
- Ήρεμη δύναμη
 - Το 5% μόνον σε κύκλο



Φαίνεται οτι υπάρχει μια συνεχής ισορροπία στην έκφραση μεταγραφικών παραγόντων ώστε ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού τα stem cells να παραμένουν σε κατάσταση ηρεμίας ή να διαφοροποιούνται



Wnt: προάγει την αυτοανανέωση των HSC

Notch: διατήρηση της ικανότητας να είναι πολυδύναμα

Σε κάθε διαίρεση ένα από τα θυγατρικά HSC παραμένει σε ηρεμία και ένα διαφοροποιείται.

Μοντέλα Αιμοποίησης

- **Στοχαστικό Μοντέλο**: είναι εντελώς τυχαίο αν ένα κύτταρο θα διαφοροποιηθεί ή θα αυτοδιπλασιαστεί
- **Deterministic model**: Η τύχη του κυττάρου καθορίζεται από μεταγραφικούς παράγοντες, κυτταροκίνες και άλλους διαλυτούς εξωκυττάριους παράγοντες

ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

- **Παράγοντες των αρχέγονων κυττάρων**
Stem cell factor (SCF)/c-kit ligand, flt-3 ligand, IL-6, Leukemia inhibiting factor (LIF), IL-11.
- **Παράγοντες των πολυδύναμων κυττάρων**
IL-1, 3, 4, 9, 11, IGF-1, GM-CSF
- **Παράγοντες των μονοδύναμων κυττάρων**
Erythropoietin (Epo), G-CSF, M-CSF, IL-5, Thrombopoietin (TPO)
- **Ανασταλτικοί παράγοντες της αιμοποίησης**
TGFβ, MIP-1α, IFNγ, TNFα

Η διαδικασία καθορισμού της τύχης των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων

Πρόκειται για ένα συνδυασμό μεμονωμένων τυχαίων γεγονότων και συγκεκριμένα του **ποιό κύτταρο** βρέθηκε τη συγκεκριμένη στιγμή στο μικροπεριβάλλον του μυελού, **τι είδους υποδοχέας** θα εμφανιστεί στο κύτταρο και ποιός **αυξητικός παράγων** θα υπάρχει την ίδια στιγμή εκεί.

Στην πραγματικότητα, το σύνολο των μηχανισμών αυτών μπαίνει στα πλαίσια μιας αλληλουχίας γεγονότων, η οποία καθορίζεται από τις εκάστοτε **ανάγκες για αιμοποίηση του οργανισμού και επομένως δεν μπορεί να θεωρηθεί τυχαία.**

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

- Πρόσφατα διαπιστώθηκε η ύπαρξη **αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων και σε άλλους ιστούς**, κάτι που ίσως πρέπει να ερμηνευτεί με την παραδοχή ότι μηνύματα επιβίωσης μπορεί να διαθέτει το μικροπεριβάλλον και άλλων ιστών.
- Η **ειδικότητα του μυελού** ωστόσο, φαίνεται ότι οφείλεται αφ' ενός στη μοναδική σύνθεση των μηνυμάτων, αλλά και την κατάλληλη ισορροπία μεταξύ τους

Η ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΟΝ ΜΥΕΛΟ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

Αιμοποιητικές φωλεές (niches)

Κατάλληλα διαμορφωμένο μικροπεριβάλλον κοντά στο ενδόστεο, όπου η αλληλεπίδραση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και των υποστηρικτικών κυττάρων (οστεοβλάστες κλπ) που μέσω υποδοχέων και άλλων διαλυτών παραγόντων, καθορίζουν την κατάσταση ηρεμίας ή πολλαπλασιασμού των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων.

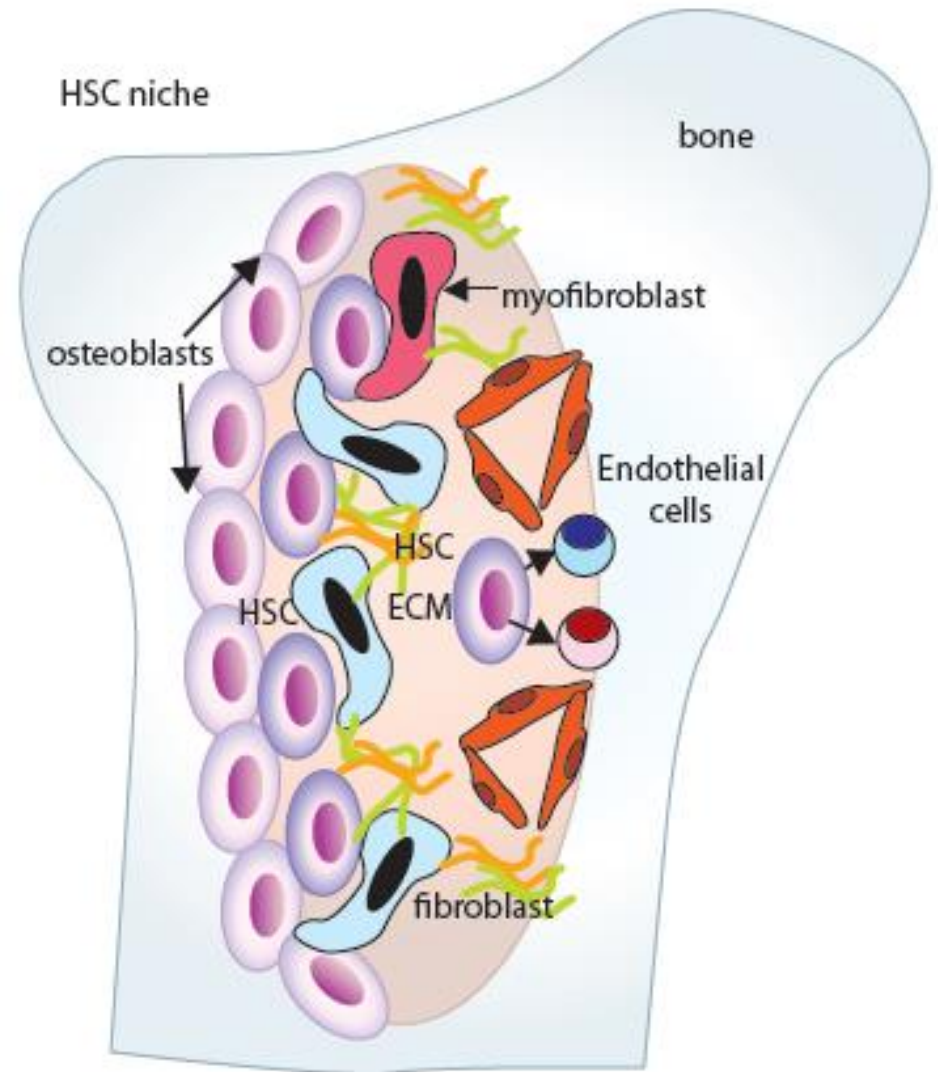
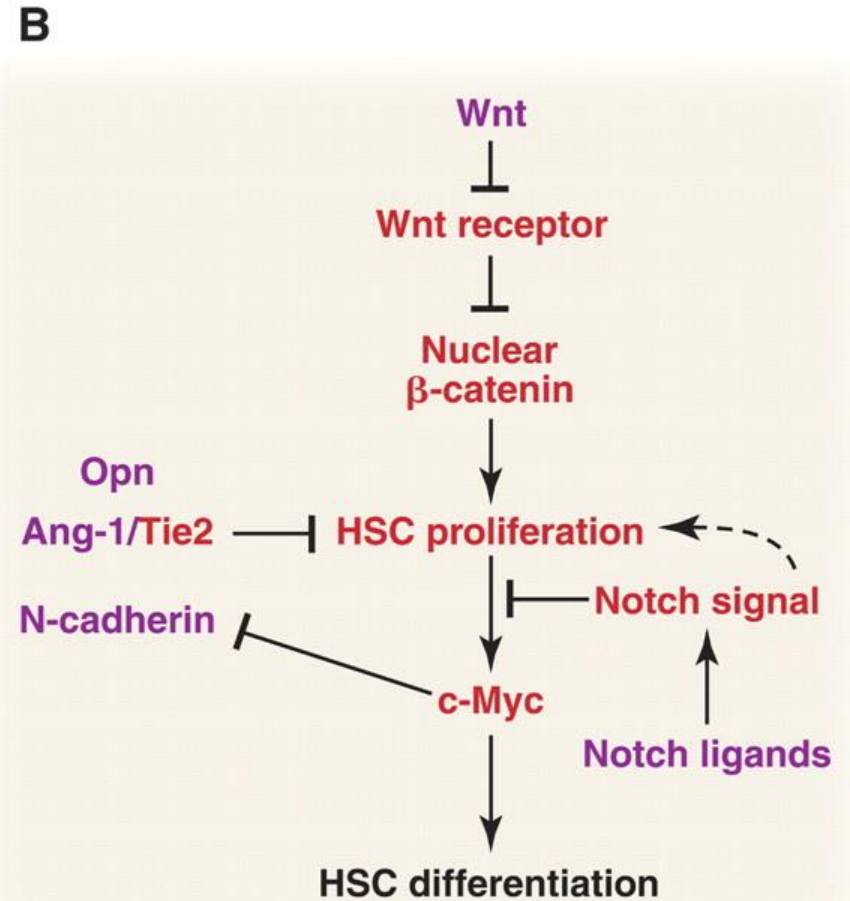
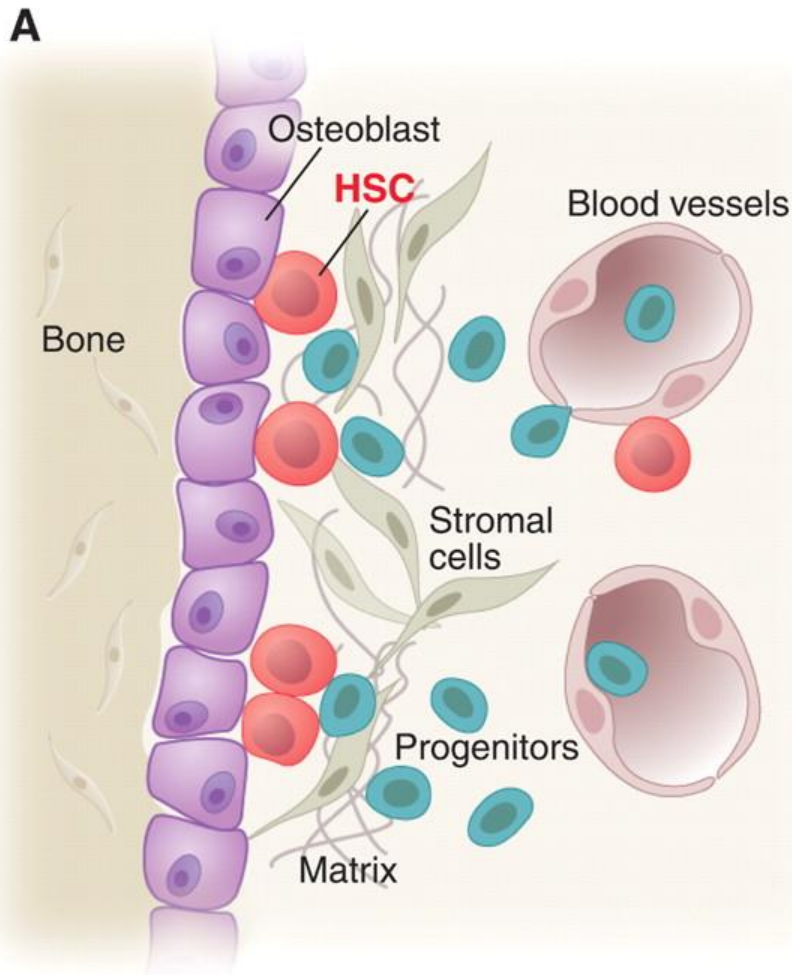
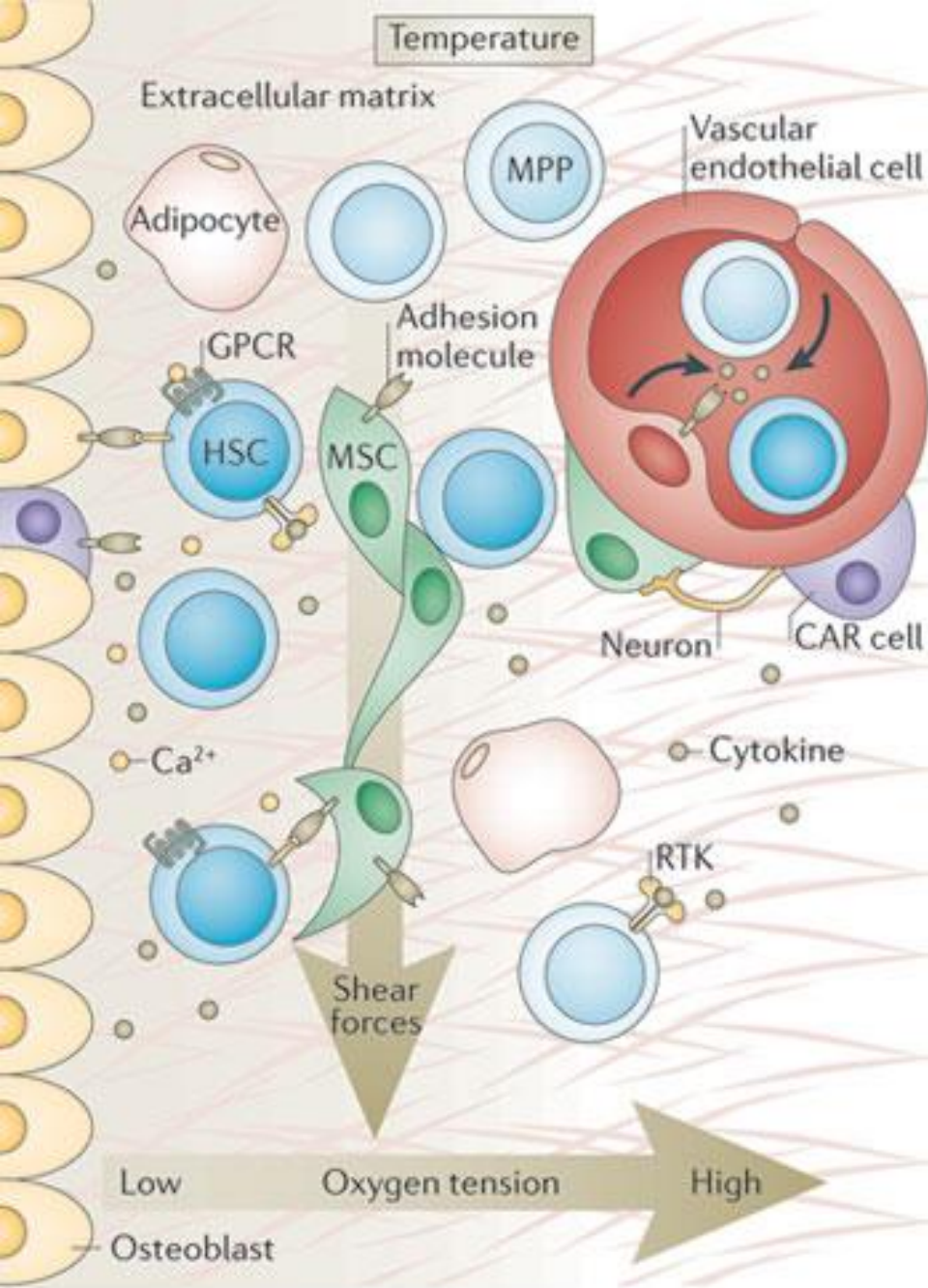


