

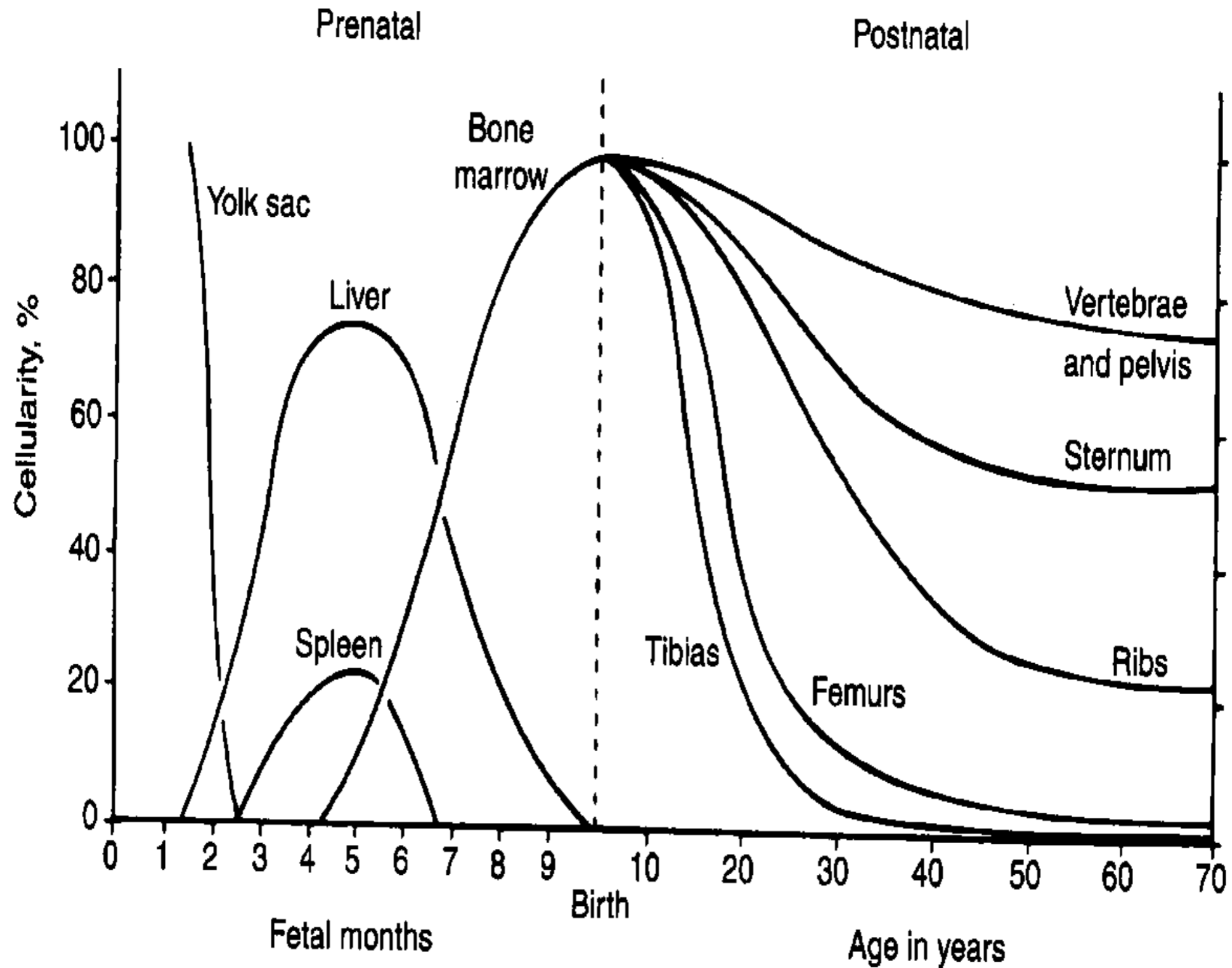


Αιμοποίηση-Ερυθροποίηση

*Έλενα Σολωμού
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας-Αιματολογίας
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών*

- **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.

ONTOΓΕΝΕΣΗ



Αίμα

- Ιστός σε υγρή κατάσταση-μεταφορά O_2

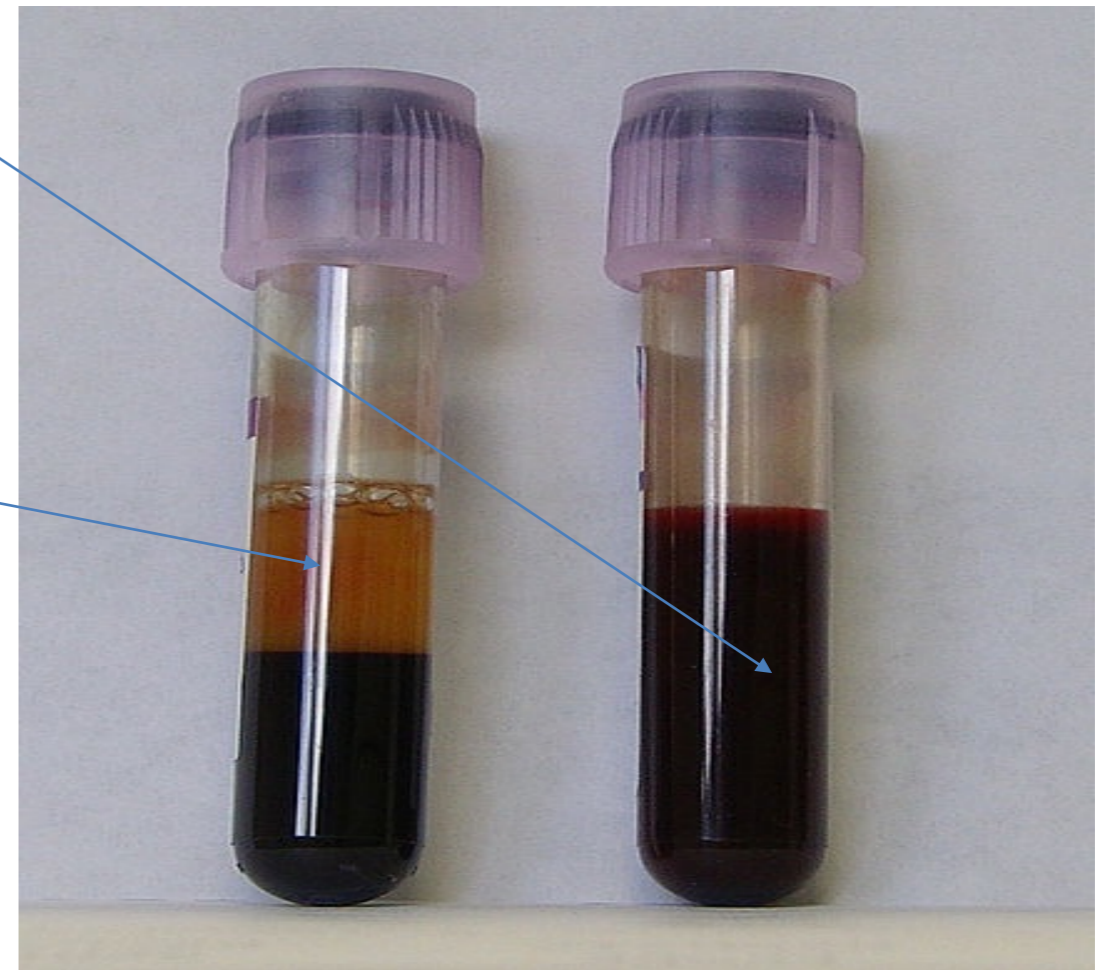


Αίμα

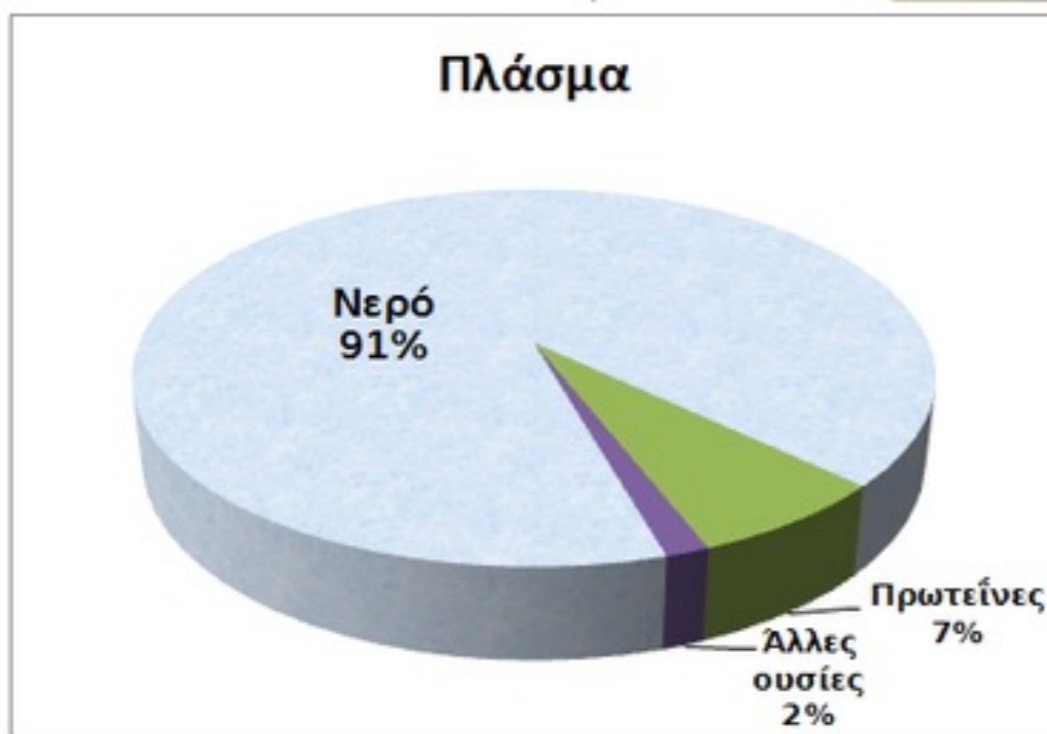
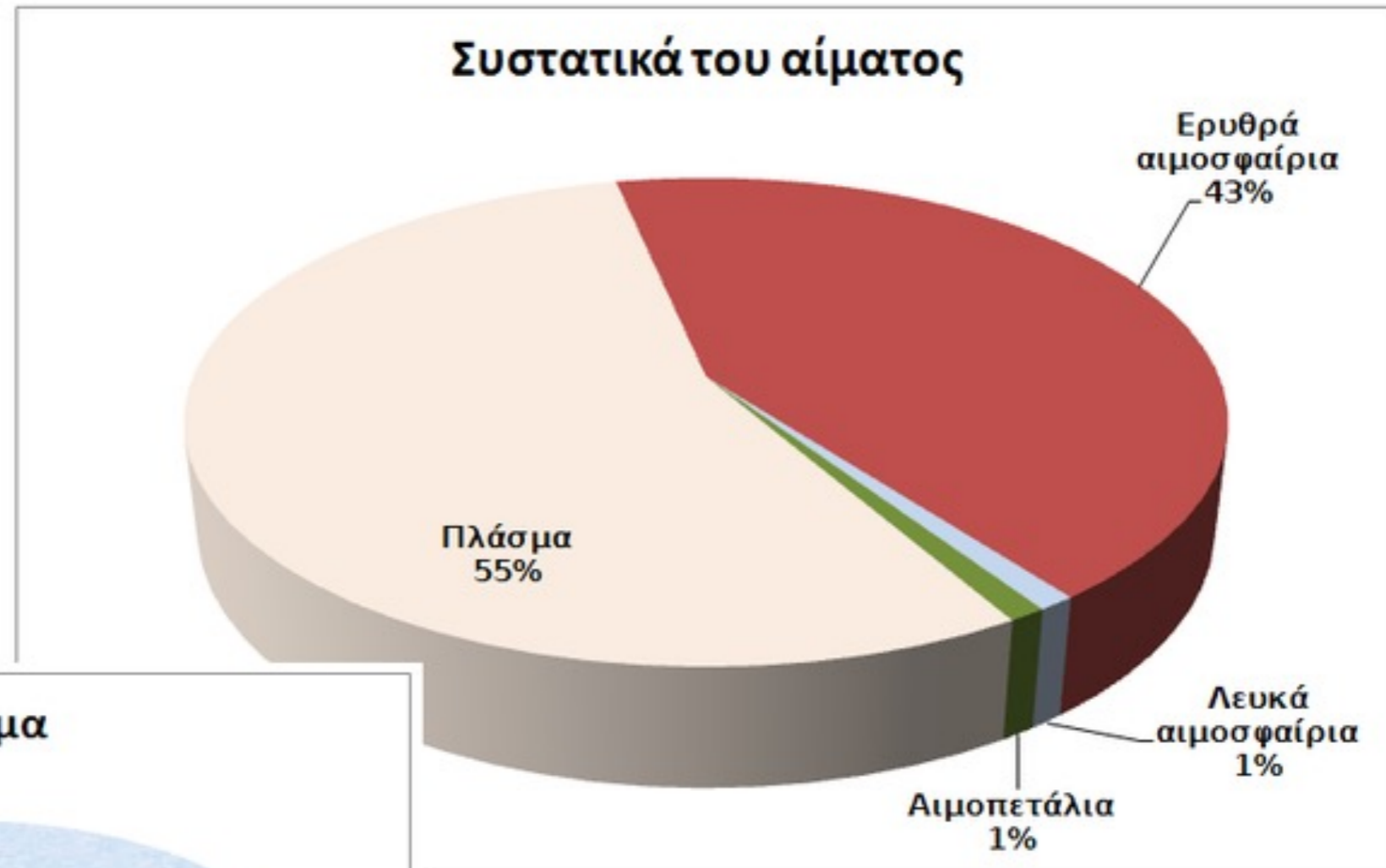
- Αποτελείται από

➔ 1 Έμμορφα συστατικά (ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια)

➔ 2 Πλάσμα



Συστατικά αίματος



Το αίμα αποτελείται από

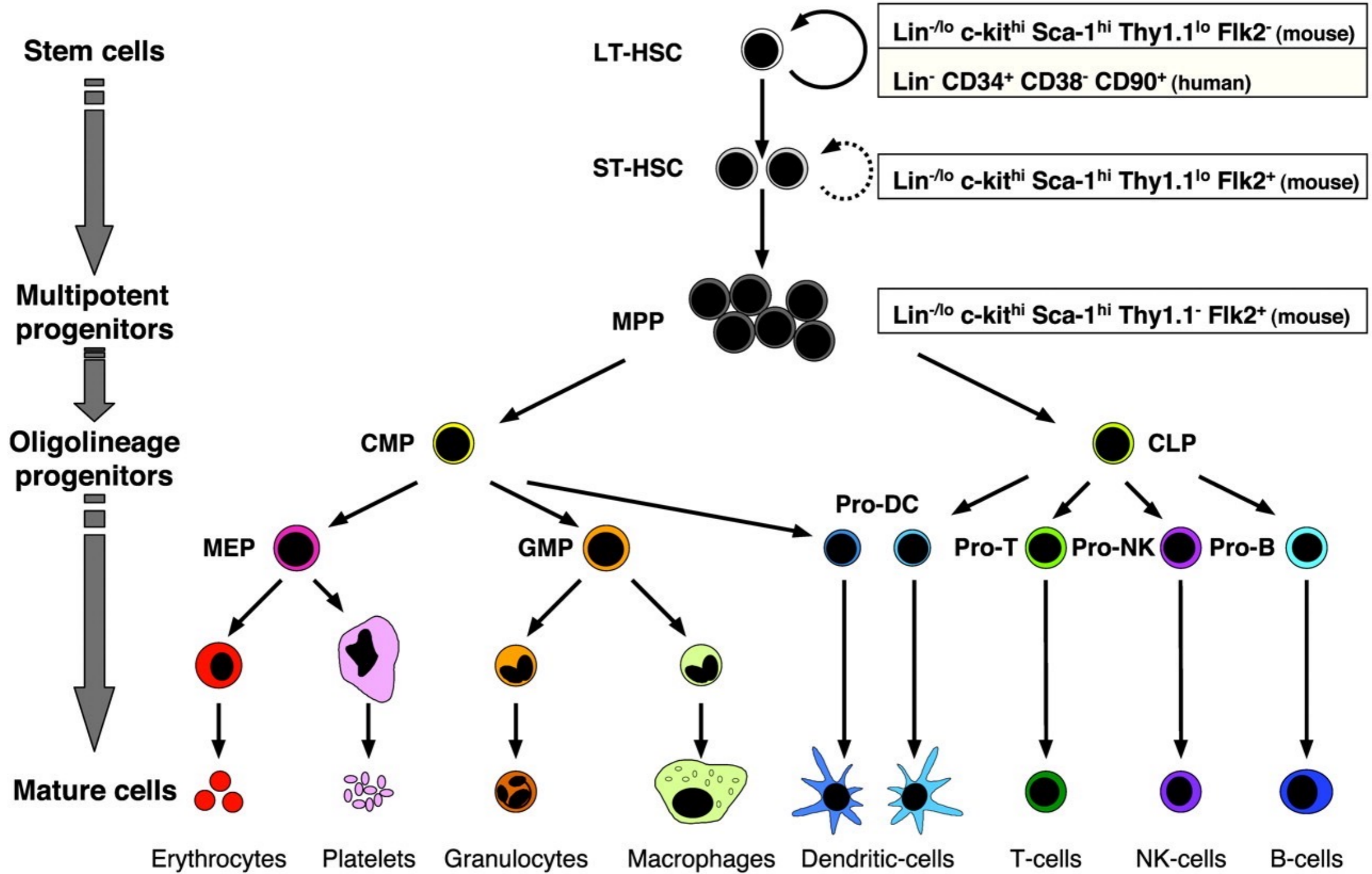
- **ερυθρά αιμοσφαίρια**
- **λευκά αιμοσφαίρια**
- **αιμοπετάλια**
- **πλάσμα**

Όλα τα κύτταρα του αίματος προέρχονται από το αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο (stem cell)

Τα **stem cells έχουν την ικανότητα:**

- **αυτοανανέωσης**
- **πολλαπλασιασμού** και
- **διαφοροποίησης** σε προγονικά κύτταρα τα οποία προορίζονται για συγκεκριμένη κυτταρική σειρά

