

Βασικά στοιχεία που αφορούν την αιμοποίηση

Γιάννης Χρ. Μελέτης
Παθολόγος-Αιματολόγος
Αναπληρωτής Καθηγητής,
Α' Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
Νοσοκομείο "Γενικό Λαϊκό"

ΚΥΡΙΑ ΣΗΜΕΙΑ

- Τα έμμορφα στοιχεία του αίματος διακρίνονται σε ερυθρά αιμοσφαίρια ή ερυθροκύτταρα, λευκά αιμοσφαίρια ή λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα και παράγονται στον μυελό των οστών με έναν κριτικό αριθμό παραγωγής ώστε να αναπληρώνονται οι καθημερινές απώλειές τους ανάλογα με τον χρόνο επιβίωσης τους όταν εξέλθουν στην κυκλοφορία.
- Τα κύτταρα του αίματος έχουν περιορισμένο χρόνο ζωής (ερυθρά περίπου 120 ημέρες, λευκά και αιμοπετάλια μόνο λίγες ημέρες) και έτσι είναι απαραίτητη η διατήρηση σταθερού του αριθμού τους. Αυτό διατηρείται με την ύπαρξη στον μυελό των αιμοποιητικών προβαθμίδων που λόγω των ιδιοτήτων τους εξασφαλίζουν αυτή την ομοιοστασία.
- Η συνεχής προσφορά νέων κυττάρων στις επιμέρους μορφολογικά αναγνωρίσιμες κυτταρικές σειρές εξασφαλίζεται με τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την ωρίμανση των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων που αποτελούν μια υπό φυσιολογικές συνθήκες ανεξάντλητη πηγή παραγωγής αιμοποιητικών κυττάρων.
- Η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός και η ωρίμανση των αρχέγονων κυττάρων στον μυελό ρυθμίζεται από ένα σύνολο χυμικών και κυτταρικών παραγόντων, που άλλοι δρουν προαγωγικά και ονομάζονται αυξητικοί παράγοντες (ειδικοί αυξητικοί παράγοντες και ιντερλευκίνες), ενώ άλλοι έχουν ανασταλτική δράση και χαρακτηρίζονται σαν αναστολείς της αιμοποίησης (ιντερφερόνες, παράγοντες νέκρωσης των όγκων και άλλα βιομόρια).
- Η μελέτη των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων γίνεται βασικά με τρεις τεχνικές, την *in vivo* των Till και McCulloch, την τεχνική της καλλιέργειας σε ημιστερεά καλλιεργητικά μέσα των Bradley και Metcalf και την τεχνική της καλλιέργειας σε υγρά καλλιεργητικά μέσα τύπου Dexter.

1. ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ [1-10]

Στον φυσιολογικό ενήλικο, τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα κύτταρα της κοκκιάδους/ μονοκυτταρικής σειράς και τα αιμοπετάλια του περιφερικού αίματος προέρχονται από το μυελό των οστών. Ο αιμοποιητικός ιστός υπάρχει στις μυελικές κοιλότητες των οστών και αναπτύσσεται σε ορισμένες θέσεις που αποτελούνται κυρίως από κύτταρα λείων μυϊκών ινών, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, μακροφάγα, λιποκύτταρα και χονδροκύτταρα/ οστεοκλάστες. Τα κύτταρα αυτά αποτελούν το μυελικό στρώμα το οποίο αποτελεί το κατάλληλο μικροπεριβάλλον για την ανάπτυξη τόσο των αρχέγονων και προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων, όσο και των ώριμων κυττάρων όλων των μυελικών σειρών.

Όλα τα κύτταρα τόσο των αιμοποιητικών ιστών και οργάνων όσο και του περιφερικού αίματος προέρχονται από έναν πληθυσμό αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (stem cells). Ο πληθυσμός αυτός είναι εξαιρετικά μικρός και αποτελεί περίπου το 0.01% των μυελικών κυττάρων. Τα περισσότερα αρχέγονα κύτταρα παραμένουν μέσα στο μικροπεριβάλλον του μυελού σε κατάσταση ηρεμίας για μεγάλο χρονικό διάστημα, γεγονός που αντανάκλα την απουσία τόσο διεγερτικών όσο και ανασταλτικών ερεθισμάτων που ρυθμίζουν την κινητικότητά τους. Μόνο ένας μικρός αριθμός από αυτά μέσω διαφόρων ερεθισμάτων εισέρχεται σε κυτταρικό κύκλο με τελικό σκοπό τη διατήρηση μιας ομοιοστασίας και σταθερής κατάστασης όλης της αιμοποίησης. Η φιλοξενία των αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων στις κατάλληλες θέσεις του μυελού φαίνεται να μεσολαβείται από διάφορες σχετικά πολύπλοκες μεμβρανικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών και των κυττάρων του στρώματος. Ειδικά μόρια προσκόλλησης που υπάρχουν στην επιφάνεια των προγονικών κυττάρων αναγνωρίζονται και συνδέουν αυτά τα κύτταρα με ανάλογα μόρια της επιφάνειας των κυττάρων του στρώματος επιτρέποντας έτσι την σωστή "φιλοξενία" τους. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης τα προγονικά κύτταρα χάνουν τα ανάλογα μόρια και έτσι τα ώριμα κύτταρα απελευθερώνονται στην κυκλοφορία [11]. Η αλληλεπίδραση αυτή μεταξύ προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων και των κυττάρων του στρώματος εξηγεί γιατί η μεταμόσχευση μυελού των οστών μπορεί να γίνει με απλή ενδοφλέβια έγχυση των μυελικών κυττάρων και όχι με απευθείας μεταμόσχευση όπως συμβαίνει με τα άλλα όργανα. Η εξέλιξη των αρχέγονων κυττάρων σε ώριμα κύτταρα γίνεται με αλληπάλληλα στάδια που αφ' ενός διατηρούν την επιβίωση αλλά και που τελικά καταλήγουν στον θάνατο των κυττάρων μέσω πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης τόσο για λεμφικά όσο και για μυελικά κύτταρα. Οι δύο αυτές ιδιότητες των αρχέγονων κυττάρων τους δίνουν την ικανότητα για ωρίμανση και αναγέννηση του μυελού αλλά και για διαρκή παραμονή της αιμοποίησης υπό φυσιολογικές

συνθήκες. Όλα αυτά τα φαινόμενα αυτά ευρίσκονται υπό τον έλεγχο διαφόρων πολύπλοκων ρυθμιστικών μηνυμάτων, που περιλαμβάνουν αλληλεπιδράσεις τόσο μεταξύ των διαφόρων ειδών κυττάρων του μυελικού μικροπεριβάλλοντος όσο και μέσω διαλυτών μορίων, ή κυτταροκινών που ο αριθμός τους με την πάροδο των ετών γίνεται όλο και μεγαλύτερος [8, 10]. Η καθημερινή παραγωγή ενός άνδρα 70 kg είναι της τάξης του 1×10^{11} κύτταρα για τα πολυμορφοκύτταρα και 2×10^{11} για τα ερυθροκύτταρα. Υπάρχει λοιπόν στον μυελό των οστών, ένας πληθυσμός κυττάρων που έχει μια πολύ μεγάλη ικανότητα πολλαπλασιασμού.

Σχηματικά, η αιμοποίηση μπορεί να διαιρεθεί σε τέσσερα διαμερίσματα, το καθένα από τα οποία περιέχει κύτταρα διαφορετικού σταδίου διαφοροποίησης. Εκτός από το πολύ μικρό διαμέρισμα των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, υπάρχει το διαμέρισμα των δεσμευμένων προγονικών κυττάρων (3%), το διαμέρισμα των ωριμαζόντων (μονοδύναμων) προγονικών κυττάρων (>95%) και το διαμέρισμα των ώριμων κυκλοφορούντων κυττάρων. Κατά τη διάρκεια της οντογένεσης, τα πρώτα αναγνωρίσιμα αιμοποιητικά κύτταρα εμφανίζονται περίπου κατά τη διάρκεια της 16ης ημέρας της εγκυμοσύνης στους πρωτοεμβρυϊκούς ιστούς. Τα πρώτα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα εμφανίζονται στο ήπαρ μεταξύ 4ης και 5ης εβδομάδας της εγκυμοσύνης και προέρχονται από μετανάστευση τους από τους πρωτοεμβρυϊκούς ιστούς μέσω της κυκλοφορίας του πλακούντα. Μετά την 10η εβδομάδα της εγκυμοσύνης τα αιμοποιητικά κύτταρα αποικίζουν τις οστικές κοιλότητες που θα παραμείνουν η μόνη και αποκλειστική θέση αιμοποίησης μετά τη γέννηση.

Τα περισσότερα κύτταρα του μυελού, αντιπροσωπεύονται από τα διάφορα στάδια ωρίμανσης και των τριών μυελικών σειρών που καθορίζονται πολύ καλά με κυτταρολογικά κριτήρια. Αυτά είναι τα κύτταρα της κοκκιοκυτταρικής/μονοκυτταρικής σειράς, της ερυθροκυτταρικής καθώς και της αιμοπεταλιακής σειράς που διαιρούνται και ωριμάζουν, ενώ έχουν περιορισμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού και διάρκεια ζωής. Όπως αναφέρθηκε η πηγή της παροχής αυτών των κυττάρων του αίματος είναι ένας μικρός σχετικά πληθυσμός μυελικών κυττάρων που διαθέτει ανεξάρτητα κυτταρικής σειράς, τόσο την ικανότητα για αυτοανανέωση, όσο και για ωρίμανση του κυτταρικού πληθυσμού. Κατά τη γνώμη πολλών ερευνητών φαίνεται ότι αυτά τα πολυδύναμα αιμοποιητικά κύτταρα σε όλη της διάρκεια της ζωής τους βρίσκονται εκτός κυτταρικού κύκλου (φάση ηρεμίας, G_0), σχηματίζοντας έτσι ένα διαμέρισμα εφεδρείας [2, 3, 6, 8, 10, 12].

Η αύξηση και η διατήρηση της αιμοποίησης γίνεται με ανάλογη δραστηριοποίηση μερικών από αυτά τα πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα, που δεσμεύονται για την παραγωγή καθενός ξεχωριστά κλώνου που θα οδηγήσει στην παραγωγή των ώριμων κυττάρων του αίματος. Η εξάντληση ενός από αυτά τα αρχέγονα κύτταρα που ενεργοποιούνται, έχει σαν αποτέλεσμα την αντικατάστασή του από ένα κύτταρο από το διαμέρισμα εφεδρείας, ώστε να διατηρείται σταθερή η δεξαμενή των εν ενεργεία πολυδύναμων αιμοποιητικών κυττάρων. Πρόσφατα δεδομένα υποθέτουν ότι τα κύτταρα του μυελικού στρώματος (π.χ. ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, λιποκύτταρα, κύτταρα λείων μυϊκών ινών, οστεοβλάστες) και τα αιμοποιητικά κύτταρα έχουν το ίδιο κοινό αρχέγονο αιμοποιητικό προγονικό κύτταρο. Το πολυδύναμο αυτό κύτταρο μπορεί να δίνει τόσο γένεση σε έναρξη και διατήρηση του αιμοποιητικού μικροπεριβάλλοντος, όσο και σε παραγωγή και διατήρηση τόσο της λεμφοποίησης όσο και της μυελοποίησης. Αν συμβαίνει αυτό, φαίνεται προφανές ότι στα πολύ πρώιμα στάδια της αιμοποίησης, ένα κοινό αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο δημιουργεί αρχικά το κατάλληλο αιμοποιητικό μικροπεριβάλλον, που στη συνέχεια προάγει τη διαφοροποίηση και ωρίμανση των αρχέγονων κυττάρων [11, 13].

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει σημαντικές πρόοδοι στην κατανόηση της αιμοποίησης με τη εφαρμογή των καλλιιεργειών αιμοποιητικών κυττάρων *in vitro*, τη χρήση των αυξητικών παραγόντων και την κλινική εφαρμογή των μεταμοσχεύσεων μυελού των οστών. Στον μυελό των οστών τα υπάρχοντα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα έχουν την ικανότητα της αυτοανανέωσης, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης και τελικά, μέσω πολλών σταδίων, καταλήγουν στην παραγωγή των ώριμων κυττάρων του αίματος [13].