FIGURE 6:

Bone marrow microenvironment.

Αιμοποίηση (σχηματικά)





Υψηλή τάση O₂:
 ωθεί τα κύτταρα προς
 ωρίμανση-διαφοροποίηση

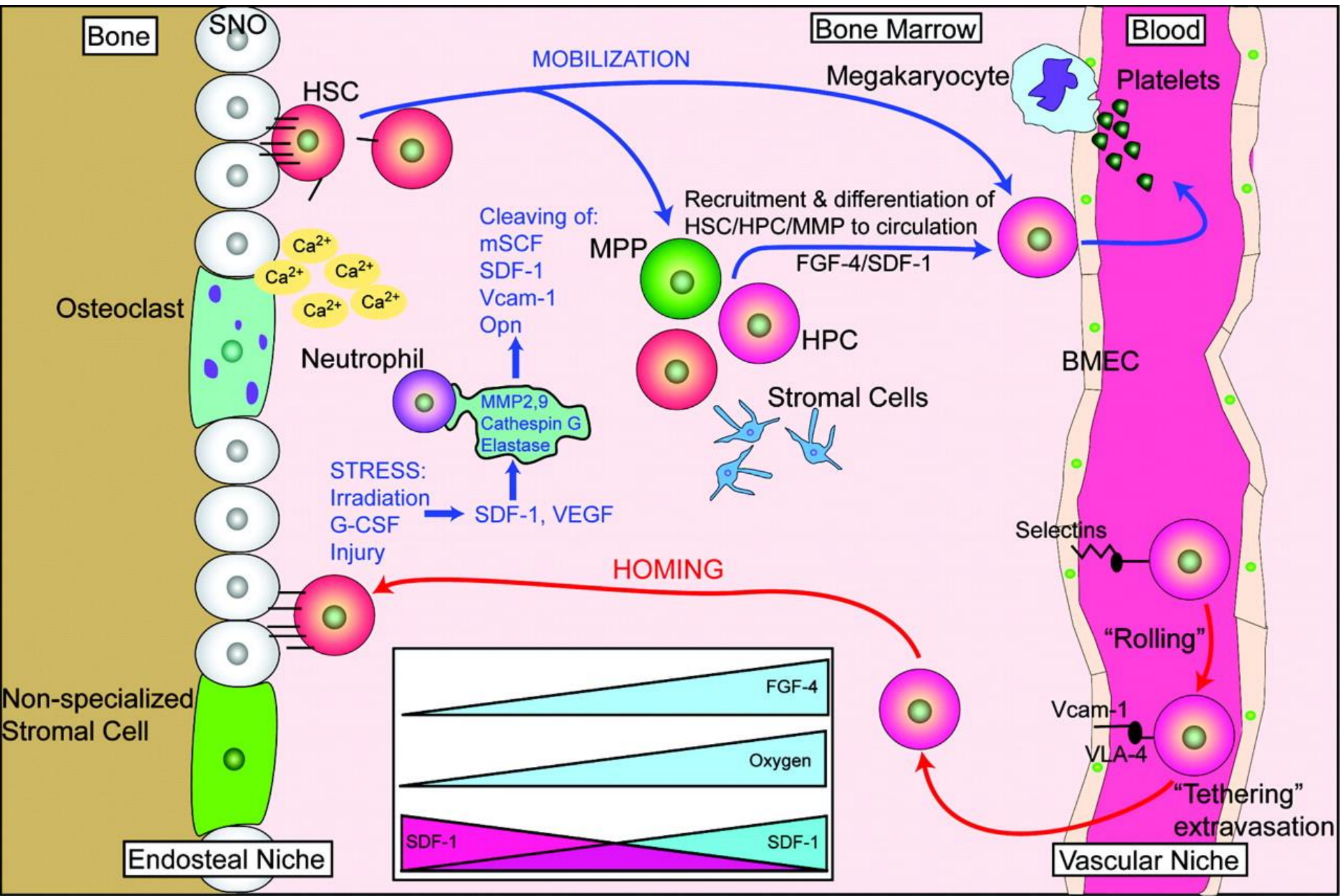
ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

- **Συμπερασματικά** μπορεί να ειπωθεί ότι για τη ρύθμιση της αιμοποίησης λειτουργεί ένα πολύπλοκο αλλά αποτελεσματικό δίκτυο επικοινωνίας ανάμεσα στα αιμοποιητικά και τα κύτταρα του στρώματος, είτε με άμεση επαφή μέσω **επιφανειακών υποδοχέων**, είτε μέσω **κυτταροκινών**.

ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

- Εσωτερικό **κυτταρικό πρόγραμμα** και παρουσία συγκεκριμένων υποδοχέων
- **Ανάγκες** του οργανισμού
- **Αλληλεπιδράσεις** αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και μικροπεριβάλλοντος μυελού (κύτταρα και κυτταροκίνες/χυμοκίνες)

Η αιμοποίηση στις αιμοποιητικές φωλεές



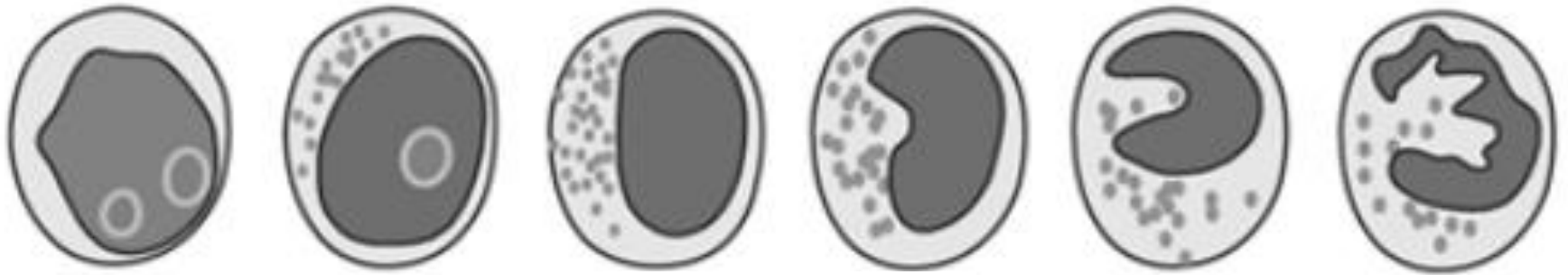
ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ

- Ερυθρά αιμοσφαίρια **120 ημέρες**
- Αιμοπετάλια **7 ημέρες**
- Κοκκιοκύτταρα **7 ώρες**