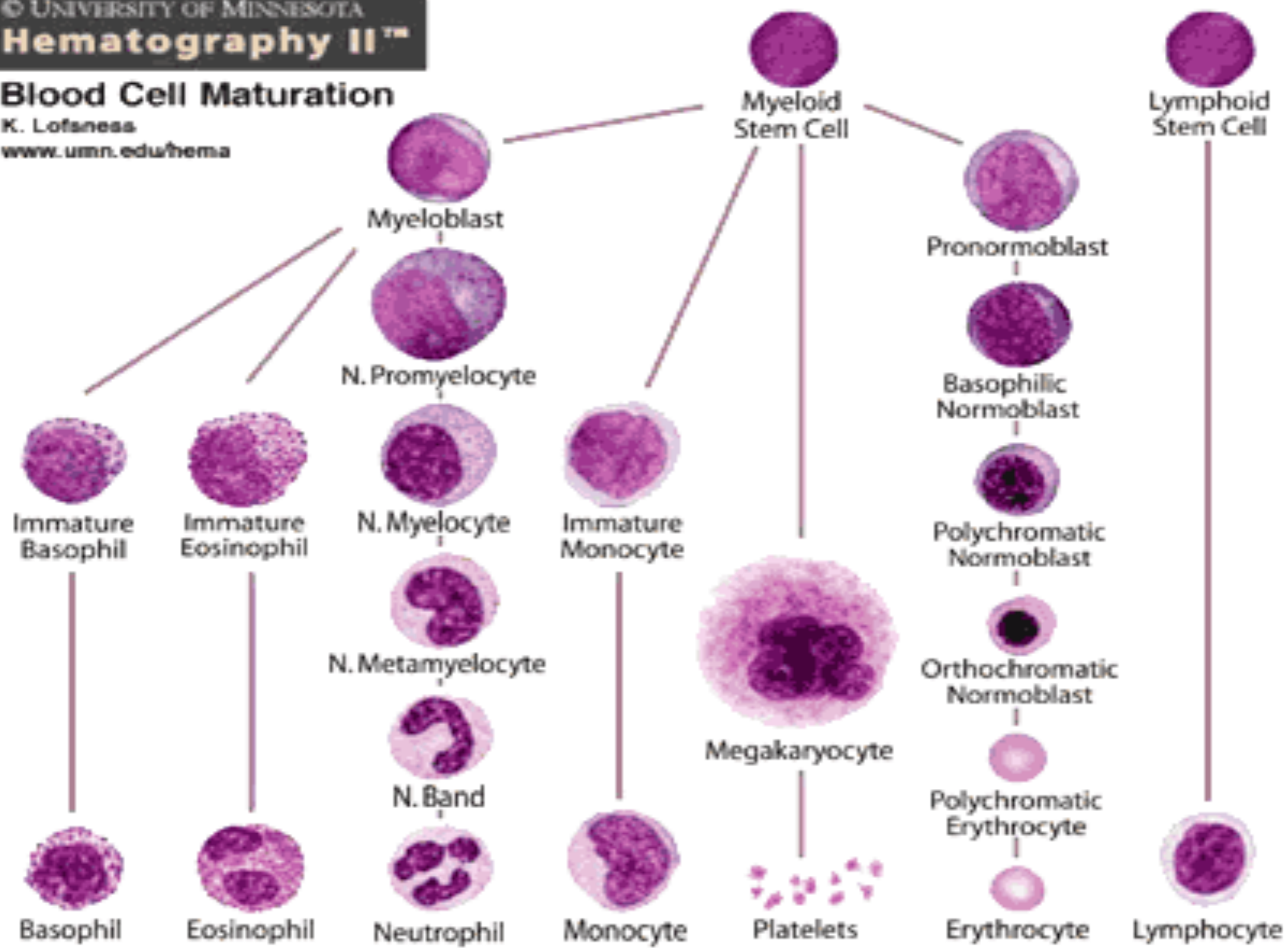
Hematopoietic and progenitor cell lineages.



Passegué E et al. PNAS 2003;100:11842-11849

Blood Cell Maturation

K. Lofsness
www.umn.edu/hema



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)

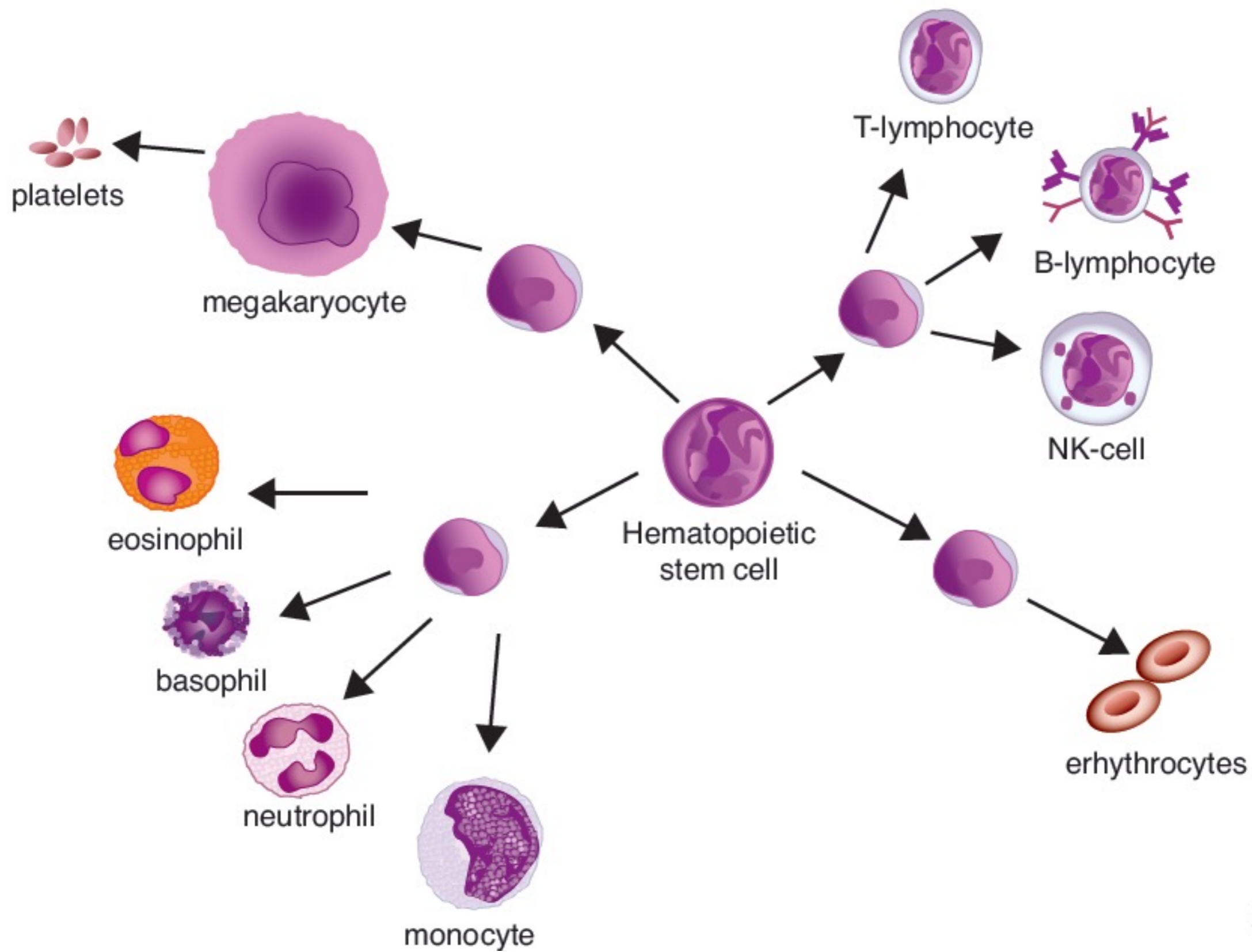


FIGURE 1:
Hematopoiesis.

self-renewal
proliferation

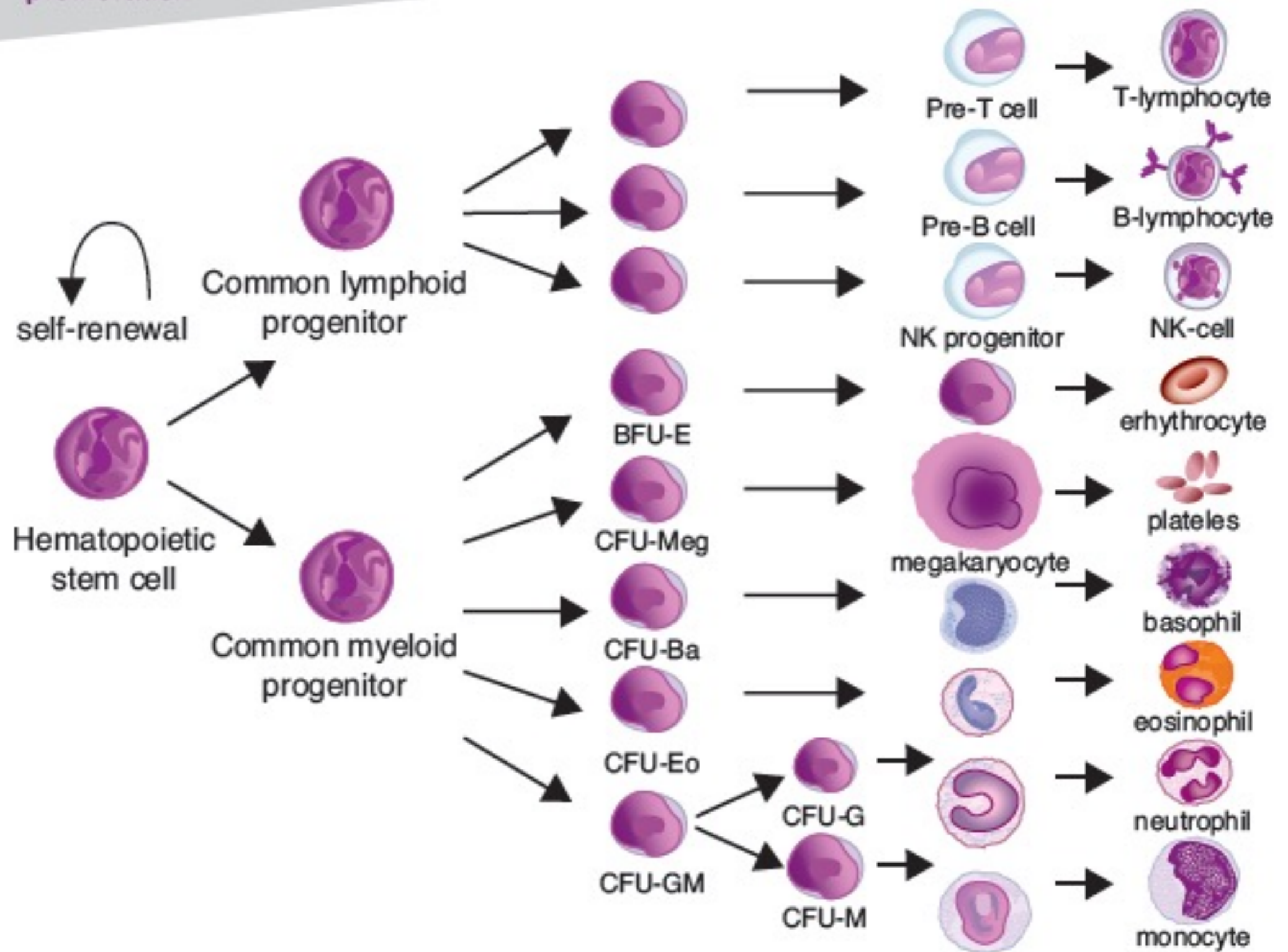


FIGURE 2:
hierarchical model of hematopoiesis.

commitment
differentiation

ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ

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

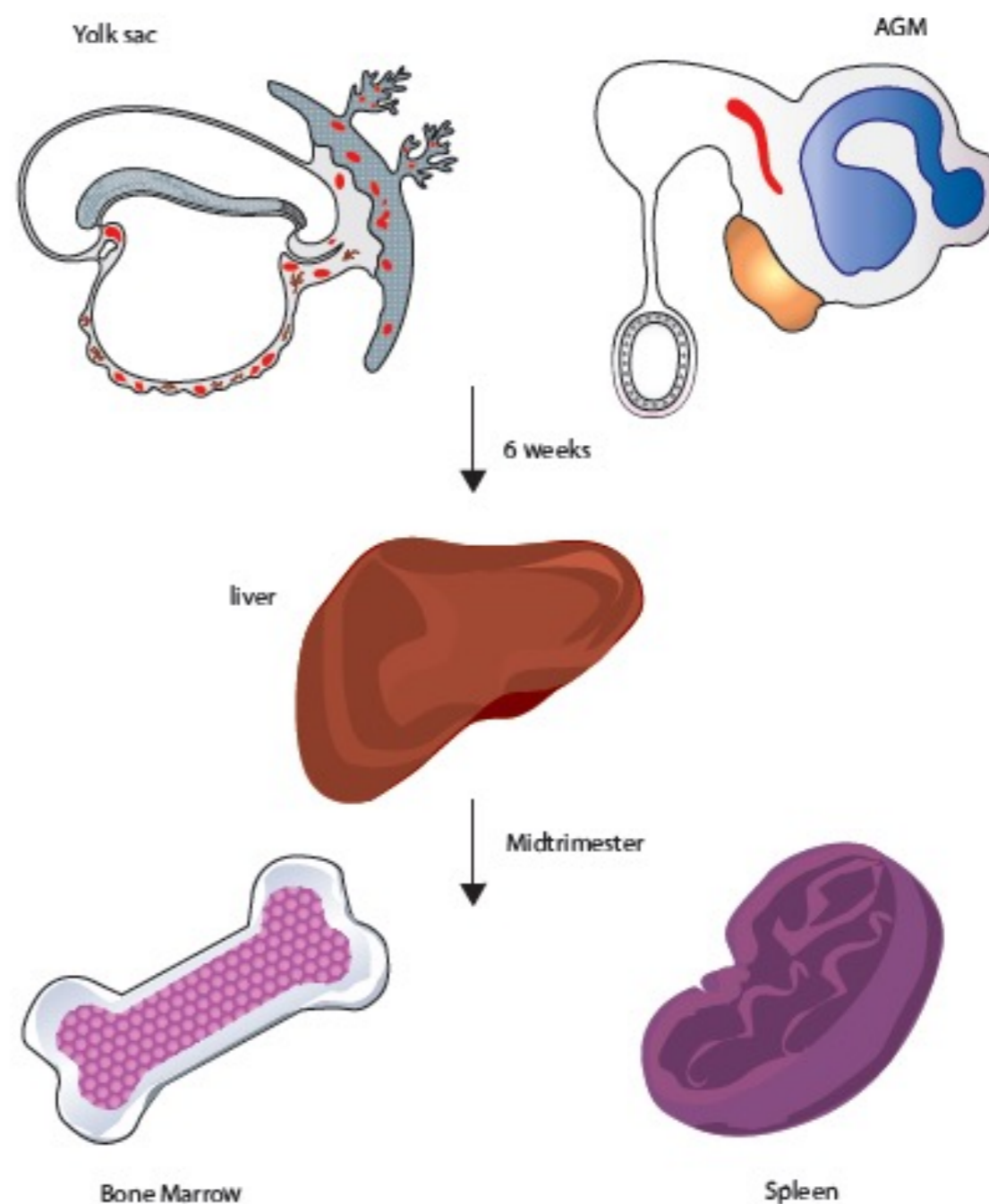
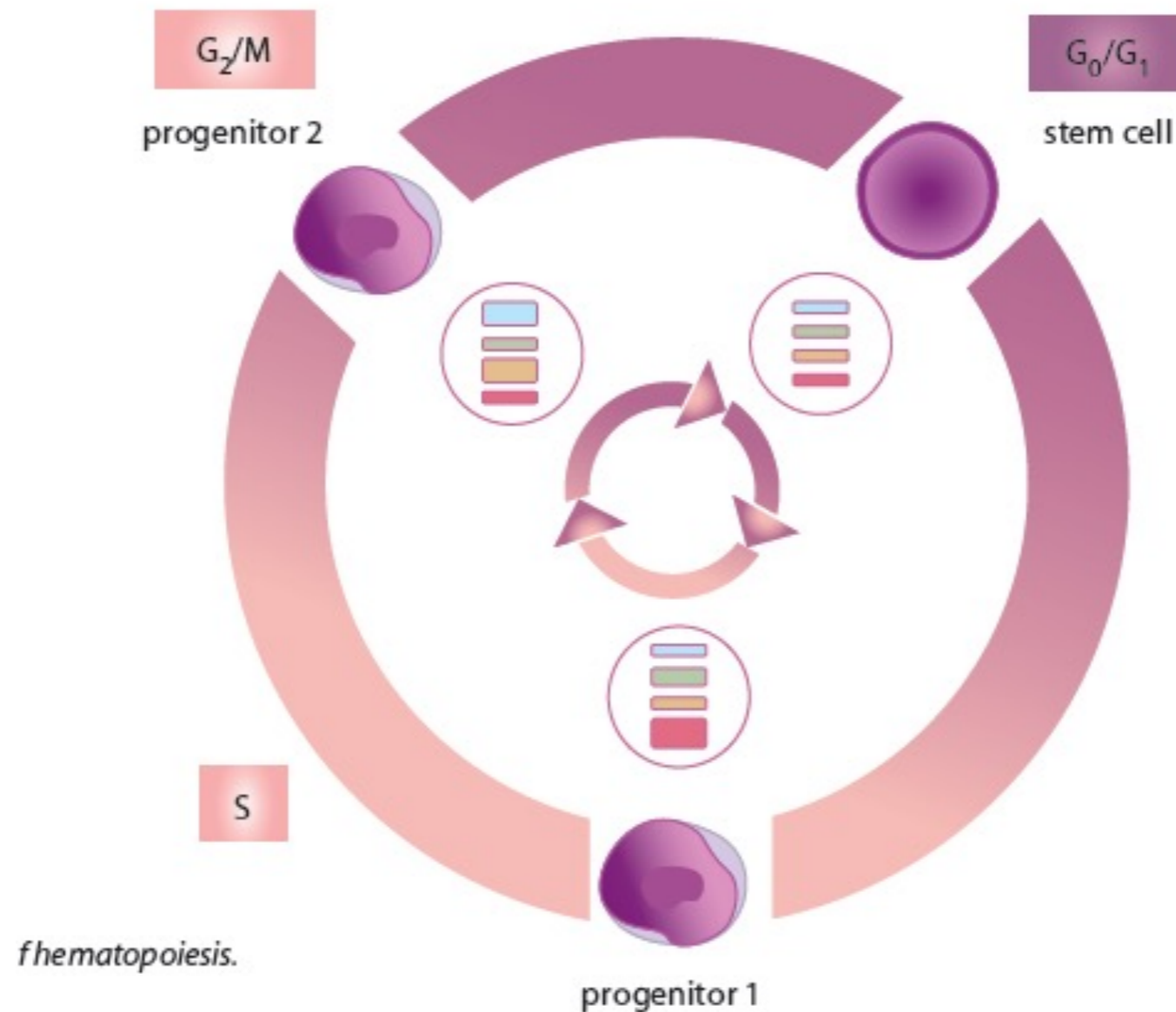