Πειράματα τόσο *in vivo* σε ποντίκια όσο και *in vitro* σε κυτταρικές καλλιέργειες με κύτταρα από το περιφερικό αίμα, το μυελό ή τον σπλήνα, έδωσαν τη δυνατότητα αναγνώρισης αυτών των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων που δεν είναι δυνατόν να αναγνωριστούν μορφολογικά και δημιούργησαν έτσι ένα πρότυπο που διέπει τις λειτουργίες αυτών των κυττάρων.

Ένα πολυδύναμο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο (pluripotent stem cell) είναι η πηγή όλων των κυττάρων του μυελού, από το οποίο προέρχονται πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα που έχουν πάρει εντολή ώστε να παράγουν μόνο κύτταρα μιας καθορισμένης κυτταρικής σειράς (committed stem

cells). Τα πολυδύναμα αρχέγονα μυελικά κύτταρα μελετήθηκαν in vivo σε ποντίκια με το κλασικό πείραμα των CFU-S (colony forming units in spleen). Μυελικά κύτταρα μεταγγίστηκαν σε ένα συγγενικό (ομοιογονιδιακό) δέκτη μετά από προηγούμενη καταστροφή του μυελού με ολόσωμη ακτινοβολήση 9 Gy. Σε διάστημα 7-14 ημερών εμφανίζονται στην επιφάνεια του σπλήνα αποικίες κυττάρων. Ο αριθμός αυτών των αποικιών στον σπλήνα, σχετίζεται άμεσα με τον αριθμό των μυελικών κυττάρων που χορηγούνται στον ακτινοβολημένο δέκτη. Κάθε μια από αυτές τις αποικίες, κοκκιοκυτταρικές, ερυθροκυτταρικές, μονοκυτταρικές, μεγακαρυοκυτταρικές ή μικτές, προέρχεται από ένα και μόνο κύτταρο CFU-S. Η χορήγηση αυτών των σπληνικών αποικιών σε ένα άλλο ακτινοβολημένο πειραματόζωο έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία δευτερογενών σπληνικών αποικιών. Σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα, τα CFU-S εμφανίζουν τις δύο απαραίτητες ιδιότητες που πρέπει να έχει ένα αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο, δηλαδή την ικανότητα της αυτοανανέωσης και της παραγωγής πιο διαφοροποιημένων κυττάρων [8, 10, 11, 13] (Εικόνα 1).

Τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα δεν είναι εύκολο να αναπαραχθούν in vivo στον άνθρωπο. Αντίθετα με πειράματα in vitro έχει δείξει η ύπαρξη stem cells τόσο στον άνθρωπο όσο και στα πειραματόζωα, που έχουν παραπλήσιες ιδιότητες με αυτές των CFU-S και δίνουν γένεση σε μικτές κυτταρικές αποικίες (CFU-C, colony forming units in culture). Αυτά ονομάζονται GEMM-CFC (granulocyte-erythroid-monocytic-megakaryocytic colony forming cells) ή CFU-GEMM (colony forming units - GEMM) ή CFU-Mix. Το GEMM-CFC που εκφράζει στην επιφάνειά του αντιγόνο Ia, φαίνεται ότι είναι λίγο διαφορετικό, ίσως πιο ώριμο από το CFU-S που δεν εκφράζει αυτό το αντιγόνο. Το CFU-GEMM προέρχεται πιθανότατα από ένα πολυδύναμο κύτταρο Ia αρνητικό, πράγμα που δείχθηκε πρόσφατα in vitro και που το κύτταρο αυτό θα είναι έτσι ισοδύναμο με το CFU-S, δηλαδή με το πολυδύναμο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο. Το πολυδύναμο αυτό κύτταρο δίνει γένεση σε ένα δεσμευμένο κύτταρο για μια από τις μυελικές σειρές, που δεν έχει πλέον τη δυνατότητα της αυτοανανέωσης, αλλά μόνο την ικανότητα διαφοροποίησης για τα κύτταρα της σειράς για την οποία έχει δεσμευτεί. Υπάρχει δηλαδή δέσμευση για τη δημιουργία in vitro ερυθροκυτταρικών [E], κοκκιοκυτταρικών και μονοκυτταρικών αποικιών [GM, G, M], ηωσινοφιλικών [Eo], βασεοφιλικών [Bas] ή αποικιών της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς [Mk, Mega]. Έτσι διακρίνουμε:

- Τα BFU-E (burst forming units-erythroid) που είναι πιο άωρα από τα CFU-E (colony forming units-erythroid),
- Τα CFU-GM ή GM-CFC, CFU-G, CFU-M.
- Τα CFU-Eo ή Eo-CFC, CFU-Bas και
- Τα CFU-Meg ή Mk-CFC ή CFU-MK.

Αυτά τα κύτταρα είναι οι πρόδρομες μορφές των κυττάρων κάθε μιας από τις κυτταρικές σειρές του μυελού που δεν αναγνωρίζονται ακόμα μορφολογικά και είναι ευαίσθητα σε διάφορους παράγοντες που ρυθμίζουν την ανάπτυξη ή και την ωρίμανση αυτών των κυτταρικών σειρών [8-10] (Εικόνα 2).

Με μεθόδους καλλιέργειας ανθρώπινων αιμοποιητικών κυττάρων σε θαλάμους διάχυσης που τοποθετούνται στην περιτονιακή κοιλότητα ποντικού, δείχθηκε η ύπαρξη των CFU-D (colony forming units in diffusion chambers) (μοντέλο για τη μελέτη αποτελεσμάτων της δράσης χυμικών παραγόντων στην αιμοποίηση). Αυτό το κύτταρο δίνει γένεση σε πολυμορφοπύρρηνα, ηωσινόφιλα, μεγακαρυοκύτταρα, ή κύτταρα με χαρακτήρες μακροφάγων ή ινοβλαστών. Η πλειονότητα των αποικιών αποτελείται από ένα μόνο τύπο κυττάρων. Το CFU-D για τα πολυμορφοπύρρηνα φαίνεται να είναι το πρόδρομο των πιο πρώιμων GM-CFC.

Με διάφορα άλλα πειράματα αποδείχθηκε η ύπαρξη ανάπτυξης αποικιών από πιο άωρα κύτταρα που προέρχονται από τα ονομαζόμενα HPP-CFC (high-proliferative potential colony-forming cells) και αποικιών από blast-CFC. Οι αποικίες των HPP-CFC είναι μεγάλες αποτελούμενες από 500.000 κύτταρα μετά καλλιέργεια 3-4 εβδομάδων είναι ορατές με γυμνό οφθαλμό και αποτελούνται κυρίως από μακροφάγα και μερικές φορές από άλλα μυελικά κύτταρα. Τα HPP-CFC είναι ανθεκτικά σε ουσίες που η δράση τους εξαρτάται από τον κυτταρικό κύκλο όπως η 5-φθοριοουρακίλη. Τα blast-CFC είναι μικρές αποικίες (περί τα 100 κύτταρα), εμφανίζονται σε 3-4 εβδομάδες, σε υλικό μεθυλκυτταρίνης παρουσία μικρός συγκεντρώσεων ορού (2%). Αν οι αποικίες blast-CFC ληφθούν με μια μικροπιπέτα και καλλιεργηθούν εκ νέου υπό τις ίδιες συνθήκες δίνουν γένεση σε νέες αποικίες παρόμοιες και δευτερογενείς αποικίες (CFU-GM, CFU-GEMM). Αυτή η αυτοανανέωση, που συνοδεύεται τόσο από την μορφολογική εμφάνιση άωρων κυττάρων όσο και την εμφάνιση κυττάρων διαφόρων κυτταρικών

σειρών στις δευτερογενείς αποικίες υποθέτει ότι ο πληθυσμός των blast-CFC και των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων είναι ιδιαίτερα όμοιοι.

Η χρησιμοποίηση καλλιιεργειών μυελικών κυττάρων a long term τόσο στα πειραματόζωα όσο και στον άνθρωπο επέτρεψαν τον χαρακτηρισμό ακόμα πιο αρχέγονων κυττάρων. Όταν τα μυελικά κύτταρα καλλιιεργηθούν παρουσία ορού εμβρύου βοός, ορού αλόγου και υδροκορτιζόνης δίνουν γένεση σε έναν πληθυσμό κυττάρων που προσκολλάται στο τρυβλίο καλλιιεργείας. Η σπιβάδα αυτή αποτελείται από μια ιδιαίτερη ομάδα κυττάρων του μικροπεριβάλλοντος και φαίνεται να είναι απαραίτητη για τη διατήρηση των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων (κυρίως των κοκκιοκυττάρων και μακροφάγων) για διάστημα μερικών εβδομάδων. Τα κύτταρα αυτά είναι πιο ανθεκτικά στην ακτινοβολή σε σχέση με τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα και ονομάζονται LTC-IC (long term culture-initiating cells). Τελικά φαίνεται ότι αυτά τα κύτταρα, αν και τούτο συζητείται ακόμα, είναι πλησιέστερα προς τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα [2, 3, 6, 8, 11, 13, 14].

Τα stem cells που βρίσκονται σε δραστηριότητα (σε φάση του κυτταρικού κύκλου πλην της G₀) δίνουν γένεση σε πρόδρομα κύτταρα μιας και μόνο καλά καθορισμένης μυελικής σειράς, τα οποία όμως δεν έχουν πια την ικανότητα της αυτοανανέωσης. Το στάδιο αυτό χαρακτηρίζεται σαν δέσμευση και δείχνει ότι το stem cell έχασε την "αθανασία" του. Υπάρχουν αρκετές αντιρρήσεις όσον αφορά το μηχανισμό που οδηγεί στη δέσμευση ενός stem cell. Για την εξήγηση αυτού του μηχανισμού, υπάρχουν δύο βασικές θεωρίες. Σύμφωνα με την πρώτη, τα stem cells έχουν κατά τύχη την ικανότητα της αυτοανανέωσης ή της διαφοροποίησης. Σύμφωνα με τη δεύτερη θεωρία τα stem cells αναπαράγονται ή διαφοροποιούνται υπό την επίδραση παραγόντων του μικροπεριβάλλοντος του μυελού. Φαίνεται ότι η δέσμευση ενός πολυδύναμου αρχέγονου κυττάρου προς μια καθορισμένη κυτταρική σειρά, γίνεται σε περισσότερα στάδια, αφού στις καλλιιεργείες in vitro, έχουν δειχτεί περισσότεροι τύποι ενδιάμεσων κυττάρων που έχουν διπλή ικανότητα διαφοροποίησης (GM-CFC, G-E-CFC, Eo-E-CFC στον άνθρωπο, E-Mk-CFC, GM-Mk-CFC στον ποντικό). Η δέσμευση του stem cell θα μπορούσε να εξηγηθεί με την προοδευτική απώλεια της ικανότητάς του να δίνει γένεση σε κύτταρα μιας οποιασδήποτε μυελικής σειράς.

Για την εξήγηση του πως τα stem cells μπορούν να εξασφαλίζουν άλλοτε την αυτοανανέωση και άλλοτε τη διαφοροποίηση και γιατί η ικανότητα της αυτοανανέωσης μειώνεται όταν γίνονται συνεχείς μεταμοσχεύσεις στα ποντίκια, έχουν γίνει αρκετές υποθέσεις. Όταν ένα ακτινοβολημένο ποντίκι πάρει ομοιογονιδιακή μεταμόσχευση μυελού και μετά την αιματολογική αποκατάσταση ο μυελός του μεταμοσχευτεί σε ένα δεύτερο ακτινοβολημένο ποντίκι κ.ο.κ. παρατηρείται ότι μετά την 4^η ή 5^η διαδοχική μεταμόσχευση δεν εμφανίζεται πια αιματολογική αποκατάσταση και τα ποντίκια πεθαίνουν. Για την εξήγηση αυτού του γεγονότος γίνεται δεκτό ότι πιθανότατα το στρώμα του μυελού δημιουργεί μια κατάλληλη περιοχή ("φωλεά") για την ανάπτυξη των stem cells και κάθε μια τέτοια περιοχή ελέγχει ένα και μόνο αρχέγονο κύτταρο. Μετά μια κυτταρική διαίρεση, ένα και μόνο αρχέγονο κύτταρο παραμένει στην "φωλεά" και διατηρεί την ικανότητά του για αυτοανανέωση. Το άλλο θυγατρικό κύτταρο, μη προστατευόμενο πια, πολλαπλασιάζεται και χάνει προοδευτικά την ικανότητά του για αυτοανανέωση και διαφοροποίηση. Έτσι στις εν συνεχεία μεταμοσχεύσεις, παίρνουμε κάθε φορά πιο δύσκολα τα stem cells που βρίσκονται μέσα στις "φωλεές" ή καλύτερα παίρνουμε και τους δύο τύπους κυττάρων, αλλά όταν τα μεταμοσχεύουμε, δεν έχουν την ίδια ικανότητα να καταλάβουν τις ελεύθερες "φωλεές" στον μυελό του ακτινοβολημένου δέκτη, με αποτέλεσμα τα μεταμοσχευόμενα αρχέγονα κύτταρα να διαφοροποιούνται μόνο χωρίς να έχουν την ικανότητα της αυτοανανέωσης (αποτυχία της μεταμόσχευσης) [8-10, 11, 13].

2. ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ [1-3, 6, 9, 10, 15] (Εικόνα 3)

Ο αριθμός των ώριμων κυττάρων του αίματος διατηρείται σε φυσιολογικές συνθήκες μέσα σε καθορισμένα πλαίσια και η παραγωγή αντικαθιστά τη φυσιολογική καταστροφή. Επιπλέον, σε διάφορες καταστάσεις που προκαλούν διαταραχή αυτής της ισορροπίας (απώλεια αίματος, βακτηριακή λοίμωξη κλπ), το αιμοποιητικό σύστημα έχει την ικανότητα να ανταποκρίνεται με μια αθρόα παραγωγή των απαραίτητων ώριμων κυττάρων. Τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα είναι λοιπόν ευαίσθητα σε τέτοιο σημείο ώστε να ρυθμίζεται η παραγωγή των κυττάρων των διαφόρων μυελικών σειρών ανάλογα με τη ζήτηση.

Η εφαρμογή μεθόδων καλλιιεργείας αιμοποιητικών κυττάρων in vitro, επέτρεψε να καθοριστούν οι διάφοροι χυμικοί και κυτταρικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την αιμοποίηση. Πρέπει να υπογραμμιστεί όμως ότι λόγω εφαρμογής διαφορετικών τεχνικών μελέτης, ορισμένα δεδομένα και

γεγονότα που αφορούν τη φυσιολογική αιμοποίηση και τη ρύθμισή της δεν είναι σαφή και μερικές φορές αλληλοσυγκρούονται.

Όλα τα πειραματικά μοντέλα επέτρεψαν τον έλεγχο της επιρροής των διαφόρων κυτταροκινών επί των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων. Οι αιμοποιητικές κυτταροκίνες παράγονται από αρκετά διαφορετικά κύτταρα που είναι κοινά σε όλα τα όργανα και ιδιαίτερα από το σύστημα των μονοκυττάρων/μακροφάγων, τα Β και Τ λεμφοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους ινοβλάστες. Επιπλέον οι κυτταροκίνες μπορεί να παραχθούν και από τα επιθηλιακά, μεσοθηλιακά κύτταρα, κερατινοκύτταρα, μαστοκύτταρα και οστεοβλάστες. Τα διάφορα κύτταρα δεν παράγουν αυτόματα κυτταροκίνες αλλά απαιτείται διέγερση τους με κατάλληλα ερεθίσματα όπως αντιγόνα, φυτοαιμοσυγκολλητίνη, άλλες κυτταροκίνες κλπ. Μετά τη διέγερσή τους, η απελευθέρωση των κυτταροκινών γίνεται πολύ γρήγορα και μπορεί να εμφανιστεί πολύ μεγάλη αύξηση (ακόμα και 1000 φορές). Αυτό έχει σημαντική σημασία σε καταστάσεις λοιμώξεων, μαζική απώλεια αίματος, μυελοκατασταλτική θεραπεία και άλλες καταστάσεις που ελαττώνουν την αιμοποίηση. Οι αυξητικοί παράγοντες όπως η IL-3, GM-CSF, G-CSF, οι παράγοντες που δρουν συνεργικά όπως ο stem cell factor, IL-1, IL-6, οι αναστολείς όπως ο TGFβ, TNFα, ή ο MPI-1a αλληλεπιδρούν με ένα πολύπλοκο τρόπο μέσω σημάτων ρύθμισης χάρις στην ύπαρξη ειδικών υποδοχέων που η έκφραση τους ρυθμίζεται ανάλογα με το στάδιο διαφοροποίησης των κυττάρων. In vitro οι αυξητικοί παράγοντες της αιμοποίησης προάγουν τον πολλαπλασιασμό των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων αλλά τα αποτελέσματα της δράσης τους στα πιο άωρα κύτταρα φαίνεται αρκετά περιορισμένα. Τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα του μυελού όπως αναφέρθηκε βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας, όπως το δείχνει η μειωμένη ενσωμάτωση της ροδαμίνης από τα περισσότερα LTC-IC καθώς και η αντοχή τους σε ουσίες που η δράση τους εξαρτάται από τον κυτταρικό κύκλο όπως η 5-FU και τα παράγωγα της κυκλοφωσφαιμίδης. Αυτές οι ιδιότητες πιθανόν εξηγούνται από την έκφραση του γονιδίου αντοχής στα κυτταροστατικά (MDR).

2.1 Ρύθμιση των GEMM-CFC και των αιμοποιητικών stem cells

Παράγοντες που διεγείρουν την ανάπτυξη των GEMM-CFC έχουν απομονωθεί από τα υγρά καλλιέργειας λεμφοκυττάρων μετά τη διέγερσή τους με PHA, ενδοθηλιακών κυττάρων και νεοπλασματικών κυττάρων, όπως η μυελομονοκυτταρική σειρά WEHI-3b του ποντικού. Αυτοί οι παράγοντες δεν είναι ειδικοί, αφού προκαλούν αύξηση της ανάπτυξης και άλλων αιμοποιητικών αρχέγονων κυττάρων (BFU-E, GM-CFC). Έχουν απομονωθεί αρκετοί παράγοντες με παραπλήσιες βιοχημικές και βιολογικές ιδιότητες, που ανάλογα με τους διάφορους συγγραφείς ονομάζονται BPA, MCGF (mast cell growth factor), PSF (P-cell stimulating factor λόγω της παρατεταμένης διέγερσης ανάπτυξης πληθυσμών κυττάρων P), WEHI-3b growth factor, IL-3 ή Multi-CSF (multi-colony stimulating factor). Τα παραπάνω μόρια είναι διαφορετικά από τους GM-CSF, M-CSF και την ερυθροποιητίνη. Πιθανότατα στην ρύθμιση της ανάπτυξης των πολυδύναμων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων εμπλέκονται περισσότεροι από ένας παράγοντες (κυρίως η IL-3). Η παραγωγή αυτών των παραγόντων τόσο από τα λεμφοκύτταρα, όσο και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα που αποτελούν ένα από τα βασικότερα κυτταρικά στοιχεία του στρώματος του μυελού των οστών, δείχνει ότι αυτά τα κύτταρα παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην ρύθμιση των πρώιμων σταδίων της αιμοποίησης.

2.2 Ρύθμιση της κοκκιοποίησης

- Τροφικοί παράγοντες (colony stimulating factors, CSF) για την κοκκιώδη/μονοκυτταρική σειρά:

Διακρίνουμε τέσσερις τέτοιους παράγοντες που καθορίζονται ανάλογα με τον τύπο των αποικιών των οποίων διεγείρουν την ανάπτυξη in vitro. Ο M-CSF (CSF-1) διεγείρει την παραγωγή των μονοκυττάρων/μακροφάγων, ο G-CSF την παραγωγή των πολυμορφοπύρηνων, ο GM-CSF (CSF-2) την παραγωγή κοκκιοκυττάρων και μονοπύρηνων και ο Eo-CSF που είναι ιδιαίτερα τροφικός παράγων απαραίτητος για την παραγωγή των ηωσινοφίλων.

Για την ανάπτυξη των κυτταρικών καλλιέργειών in vitro συνήθως χρησιμοποιούνται μη κεκαθαμένα παρασκευάσματα CSF που είναι υπεύθυνα για μια συνολική αιμοποιητική δράση, που ονομάζεται CSA (colony stimulating activity). Οι διάφοροι CSF παράγονται από πάρα πολλούς ιστούς και κύτταρα όπως τα μονοκύτταρα, τα διεγερμένα λεμφοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα του στρώματος του μυελού, του πλακούντα, του πνεύμονα καθώς και από κύτταρα διαφόρων νεοπλασμάτων. Σήμερα υπάρχουν κεκαθαμένα σκευάσματα ανασυνδυασμένων αιμοποιητικών παραγόντων. Χημικά είναι γλυκοπρωτεΐνες. Οι παράγοντες αυτοί συνδέονται με ειδικούς υποδοχείς

στην επιφάνεια των GM-CFC και έχουν σαν αποτέλεσμα αυτά τα κύτταρα να αρχίζουν να διαφοροποιούνται (είσοδος στη φάση S του κυτταρικού κύκλου). Επιπλέον οι CSFs έχουν άμεση δράση στα πολυμορφοπύρρηνα και στα κύτταρα του συστήματος μονοκυττάρων/μακροφάγων, αυξάνοντας τη λειτουργική τους ικανότητα.

3. ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ [2, 3, 8, 9, 15-17]

3.1 Stem cell factor, SCF

Συνώνυμα: Mast cell growth factor, c-kit ligand, Steel factor

Μοριακή κατασκευή: Είναι μια γλυκοζυλιομένη πρωτεΐνη (κυκλοφορούσα και διαμεμβρανική, μ.β. 33 kD), που το γονίδιό της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12q22-24.

Σύνθεση: Από κύτταρα μυελικού στρώματος, ινοβλάστες (δράση περιβάλλοντος).

Υποδοχείς: Ο SCF-R είναι διαμεμβρανική πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το πρωτοογκογονίδιο c-kit και ανήκει στην οικογένεια υποδοχέων τυροσινικής κινάσης.

Δράσεις: Προάγει τον πολλαπλασιασμό τόσο των πρόωμων (ρόλο στον ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων), όσο και των δεσμευμένων προγονικών κυττάρων καθώς και την ανάπτυξη των μαστοκυττάρων. Έχει συνέργια με άλλους αυξητικούς παράγοντες (σε συνδυασμό με GM-CSF, G-CSF, IL-3 και EPO αυξάνει αποικίες της κοκκιώδους και ερυθράς σειράς και σε συνδυασμό με GM-CSF και IL-3 αυξάνει της αποικίες μεγακαρυοκυτταρικής σειράς) με αποτέλεσμα αύξηση της κυτταροβρίθειας μυελού και αύξηση στο περιφερικό αίμα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, πολυμορφοπύρρηνων, μονοκυττάρων, ηωσινόφιλων, βασεόφιλων και λεμφοκυττάρων. Επίσης παίζει σημαντικό ρόλο στην μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των εμβρυϊκών αρχέγονων κυττάρων και μελανοκυττάρων. Στην κλινική χρήση φαίνεται ότι θα πρέπει να συνδυάζεται και με άλλους αυξητικούς παράγοντες.

3.2 Ιντερλευκίνη - 3, IL-3

Συνώνυμα: (Mast cell growth factor,Thy-1 inducing factor, WEHI-3 growth factor,Multi-CSF, CSF-2a, CSF-2b, Eosinophilic CSF, Megakaryocyte CSF, Erythroid CSF, BPA (burst promoting activity), Neutrophils/granulocytes CSF, P-cell stimulating factor, Hemopoietin-2)

Μοριακή κατασκευή: Η ανθρώπινη IL-3 είναι γλυκοπρωτεΐνη με μ.β. 25 kD, ενώ η ανασυνδυασμένη αποτελείται από 152 αμινοξέα και έχει μ.β. 14-15 kD. Το γονίδιο της είναι μέρος της ομάδας των γονιδίων διαφόρων κυτταροκινών (IL-4, IL-5, GM-CSF) και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 5q23-32.