Λευκά Αιμοσφαίρια

- Αριθμός (4.000- 10.000/mm³)
- Τύπος
- Μορφολογία

Ωρίμανση κοκκιώδους σειράς



Μυελοβλάστη

Προμυελοκύτταρο

Μυελοκύτταρο

Μεταμυελοκύτταρο

Ραβδοπύρηνο

Ουδετερόφιλο
πολυμορφοπύρηνο

Azurophil granules → Myeloperoxidase elastase

Specific granules

← Lactoferrin →

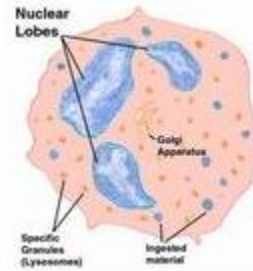
Gelatinase granules

Severe congenital cyclic neutropenia

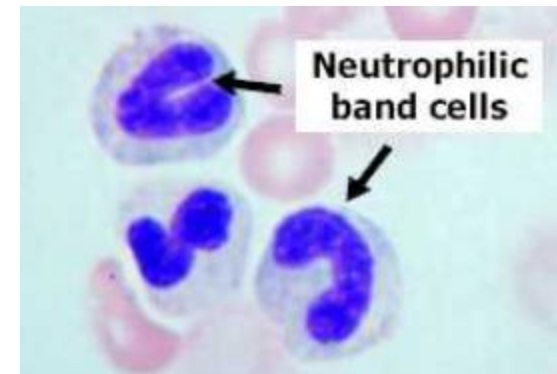
← Gelatinase →

Specific granules deficiency

Πολυμορφοπύρρηνα (ουδετερόφιλα)



- Κοκκιοκύτταρα: πολυμορφοπύρρηνα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα
- Διάρκεια 10-14 ημέρες για να σχηματιστούν από τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα
- Μέσος χρόνος ζωής στο αίμα: 6-10hrs
- Φυσιολογικός αριθμός:
 - 1800-7200, διάμεση τιμή: 4000
 - ραβδοπύρρηνα: 500
 - πολυμορφοπύρρηνα: 3500



Πολυμορφοπυρήνωση

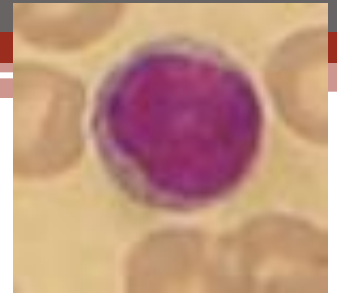
- Βακτηριακές Λοιμώξεις (τοξική κοκκίωση)
- Φλεγμονή
- Αγωγή με κορτικοστεροειδή
- Οξεία απώλεια αίματος
- Δηλητηριάσεις

- Χρονία μυελογενής λευχαιμία

Ουδετεροπενία

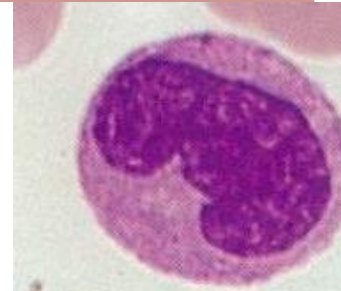
- Βαριές Λοιμώξεις-Σήψη
- Ακτινοβολία
- Φάρμακα-ΧΜΘ
- Αυτοανοσία- ΣΕΛ
- Κυκλική ουδετεροπενία
- Οικογενής ουδετεροπενία
 - Εξέταση Μυελού:
 - α) Περιφερική καταστροφή (αυξημένα πρόδρομα κύτταρα μυελικής σειράς)
 - β) Απλασία μυελού (απουσία πρόδρομων κυττάρων μυελικής σειράς)

Λεμφοκύτταρα



- Φυσιολογικά: 1500-4000/mm³ (διάμεση: 2500)
- **Λεμφοπενία** (stress, χειρουργείο, τραύμα, λοιμώξεις, HIV)
- **Λεμφοκυττάρωση**
 - Συνήθως σε λοιμώξεις στα παιδιά
 - Ιογενείς Λοιμώξεις (ηπατίτιδες, CMV, EBV, κλπ..)
 - Φυματίωση
 - Βρουκέλλωση
 - ΧΛΛ, Λεμφώματα με διήθηση μυελού, κλπ...

Μονοκύτταρα



- Φυσιολογικά 200-900/mm³ (διάμεση τιμή: 450)

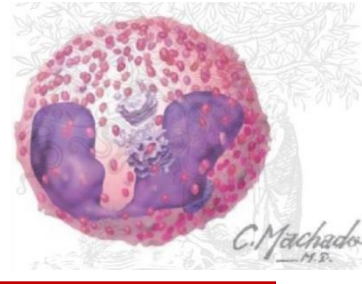
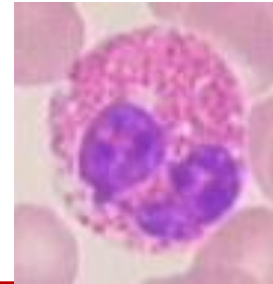
- **Αυξημένα μονοκύτταρα**

- ρικέτσιες
- κάποιες βακτηριακές λοιμώξεις
- ελονοσία, τύφος, φυματίωση

μονοκύτταρα > 1000 → ΧΜΜΛ (χρονία μυελομονοκυτταρική λευχαιμία)

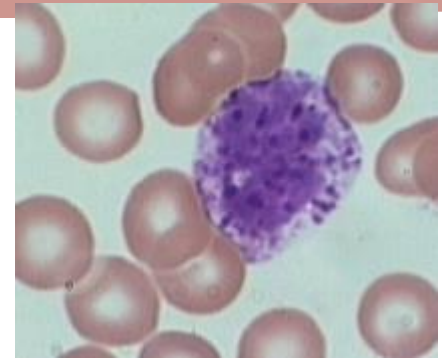
- **Χαμηλά μονοκύτταρα (<200):** Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων

Ηωσινόφιλα



- Φυσιολογικά 0-700/mm³ (median 150)
- Αυξάνονται σε:
 - αλλεργικές αντιδράσεις
 - υπερευαισθησία σε φάρμακα
 - παράσιτα
 - πρωτοπαθές υπερηωσινοφιλικό σύνδρομο: σπάνιο, προσβολή οργάνων (καρδιά, πνεύμονες)

Βασεόφιλα



- Φυσιολογικά: 0-150 /mm³ (διάμεση τιμή 30)
- Σπάνια αυξημένα - εκτός και αν συνοδεύουν κάποιο μυελοϋπερπλαστικό σύνδρομο
- Πολύ αυξημένα στη Χρονία Ουδετεροφιλική Λευχαιμία

Αιμοπετάλια (1)

- Θρομβοκυττάρωση:
 - Λοιμώξεις
 - Φλεγμονώδεις καταστάσεις (RA, οστεομυελίτιδα..)
 - Χρόνια απώλεια αιματος
 - Σιδηροπενία
 - Σπληνεκτομή
 - Αντιδραστικά μετά από καταστολή του μυελού
 - Καρκίνος
 - Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα (>600.000)

Αιμοπετάλια (2)

- Θρομβοπενία
 - Ψευδής
 - Φάρμακα (ΧΜΘ, αντιβιοτικά, ...)
 - Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα
 - Ανοσολογικής αρχής θρομβοπενική πορφύρα
 - Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα
 - Ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο
 - Αυτοάνοσα νοσήματα

ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗ - Ορισμός

- **Ερυθροποίηση** είναι η διαδικασία παραγωγής ωρίμων ερυθροκυττάρων στο μυελό των οστών.
- Το σύνολο των κυττάρων που μετέχουν σε αυτήν από το πρώτο "δεσμευμένο" προς την ερυθροποίηση αρχέγονο κύτταρο ως τα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια, αποτελούν την **ερυθρά σειρά**.

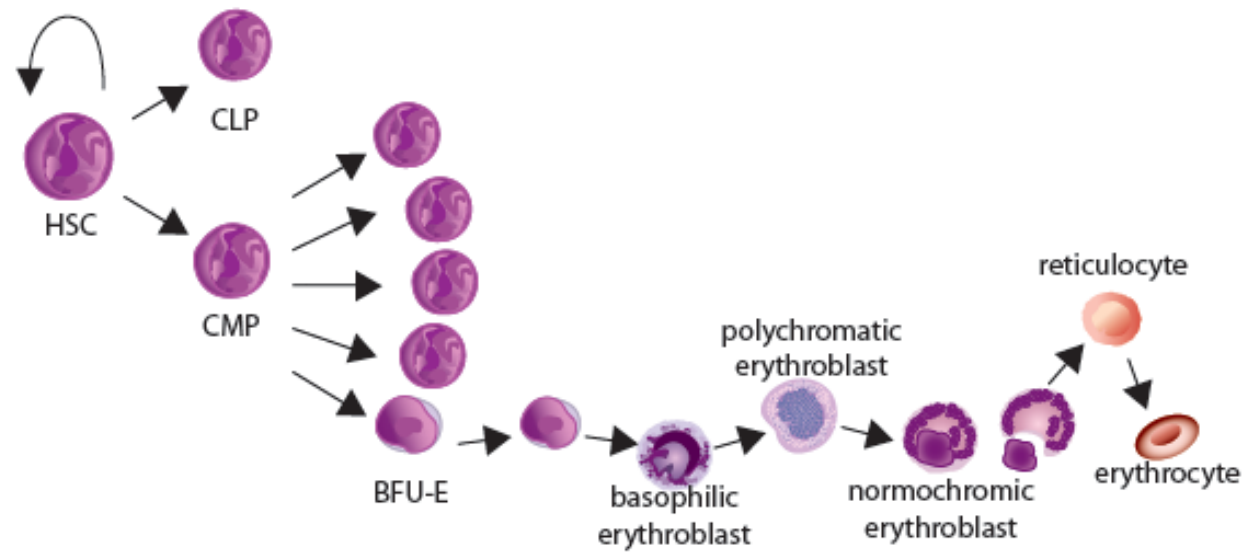


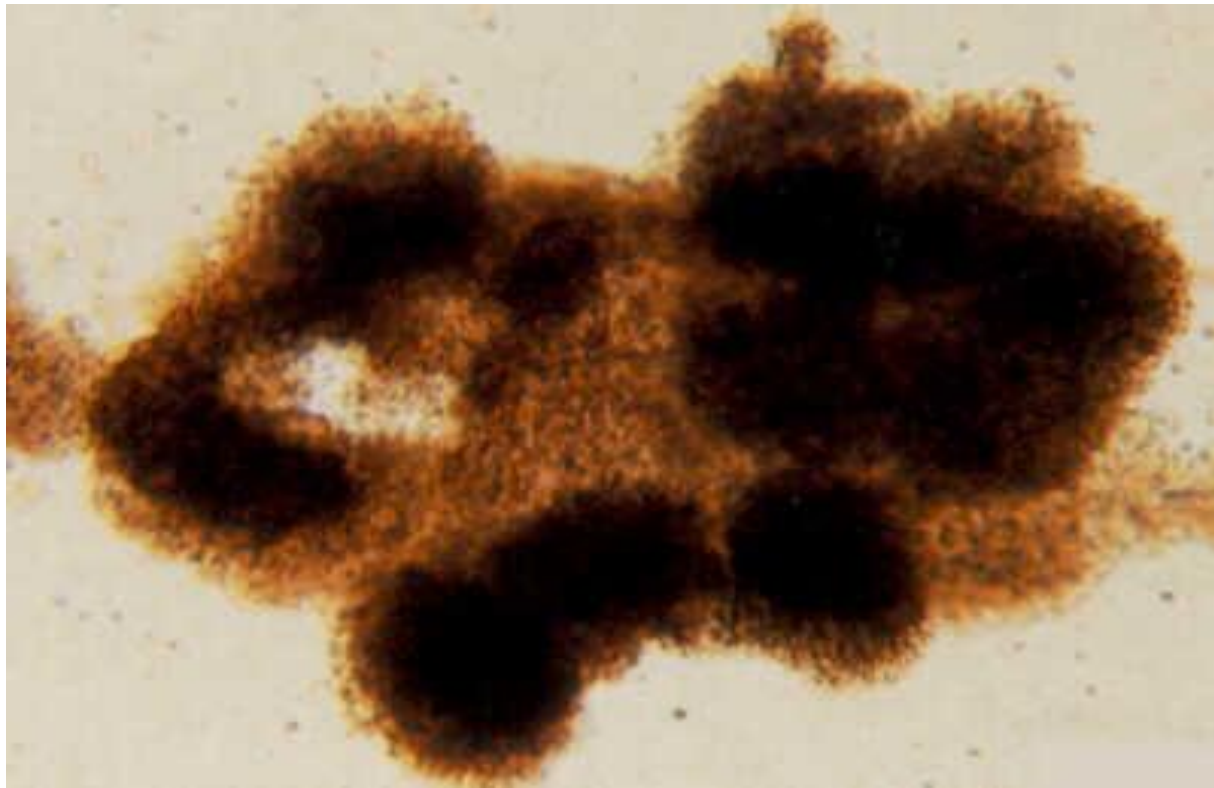
FIGURE 1:
Erythropoiesis.