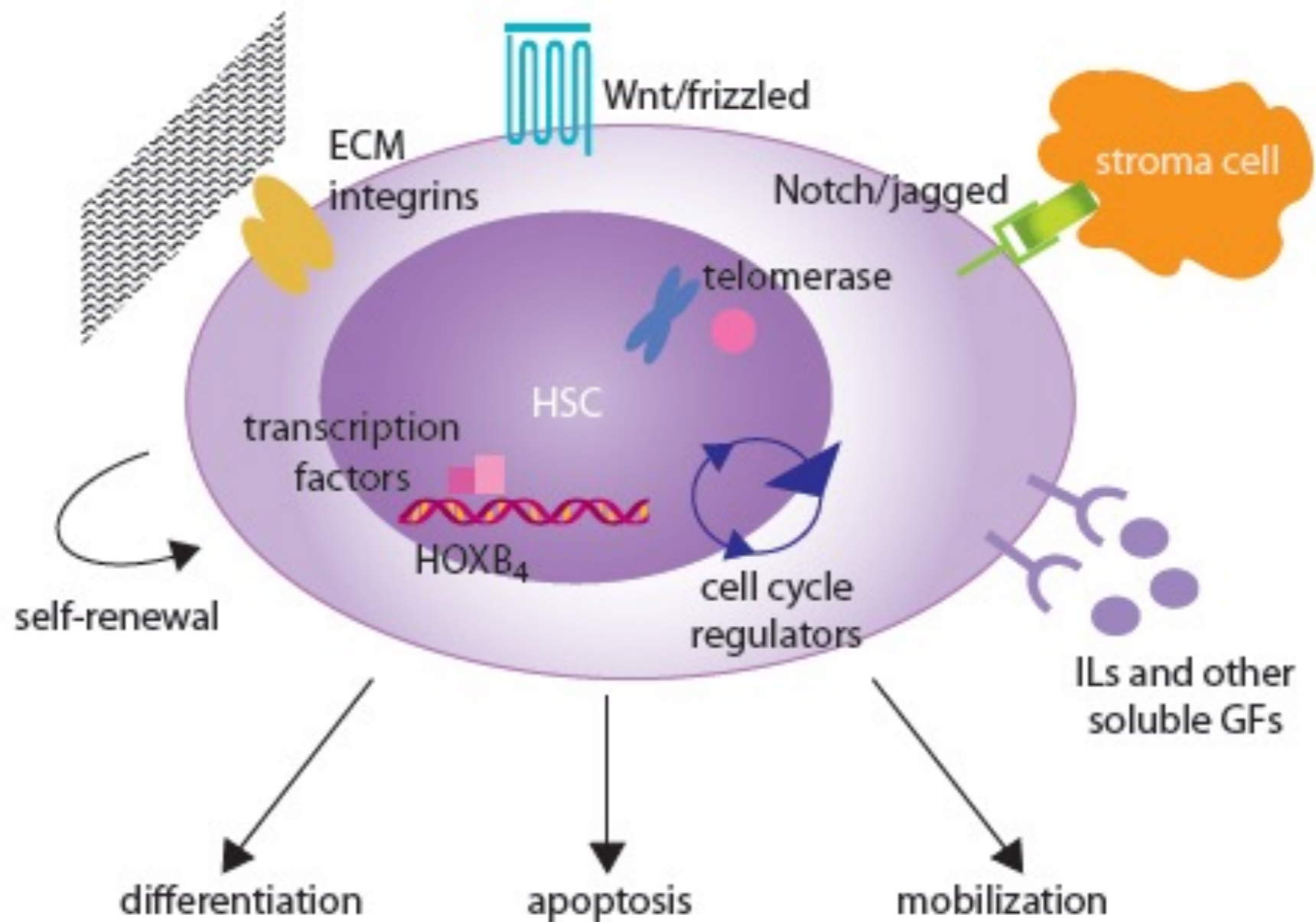
FIGURE 9:
Ontogeny of hematopoiesis.

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 παράγοντας 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.

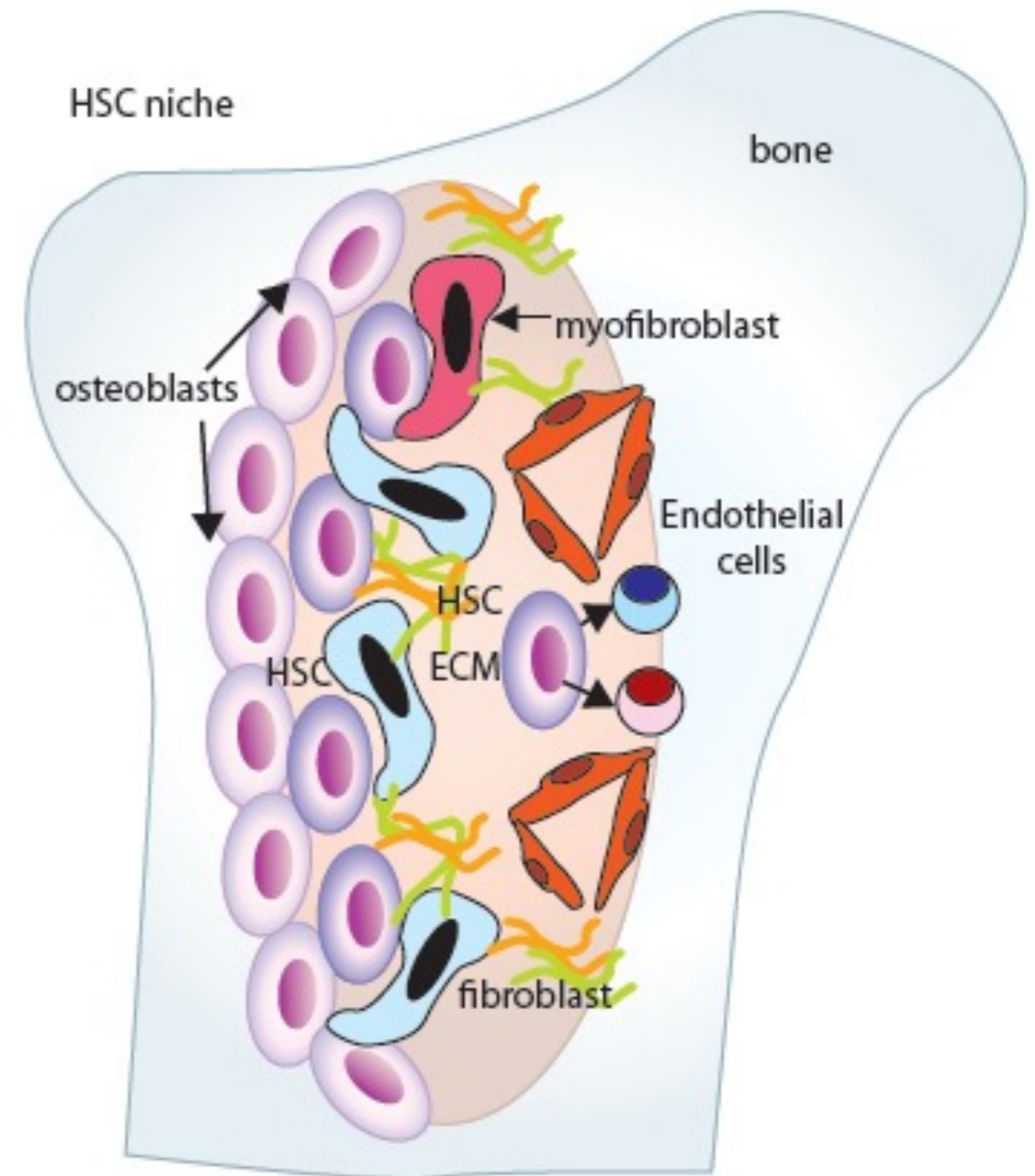
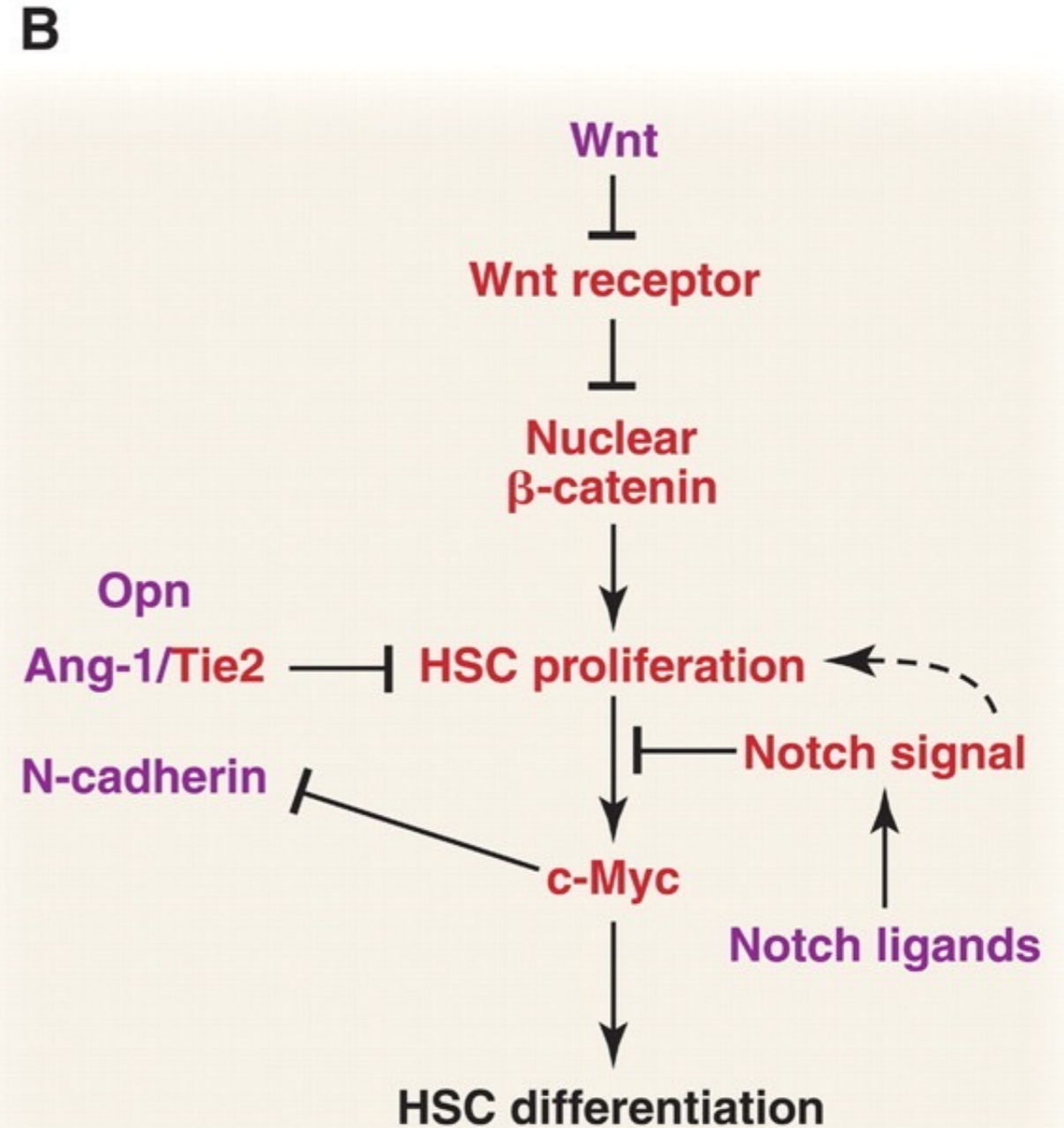
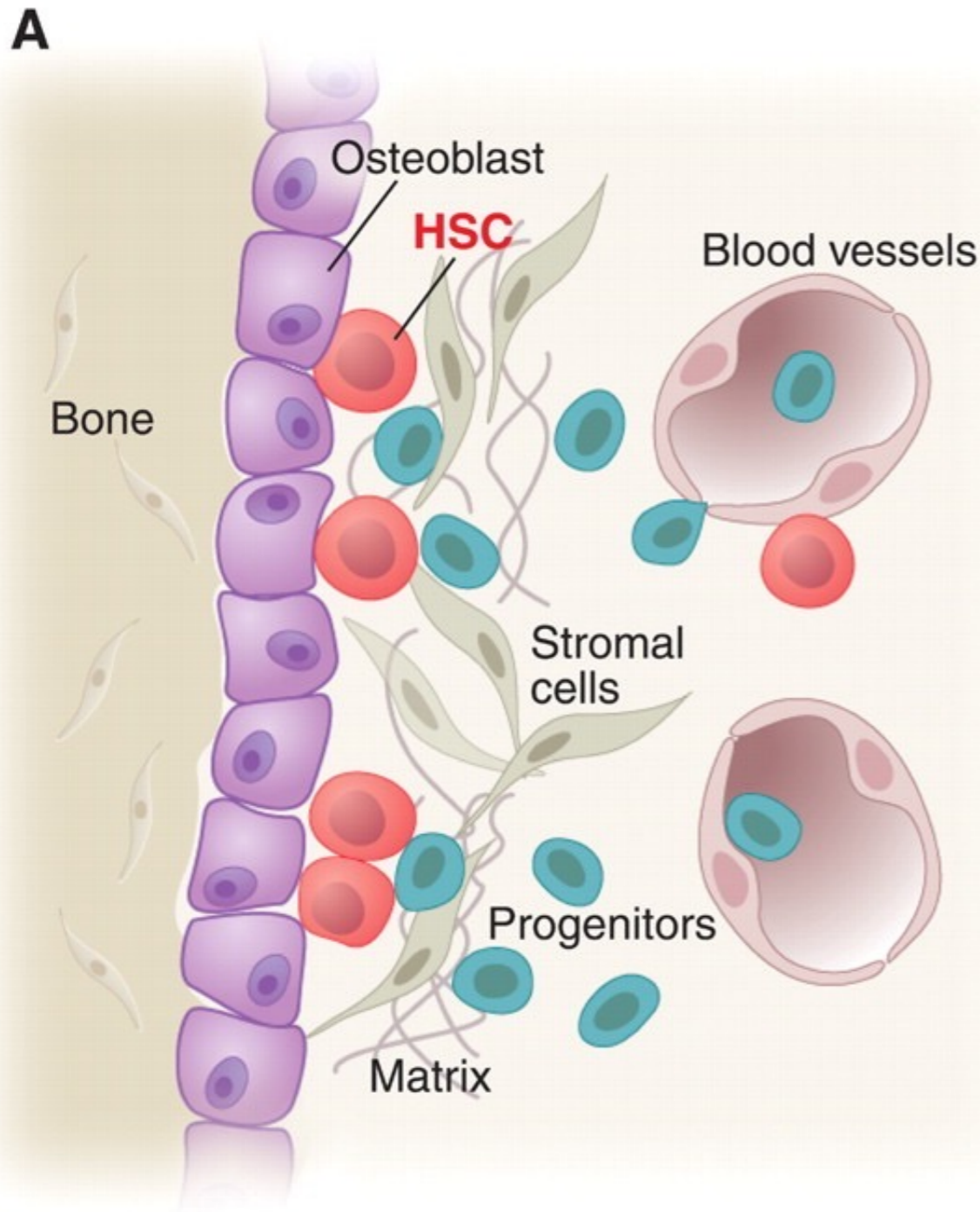


FIGURE 6:

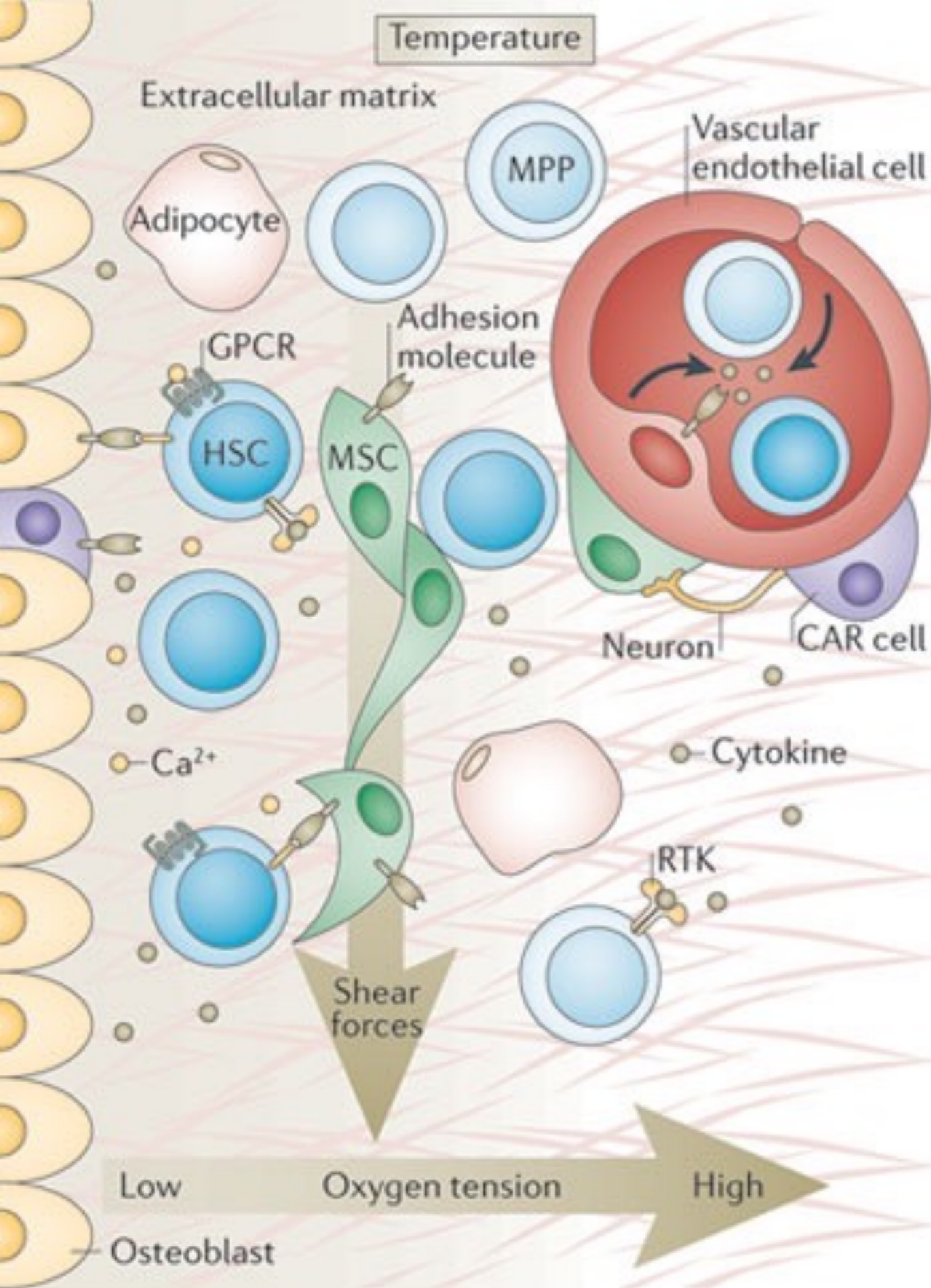
Bone marrow microenvironment.