Σύνθεση: Κυρίως από διεγερμένα T κύτταρα, NK κύτταρα, μαστοκύτταρα και πιθανόν κεραινοκύτταρα.

Υποδοχείς: Ανήκουν στην υπερικογένεια αιμοποιητικών υποδοχέων, αποτελούνται από δύο τουλάχιστον διαφορετικές υποομάδες (συνδυασμός των υποομάδων α και β). Είναι ο IL-3Ra (ειδικός για την IL-3). IL-3Rβ.

Δράσεις: Διέγερση και διαφοροποίηση των πρόωμων αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων και των δεσμευμένων κυττάρων για τις διάφορες σειρές. Έχει συνέργια με άλλες κυτταροκίνες (GM-CSF, G-CSF, EPO, IL-11 και IL-6) για την αντίστοιχη αύξηση των αποικιών κοκκιοκυττάρων/μονοκυττάρων, πολυμορφοπύρρηνων, ερυθράς και μεγακαρυοκυτταρικής σειράς. Η κύρια δράση της ασκείται ενώρις στην αιμοποίηση (CFU-GEMM, CFU-GM, BFU-E, CFU-Meg) και δρα συνεργικά με τον GM-CSF ή τον G-CSF για την προαγωγή της ανάπτυξης των αποικιών της κοκκιώδους σειράς και με την IL-6 στην ανάπτυξη των early-blast CFU. Προάγει επίσης την ανάπτυξη των μαστοκυττάρων και ηωσινόφιλων, ενώ ευοδώνει τις λειτουργίες ηωσινόφιλων, βασεοφίλων και μονοκυττάρων. Η IL-3 είναι η πλέον διεγερτική λεμφοκίνη για την ανάπτυξη των προγονικών κυττάρων της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς (αύξηση με συνδυασμό GM-CSF με IL-3 ή IL-6), ενώ η δράση της είναι καλύτερη σε συνδυασμό με την GM-CSF/IL-3 fusion protein (PIXY321, για την πρόληψη της ουδετεροπενίας μετά χημειοθεραπεία, ενώ αυξάνει την ενσωμάτωση της αρασντίνης στα λευχαιμικά κύτταρα). Σε συνδυασμό με τον GM-

CSF έχει συνεργική διεγερτική δράση στην αιμοποίηση. Εκτός από τη διέγερση της κοκκιοποίησης η IL-3 διεγείρει και την ερυθροποίηση σε πάσχοντες από αναιμία Blackfan-Diamond.

3.3 Granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF

Μοριακή κατασκευή: Είναι μια γλυκοζυλιωμένη απλή πολυπεπτιδική αλυσίδα (σημαντική ομολογία με τα αμινοξέα της IL-6). Ο φυσικός G-CSF είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με 171 αμινοξέα και μ.β. 24 kD, ενώ ο ανασυνδυασμένος δεν είναι γλυκοζυλιωμένος και έχει μ.β. 18.8 kD. Το γονίδιο του βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17q21-22.

Σύνθεση: Κυρίως μονοκύτταρα και μακροφάγα μετά διέγερση με ενδοτοξίνη, TNF-α ή IFN-γ.

Υποδοχείς: Είναι είτε χαμηλής συγγένειας (μονομερές) είτε υψηλής συγγένειας (ολιγομερές). Εκτός από τον G-CSFR της μεμβράνης υπάρχει και διαλυτός υποδοχέας.

Δράσεις: Έχει σαν αποτέλεσμα διέγερση μόνο της κοκκιάδους σειράς (μικρή δράση στα προγονικά κύτταρα CD34+/CD33- , κύρια δράση σε πιο ώριμα κύτταρα CD34+/CD33+). Προκαλεί πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των δεσμευμένων κυττάρων για την κοκκιάδη σειρά προς πολυμορφοπύρρηνα, στα οποία αυξάνει την επιβίωση και τις λειτουργίες τους προάγοντας τη χημειοταξία και την κυτταροτοξικότητα με τη μεσολάβηση αντισώματος. Σε συνδυασμό με IL-3 αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των πολυδύναμων προγονικών κυττάρων και των προγονικών κυττάρων της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς, ενώ προάγει και την ανάπτυξη αποικιών βλαστικών κυττάρων. Κλινικά με τη χρήση του μειώνεται η βαρύτητα και η διάρκεια της ουδετεροπενίας και η βαρύτητα των λοιμώξεων μετά έντονη χημειοθεραπεία. Αυξάνει επίσης την κυτταροτοξικότητα των κυτταροστατικών θέτοντας τα κύτταρα σε κυτταρικό κύκλο, ενώ πιθανόν αυξάνει και τον αριθμό των βλαστικών κυττάρων σε οξεία μυελογενή λευχαιμία.

3.4 Granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF

Μοριακή κατασκευή: Ο φυσικός GM-CSF είναι γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη μ.β. περίπου 22 kD, ενώ ο ανασυνδυασμένος παράγων αποτελείται από 144 αμινοξέα και έχει μ.β. 14.5 kD. Το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 5q23-32 (σνέχεια με το γόνο της IL -3).

Σύνθεση: Κυρίως από μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, διεγερμένα T κύτταρα μετά διέγερση με ενδοτοξίνη.

Υποδοχείς: Αποτελούνται από δύο υποομάδες που και οι δύο ανήκουν στην υπερικογένεια των αιμοποιητικών υποδοχέων [α και β αλυσίδα (ομολογία με τη β αλυσίδα IL-3R και IL-5R) και εκφράζονται στα πολυμορφοπύρρηνα, ηωσινόφιλα, μονοκύτταρα/μακροφάγα και στα προγονικά τους κύτταρα, ενώ έχει περιγραφεί και διαλυτός υποδοχέας.

Δράσεις: Προάγει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των πολυδύναμων αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων και των δεσμευμένων κυττάρων για την κοκκιάδη και μονοκυτταρική σειρά, ενώ συγχρόνως ενεργοποιεί και αυξάνει τη λειτουργικότητα των πολυμορφοπυρήνων, ηωσινοφίλων και μονοκυττάρων/μακροφάγων και βοηθά την ανάπτυξη των αποικιών μεγακαρυοκυττάρων (πιθανή αύξηση σε συνδυασμό με άλλες κυτταροκίνες). Έχει συνεργική δράση με την IL-3 και την ερυθροποιητίνη και αυξάνει το σχηματισμό αποικιών πολυδύναμων κυττάρων και ερυθράς σειράς, ενώ με τον M-CSF προκαλεί καλύτερη αύξηση των μακροφάγων. Κλινικά με τη χρήση του μειώνεται η βαρύτητα και η διάρκεια της ουδετεροπενίας και η βαρύτητα των λοιμώξεων μετά έντονη χημειοθεραπεία, ενώ μειώνει το χρόνο εγκατάστασης και επανόδου των πολυμορφοπυρήνων μετά μεταμόσχευση μυελού. Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι βελτιώνει τόσο την επίτευξη ύφεσης όσο και τη διάρκειά της (βελτίωση επιβίωσης), λόγω αύξησης της κυτταροτοξικότητας των κυτταροστατικών θέτοντας τα κύτταρα σε κυτταρικό κύκλο, ενώ προκαλεί και κινητοποίηση αρχέγονων κυττάρων στο περιφερικό αίμα ιδιαίτερα μετά χορήγηση χημειοθεραπείας.

3.5 Macrophage-colony stimulating factor, M-CSF

Συνώνυμα: Colony stimulating factor-1

Μοριακή κατασκευή: Γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη (μ.β. 26 kD), ο γόνος βρίσκεται στο χρωμόσωμα 5.

Σύνθεση: Ινοβλάστες, διεγερμένα μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα, κύτταρα του μυελικού στρώματος και κύτταρα ενδομητρίου. Κυκλοφορούσα και μεμβρανική μορφή.

Υποδοχείς: Αποτελείται από μια απλή έλικα (ανήκει στην υπερικογένεια υποδοχέων τυροσινικής κινάσης). Ο M-CSF-R είναι προϊόν του πρωτοογκογονιδίου c-fms.

Δράσεις: Διεγείρει την ανάπτυξη των δεσμευμένων προγονικών κυττάρων και προάγει την κυτταροτοξικότητα και την απελευθέρωση κυτταροκινών από τα ώριμα μονοκύτταρα. Η χορήγηση του προκαλεί μονοκυττάρωση, πολυμορφοπυρήνωση και λεμφοπενία στο περιφερικό αίμα. Η κλινική του εφαρμογή είναι περιορισμένη (οστεοπέτρωση) και μπορεί να παίζει ρόλο σε πνευμονία από μύκητες.

3.6 Meg-CSF και Θρομβοποιητίνη (TPO)

c-Mpl ligand (το γονίδιο έχει ομολογία με τους γόνους που κωδικοποιούν υποδοχείς αυξητικών παραγόντων) και εκφράζεται εκλεκτικά στα κύτταρα της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς, ρυθμίζοντας τον πολλαπλασιασμό (Meg-CSF) και ωρίμανση τους (TPO). Η TPO βρίσκεται στον ορό, ούρα και πλάσμα θρομβοπενικών ζώων, αυξάνει την ωρίμανση των μεγακαρυοκυττάρων αυξάνοντας το μέγεθος, τις ενδομιτώσεις και την πλοϊδία.

3.7 Fibroblast growth factor, FGF

Και ο bFGF και aFGF διεγείρουν την κοκκιοποίηση και την ανάπτυξη των προγονικών κυττάρων της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς στις καλλιέργειες, ενώ ο bFGF σε συνδυασμό με GM-CSF και IL-3 αυξάνει την ανάπτυξη των πρώιμων προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων, των BFU-E και των CFU-Meg. Στη δράση στην μεγακαρυοποίηση φαίνεται να λαμβάνει μέρος η IL-6.

Παράλληλα με τις διεγερτικές κυτταροκίνες, παράγονται επίσης και αρνητικοί ρυθμιστές (κατασταλτικές κυτταροκίνες) από διάφορα κύτταρα όπως ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα και μονοκύτταρα.

Ο **Transforming Growth Factor-β** (TGFβ) είναι μια από τις πρώτες ανασταλτικές κυτταροκίνες που έχει χαρακτηριστεί και κλωνοποιηθεί. Αναστέλλει τα πολυδύναμα προγονικά κύτταρα όπως και τα πρώιμα προγονικά κύτταρα της ερυθράς σειράς και της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς, ενώ αντίθετα αυξάνει την ανάπτυξη των ωριμότερων προγονικών κυττάρων της κοκκιάδους και της μονοκυτταρικής σειράς. Έτσι ανάλογα με τα κύτταρα στόχους έχουν άλλοτε κατασταλτική και άλλοτε διεγερτική δράση.

Ο **Tumor Necrosis Factor-α** (TNF-α) είναι ένα άλλο παράδειγμα τέτοιας δράσης. Προάγει την ανάπτυξη των πρώιμων προγονικών κυττάρων της κοκκιάδους σειράς, αλλά αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των πρόδρομων κυττάρων της κοκκιάδους σειράς. Άλλες κατασταλτικές κυτταροκίνες είναι οι ιντερφερόνες και μερικές άλλες κυτταροκίνες που ανήκουν στην οικογένεια των χημειοκινών. Οι χημειοκίνες περιέχουν μια μεγάλη ομάδα κατασκευαστικά μικρών κυτταροκινών. Εντούτοις, όπως υποτίθεται από τον όρο χημειοκίνες, η κύρια τους αποδεκτή ικανότητά τους είναι να διεγείρουν την χημειοκακτική μετανάστευση κάποιου τύπου ώριμων κυττάρων (πολυμορφοπυρήνων, μονοκυττάρων, λεμφοκυττάρων), ενώ μπορεί επίσης να δρουν σαν αρνητικοί ρυθμιστές των ώριμων αιμοποιητικών κυττάρων. Μια τέτοια κυτταροκίνη είναι ο MIP-α που είναι επίσης γνωστή και σαν αναστολέας των stem cells. Αυτή αναστέλλει αναστρέφτα τον πολλαπλασιασμό των πρώιμων, αλλά όχι των πιο ώριμων προγονικών κυττάρων. Όπως φαίνεται σε in vivo μελέτες σε πειραματόζωα ο MIP-α μπορεί να γίνει σημαντικός κλινικά μυελοπροστατευτικός παράγων κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας. Οι κατασταλτικές κυτταροκίνες μπορεί να έχουν άμεση δράση στα αρχέγονα κύτταρα προλαμβάνοντας την μεταστροφή του; από τη φάση G₀/G₁ σε κατάσταση πολλαπλασιασμού ή μέσω με αρνητική τροποποίηση ειδικών υποδοχέων για τις διεγερτικές κυτταροκίνες. Έμμεσες δράσεις των αρνητικών ρυθμιστών μπορεί να περιλαμβάνει την αρνητική ρύθμιση των διεγερτικών κυτταροκινών από τα βοηθητικά κύτταρα. Αντίθετα οι διεγερτικές κυτταροκίνες (IL-6, IL-3, G-CSF κλπ) δρουν στα προγονικά κύτταρα μετακινώντας τα στην ενεργό φάση του κυτταρικού κύκλου. Έτσι τα ίδια συνεργά κύτταρα (μονοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες) παράγουν τόσο διεγερτικούς όσο και κατασταλτικούς παράγοντες και τα διακυτταρικά μόρια προσκόλλησης (ICAM) κρατούν τα αρχέγονα κύτταρα σε συνάφεια με τα κύτταρα του στρώματος, επιτρέποντας την σύνδεση τους τον συνδεόμενο με την μεμβράνη SCF με τους υποδοχείς του (c-kit).