HSC: Hematopoietic stem cell • CLP: Common Lymphoid progenitor • CMP: Common Myeloid progenitor.

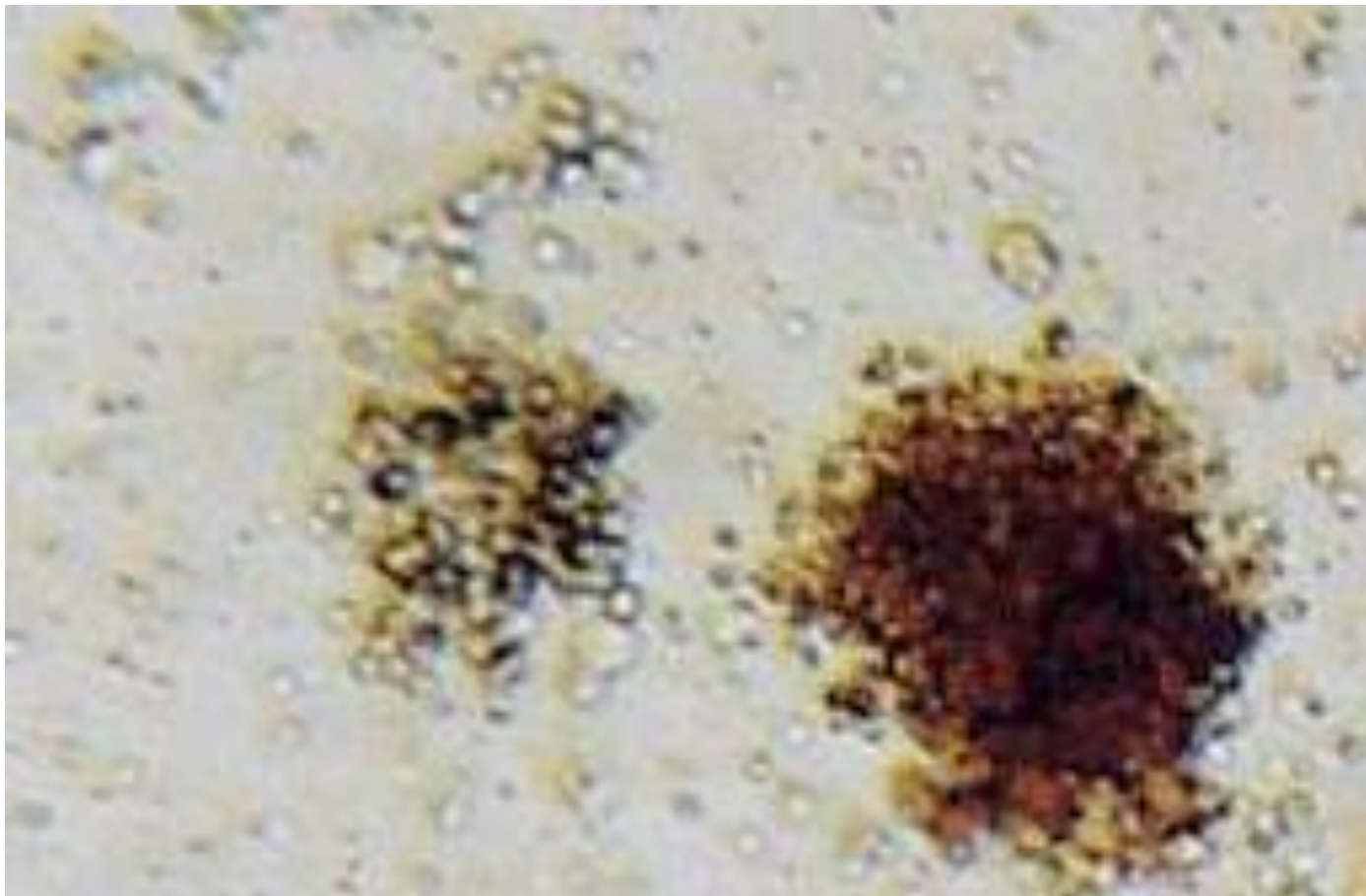
Κύτταρα ερυθράς σειράς

- Προγονικά κύτταρα
 - BFU-E
 - CFU-E
- Πρόδρομα κύτταρα
 - Προερυθροβλάστη
 - Βασεόφιλη ερυθροβλάστη
 - Πολυχρωματόφιλη ερυθροβλάστη
 - Ορθοχρωματική ερυθροβλάστη

ΑΠΟΙΚΙΑ ΒFU-E



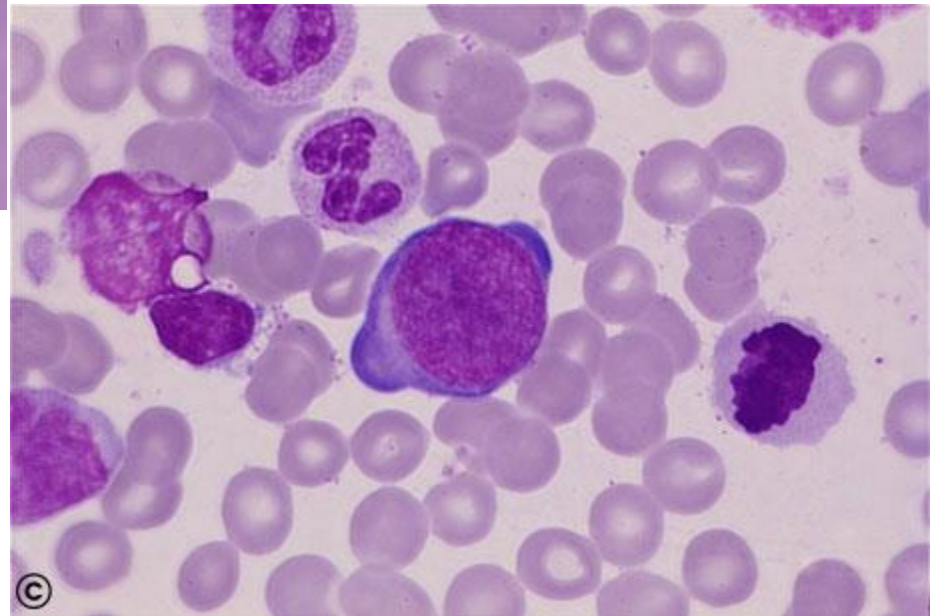
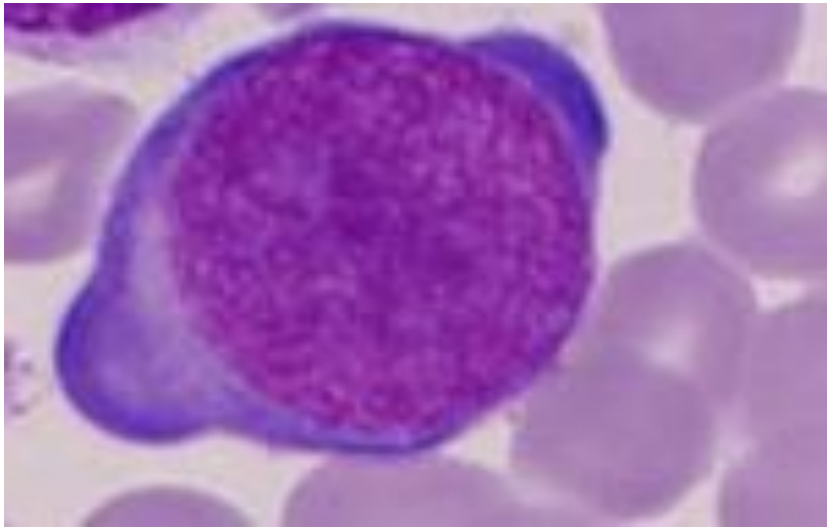
ΑΠΟΙΚΙΕΣ CFU-E



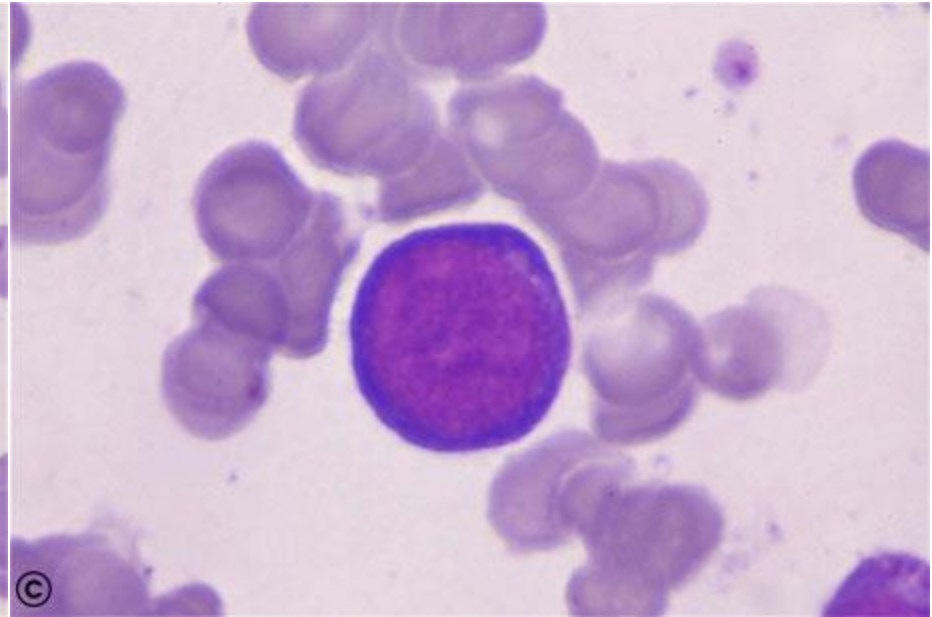
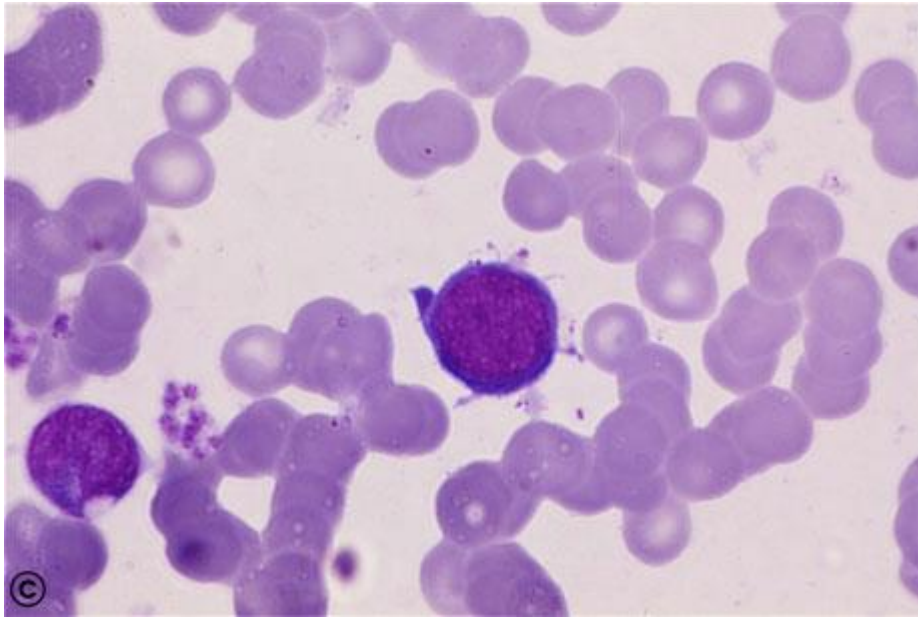
Χαρακτηριστικά της ωρίμανσης της ερυθράς σειράς