Αιμοποίηση (σχηματικά)



Wnt: προάγει την αυτοανανέωση των HSC

Notch: διατήρηση της ικανότητας να είναι πολυδύναμα



Υψηλή τάση O₂: ωθεί τα κύτταρα προς ωρίμανση-διαφοροποίηση

Έχει φανεί ότι: όταν τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα εκτεθούν σε χαμηλή τάση οξυγόνου και αυξημένου CO₂, έχουν την ικανότητα να παρατείνεται η επιβίωση τους και παραμονή τους στο στάδιο στο οποίο βρίσκονται.

Αυξημένο οξυγόνο → ωρίμανση - διαφοροποίηση

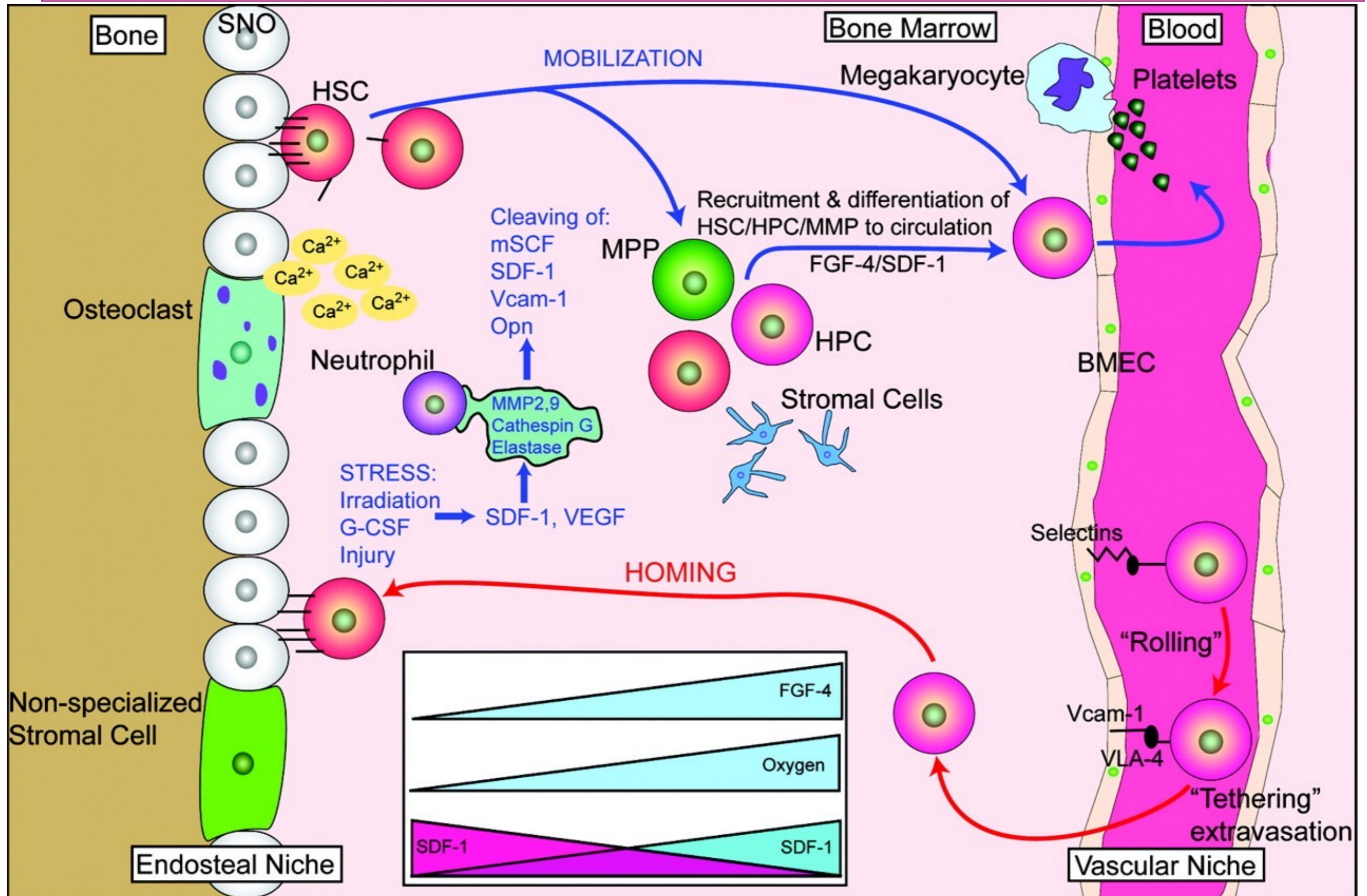
ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

- 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**, μέσω **αυξητικών παραγόντων** και ανάλογα με τα επίπεδα του οξυγόνου .

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

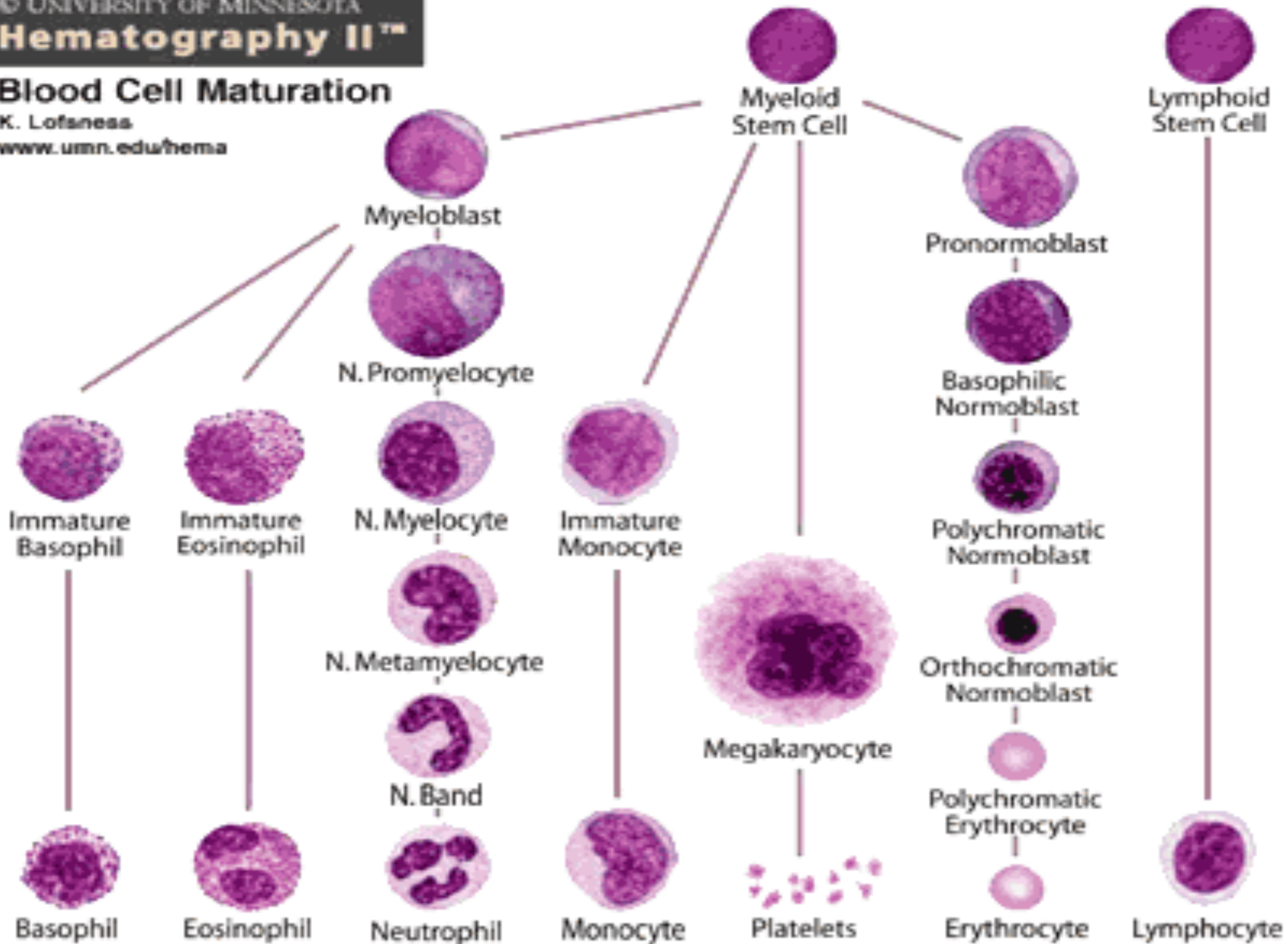


ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ

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

Blood Cell Maturation

K. Lofsness
www.umn.edu/hema



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**.

self-renewal
proliferation

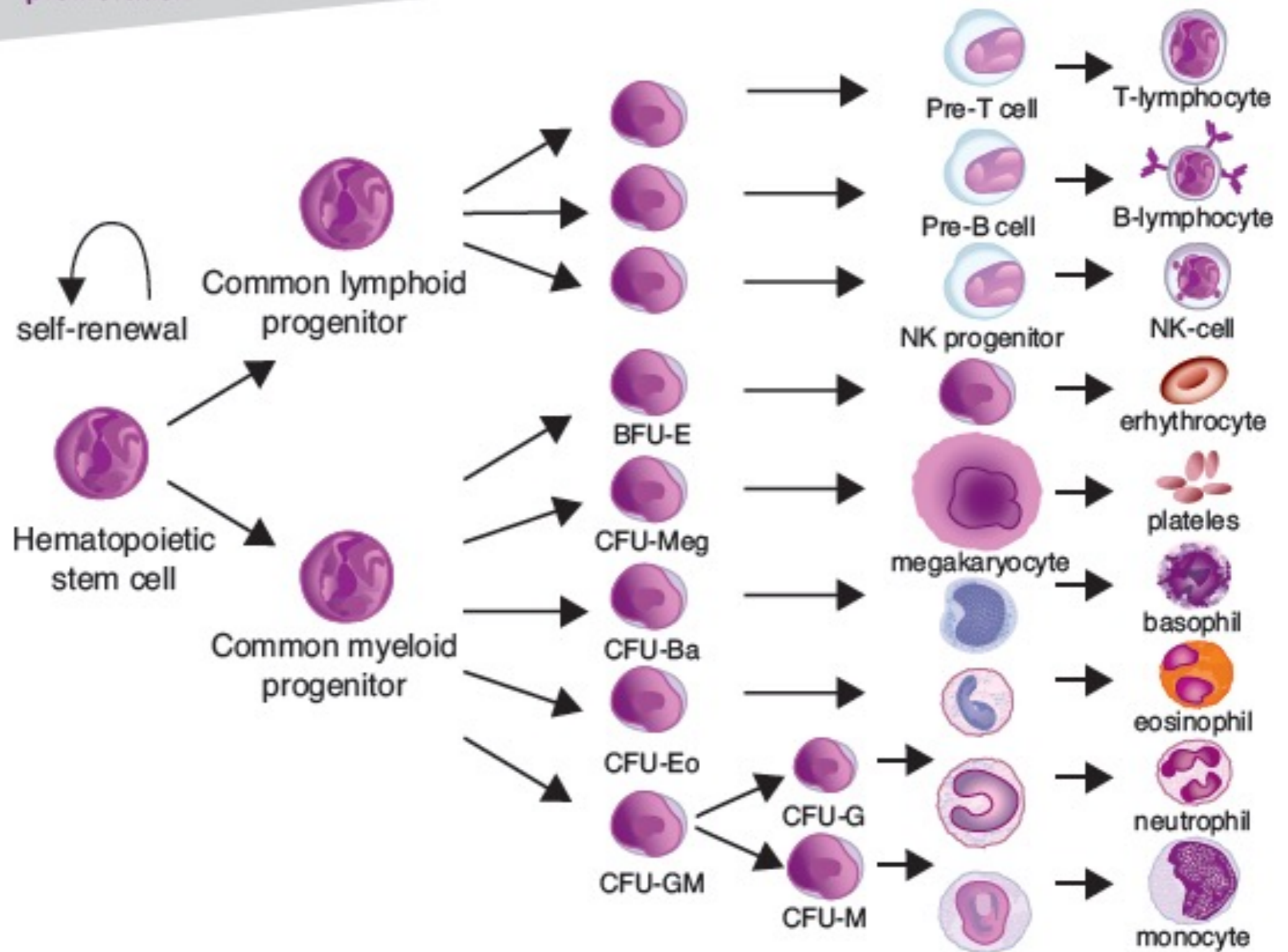


FIGURE 2:
hierarchical model of hematopoiesis.

commitment
differentiation

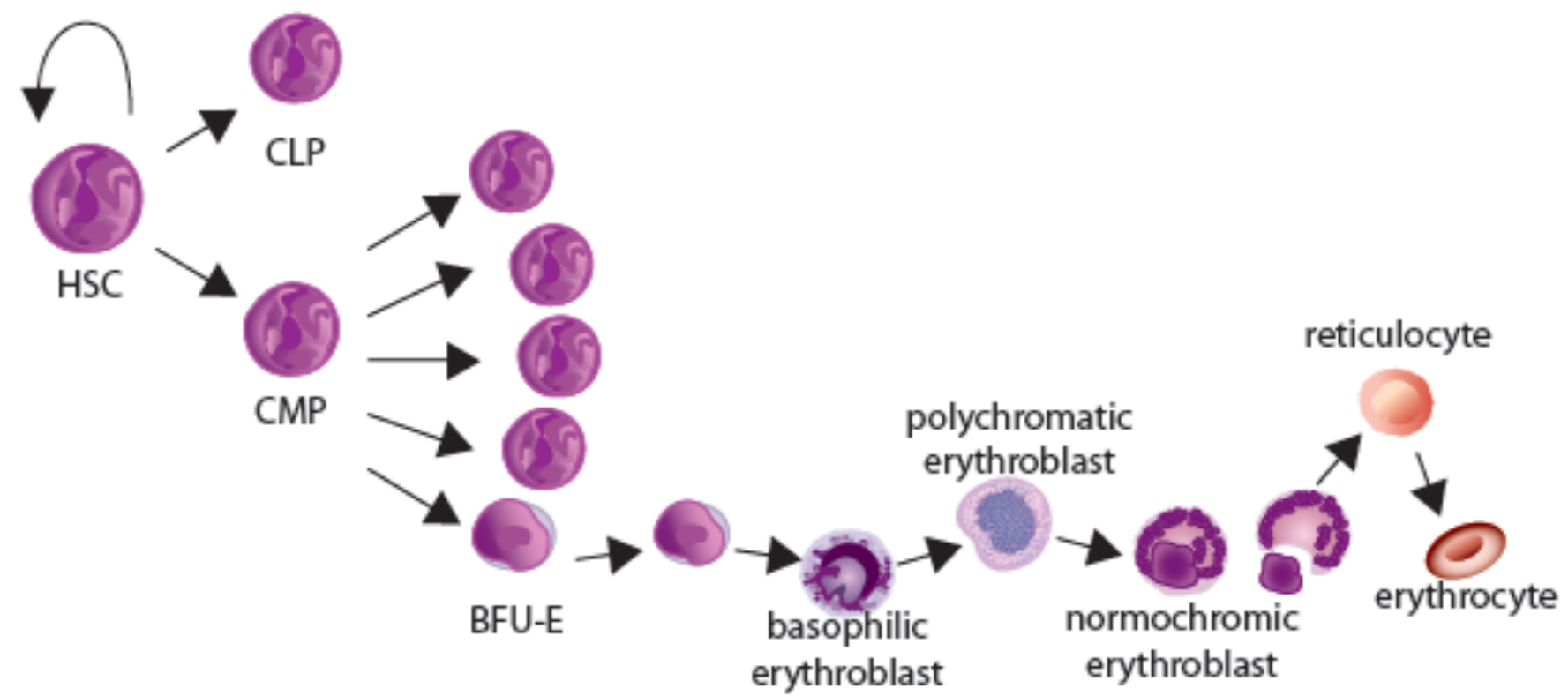
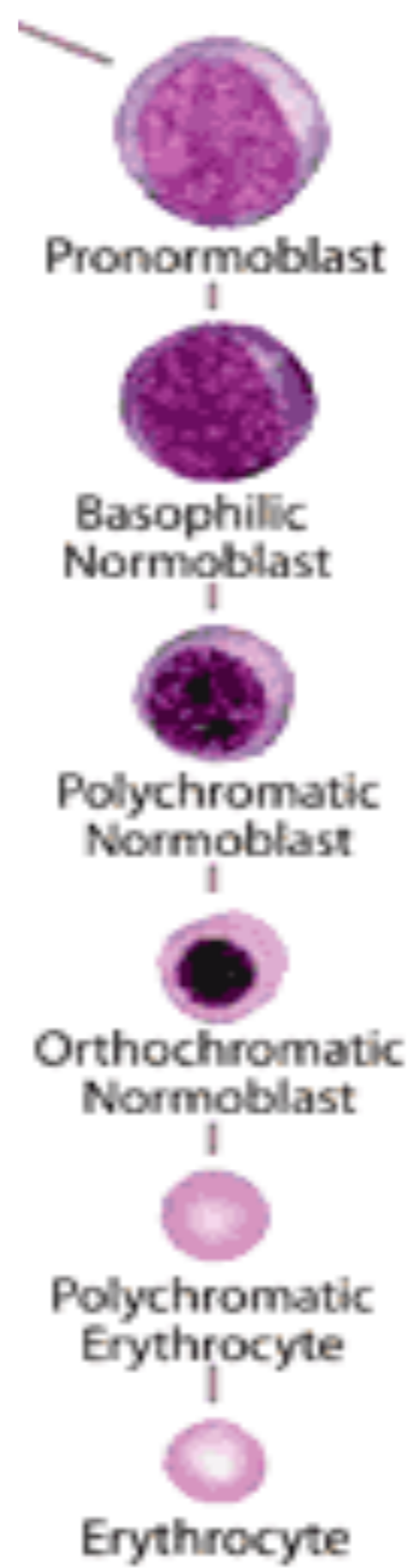


FIGURE 1:
Erythropoiesis.