3.8 Tumor necrosis factor, TNF-α και TNF-β

Συνώνυμα Cachectin (TNF-α), Lymphotoxin (TNF-β)

Μοριακή κατασκευή: Ο TNF-α (διαλυτή και μεμβρανική μορφή) και ο TNF-β είναι γλυκοζυλιωμένες πρωτεΐνες, τα γονίδια των οποίων βρίσκονται στο χρωμόσωμα 6 εντός του τόπου του MHC.

Υποδοχείς: Έχουν την ίδια συγγένεια με τους ίδιους υποδοχείς. TNFR-I (διαλυτή και μεμβρανική μορφή), TNFR-II. Η ενεργοποίηση και των δύο δημιουργεί μια τριμερή κατασκευή. Οι διαλυτές μορφές μπορεί να έχουν ανταγωνιστική δράση.

Σύνθεση: Ο TNF-α από ινοβλάστες, μονοκύτταρα, μακροφάγα, T και B λεμφοκύτταρα, ο TNF-β από T λεμφοκύτταρα, μετά διέγερση από αντιγόνα, ενδοτοξίνη και μιτογόνα.

Δράσεις: Αρχικά περιγράφηκε ότι ο TNF έχει ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη αιμοποιητικών αποικιών, όμως σε πρόσφατες μελέτες φαίνεται ότι συνεργάζεται με την IL-3 ή τον GM-CSF προάγοντας τον πολλαπλασιασμό των πρώιμων CD34 προγονικών κυττάρων. Σε πιο ώριμα στάδια της αιμοποίησης ο TNF αναστέλλει το σχηματισμό αποικιών της κοκκιώδους και ερυθράς σειράς, ενώ προάγει το σχηματισμό αποικιών μακροφάγων. Προαγωγή της αιμορραγικής νέκρωσης μεταμοσχευόμενων όγκων μέσω αύξησης των αιμοστατικών ιδιοτήτων των ενδοθηλιακών κυττάρων. Αυξάνει επίσης την έκφραση των αντιγόνων HLA τάξης I και II με διευκόλυνση έτσι της παρουσίασης του αντιγόνου, ενώ προάγει την έκφραση γονιδίων άλλων κυτταροκινών (έμμεσες δράσεις). Προκαλεί επίσης διέγερση των κυττάρων που εμπλέκονται στην φλεγμονώδη απάντηση (λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα και πολυμορφοπύρρηνα), ενώ αυξάνει την κυτταροτοξικότητα των T, NK και LAK κυττάρων.

3.9 Ιντερφερόνες

Μοριακή κατασκευή: IFN-α, IFN-β (IFN τύπου-I, ομολογίες στη αλληλουχία, αύξηση σε λοιμώξεις από ιούς), IFN-γ (IFN τύπου-II, ενεργοποίηση μέσω ανοσολογικής διέγερσης, ενεργοποίηση μακροφάγων). Η IFN-α είναι μη γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη (ανασυνδυασμένη 165 αμινοξέα μ.β. 20 kD), ενώ η IFN-β και IFN-γ είναι γλυκοζυλιωμένες (ανασυνδυασμένη IFN-γ 146 αμινοξέα, μ.β. 17 kD). Τα γονίδια της IFN-α (ομάδα πάνω από 25 διαφορετικών γονιδίων και ψευδογόνων) και IFN-β βρίσκονται στο χρωμόσωμα 9q12, ενώ της IFN γ (απλός γόνος) στο χρωμόσωμα 12q12.

Σύνθεση: Σχεδόν κάθε κύτταρο μπορεί να παράγει IFN-α και IFN-β μετά διέγερση και η κύρια πηγή IFN-α είναι τα λευκά αιμοσφαίρια, ενώ της IFN-β οι ινοβλάστες (διέγερση από ιούς, βακτηριακές ενδοτοξίνες και άλλες κυτταροκίνες). Η παραγωγή της IFN-γ γίνεται από τα T κύτταρα μετά διέγερση από αντιγόνα ή μιτογόνα.

Υποδοχείς: Τύπος I (IFNAR) για την IFN-α και IFN-β, και τύπος II ειδικά για την IFN-γ. Έχουν περιγραφεί διαλυτές μορφές και των δύο τύπων.

Δράσεις: Η IFN-α έχει δράση κατά των ιών και κυτταροτοξική δράση κατά διαφόρων όγκων. Είναι αποτελεσματική στη θεραπεία της λευχαιμίας από τριχωτά κύτταρα, καρκίνο νεφρού, μελάνωμα, θεραπεία εκλογής στη ΧΜΛ, θεραπευτική εφαρμογή στην ιδιοπαθή θρομβοκυτταραιμία, ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, υπερηωσινοφιλικό σύνδρομο, νόσο ψυχροσυγκολλητινών κλπ.

Τροποποίηση των MHC αντιγόνων κυρίως τάξης II για την IFN-γ και τάξης I για την IFN-α και IFN-β. Διέγερση της λειτουργίας των μονοκυττάρων/μακροφάγων (IFN-γ), δράση κατά των ιών. Τροποποίηση των δράσεων των T, T και NK κυττάρων. Αναστολή της ανάπτυξης όγκων και προαγωγή της διαφοροποίησης. Η IFN-α αναστέλλει την ανάπτυξη των CFU-meg (χρήση σε ιδιοπαθή θρομβοκυτταραιμία). Χορήγηση IFN-γ για προαγωγή της αυτόλογης αντίδρασης GVH μετά χορήγηση κυκλοσπορίνης (πρόκληση αντίδρασης GVL).

3.10 Leukemia inhibitory factor, LIF

Αυξάνει τον αριθμό των μεγακαρυοκυττάρων και αιμοπεταλίων σε πειραματόζωα και μαζί με την IL-3 αυξάνει το σχηματισμό μεγακαρυοκυτταρικών αποικιών. Υποδοχείς για τον LIF έχουν βρεθεί σε άωρα και ώριμα μεγακαρυοκύτταρα.

- Άλλοι αναστολείς της κοκκιοποίησης:

Η λακτοφερίνη (μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στα δευτερογενή κοκκία των πολυμορφοκυττάρων), προκαλεί αναστολή της παραγωγής CSF από τα μονοκύτταρα, ενώ οι προσταγλανδίνες E (που παράγονται από τα μονοκύτταρα), κάνουν τα CFC σχετικά αναισθητά στην δράση των διαφόρων CSF. Αυτή η αναστολή οφείλεται σε αύξηση του ενδοκυττάρου κυκλικού AMP των κυττάρων, μπορεί να επανξηθεί παροδικά, αυξάνοντας της συγκέντρωση του CSF.

- Άλλες ουσίες:

Οι όξινες ισοφαιρίνες (που απομονώθηκαν αρχικά από λευχαιμικά κύτταρα), θεωρούνται υπεύθυνες για την καταστολή της φυσιολογικής αιμοποίησης κατά την πορεία μερικών κακοήθων νοσημάτων του αιμοποιητικού συστήματος και απομονώθηκαν από τη στοιβάδα των προσκολλώμενων κυττάρων στο υλικό καλλιέργειας φυσιολογικών κυττάρων αίματος και μυελού. Τα ανδρογόνα καθώς και οι ενδοτοξίνες ή άλλα προϊόντα μικροβίων, έχουν διεγερτική δράση στην κοκκιοποίηση *in vitro* πιθανότατα λόγω αύξησης της παραγωγής του CSF.

- Ρόλος των πολυμορφοκυττάρων, λεμφοκυττάρων και μακροφάγων:

Αν και τα T λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα είναι από μόνα τους πηγή CSF, όταν επωάζονται μαζί, παρέχουν ποσότητες τροφικών παραγόντων πολύ μεγαλύτερες από ότι η απλή άθροιση του καθενός ξεχωριστά (συνεργικό αποτέλεσμα). Φαίνεται ότι τα μονοκύτταρα παράγουν μια μονοκίνη που προκαλεί αύξηση της παραγωγής CSF από τα T λεμφοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα ή και τους ινοβλάστες. Αυτή η μονοκίνη μπορεί να αποτελεί το κλειδί για τη ρύθμιση της παραγωγής CSF. Η παραγωγή της αναστέλλεται με τη λακτοφερίνη των πολυμορφοκυττάρων και διεγείρεται από τις διάφορες ενδοτοξίνες. Έχει βρεθεί επίσης, ότι τα μονοκύτταρα μπορεί να παίζουν ανασταλτικό ρόλο στη δημιουργία των κοκκιοκυτταρικών/μονοκυτταρικών αποικιών με την παραγωγή από αυτά προσταγλανδίνης E. Καταστολή της κοκκιοποίησης μπορεί επίσης να γίνει από μερικούς υποπληθυσμούς T λεμφοκυττάρων που αναστέλλουν είτε άμεσα τον πολλαπλασιασμό των GM-CFC, είτε με τη μεσολάβηση διαφόρων λεμφοκινών, είτε εμποδίζοντας την παραγωγή του CSF από τα διεγερμένα T λεμφοκύτταρα. Τα λεμφοκύτταρα με δραστηριότητα NK που είναι ως επί το πλείστον μεγάλα λεμφοκύτταρα με κοκκία, προκαλούν επίσης αναστολή της κοκκιοποίησης, όταν έρχονται σε επαφή με τα GM-CFC.

4 Ρύθμιση της ερυθροποίησης

Ο έλεγχος της ερυθροποίησης γίνεται με την ερυθροποιητίνη, μια γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται κυρίως στα νεφρικά σωληνάκια από κύτταρα τα οποία ελέγχουν την οξυγόνωση των ιστών μέσω ενός αισθητήρα οξυγόνου, που πιθανότατα είναι μια πρωτεΐνη με προσθετική ομάδα όμοια με την αιμή. Η ερυθροποιητίνη δρα στα αρχέγονα κύτταρα της ερυθράς σειράς διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίησή τους και μειώνοντας συχνά τη μη αποδοτική ερυθροποίηση. Αυτός ο παράγων διεγείρει τόσο την ανάπτυξη CFU-E όσο και τη διαφοροποίησή τους σε ώριμους ερυθροβλάστες. Η ευαισθησία στην ερυθροποιητίνη ξεκινά σε ένα πρώιμο στάδιο των κυτταρικών προβαθμίδων της ερυθράς σειράς και αυξάνει με την ωρίμανση (τα CFU-E είναι πιο ευαίσθητα από τα BFU-E). Έτσι ο ρυθμός της ερυθροποίησης εξαρτάται από τον αριθμό των ερυθροβλαστικών κλώνων που σχηματίζονται από τα CFU-E με τη δράση της ερυθροποιητίνης. Φυσιολογικά 10-20 mU/kg ερυθροποιητίνης προκαλούν την παραγωγή 0.25 ml ερυθρών/kg την ημέρα, ποσότητα ικανή για την αντικατάσταση των καθημερινών απωλειών ερυθρών και την διατήρηση σταθερής της φυσιολογικής συνολικής μάζας ερυθρών (περίπου 30 ml/kg).