- **Μείωση του μεγέθους** του κυττάρου
- **Μείωση της σύνθεσης του RNA** και μείωση του ποσού του RNA που περιέχει το κύτταρο, από τη βασεόφιλη ερυθροβλάστη και μετά. Το ώριμο ερυθρό δεν έχει RNA.
- **Μείωση του ποσού του DNA**, αφού η σύνθεση DNA σταματά στο στάδιο της πολυχρωματόφιλης ερυθροβλάστης. Στο στάδιο αυτό σταματούν και οι κυτταρικές διαιρέσεις.
- **Αύξηση του ποσού της αιμοσφαιρίνης** που περιέχουν τα κύτταρα.

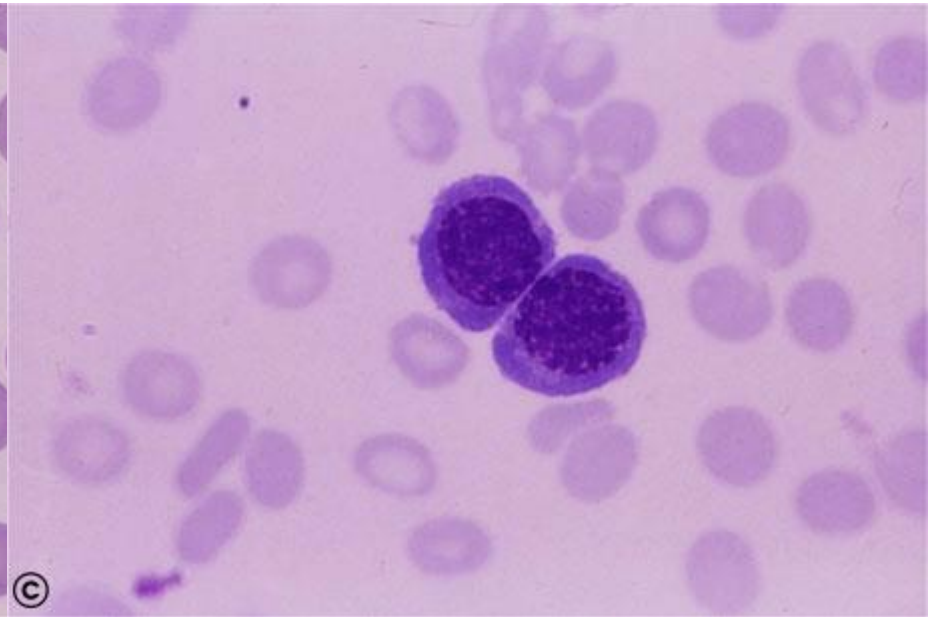
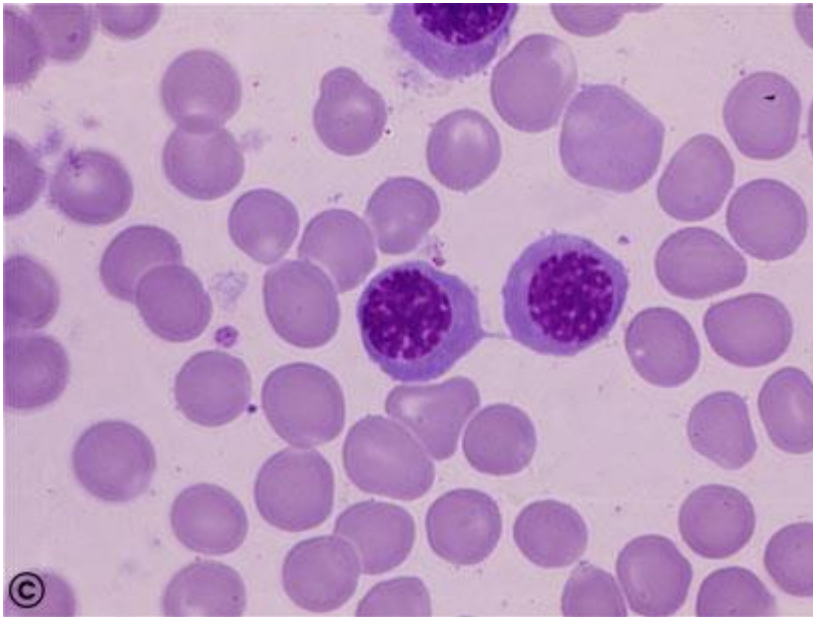
Προερυθροβλάστη