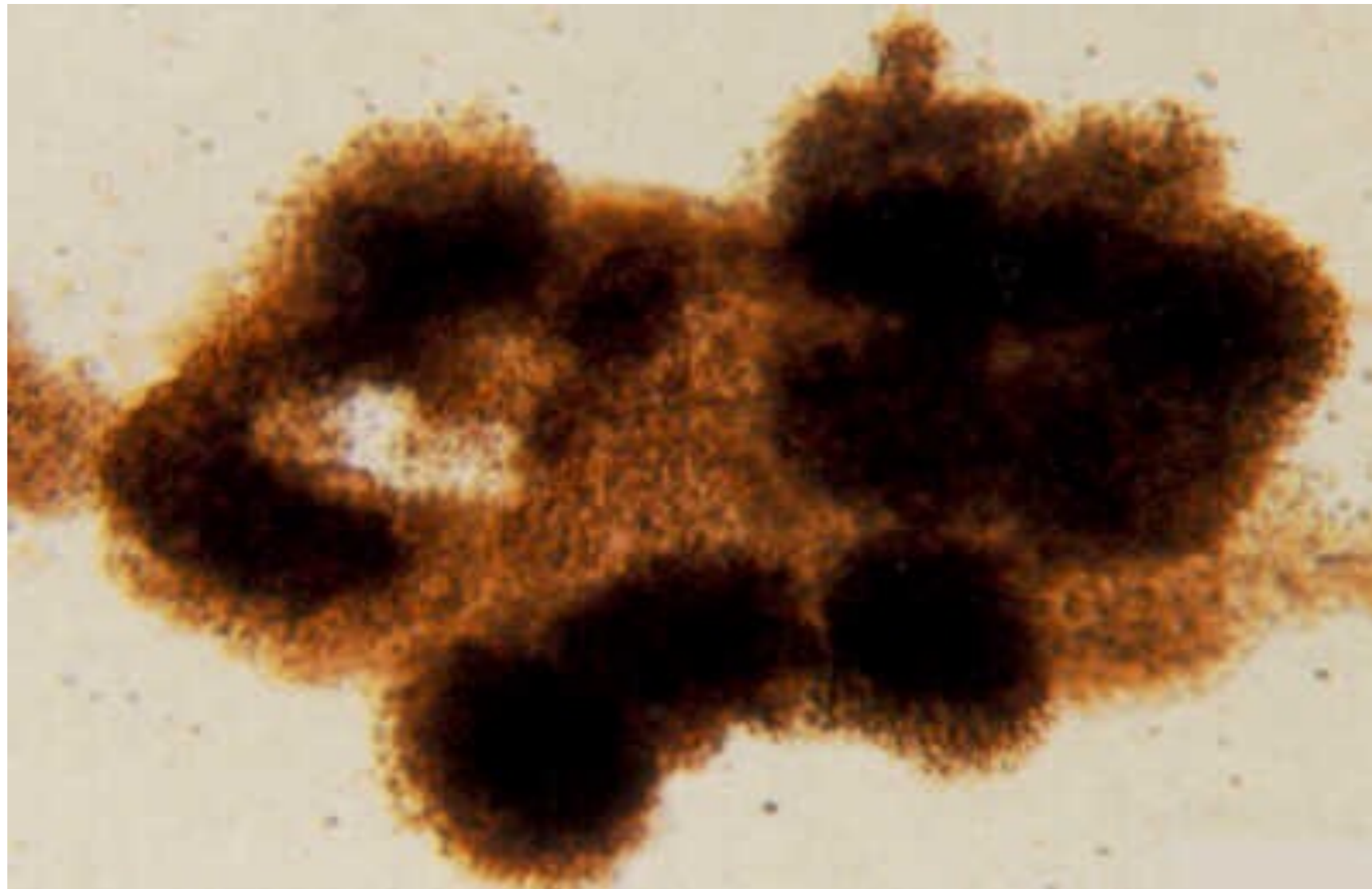
HSC: Hematopoietic stem cell • CLP: Common Lymphoid progenitor • CMP: Common Myeloid progenitor.

Κύτταρα ερυθράς σειράς

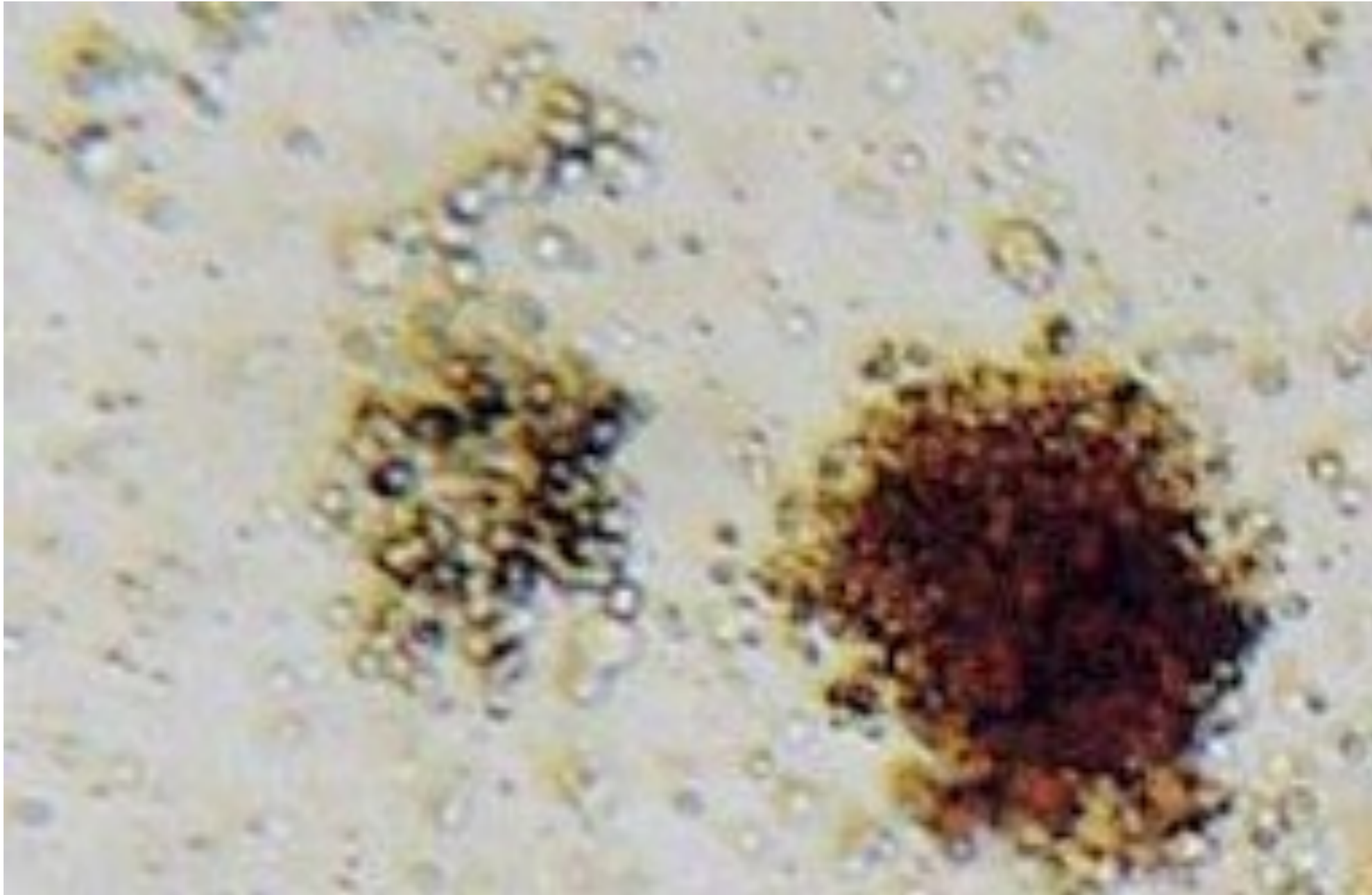
- **Προγονικά κύτταρα**
 - **BFU-E**
 - **CFU-E**
- **Πρόδρομα κύτταρα**
 - Προερυθροβλάστη
 - Βασεόφιλη ερυθροβλάστη
 - Πολυχρωματόφιλη ερυθροβλάστη
 - Ορθοχρωματική ερυθροβλάστη



ΑΠΟΙΚΙΑ ΒFU-E



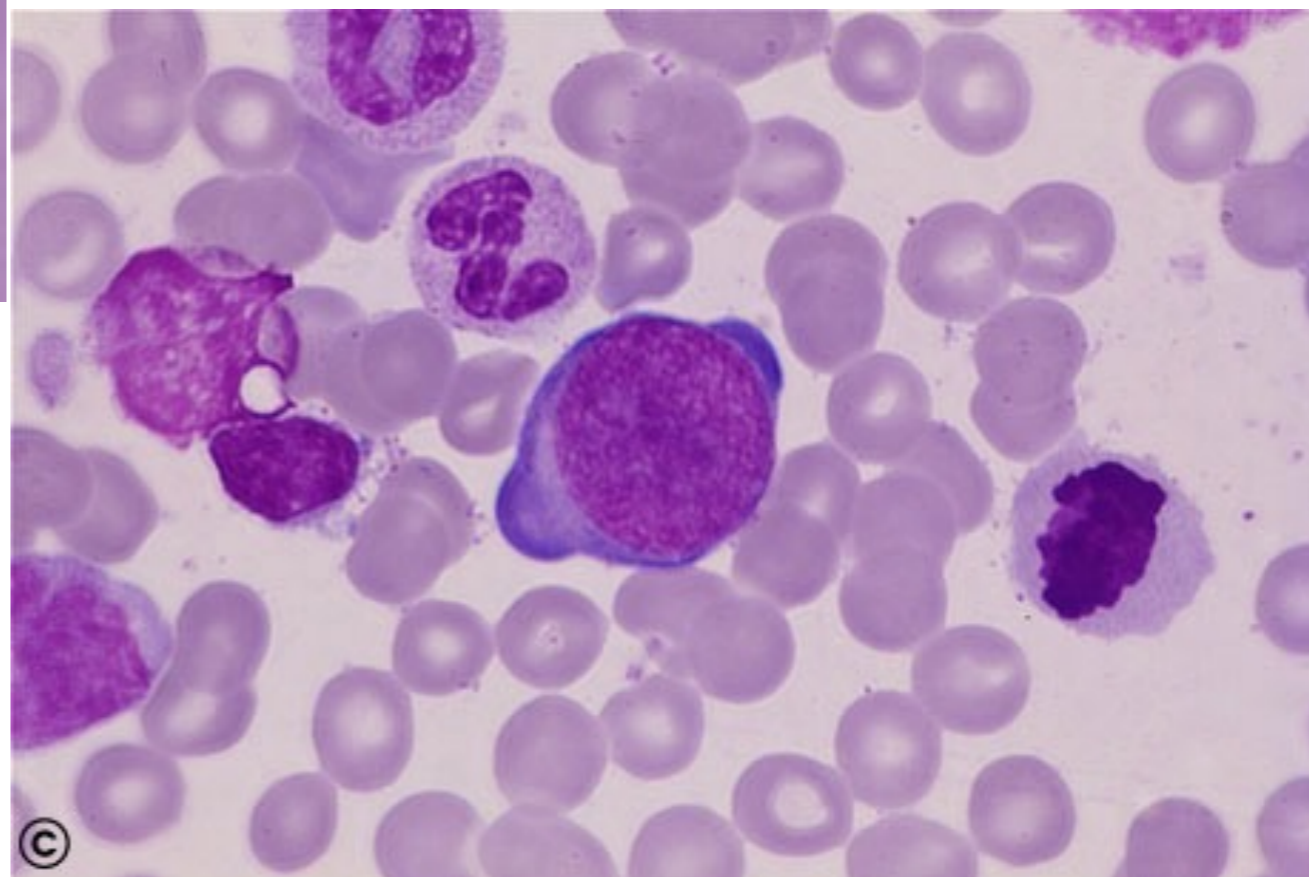
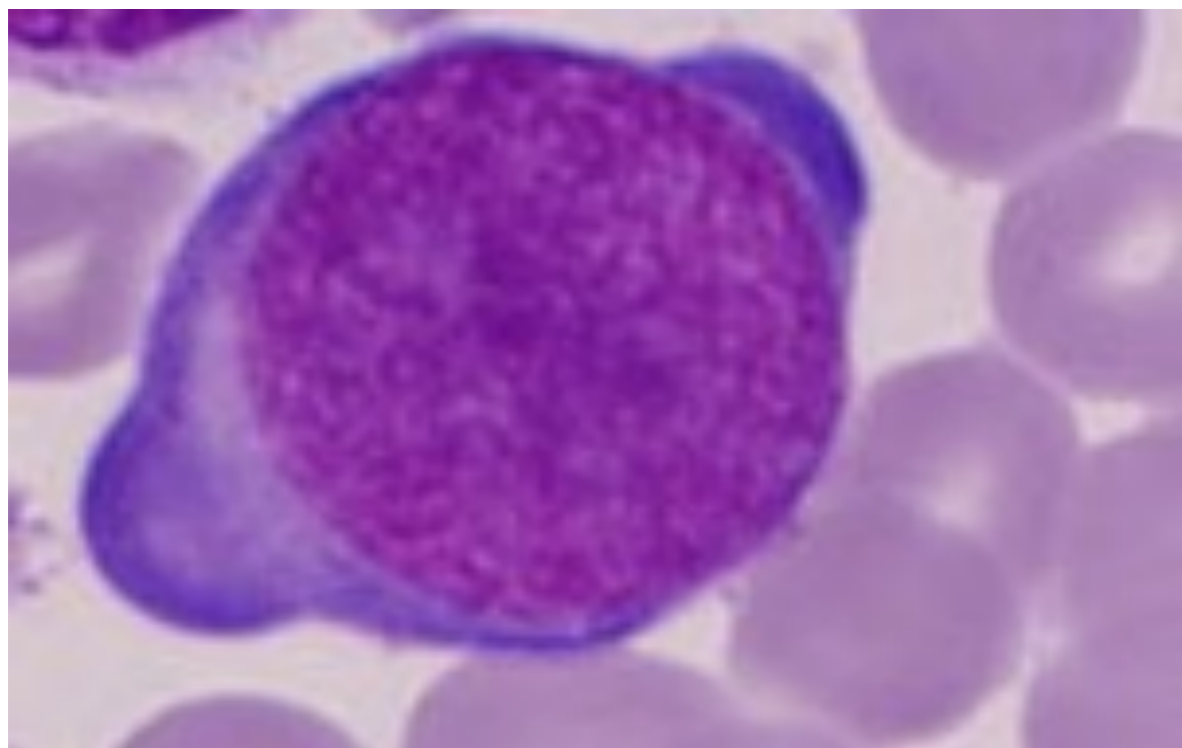
ΑΠΟΙΚΙΕΣ CFU-E



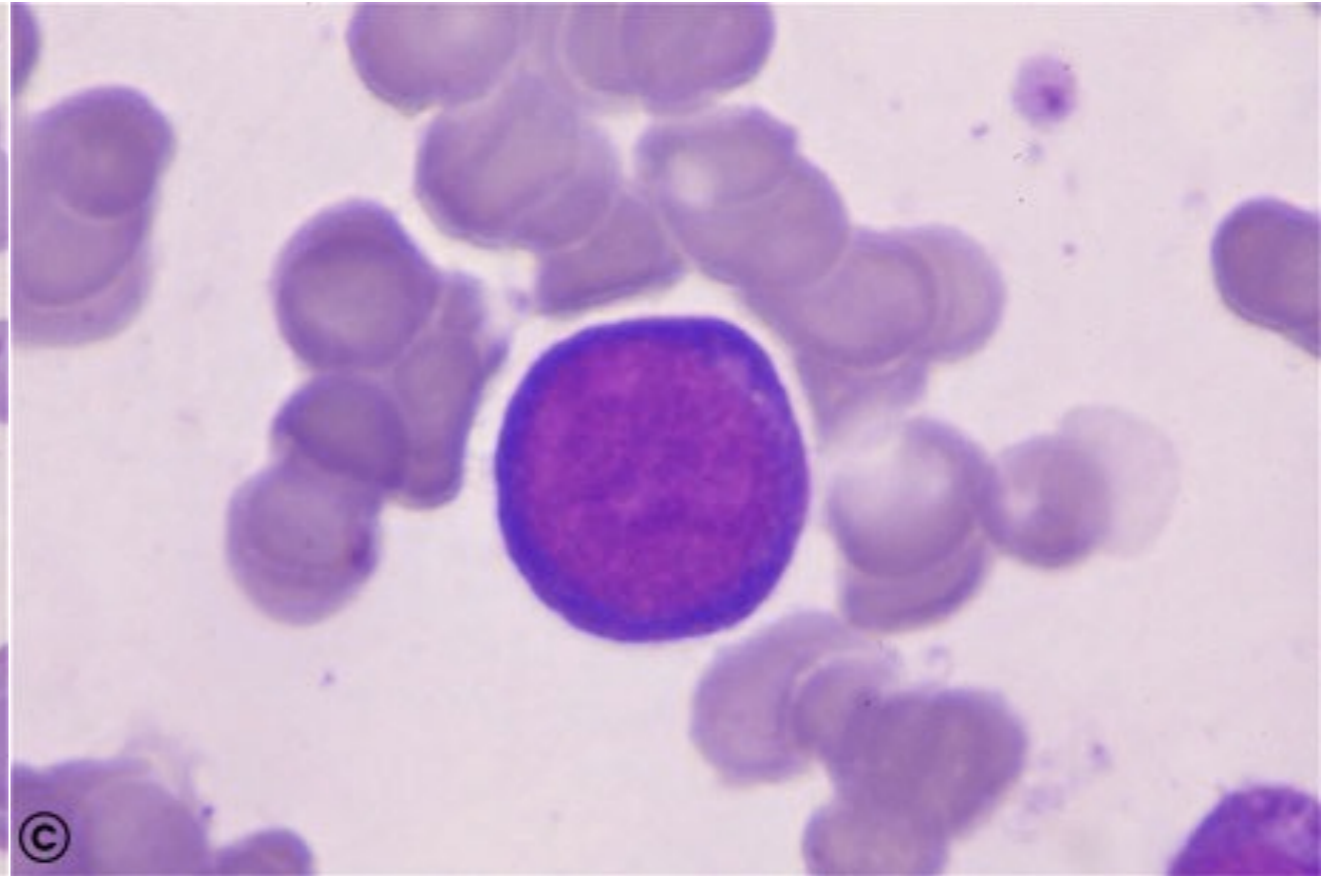
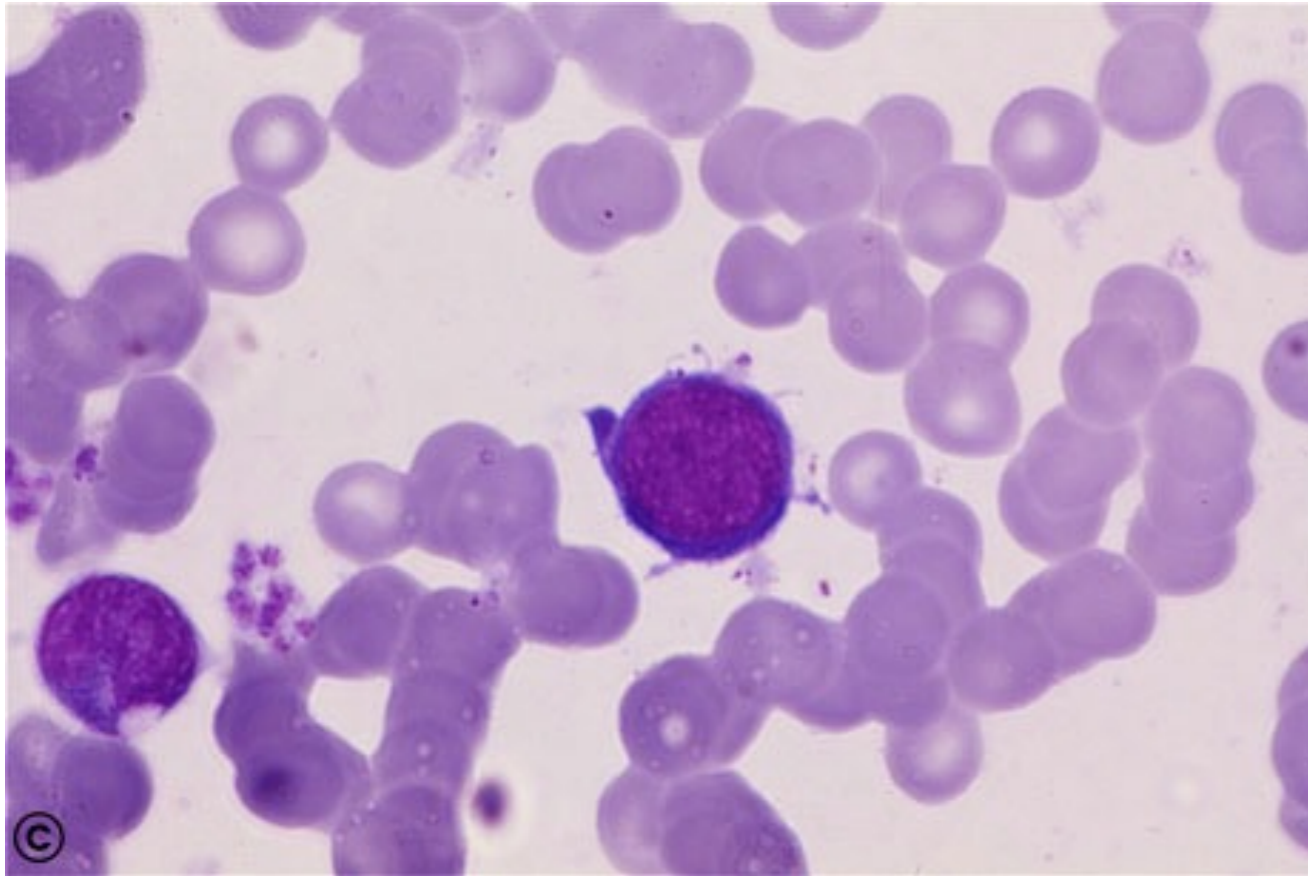
Χαρακτηριστικά της ωρίμανσης της ερυθράς σειράς