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια παράγονται στον μυελό των οστών ως τελικό στάδιο του πολλαπλασιασμού και της ωρίμανσης των δεσμευμένων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (colony forming units, granulocytic-erythroid-monocytic-megakaryocytic, CFU-GEMM). Το πρώιμοτερο προγονικό κύτταρο της ερυθράς σειράς είναι το BFU-E (burst forming unit-erythroid) που σχηματίζει αποικίες δικήν "έκρηξης" σε καλλιέργειες *in vitro*. Μετά διέγερση με αυξητικούς παράγοντες (IL-3, GM-CSF και ερυθροποιητίνη) το κύτταρο αυτό πολλαπλασιάζεται και ωριμάζει, ενώ συγχρόνως αυξάνονται στην επιφάνειά του οι υποδοχείς ερυθροποιητίνης. Στο στάδιο αυτό ονομάζεται CFU-E (colony forming unit-erythroid) γιατί σχηματίζει μόνο μικρές και πυκνές αποικίες *in vitro*, και ο πολλαπλασιασμός του εξαρτάται σχεδόν αποκλειστικά από την ερυθροποιητίνη. Τελικά, το CFU-E ωριμάζει προς προερυθροβλάστες και ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια. Το πρώτο αναγνωρίσιμο κύτταρο της ερυθράς σειράς στον μυελό είναι ο προερυθροβλάστης, ένα μεγάλο κύτταρο με έντονα βασεόφιλο

πρωτόπλασμα και πυρήνια που περιέχει πυρήνια. Οι προερυθροβλάστες με δύο διαιρέσεις σχηματίζουν τους βασεόφιλους ερυθροβλάστες, και έπειτα αυτοί ωριμάζουν σε πολυχρωματόφιλους και ώριμους (οξύφιλους) ερυθροβλάστες, των οποίων ο πυρήνας γίνεται πυκνωτικός και αποβάλλεται αποδίδοντας τα δικτυοερυθροκύτταρα (ΔΕΚ). Τα τελευταία αναδεικνύονται με έμβια χρώση με new methylene blue και σε λίγες ημέρες γίνονται ώριμα ερυθρά. Η έναρξη της σύνθεσης αιμοσφαιρίνης αρχίζει στο στάδιο του βασεόφιλου ερυθροβλάστη, του οποίου το γαλάζιο χρώμα του πρωτοπλάσματος οφείλεται στην παρουσία άφθονου RNA. Καθώς το κύτταρο ωριμάζει το ποσόν του RNA ελαττώνεται και το χρώμα του γίνεται ερυθροϊώδες (πολυχρωματόφιλος ερυθροβλάστης) επειδή στο βασεόφιλο RNA προστίθεται και η οξύφιλη αιμοσφαιρίνη. Όσο ο ερυθροβλάστης ωριμάζει τόσο η πυκνότητα της αιμοσφαιρίνης του αυξάνει και το πρωτόπλασμα γίνεται οξύφιλο, όμοιο με εκείνο του ώριμου ερυθρού (οξύφιλος ή ώριμος ερυθροβλάστης). Η σύνθεση της αιμοσφαιρίνης συνεχίζεται σε βραδύτερο ρυθμό και στο στάδιο του δικτυοερυθροκυττάρου.

Σε καταστάσεις stress, τα ΔΕΚ απελευθερώνονται ταχύτερα στην κυκλοφορία, αυξάνοντας έτσι τον αριθμό τους, που με τις έμβιες χρώσεις φαίνονται να περιέχουν πυκνότερο δίκτυο, χωρίς τούτο να υποδηλώνει πάντα αύξηση της ερυθροποίησης.

Φυσιολογικά, εκτός από τις πρώτες ημέρες μετά τη γέννηση, δεν κυκλοφορούν ερυθροβλάστες στο περιφερικό αίμα. Η παρουσία τους στο αίμα των ενηλίκων δείχνει αυξημένη ή παθολογική αιμοποίηση ή κατάληψη από ξένα κύτταρα (μεταστάσεις).

Η ερυθροποιητίνη συνδέεται με έναν υποδοχέα της μεμβράνης των αρχέγονων κυττάρων-στόχων (περισσότερο στα CFU-E και λιγότερο στα BFU-E) και των προερυθροβλαστών με αποτέλεσμα αύξηση της πρωτεϊνοσύνθεσης και προαγωγή του πολλαπλασιασμού τους. Ακόμη, με τη δράση της ερυθροποιητίνης μειώνονται οι αποθήκες των δικτυοερυθροκυττάρων του μυελού, τα οποία εξέρχονται στο περιφερικό αίμα, μειώνεται ο χρόνος διαίρεσης των ερυθροβλαστών και αυξάνει η σύνθεση αιμοσφαιρίνης ιδιαίτερα στους ωριμότερους ερυθροβλάστες.

4.1 Ερυθροποιητίνη, EPO

Μοριακή κατασκευή: Είναι γλυκοπρωτεΐνη Είναι μια γλυκοπρωτεΐνη νεφρικής και ηπατικής προέλευσης που η παραγωγή της αυξάνει με την υποξία των ιστών και μπορεί να απομονωθεί από το πλάσμα ή τα ούρα αναιμικών ατόμων. Σήμερα έχει κατασκευαστεί ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη. Συμπληρωματικές πηγές ερυθροποιητίνης είναι το ήπαρ, διάφοροι άλλοι ιστοί και το σύστημα των φαγοκυττάρων (μ.β 34-39 kD, η ανασυνδυασμένη αποτελείται από 166 αμινοξέα και έχει μ.β. 30.4 kD), ο γόνος βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7q11-22.

Υποδοχέας ερυθροποιητίνης: Είναι μέλος της υπερικογένειας υποδοχέων κυτταροκινών (ύπαρξη εξωκυττάρου, διαμεμβρανικού και ενδοκυττάρου τμήματος) και αποτελείται από τέσσερες υποομάδες κυστεΐνης και ένα μοτίβο WSXWS στην εξωκυττάρια περιοχή (οι κυστεΐνες σχηματίζουν ενδομοριακές δισουλφιδικές γέφυρες και το μοτίβο WSXWS είναι ουσιαστικό για τη μορφή του εξωκυττάρου τμήματος και τη σύνδεση με την ερυθροποιητίνη). Εκτός από τον πλήρη υποδοχέα, υπάρχει και ένας μη πλήρης διαλυτός-εκκρινόμενος τύπος υποδοχέα που καθορίζεται από ένα διαφορετικό mRNA (αυτή η εκκρινόμενη μορφή μπορεί να συνεργάζεται στην επιφάνεια του κυττάρου με τον πλήρη υποδοχέα της ερυθροποιητίνης για τη σύνδεση με την ερυθροποιητίνη). Πρόσφατα βρέθηκε μια μικρή ομοιότητα στις αλληλουχίες μεταξύ της κυτταροπλασματικής περιοχής του υποδοχέα ερυθροποιητίνης και των άλλων υποδοχέων των λεμφοκινών (απαραίτητη η αλληλουχία λίγων αμινοξέων για την εμφάνιση προαγωγής της αυξητικής ικανότητας από τους υποδοχείς ερυθροποιητίνης, IL-2 και IL-4). Η ερυθροποιητίνη με το μεμβρανικό υποδοχέα της σχηματίζουν τουλάχιστον δύο συμπλέγματα 140 και 120 kD αλλά φαίνεται ότι συμμετέχουν και άλλες συμπληρωματικές πρωτεΐνες του υποδοχέα ερυθροποιητίνης όπως η JAK2 (μη μεμβρανική πρωτεΐνη με χαρακτηριστικές πρωτεΐνης κίνησης). Οι υποδοχείς ερυθροποιητίνης είναι λιγότεροι στα BFU-E ενώ είναι πολύ περισσότεροι στα CFU-E, ενώ μειώνονται στα πιο ώριμα κύτταρα της ερυθράς σειράς.

Δράσεις: Αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της ερυθροποίησης των θηλαστικών προκαλώντας πολλαπλασιασμό των BFU-E (ένα πρόδρομο κύτταρο της ερυθράς σειράς που είναι ευαίσθητο στη δράση της ερυθροποιητίνης) και προαγωγή της διαφοροποίηση των CFU-E (ένα οψιμότερο προγονικό κύτταρο της ερυθράς σειράς που είναι ευαίσθητο στη δράση της ερυθροποιητίνης). Τη διέγερση του υποδοχέα ερυθροποιητίνης ακολουθούν αρκετές βιοχημικές μεταβολές που ακόμα ο ρόλος τους τόσο για τον πολλαπλασιασμό όσο και τη διαφοροποίηση των κυττάρων στόχων δεν έχει ακόμα καθοριστεί. Έτσι η ερυθροποιητίνη προάγει τη φωσφορυλίωση της τυροσίνης (ανάλογα με τη δόση) τόσο του ίδιου

του υποδοχέα όσο και άλλων ενδοκυττάρων πρωτεϊνών (σχέση με τη μιτογόνο δραστηριότητα των πολυπεπτιδίων του υποδοχέα της ερυθροποιητίνης) και προκαλεί την εμφάνιση της πρωτεΐνης JAK2 (μ.β. 130 kD, ιδιότητες κινάσης τυροσίνης) που αλληλεπιδρά με την ερυθροποιητίνη στην επιφάνεια του κυττάρου. Τελικά η ενεργοποίηση του υποδοχέα ερυθροποιητίνης συνοδεύεται από αύξηση της δραστηριότητας κινάσης της 3-φωσφατυδιλοϊνσιτόλης, προαγωγή της δράσης του raf-1 και p21 ras και φωσφορυλίωση της p120 GAP τυροσίνης (οι δράσεις μπορεί να μη σχετίζονται με την αυξητική και διαφοροποιητική δράση της ερυθροποιητίνης). Ύπαρξη ενός μηχανισμού αρνητικής αλληλορύθμισης στο καρβοξυλικό ενδοκυτταροπλασματικό άκρο του υποδοχέα της ερυθροποιητίνης (επί διαταραχής αυτού του μηχανισμού δημιουργείται ένας υπερευαίσθητος υποδοχέας στην ερυθροποιητίνη). Η σπουδαιότητα αυτής της αρνητικής ρύθμισης του υποδοχέα της ερυθροποιητίνης έχει δείξει στην περίπτωση της οικογενούς ερυθροκυττάρωσης. Η έκφραση του υποδοχέα ερυθροποιητίνης στα κύτταρα της ερυθράς σειράς γίνεται πιθανότατα με συνεργασία άλλων παραγόντων (GATA-1 και NF-Αγγελιαφόρο E2). mRNA του υποδοχέα ερυθροποιητίνης εκτός από τους ερυθροβλάστες κυτταρικών σειρών βρίσκεται και σε άλλα κύτταρα κύτταρα. Η ερυθροποιητίνη σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις προάγει τη διαφοροποίηση των μεγακαρυοκυττάρων, τη χημειοταξία των ενδοθηλιακών κυττάρων και τον πολλαπλασιασμό των Β λεμφοκυττάρων (υποθέτοντας την ύπαρξη στην επιφάνειά τους λειτουργικών υποδοχέων ερυθροποιητίνης). Έχουν επίσης βρεθεί υποδοχείς στα κύτταρα του πλακούντα και σε νευρικά κύτταρα

4.2 - BPA (burst promoting activity):

Τέτοια δραστηριότητα έχει το υγρό από καλλιέργεια μονοκύρηνων κυττάρων (T λεμφοκυττάρων, μονοκύτταρων). Τα βιοχημικά χαρακτηριστικά της BPA δεν είναι πολύ καλά γνωστά. Πρόκειται μάλλον για ένα σύνολο ουσιών ή ιντερλευκίνη-3 (IL-3) (βλέπε παράγραφο ρύθμισης των GEMM-CFC και των αιμοποιητικών stem cells). Η BPA διεγείρει την ανάπτυξη των BFU-E και αντίθετα με ότι παρατηρείται στην ερυθροποιητίνη, η ευαισθησία μειώνεται με την ωρίμανση των κυτταρικών προβαθμίδων της ερυθράς σειράς.