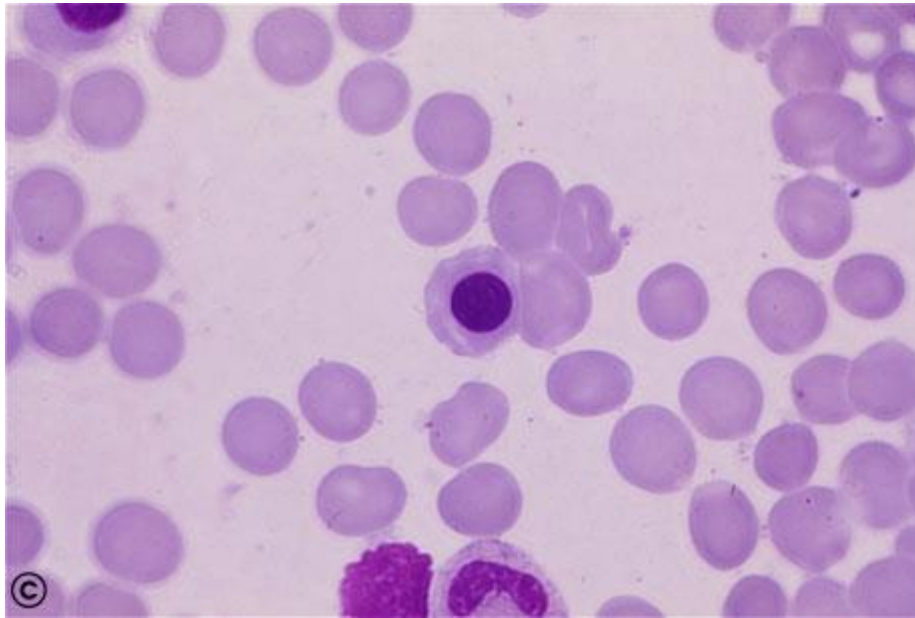
Βασεόφιλη ερυθροβλάστη



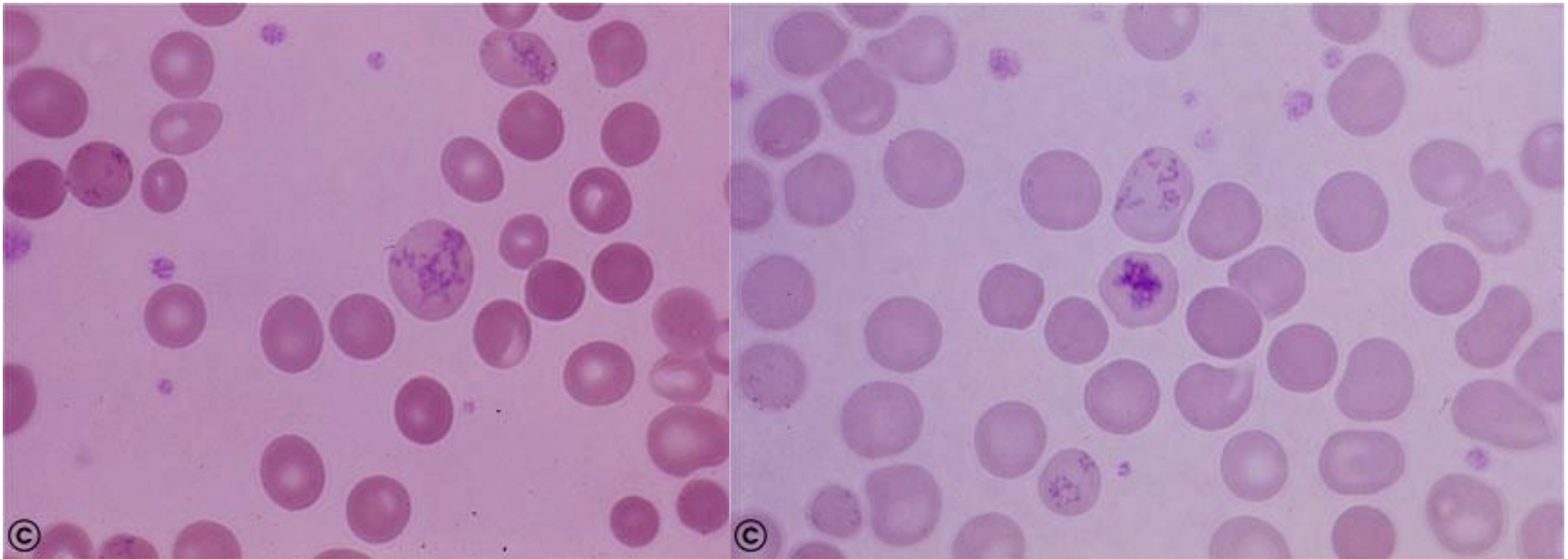
Πολυχρωματόφιλη ερυθροβλάστη



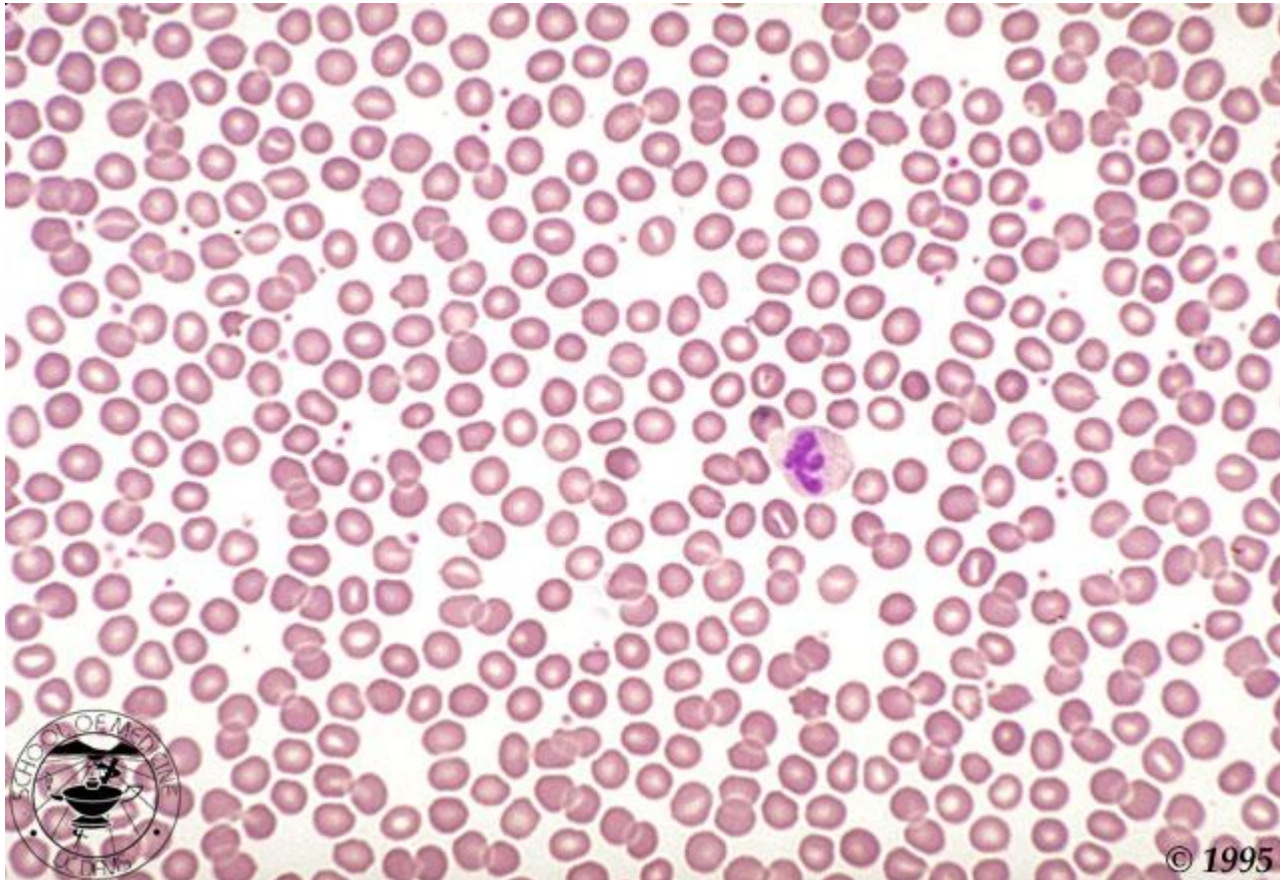
Ορθοχρωματική ερυθροβλάστη



Δικτυοερυθροκύτταρα



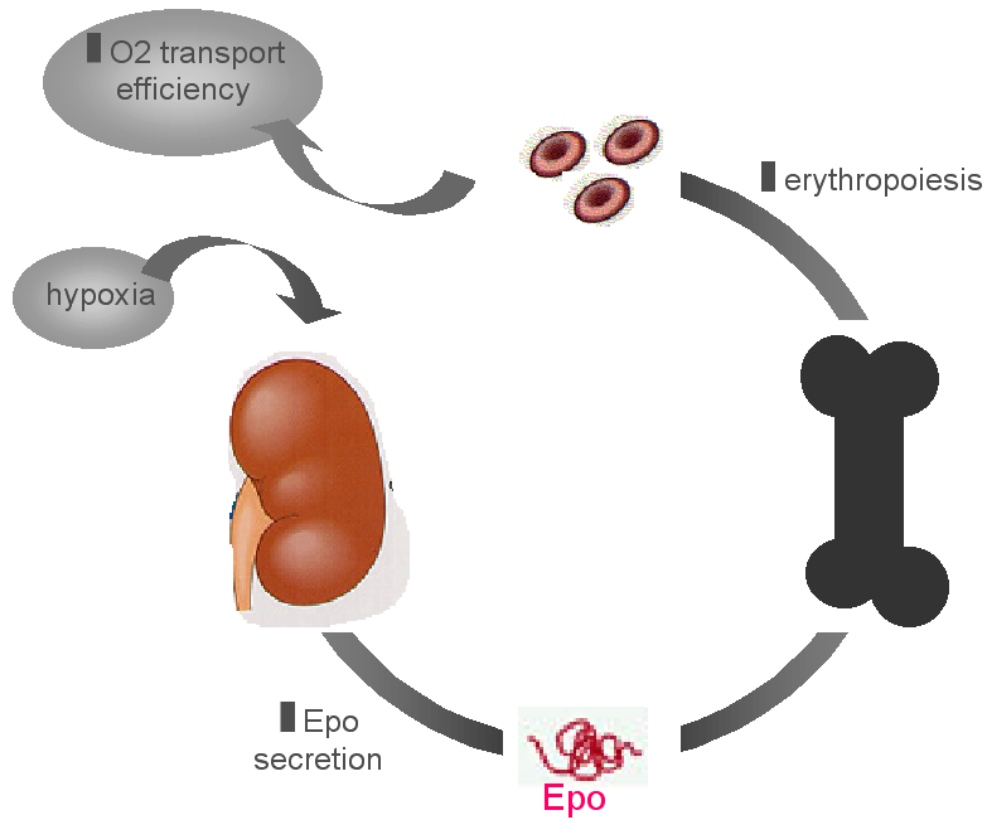
Ερυθροκύτταρα



Ρύθμιση της ερυθροποίησης – Ερυθροποιητίνη

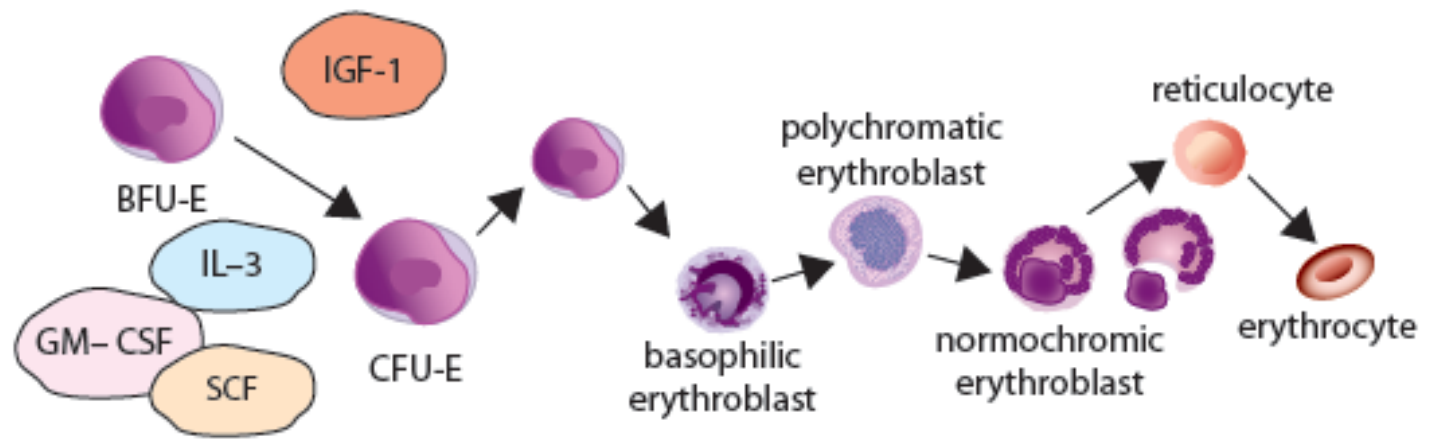
- Η **ερυθροποιητίνη (Epo)** είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 34.4 Kd, η οποία παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της ερυθροποίησης.
- Συγκεκριμένα η **ελάττωση της τάσης του οξυγόνου επηρεάζει τα επίπεδα Epo** μέσω αυξημένης έκφρασης του γονιδίου της.

Ρύθμιση ερυθροποίησης



Δράση ερυθροποιητίνης

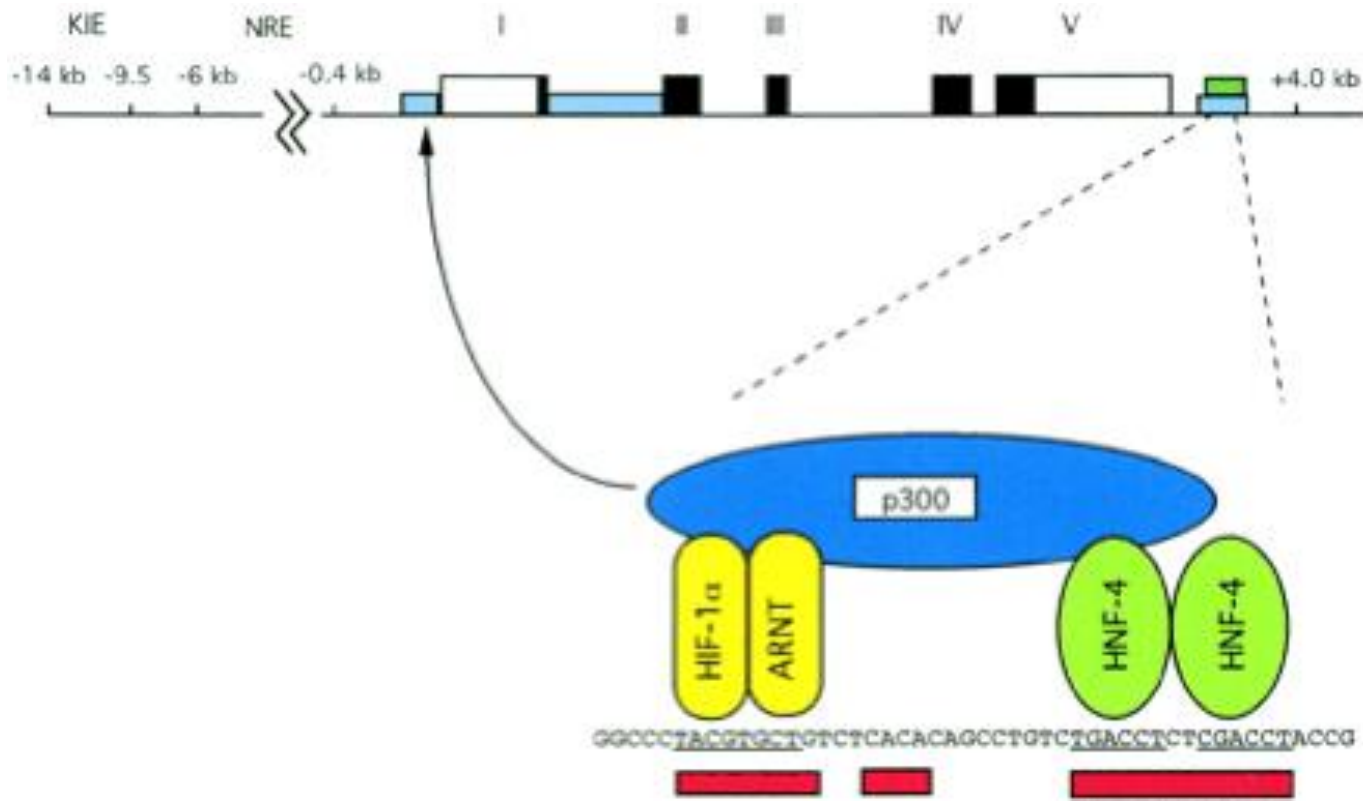
- 1) **Διασώζει τα κύτταρα** που έχουν εκφράσει Ερο-υποδοχείς αυξάνοντας έτσι το συνολικό πληθυσμό των ερυθροποιητικών κυττάρων.
- 2) **Επιταχύνει τη διαδικασία διαφοροποίησης** μειώνοντας το χρόνο που μεσολαβεί μεταξύ των κυτταρικών διαιρέσεων.