- **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.

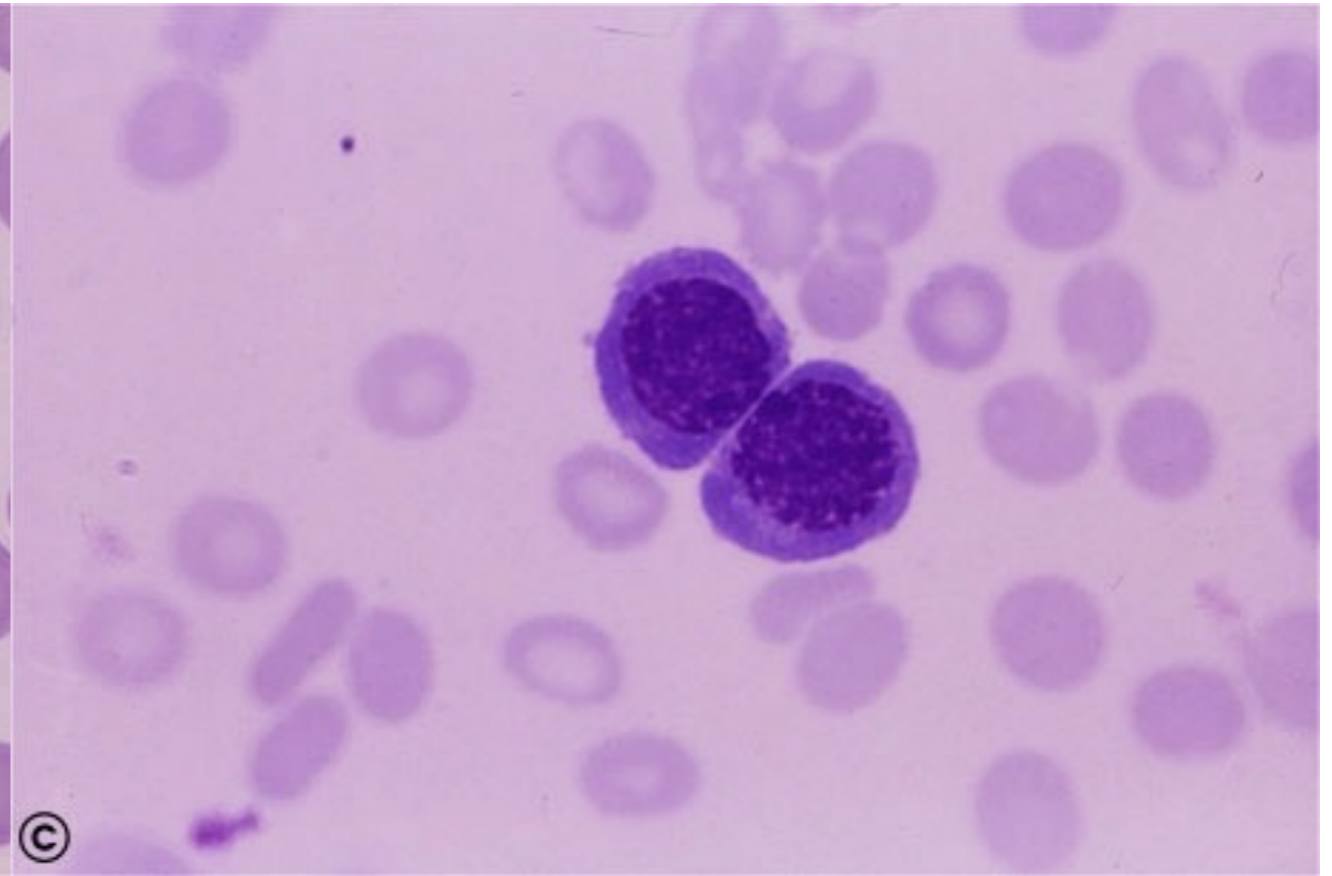
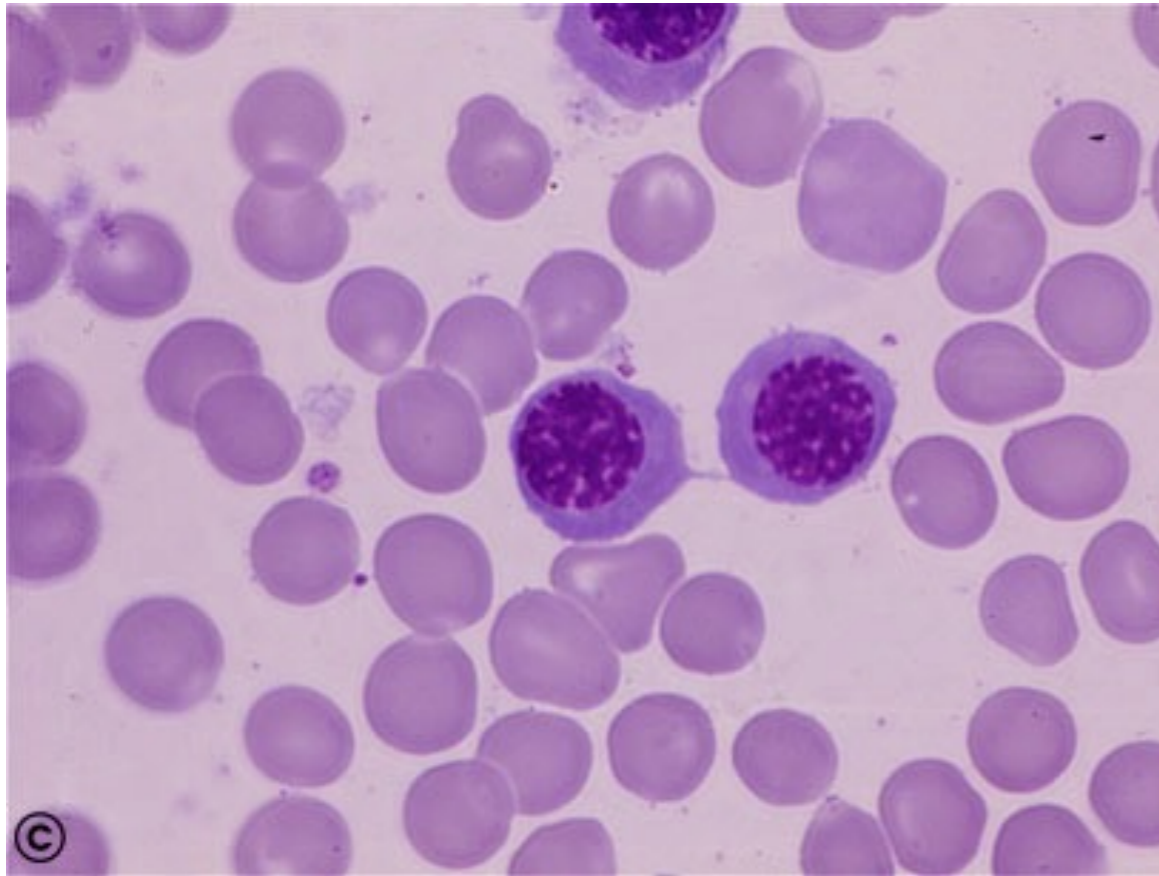
Προερυθροβλάστη