- Άλλες ουσίες:

Οι όξινης ισοφερριτίνες αναστέλλουν την ανάπτυξη των BFU-E.

Οι προσταγλανδίνες που παράγονται κυρίως από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα, αυξάνουν τη δημιουργία αποικιών από τα BFU-E και τα CFU-E.

Τα ανδρογόνα αυξάνουν την παραγωγή της ερυθροποιητίνης και δρουν επίσης στα αρχέγονα κύτταρα της ερυθράς σειράς, με αποτέλεσμα αύξηση των αποικιών CFU-E καθώς και παράταση της επιβίωσης των BFU-E.

- Ρόλος των λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων:

Ο ρόλος που παίζουν τα λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα στη ρύθμιση της ερυθροποίησης είναι δύσκολο να καθοριστεί και συχνά τα αποτελέσματα των διαφόρων πειραμάτων *in vitro* αλληλοσυγκρούονται. Εντούτοις, η παρουσία των μακροφάγων στο κέντρο των ερυθροβλαστικών νησίδων του μυελού ενισχύει την υπόθεση ότι αυτά τα κύτταρα παίζουν ένα ρυθμιστικό ρόλο στην ερυθροποίηση εκτός από την παραγωγή BPA, ερυθροποιητίνης και προσταγλανδινών. Η δράση των T λεμφοκυττάρων στην ερυθροποίηση φαίνεται να είναι το αποτέλεσμα της δράσης των ανασταλτικών ή διεγερτικών δράσεων που προκαλούν οι διάφοροι υποπληθυσμοί τους. Τα κύτταρα με ανασταλτική δράση είναι κύτταρα που εκφράζουν στην επιφάνειά τους τα αντιγόνα Ia και η αναστολή τους θα πρέπει να έχει σχέση με την έκφραση αυτών των αντιγόνων από τα κύτταρα της ερυθράς σειράς στα οποία ασκούν τη δράση τους (BFU-E ή βοηθητικά κύτταρα).

Επίσης συζητείται η δράση των λεμφοκυττάρων με δραστηριότητα NK. Τέλος, όπως και για τον GM-CSF, η συνεργασία μεταξύ μονοκυττάρων και T λεμφοκυττάρων για την καλή παραγωγή BPA καθώς και ο έλεγχος αυτής της παραγωγής, φαίνεται να γίνεται από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα.

5 Ρύθμιση της μεγακαρυοποίησης

Η παραγωγή των αιμοπεταλίων από τα αρχέγονα κύτταρα που έχουν δεσμευτεί για τη μεγακαρυοκυτταρική σειρά (Mk-CFC) επηρεάζεται από δύο παράγοντες. Από αυτούς ο Mk-CSF (megakaryocyte colony stimulating factor) διεγείρει εν μέρει την ωρίμανση των Mk-CFC και η

θρομβοποιητίνη αυξάνει την πολυπλοϊδία και την ωρίμανση του πρωτοπλάσματος των μεγακαρυοκυττάρων. Ο Mk-CSF βρίσκεται στο υγρό των *in vitro* καλλιεργειών λεμφοκυττάρων μετά διέγερσή τους με φυτοαιμοσυγκολλητίνη (PHA) και *in vivo* στον ορό ή και στα ούρα αρρώστων με ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα ή απλαστική αναιμία. Ο παράγον αυτός αυξάνει το ενδοκυττάριο cAMP και διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των Mk-CFC. Η θρομβοποιητίνη είναι ένας χυμικός παράγων που έχει πιθανότητα νεφρική προέλευση. Τα επίπεδα του Mk-CSF και της θρομβοποιητίνης στον ορό, φαίνεται να ελέγχονται από ένα μηχανισμό feedback και έτσι ο ορός των αρρώστων με θρομβοπενία, αυξάνει την ανάπτυξη των αποικιών των Mk-CFC ή την πλοϊδία των μεγακαρυοκυττάρων, ανάλογα με το αν ο μηχανισμός της θρομβοπενίας είναι κεντρικός ή περιφερικός (υπάρχουν όμως και εξαιρέσεις), με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής των αιμοπεταλίων.

6 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

6.1 Πολυδύναμο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο (Pluripotent stem cell)

Είναι η πηγή όλων των αιμοποιητικών κυττάρων. Όταν διαιρείται μπορεί να αυτοανανεώνεται ή να δεσμεύεται για την παραγωγή κυττάρων όλων των μυελικών σειρών (μυελικές σειρές, λεμφική σειρά). Αποτελεί περίπου το 0.2% του ολικού αριθμού των αιμοποιητικών κυττάρων. Δεν αναγνωρίζεται μορφολογικά αλλά είναι δυνατή η ανοσολογική του ταυτοποίηση.

6.2 Μυελικό αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο (Myeloid stem cell)

Είναι το πρόδρομο κύτταρο των μυελικών σειρών που μπορεί να αυτοανανεώνεται και να διαφοροποιείται σε πρόδρομα κύτταρα που αφορούν την ερυθρά, κοκκιάδη, μονοκυτταρική ή μεγακαρυοκυτταρική σειρά. Δεν αναγνωρίζεται μορφολογικά αλλά είναι δυνατή η ανοσολογική του ταυτοποίηση.

6.3 CFU-GEMM (Colony Forming Unit Granulocyte-Erythroid-Monocyte-Megakaryocyte)

Πολυδύναμο προγονικό κύτταρο δεσμευμένο για κύτταρα της ερυθράς, κοκκιάδους, μονοκυτταρικής και μεγακαρυοκυτταρικής σειράς, που δεν έχει την ικανότητα της αυτοανανέωσης. Δεν αναγνωρίζεται μορφολογικά αλλά είναι δυνατή η ανοσολογική του ταυτοποίηση.

6.4 BFU-E (Burst Forming Unit-Erythroid)

Μονοδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για την ερυθρά σειρά.

6.5 CFU-E (Colony Forming Unit-Erythroid)

Ωριμότερο μονοδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για την ερυθρά σειρά.

6.6 Προερυθροβλάστης

Το πρώτο μορφολογικά αναγνωρίσιμο κύτταρο της ερυθράς σειράς. Αποτελεί το 0.5-5% των κυττάρων του μυελού. Διάμετρος 20-25 μm , μεγάλος πυρήνας σε σχέση με το πρωτόπλασμα, λεπτή κατανομή χρωματίνης, 1-2 πυρήνια, έντονα βασεόφιλο πρωτόπλασμα, περιτυρηνική άλω.

6.7 Βασεόφιλος ερυθροβλάστης

Μικρότερο κύτταρο (ο βασεόφιλος ερυθροβλάστης I είναι μικρότερος από τον προερυθροβλάστη και ο II είναι μικρότερος από τον I). Η χρωματίνη εμφανίζεται υπό μορφή συναθροίσεων, δεν υπάρχει πυρήνιο, το πρωτόπλασμα είναι λιγότερο βασεόφιλο από του προερυθροβλάστη. Αποτελούν το 0.25-4.8% των μυελικών κυττάρων.

6.8 Πολυχρωματόφιλος ερυθροβλάστης

Το μέγεθος είναι μικρότερο από του βασεόφιλου ερυθροβλάστη. Πιο βαθυχρωματικός πυρήνας, το πρωτόπλασμα είναι ερυθροκύανο (οξυφιλία λόγω της παρουσίας αιμοσφαιρίνης στο πρωτόπλασμα). Αποτελούν το 3.5-20.5% των μυελικών κυττάρων.

6.9 Οξύφιλος ερυθροβλάστης

Μικρότερο κύτταρο με πυκνωτικό πυρήνα και οξύφιλο πρωτόπλασμα. Αποτελούν το 3-25% των μυελικών κυττάρων.

6.10 Δικτυοερυθροκύτταρο (ΔΕΚ)

Είναι μεγαλύτερο από το ώριμο ερυθρό αιμοσφαίριο με ύπαρξη διάχυτης βασηοφιλίας και με μικρότερη περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη από το ώριμο ερυθρό (συνεχίζεται ακόμα η σύνθεση της αιμοσφαιρίνης). Με έμβιες χρώσεις (brilliant cresyl blue, new methylene blue) χρωματίζεται το περιεχόμενο ριβοσωμικό RNA. Το δικτυοερυθροκύτταρο παραμένει 1-2 μέρες στον μυελό, εξέρχεται στην κυκλοφορία όπου κυκλοφορεί για 1-2 μέρες ακόμα και μετά χάνει το RNA και κυκλοφορεί σαν ώριμο ερυθρό αιμοσφαίριο.

6.11 Ερυθρό αιμοσφαίριο

Έχει μέγεθος 7.2-7.9 μm, σχήμα αμφίκυκλου δίσκου και επιβίωση 120 μέρες περίπου. Ο αριθμός τους είναι $4.5-6.5 \times 10^{12}/l$ στους άνδρες και $3.9-5.6 \times 10^{12}/l$ στις γυναίκες. Το σχήμα του ερυθρού οφείλεται εν μέρει στην ύπαρξη περίσσειας μεμβράνης που δίνει έτσι στο ερυθρό αιμοσφαίριο αρκετή πλαστικότητα και το κάνει ικανό να περνά μέσω των τριχοειδών ή άλλων στενών σχηματισμών με μικρή διάμετρο. Σε πολλές παθολογικές καταστάσεις τα ερυθρά μπορεί να χάσουν μεμβράνη, με αποτέλεσμα να γίνονται όλο και πιο σφαιρικά, και έτσι πιο εύθραυστα, και τελικά να κατακρατούνται και να καταστρέφονται, ιδιαίτερα στον σπλήνα. Στον σπλήνα κατακρατούνται επίσης και διάφορα έγκλειστα των ερυθρών, όπως τα σωματίδια Howell-Jolly ή τα σωματίδια Pappenheim, χωρίς να καταστραφούν τα κύτταρα. Η μεμβράνη του ερυθρού αποτελείται από μια διπλή στιβάδα λιποειδών μέσα στην οποία διαπλέκονται οι διάφορες πρωτεΐνες της μεμβράνης. Πρόκειται για μια πολύπλοκη δυναμική κατασκευή, μια λειτουργία της οποίας είναι η διατήρηση στο εσωτερικό του κυττάρου υψηλών επιπέδων καλίου και χαμηλών επιπέδων νατρίου μέσω αντλίας ιόντων. Στην επιφάνεια της μεμβράνης υπάρχουν επίσης οι αντιγονικές ομάδες των ομάδων αίματος.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα εμόρφων στοιχείων του αίματος και ο αριθμός τους διατηρείται σταθερός, αφού η καθημερινή καταστροφή τους αναπληρώνεται από τα παραγόμενα νέα ερυθρά. Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων ποικίλλει ανάλογα με την ηλικία και το φύλο. Μεταβολές του σταθερού αριθμού των ερυθρών μπορούν να επέλθουν λόγω ανάπτυξης παθολογικών καταστάσεων που επηρεάζουν τον ρυθμό παραγωγής και ωρίμανσης των κυττάρων της ερυθράς σειράς ή αυξάνουν την καταστροφή τους.

6.12 CFU-GM (Colony Forming Unit-Granulocyte/Macrophage)

Πολυδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για την κοκκιάδη και μονοκυτταρική σειρά. Δεν αναγνωρίζεται μορφολογικά αλλά είναι δυνατή η ανοσολογική του ταυτοποίηση.

6.13 CFU-G (Colony Forming Unit-Granulocyte)

Μονοδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για την κοκκιάδη σειρά.

6.14 Μυελοβλάστης

Το πρώτο μορφολογικά αναγνωρίσιμο κύτταρο της κοκκιάδους σειράς. Αποτελούν το 0.1-3.5% μυελικών κυττάρων. Μέγεθος 15-20 μm, μεγάλος στρογγυλός ή ωοειδής πυρήνας που καταλαμβάνει σχεδόν όλο το κύτταρο (σχέση πυρήνα προς πρωτόπλασμα περίπου 6:1) με λεπτή κατανομή χρωματίνης, με 2-5 πυρήνια, βασεόφιλο πρωτόπλασμα με λίγα αζουρόφιλα κοκκία (σπάνια ή λίγα στα πολύ νεαρά κύτταρα) θετικά στην αντίδραση της υπεροξειδάσης.