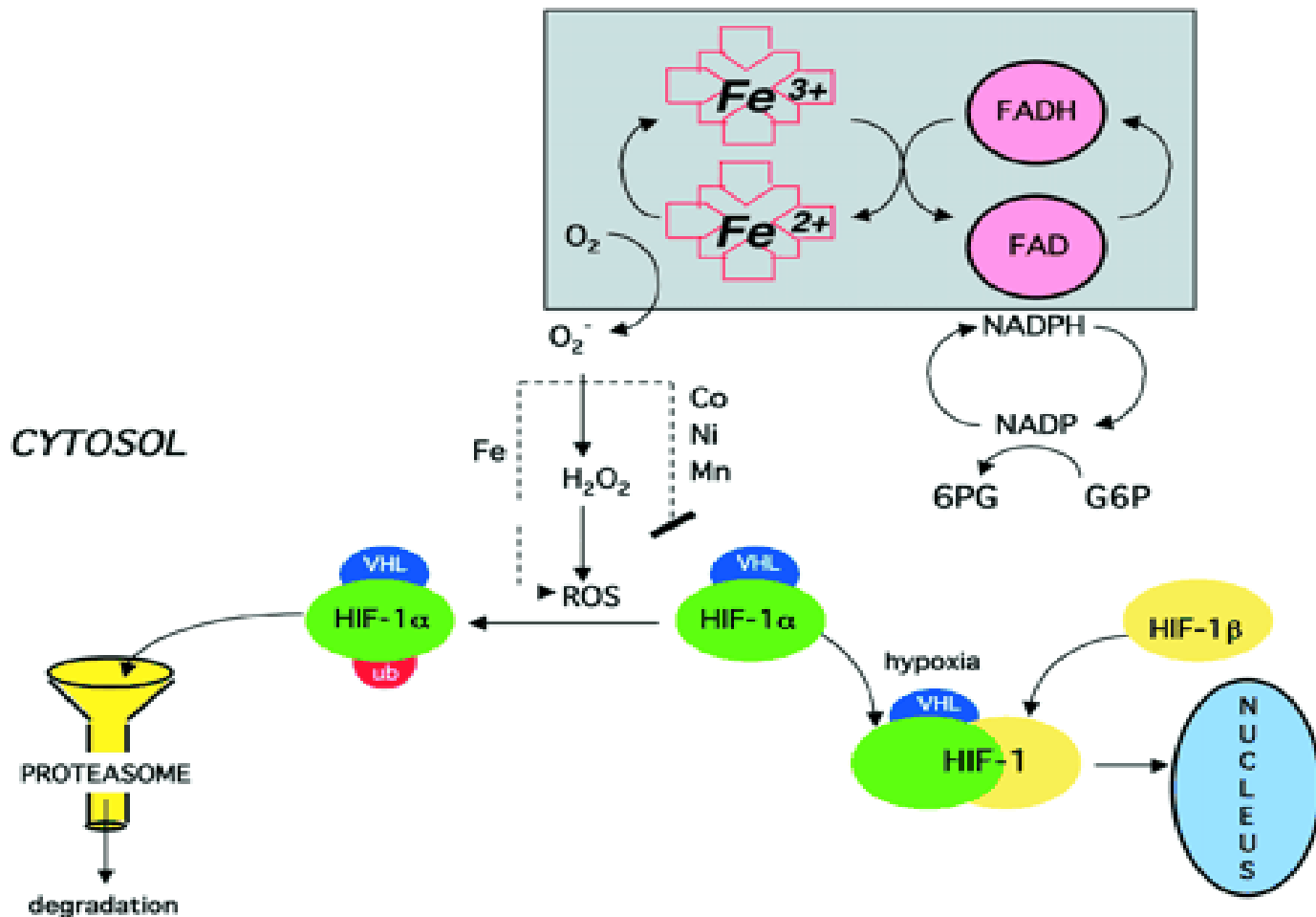
Epo action

FIGURE 2:
Growth factors in erythropoiesis regulation.

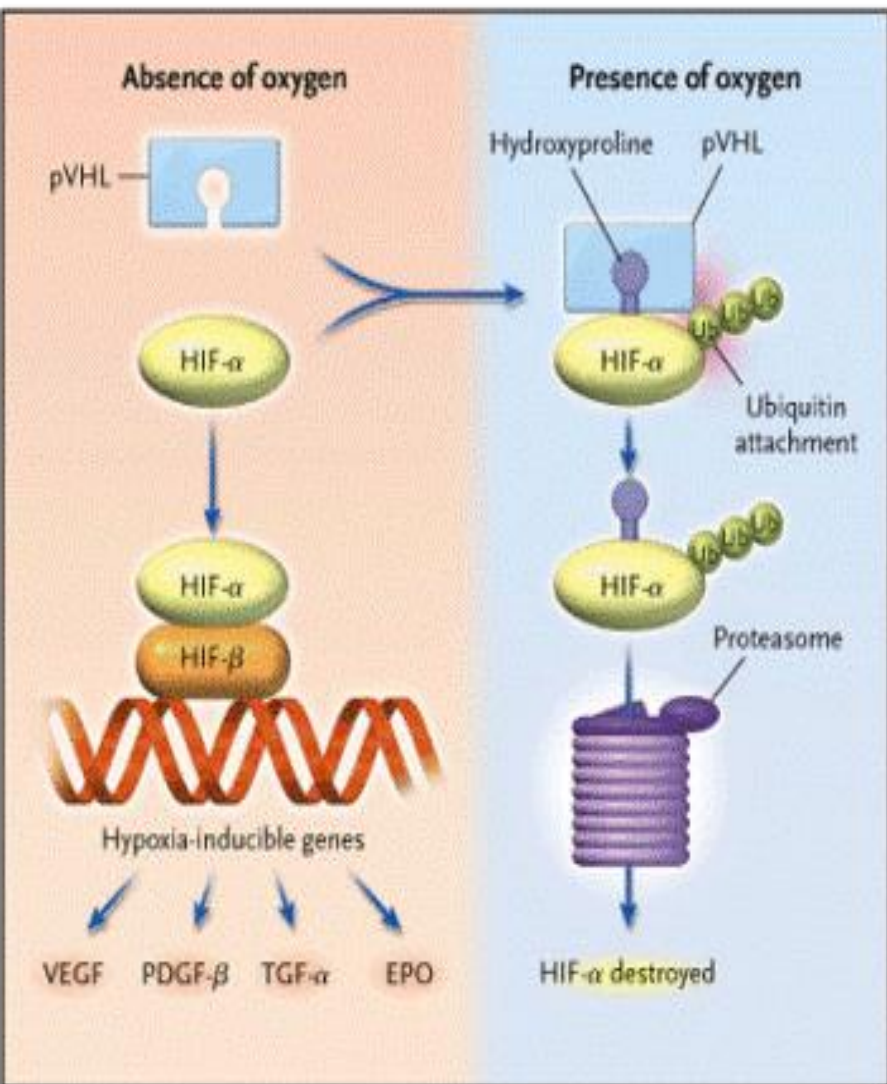
Ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου Epo



Ενδοκυτταρικό αισθητήριο οξυγόνου



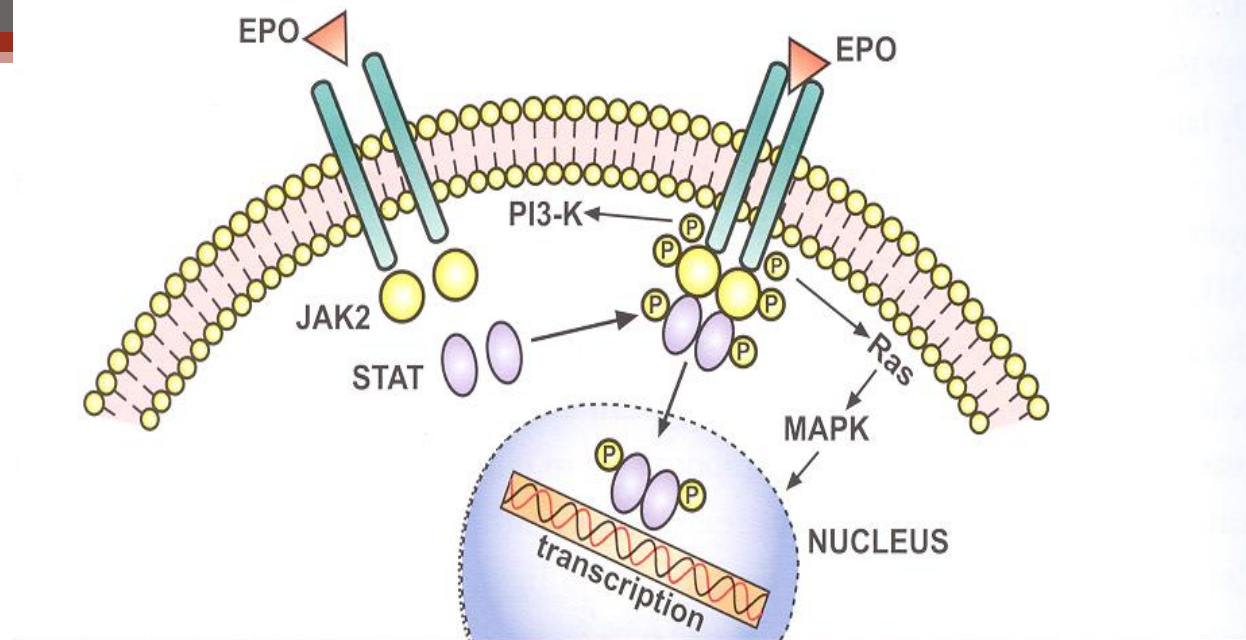
Ρύθμιση του HIF από την πρωτεΐνη του γονιδίου von Hippel–Lindau (pVHL).



Η πρωτεΐνη **vHL** (von Hippel-Lindau) συνεργεί στη σύνδεση του HIF-1 α με την ουμπικιτίνη και για το λόγο αυτό επί **απουσίας ή αδρανοποιήσεως** της οπαράγων δεν αποδομείται και μπορεί να υπάρχει απρόσφορη **διέγερση της παραγωγής EPO και ερυθραιμία**.