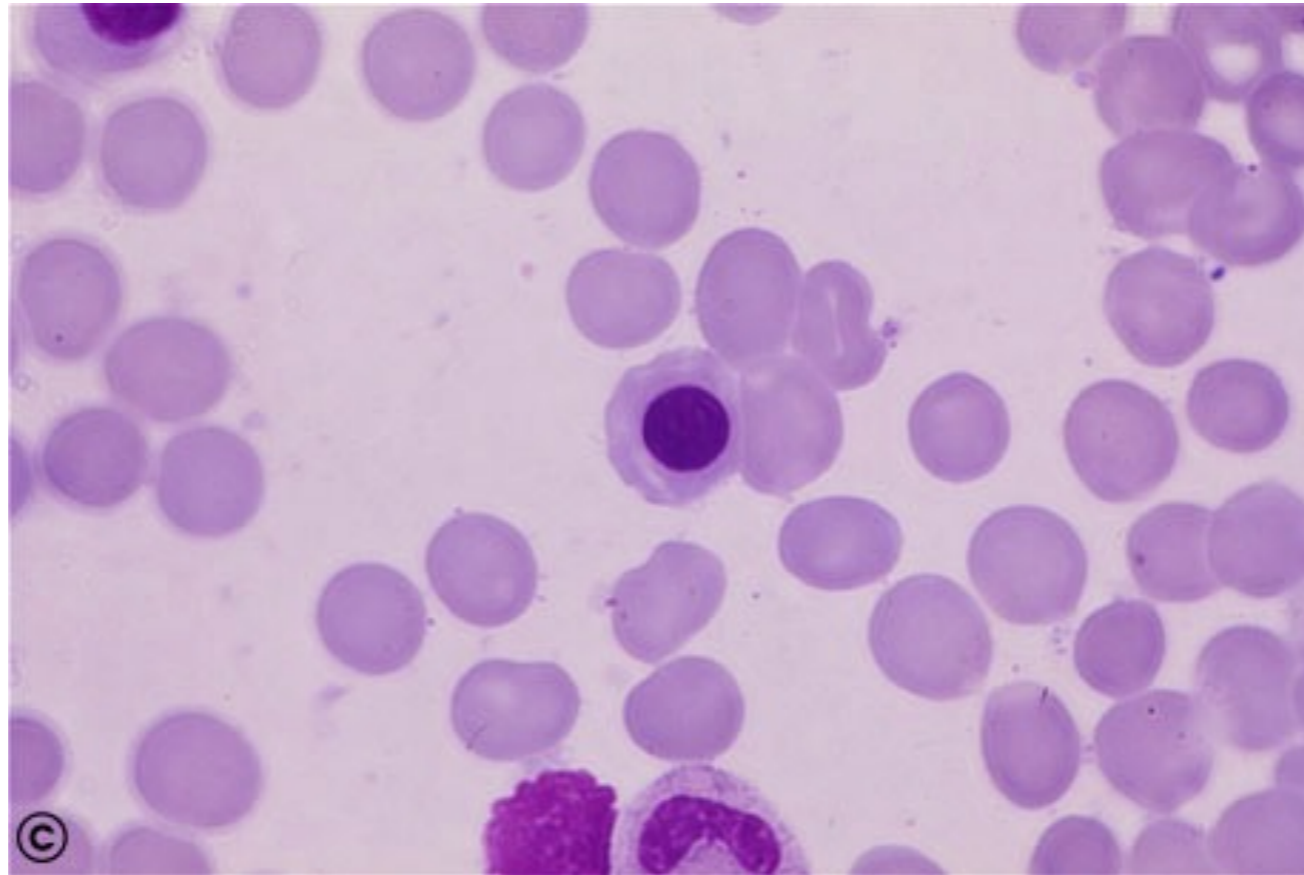
Βασεόφιλη ερυθροβλάστη



Πολυχρωματόφιλη ερυθροβλάστη

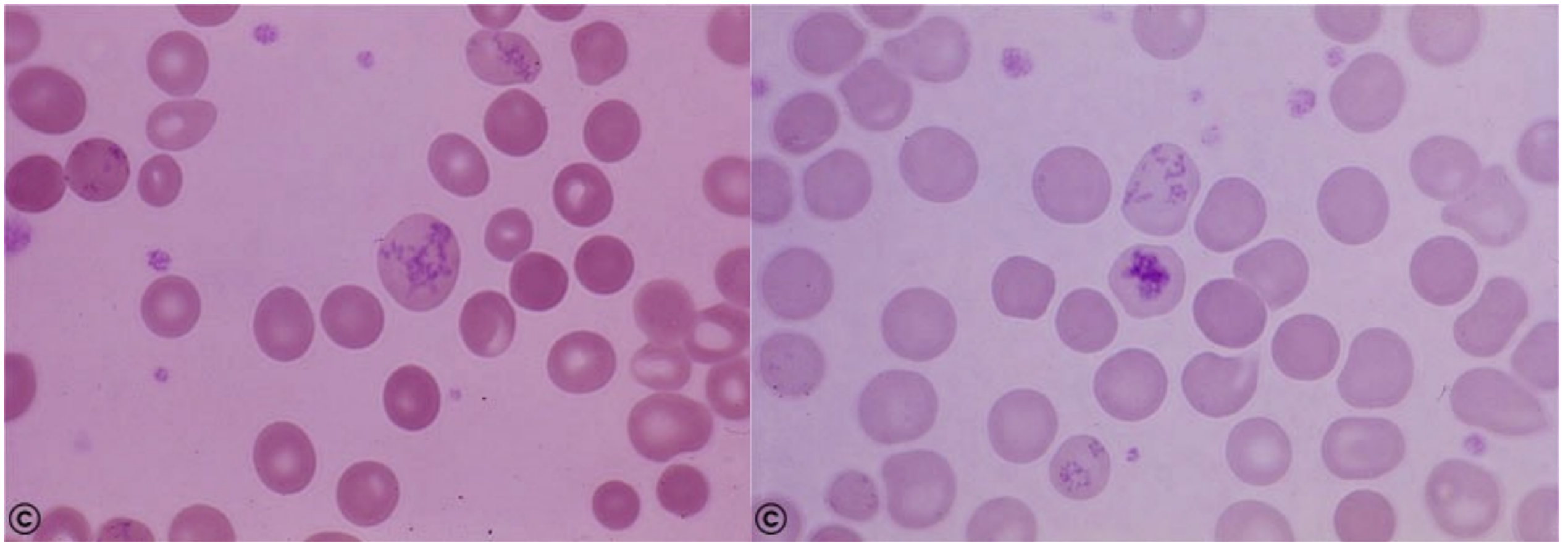


Ορθοχρωματική ερυθροβλάστη

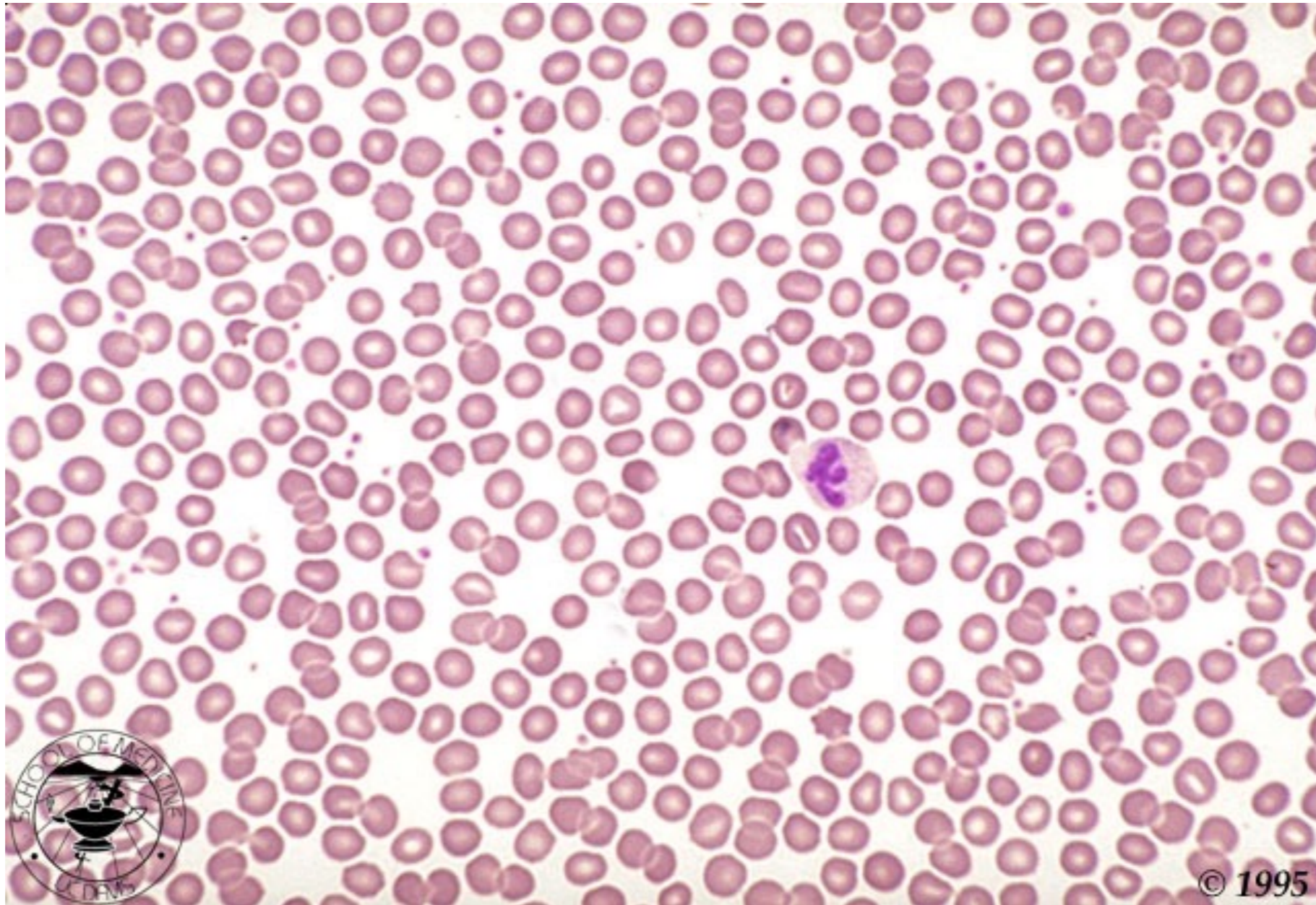


Δικτυοερυθροκύτταρα

- Τα ΔΕΚ έχουν **υπολείμματα ριβοσωμιακού RNA**, **δεν** έχουν πυρήνα



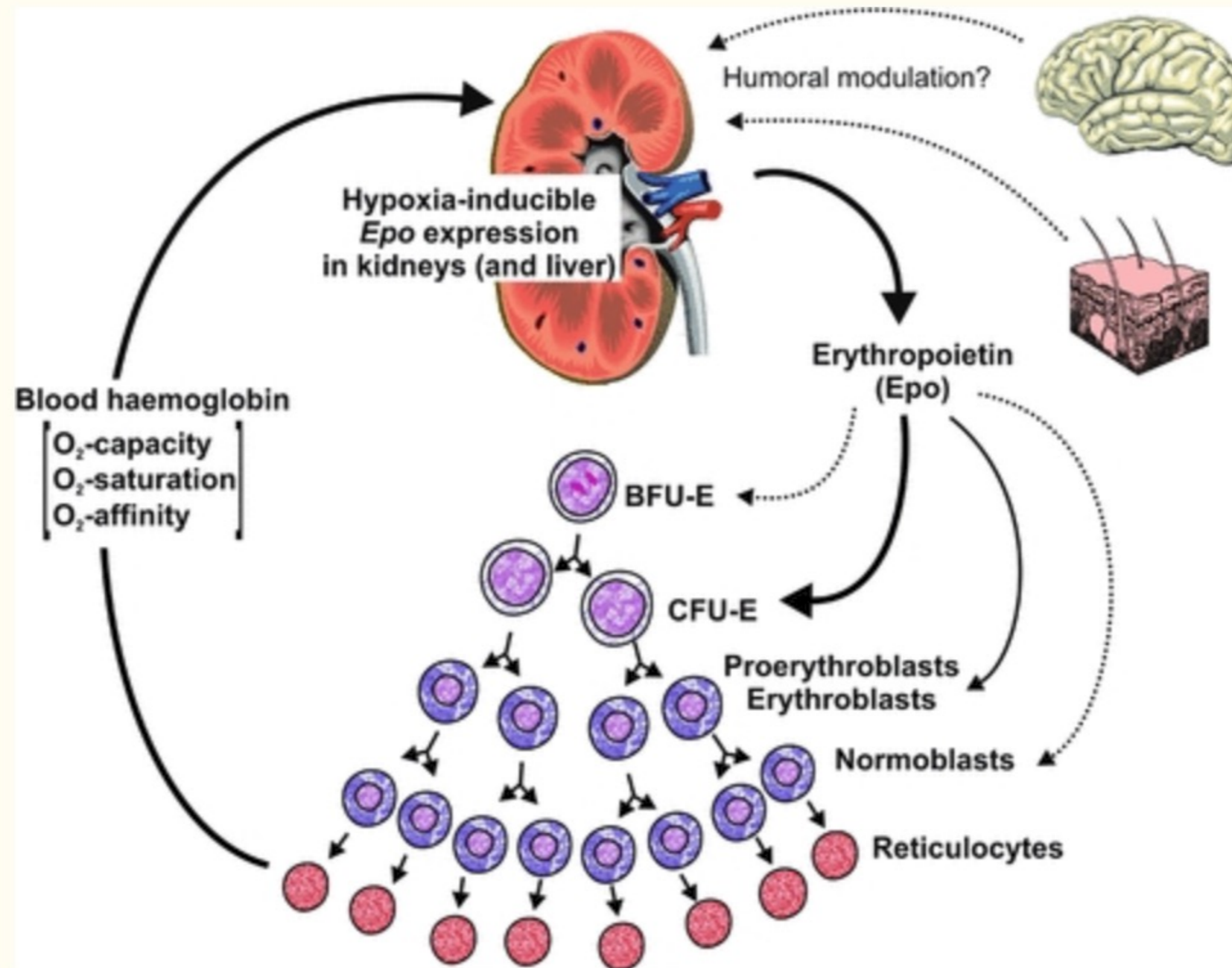
Ερυθροκύτταρα



Ρύθμιση της ερυθροποίησης – Ερυθροποιητίνη

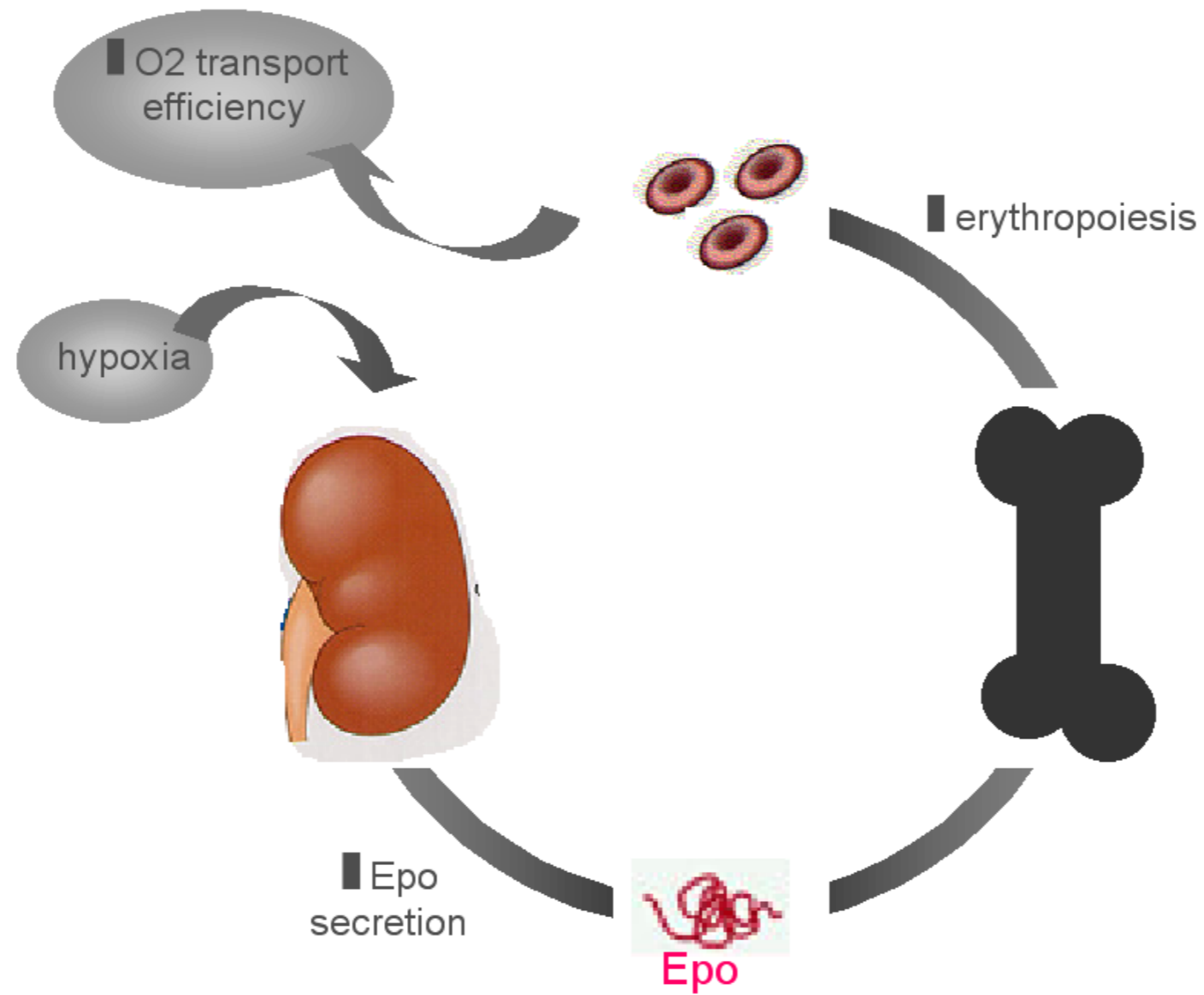
- Η **ερυθροποιητίνη (Epo)** είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 34.4 Kd, η οποία παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της ερυθροποίησης.
- Παράγεται κυρίως από τα νεφρά (90%) και σε μικρές ποσότητες από το ήπαρ (10%)
- Συγκεκριμένα, η **ελάττωση της τάσης του οξυγόνου επηρεάζει τα επίπεδα Epo** μέσω αυξημένης έκφρασης του γονιδίου της.

Ρύθμιση ερυθροποίησης



Η **υποξία** αποτελεί σημαντικό ερέθισμα για την παραγωγή της EPO.
Η EPO αποτελεί παράγοντα **επιβίωσης**, **πολλαπλασιασμού** και **διαφοροποίησης** με πιο έντονη δράση στα CFU-E.

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.

Που δρά η ΕΡΟ

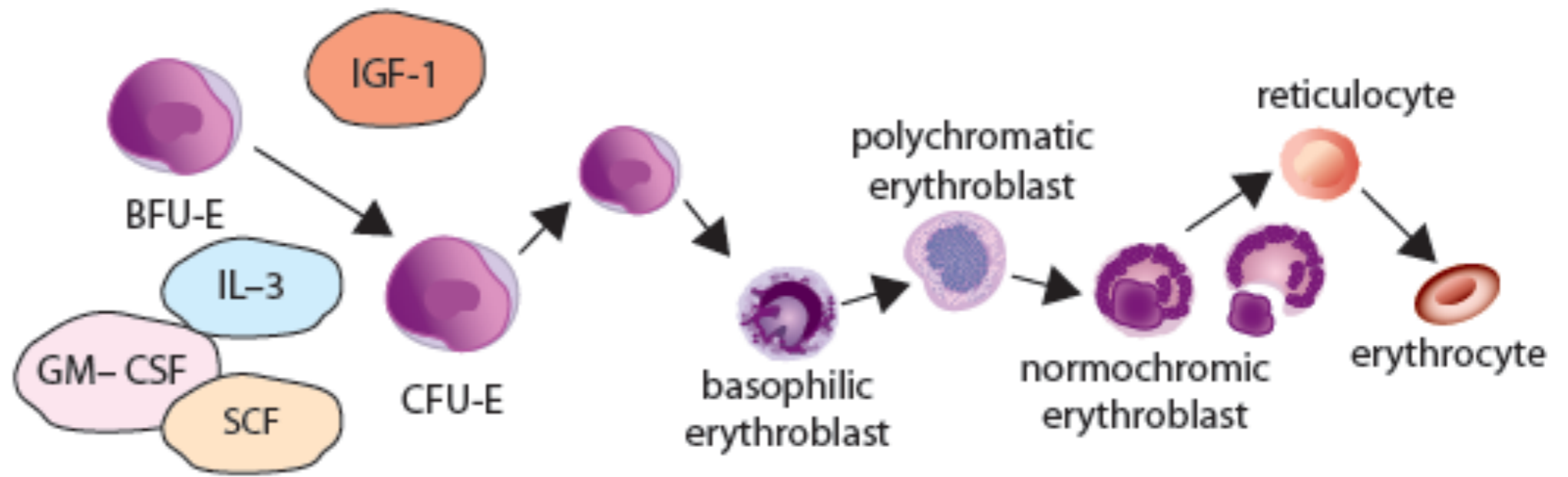


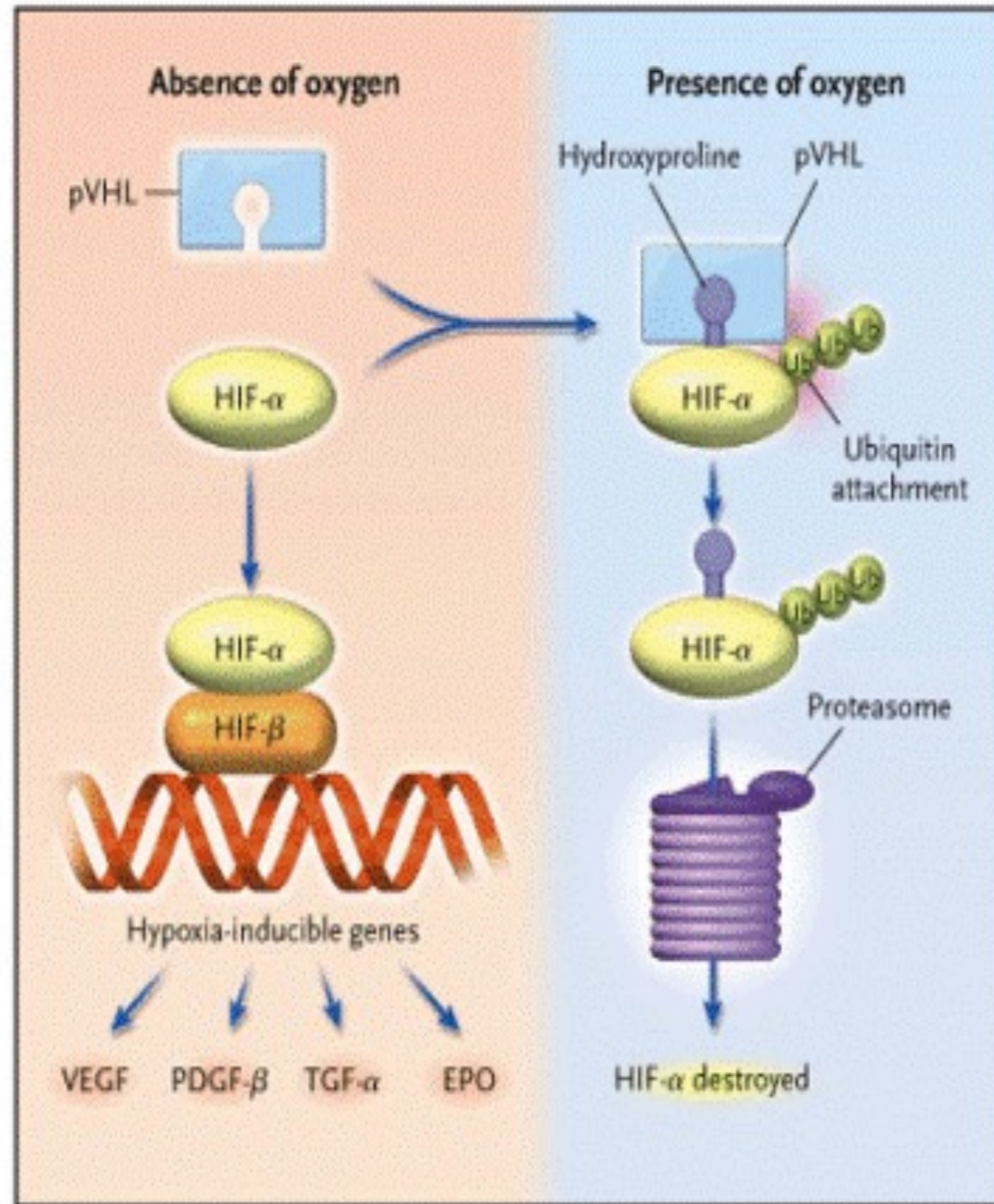
FIGURE 2:
Growth factors in erythropoiesis regulation.

Epo action

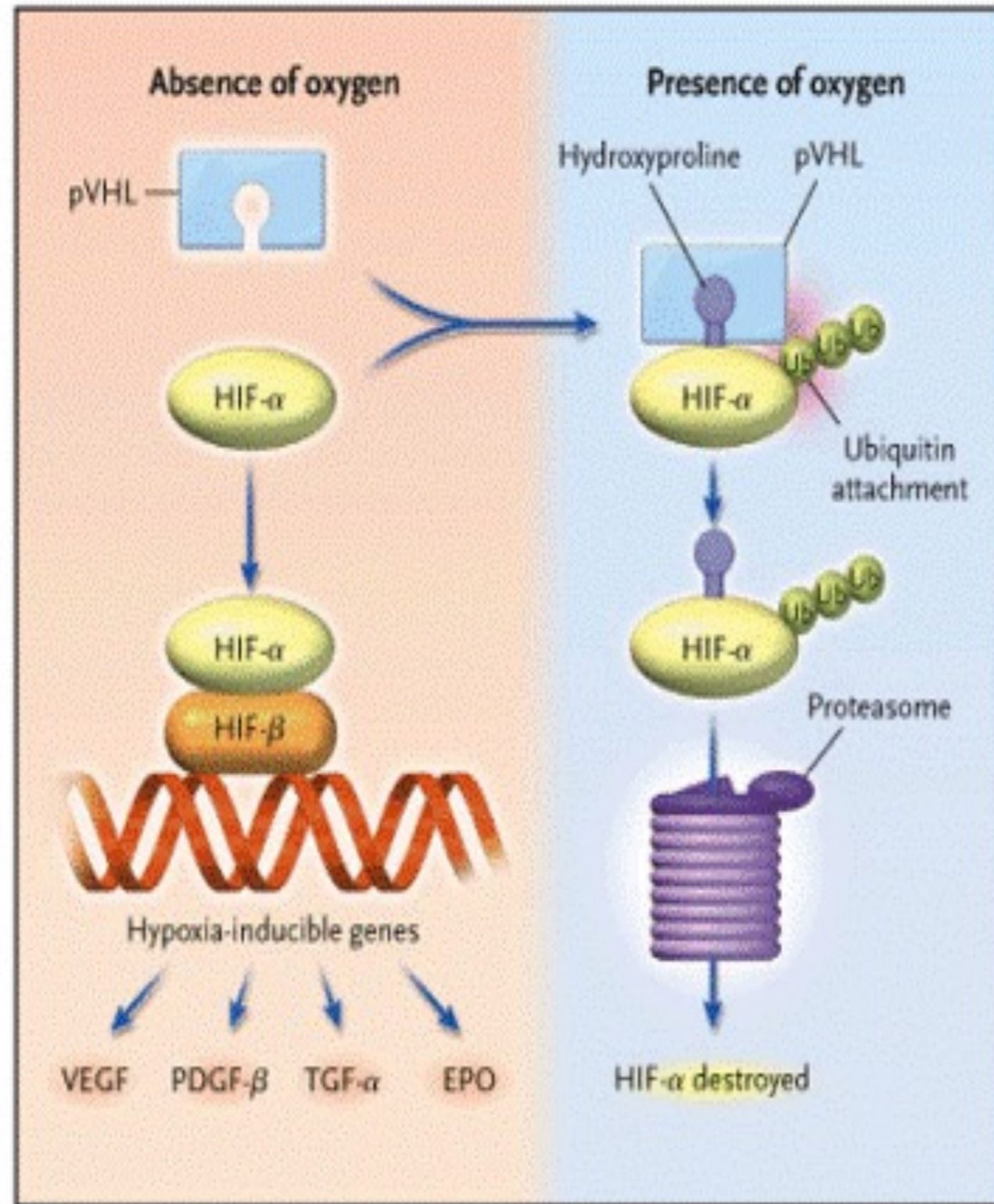


Ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου EPO

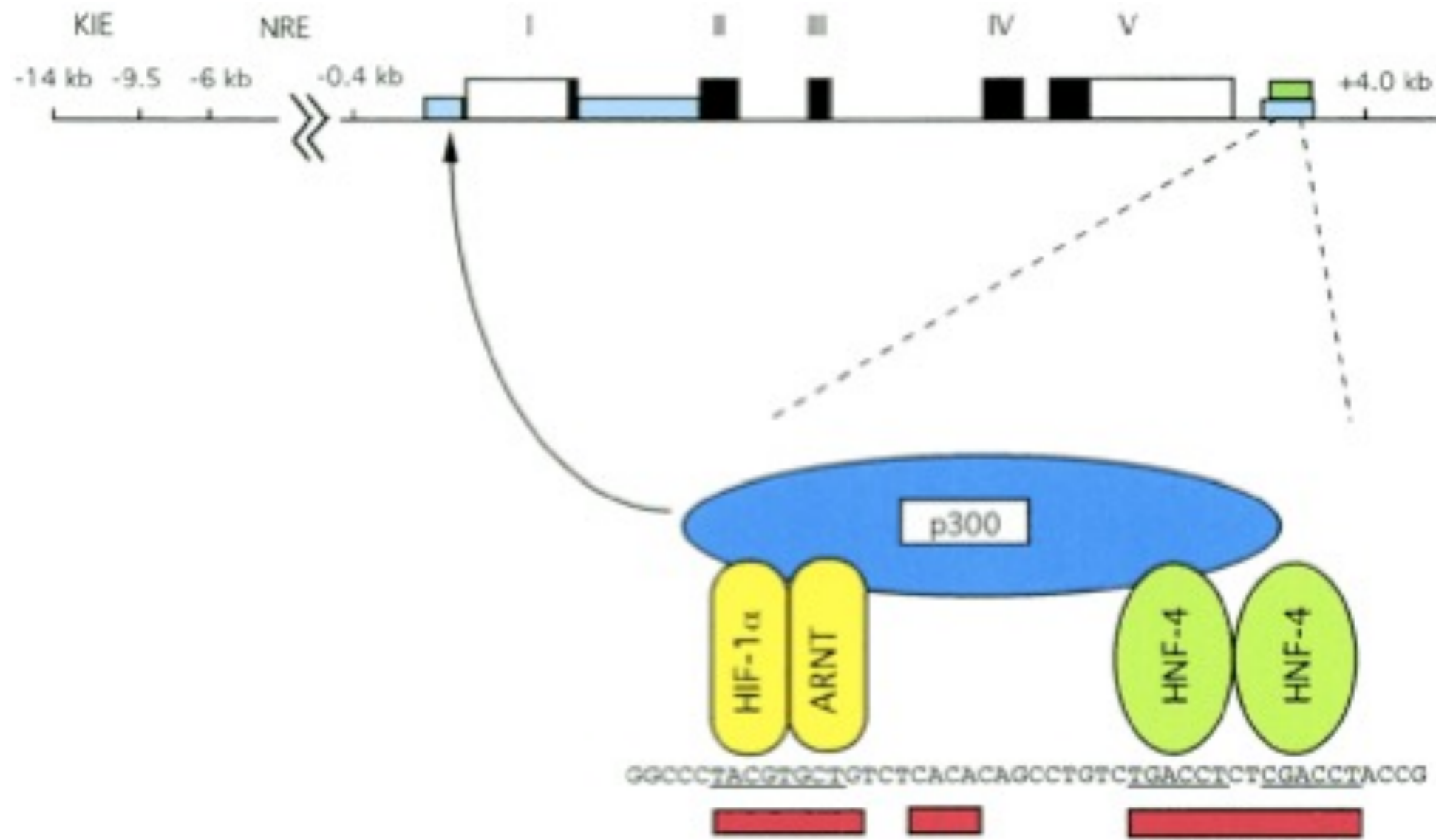
- Η ρύθμιση της έκφρασης της EPO γίνεται σε επίπεδο **μεταγραφικών παραγόντων**
- Ο μεταγραφικός παράγοντας **GATA-2** καταστέλλει τη μεταγραφή του γονιδίου της EPO.
- Αλλά η υποξία καταστέλλει τη δράση του **GATA-2 μέσω των HIF** (hypoxia-inducible factors)
- Συγκεκριμένα, η **υποξία προάγει τη σύνδεση των HIF** (κυρίως του HIF-2) στον enhancer του γονιδίου της EPO.
- Οι **HIFs είναι ανενεργοί σε φυσιολογικές συνθήκες οξυγόνου** μέσω **ενζυματικής υδροξυλίωσης** των α-υποομάδων τους. Στη συνέχεια συνδέεται με τον **Von Hippel-Lindau tumour suppressor protein (VHL)/E3 ligase** και οδηγούνται σε **αποδόμηση μέσω πρωτεασώματος**.



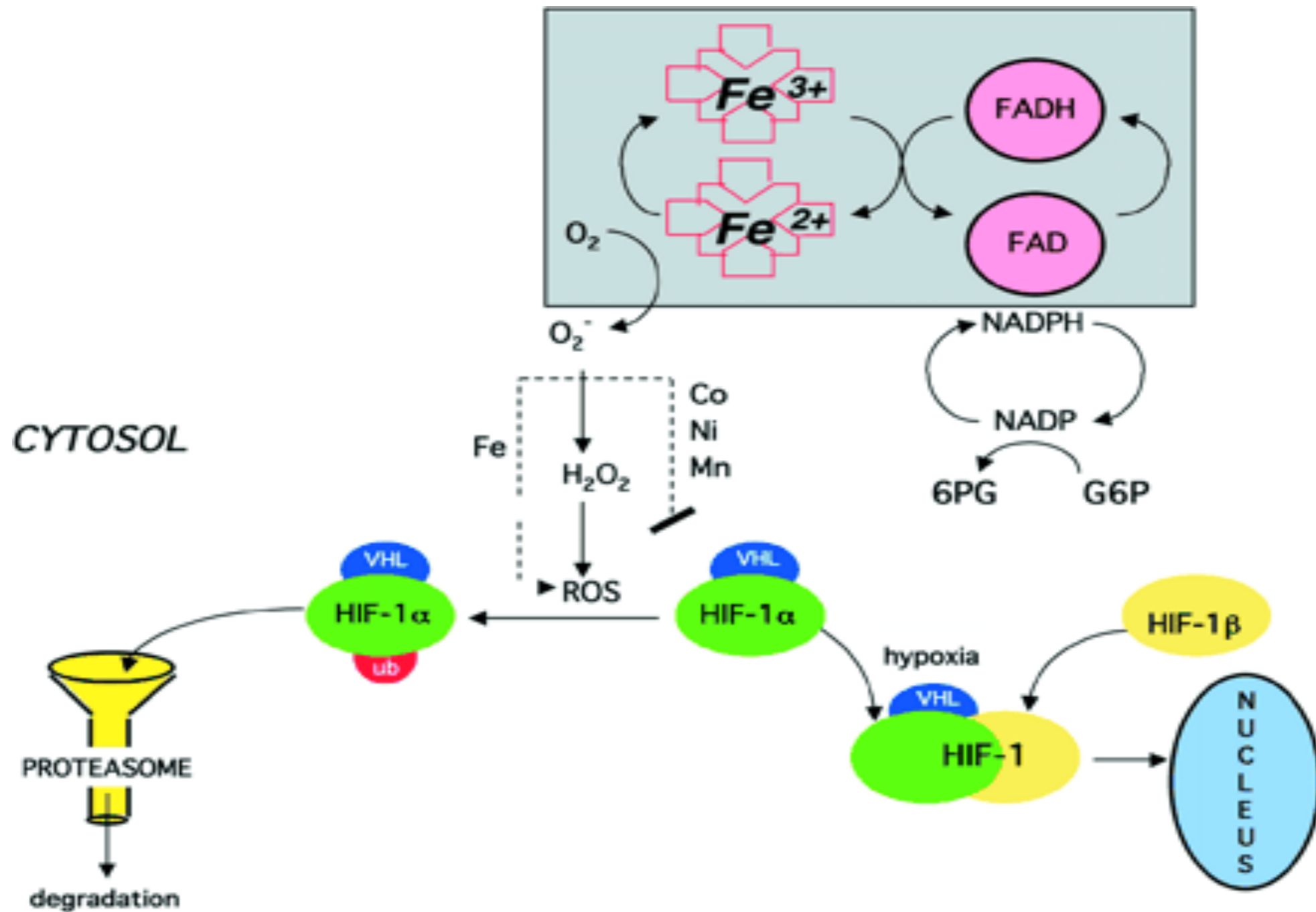
- Τρεις HIF-α prolyl hydroxylases (PHD-1, -2 and -3) αρχίζουν την αποδόμηση του HIF-α μέσω πρωτεασώματος
- Οι HIF-α υδροξυλάσες περιέχουν Fe^{2+} και χρειάζονται 2-οξυγλουταρικό σαν συν-παράγοντα για να δράσουν.
- Η απάντηση στην υποξία είναι δυναμική : μεγάλη αύξηση της EPO αρχικά σαν αποτέλεσμα της υποξίας, και στη συνέχεια μειώνεται παρά την υποξία
- Οι HIF-α PHDs αποτελούν τους αρχικούς σένσορες του O_2 για τη ρύθμιση της παραγωγής της EPO.
- Η έλλειψη του VHL συνεπάγεται συνεχή δράση των HIF → ερυθραιμία



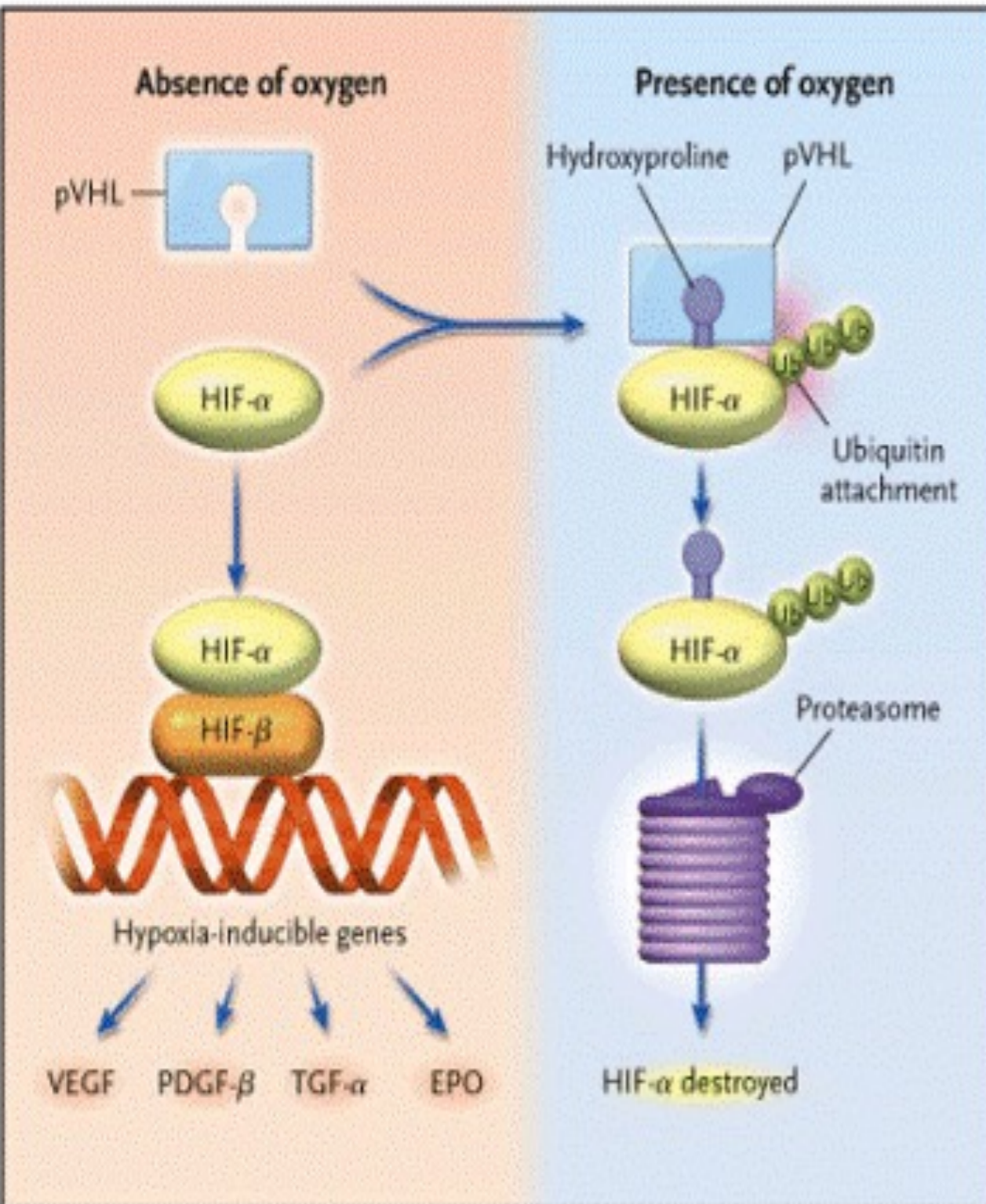
Ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου Epo



Ενδοκυτταρικό αισθητήριο οξυγόνου



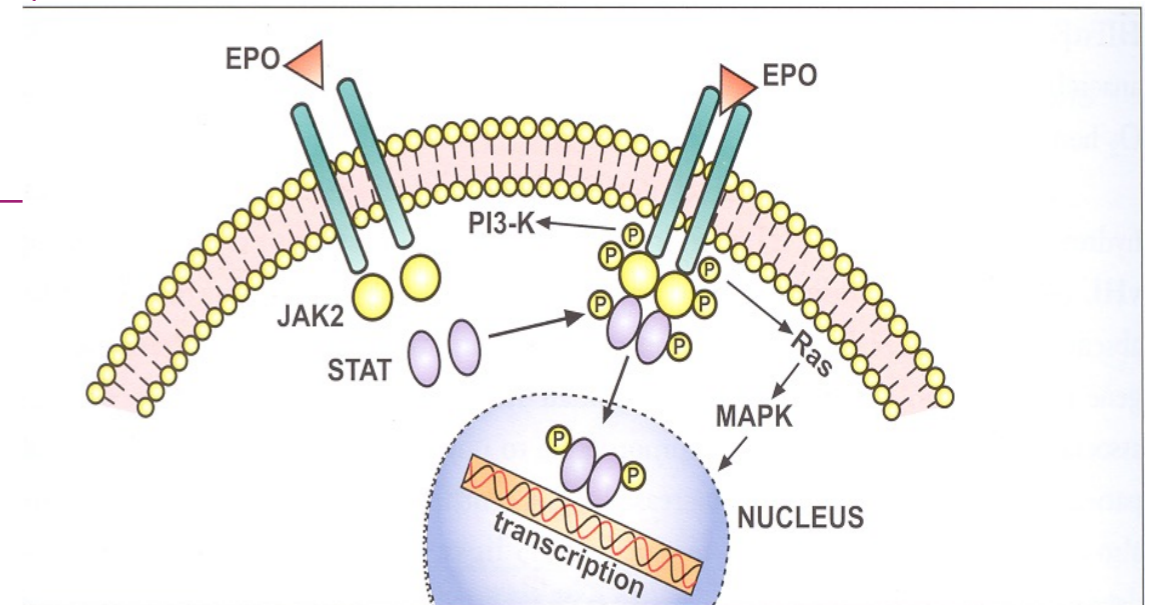
Ρύθμιση του HIF από την πρωτεΐνη του γονιδίου von Hippel–Lindau (pVHL).



Η **πρωτεΐνη vHL** (von Hippel-Lindau) συνεργεί στη σύνδεση του HIF-1 α με την ουμπικουϊτίνη και για το λόγο αυτό επί **απουσίας ή αδρανοποιήσεως** της ο HIF-1 α δεν αποδομείται και μπορεί να δίνει συνεχή **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 Ερο



- Ο υποδοχέας της Ερο 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 κινασών, που είναι γνωστή με το όνομα Janus kinases (JAK)** προκειμένου να μεταφέρουν το ερέθισμα.

EPO

- Αφού γίνει σύνδεση με τον υποδοχέα της EPO, γίνεται ενεργοποίηση και διμερισμός των **JAK κινάσών**
- Οι ενεργοποιημένες JAK κινάσες στη συνέχεια διεγείρουν μέσω φωσφορυλίωσης τους μεταγραφικούς 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 κύρια 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.