Σημειωτέον ότι η πρωτεΐνη vHL δρα με τον ίδιο τρόπο και για άλλους επαγόμενους από υποξία παράγοντες, όπως ο VEGF. Στο ομώνυμο σύνδρομο vHL, όπου η πρωτεΐνη δεν είναι λειτουργική, παρατηρούνται πολλαπλοί αγγειακοί όγκοι (υπερέκκριση VEGF), ιδίως στους νεφρούς και το ΚΝΣ, και συχνά ερυθραιμία. Πρόσφατα μάλιστα περιγράφηκαν περιπτώσεις συγγενούς ερυθροκυττάρωσης από μεταλλάξεις του γονιδίου vHL.

Υποδοχέας Epo



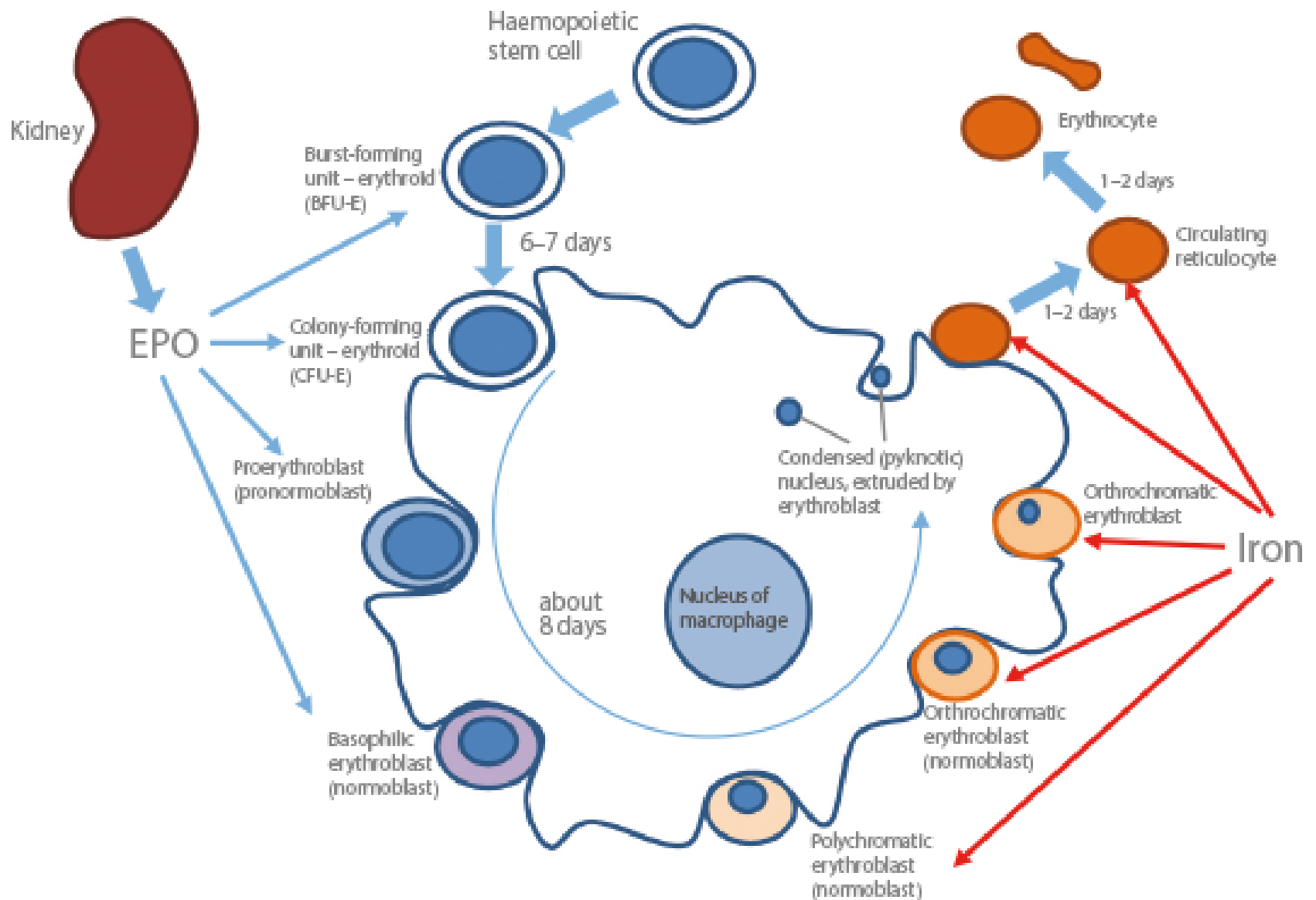
Ο υποδοχέας της Epo ανήκει στη μεγάλη οικογένεια των υποδοχέων κυτταροκινών. Οι υποδοχείς αυτοί έχουν ως βασικό χαρακτηριστικό την απουσία ενδογενούς δράσης τυροσινικής κινάσης, με αποτέλεσμα να απαιτείται η **σύνδεσή τους με μια ομάδα τυροσινικών κινάσεων, που είναι γνωστή με το όνομα Janus kinases (JAK)** προκειμένου να μεταφέρουν το ερέθισμα. Οι ενεργοποιημένες JAK κινάσες στη συνέχεια **διεγείρουν μέσω φωσφορυλίωσης τους παράγοντες STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription)**, οι οποίοι μετά το σχηματισμό ομο- ή ετεροδιμερών μεταφέρονται στον πυρήνα και **επηρεάζουν την γονιδιακή έκφραση**. Ο υποδοχέας Epo πρωτοεμφανίζεται σε μικρούς αριθμούς στα πρώιμα BFU-E, αυξάνει στα CFU-E και τους προερυθροβλάστες και στη συνέχεια ελαττώνεται στις μεταγενέστερες βαθμίδες. Από το γεγονός αυτό φαίνεται ότι τα **CFU-E και οι προερυθροβλάστες αποτελούν τα κύτταρα-στόχους για τη ρύθμιση του ρυθμού ερυθροποίησης**.

Συνθήκες του μυελικού μικροπεριβάλλοντος απαραίτητες για την ολοκλήρωση της ερυθροποίησης

- 1) η **βραδεία ροή αίματος** η οποία επιτρέπει την παραμονή των ερυθροποιητικών κυττάρων στο μυελό αλλά και τη συσσώρευση της Ερο και των διαφόρων άλλων αυξητικών παραγόντων
- 2) η ύπαρξη επαρκούς **ποσού O₂, βιταμίνης B12, φυλλικού οξέος και σιδήρου**
- 3) η **στενή επαφή μεταξύ αιμοποιητικών κυττάρων και κυττάρων του στρώματος**, μέσω των μορίων προσκόλλησης, ώστε να είναι δυνατή η μεταξύ τους αλληλεπίδραση.

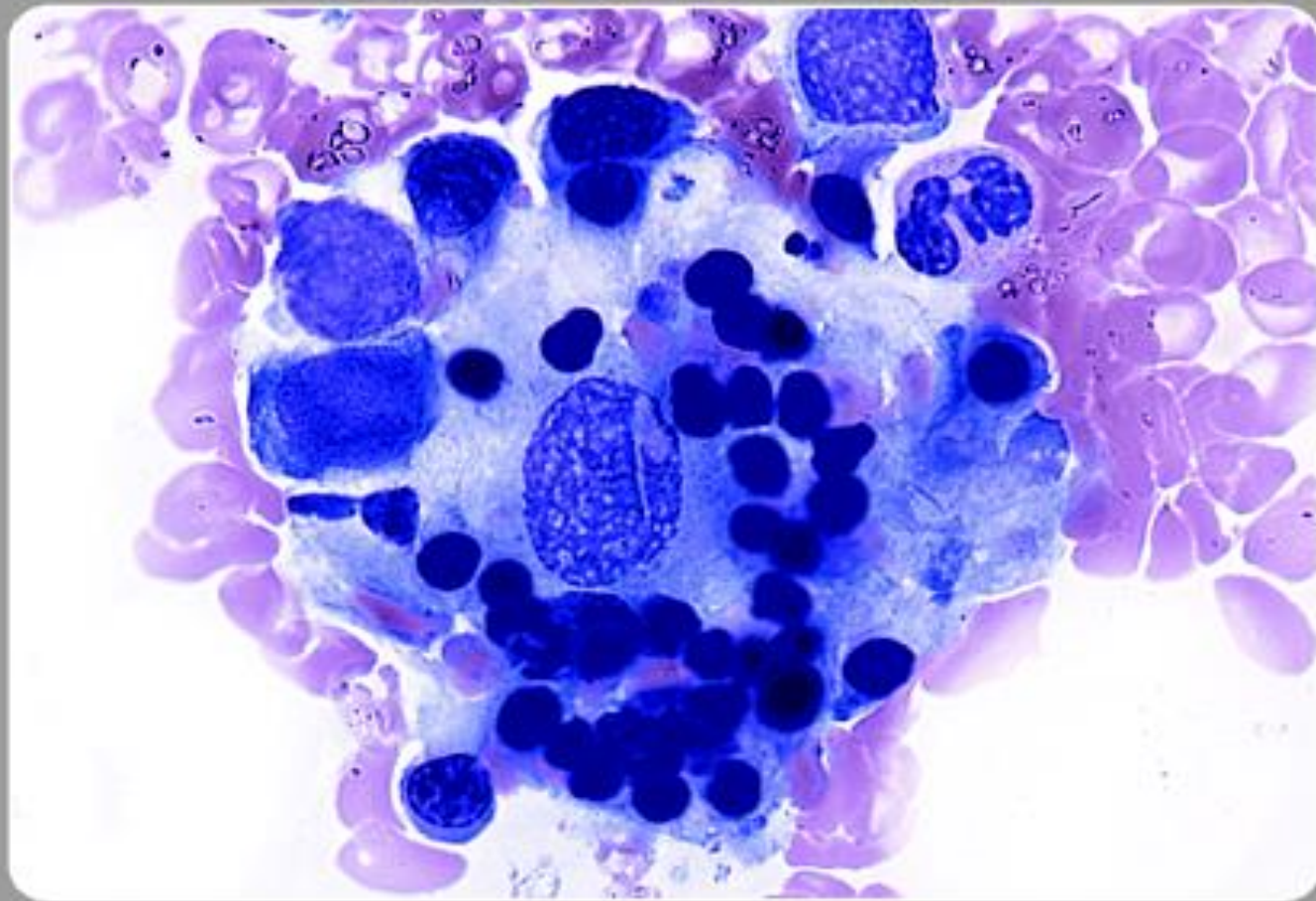
Μικροπεριβάλλον ερυθροποίησης

- Μελέτη καλλιέργειών μυελού μακράς διάρκειας
- Ρόλος μακροφάγων μυελού (nurse cell)
- Ρόλος εξωκυτταρίων ουσιών
 - Προσταγλανδίνες (δέσμευση κυτταροκινών)
 - Φιμπρονεκτίνη (σύνδεση με μεμβρανικούς υποδοχείς ερυθροποιητικών κυττάρων- καθήλωση αυτών στον μυελό)



The bone marrow resident macrophage nurses the development from erythroid precursors to reticulocytes, primarily regulated by EPO. Between the pronormoblast and normoblast stages, the cells undergo mitosis, resulting in 8–32 reticulocytes from each pronormoblast. Maturation times are approximate^{13,14}.

Μακροφάγο κύτταρο - τροφός και ερυθροβλάστες



ONTOΓΕΝΕΣΗ