6.15 Προμυελοκύτταρο

Μέγεθος 15-30 μm, μεγάλος πυρήνας (σχέση πυρήνα προς πρωτόπλασμα περίπου 4:1) με αδρή κατανομή χρωματίνης και ύπαρξη ενός ή περισσότερων πυρηνίων, άφθονο πρωτόπλασμα γεμάτο από κοκκία (αζουρόφιλα κοκκία ποικίλλοντος μεγέθους και σχήματος). Αποτελούν το 1-8% των μυελικών κυττάρων.

6.16 Μυελοκύτταρο

Μέγεθος 10-20 μm , ώριμος στρογγυλός ή ωοειδής πυρήνας χωρίς πυρήνιο (σχέση πυρήνα προς πρωτόπλασμα περίπου 2:1), πρωτόπλασμα κεντρικά οξύφιλο (περιέχει οξύφιλα κοκκία) και περιφερικά ήπια βασεόφιλο (περιέχει κυρίως αζουρόφιλα κοκκία). Αποτελούν το 5-19% (ηωσινόφιλα μυελοκύτταρα: 0-1.1%, βασεόφιλα μυελοκύτταρα: 0-0.5%) των μυελικών κυττάρων.

6.17 Μεταμυελοκύτταρο

Μέγεθος 10-16 μm . Έχει τα ίδια χαρακτηριστικά με το μυελοκύτταρο και το πολυμορφοπύρηνιο αλλά ο πυρήνας του είναι νεφροειδής. Το χρώμα του πρωτοπλάσματος εξαρτάται από το pH του διαλύματος χρώσης και από τον αριθμό των παραμενόντων πρωτογενών κοκκίων. Αποτελούν το 17.5-33.7% (ηωσινόφιλα μεταμυελοκύτταρα: 0.5-4%, βασεόφιλα μεταμυελοκύτταρα: 0-3.7%) των μυελικών κυττάρων.

6.18 Ραβδοκύτταρο

Μέγεθος 10-16 μm . Αλαντόμορφος ή αδρά λοβωμένος πυρήνας, πρωτόπλασμα όπως των πολυμορφοπυρήνων. Τα προμυελοκύτταρα, μυελοκύτταρα, μεταμυελοκύτταρα και τα ραβδοκύτταρα αποτελούν το 5-20% των μυελικών κυττάρων.

6.19 Πολυμορφοπύρηνιο

Μέγεθος 10-14 μm , πυρήνας με 2-3 λοβούς που συνδέονται μεταξύ τους με λεπτές γέφυρες χρωματινής (φυσιολογικά 2 λοβοί στο 10-30 % των κυττάρων, 3 λοβοί στο 40-50%, 4 λοβοί στο 10-20%, 5 λοβοί στο 0-5%, πάνω από 5 λοβοί στο 0%, ραβδοκύτταρα 0-5%). Πρωτόπλασμα οξύφιλο γεμάτο από τα δευτερογενή ουδετερόφιλα κοκκία και ύπαρξη λιγοστών αζουρόφιλων κοκκίων. Αριθμός στο περιφερικό αίμα $2.5-7.5 \times 10^9/\text{l}$. Τα πολυμορφοπύρηνια ζούν 6-12 ώρες στο περιφερικό αίμα, εξέρχονται στους ιστούς όπου ζούν ακόμα 2-4 μέρες. Η παραγωγή και διαφοροποίηση απαιτεί 6-10 μέρες. Ικανός αριθμός πολυμορφοπυρήνων (10-15 φορές του αριθμού των πολυμορφοπυρήνων του αίματος) μένει σαν εφεδρεία στον μυελό και αποτελούν το 10-30% των κυττάρων του μυελού.

6.20 CFU-M (Colony Forming Unit-Monocyte/Macrophage)

Μονοδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για τη μονοκυτταρική σειρά).

6.21 Μονοβλάστης

Μέγεθος 12-20 μm , σχέση πυρήνα προς πρωτόπλασμα 1.5 μέχρι 2:1, λεπτή κατανομή χρωματινής, 1-2 πυρήνια, βαθύ μπλε πρωτόπλασμα με κοκκία.

6.22 Προμυελοκύτταρο

Μέγεθος 12-18 μm , μεγάλος λοβωτός ή νεφροειδής πυρήνας, σχέση πυρήνα προς πρωτόπλασμα περίπου 2:1, λεπτή κατανομή χρωματινής, χωρίς ή με ένα πυρήνιο, γκρι-γαλάζιο πρωτόπλασμα με πολύ λεπτά κοκκία.

6.23 Μονοκύτταρο

Μέγεθος 15-22 μm (το μεγαλύτερο κύτταρο του αίματος). Πυρήνας στρογγυλός, νεφροειδής ή λοβωτός, γαλαζωπό ή γκρι πρωτόπλασμα με πολύ λεπτά κοκκία. Αριθμός στο περιφερικό αίμα $0.2-0.8 \times 10^9/\text{l}$, στον μυελό αποτελούν το 1.6-4.3% των κυττάρων. Μετά κυκλοφορία στο αίμα για 3 μέρες μεταναστεύει στους ιστούς όπου συνεχίζει τη λειτουργία του σαν μακροφάγο.

6.24 Μακροφάγο

Μέγεθος 20-80 μm . Αποτελεί το 0-2% των κυττάρων του μυελού. Επιβίωση από μήνες μέχρι και χρόνια (κύτταρα Kupffer, μακροφάγα κυψελίδων, ορογόνων, μεσαγγειακά κύτταρα νεφρού, μικρογλοιακά κύτταρα, μακροφάγα μυελού, κόλπων σπληνός, λεμφαδένων).

6.25 CFU-Eo (Colony Forming Unit-Eosinophilic)

Μονοδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για την ηωσινοφιλική σειρά.

6.26 Ηωσινόφιλα μυελοκύτταρα, μεταμυελοκύτταρα (0.2-5% των μυελικών κυττάρων).

6.27 Ηωσινόφιλο

Μέγεθος 10-14 μm. Συνήθως δίλοβος πυρήνας, πρωτόπλασμα γεμάτο από ευμεγέθη ηωσινόφιλα κοκκία. Επιβίωση 1-8 ώρες. Αριθμός στο περιφερικό αίμα 0.04-0.44 x 10⁹/l.

6.28 CFU-Bas (Colony Forming Unit-Basophilic)

Μονοδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για τη βασεόφιλη σειρά.

6.29 Βασεόφιλο μυελοκύτταρο (0-0.5% των μυελικών κυττάρων).

6.30 Βασεόφιλο

Μέγεθος 10-14 μm. Μη λοβωτός πυρήνας, έντονα βασεόφιλα κοκκία που καλύπτουν όλο το κύτταρο. Επιβίωση μερικές ώρες. Αριθμός στο περιφερικό αίμα 0.01-0.1 x 10⁹/l.

6.31 Μαστοκύτταρο

Μέγεθος 10-14 μm. Επιβίωση περίπου 2 χρόνια.

6.32 CFU-Meg (Colony Forming Unit-Megakaryocyte)

Μονοδύναμο κύτταρο δεσμευμένο για τη μεγακαρυοκυτταρική σειρά.

6.33 Μεγακαρυοβλάστης

Συνήθως μικρού μεγέθους βλαστικό κύτταρο με προσεκβολές του πρωτοπλάσματος που προσδιορίζεται με ανοσολογικές μεθόδους.

6.34 Μεγακαρυοκύτταρο

Βασεόφιλο μεγακαρυοκύτταρο (4N-32N ή και πλέον, 10-15%), κοκκιώδες μεγακαρυοκύτταρο (άφθονα αζουρόφιλα κοκκία, μέγεθος πάνω από 100 μm, 60-70%, 16-64N), αιμοπεταλιοπαραγωγά μεγακαρυοκύτταρα (10-20%). Τα μεγακαρυοκύτταρα αποτελούν το 0.1-0.5% των μυελικών κυττάρων.

6.35 Αιμοπετάλιο

Μέγεθος 2-5 μm. Ποικίλο σχήμα, επιβίωση 7-8 μέρες. Αριθμός στο περιφερικό αίμα 150-400 x 10⁹/l.

6.36 Λεμφικό αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο (Lymphoid stem cell)

Το πρόδρομο κύτταρο της λεμφικής σειράς που μπορεί να αυτοανανεώνεται και να διαφοροποιείται σε πρόδρομα κύτταρα για την Β και την Τ σειρά. Δεν αναγνωρίζεται μορφολογικά αλλά είναι δυνατή η ανοσολογική του ταυτοποίηση.

6.37 Προ-B λεμφοκύτταρο

Μονοδύναμο κύτταρο της Β σειράς. Διαφοροποιείται σε Β λεμφοβλάστη ή μπορεί να γίνει Β λεμφοκύτταρο χωρίς να περάσει από το στάδιο του βλάστη. Μέγεθος 9-17 μm, σχέση πυρήνα προς πρωτόπλασμα περίπου 4.5:1, ένα πυρήνιο, μπλε πρωτόπλασμα με ύπαρξη αζουρόφιλων κοκκίων.

6.38 Β λεμφοβλάστης

Μέγεθος 10-18 μm, σχέση πυρήνα προς πρωτόπλασμα περίπου 6:1, λεπτή κατανομή χρωματίνης, 1-2 πυρήνια, βασεόφιλο πρωτόπλασμα.

6.39 Β λεμφοκύτταρο

Μέγεθος 10-12 μm. Σχετικά ευμεγέθης πυρήνας, βασεόφιλο πρωτόπλασμα με λίγα αζουρόφιλα κοκκία. Αριθμός Β και Τ λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα $1.5-3.5 \times 10^9/l$ και η πλειονότητα είναι κύτταρα Τ. Το ποσοστό των Β και Τ λεμφοκυττάρων στον μυελό είναι 5-20% (το ποσοστό αυξάνει με την ηλικία). Τα περισσότερα από τα κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα παράγονται στους λεμφαδένες, στον σπλήνα, στον θύμο και στον λεμφικό ιστό του πεπτικού και αναπνευστικού συστήματος.

6.40 Πλασματοκύτταρο

Μέγεθος 9-20 μm. Έκκεντρος πυρήνας με τροχοειδή διάταξη χρωματίνης, περιπυρηνική άλως, έντονα βασεόφιλο πρωτόπλασμα. Αποτελούν το 0-3.5% των μυελικών κυττάρων.

6.41 Προ Τ λεμφοκύτταρο

Μονοδύναμο κύτταρο της Τ σειράς. Ένα προθυμοκύτταρο μπορεί να γίνει Τ λεμφοβλάστης ή να γίνει Τ λεμφοκύτταρο χωρίς να περάσει από το στάδιο του βλάστη.

6.42 Τ λεμφοβλάστης - Τ λεμφοκύτταρο

Μέγεθος 10-12 μm, σχετικά ευμεγέθης πυρήνας.

7 ΑΛΛΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

7.1 Κύτταρο του δικτύου

Μέγεθος 20-30 μm, πυρήνας ακανόνιστου σχήματος, 1-6 πυρήνια, άφθονο γαλάζιο πρωτόπλασμα που μπορεί να έχει κενोटόπια και μερικά ερυθρωπά ή γαλαζοπράσινα κοκκία. Ανάλογα με το που βρίσκονται ονομάζονται κύτταρα του δικτύου (διάμεσα διαστήματα), ενδοθηλιακά κύτταρα (κόλλοι μυελού), εξωτριχοειδικά (γύρω από μικρά αγγεία). Τα ίδια κύτταρα είναι τα ιστοκύτταρα ή μακροφάγα (ιστοί) και τα μονοκύτταρα (περιφερικό αίμα) που έχουν φαγοκυτταρική ικανότητα.

7.2 Οστεοβλάστης

Κύτταρο που ομοιάζει με το πλασματοκύτταρο, συνήθως έχουν μεγαλύτερο μέχρι διπλάσιο μέγεθος από το φυσιολογικό πλασματοκύτταρο, ελλειπτοειδές σχήμα, έκκεντρος (σαν να εξέρχεται από το κύτταρο) πυρήνας, 1-2 πυρήνια, αχρωμάτιστη περιπυρηνική ζώνη, απαλό γκρι-γαλαζωπό πρωτόπλασμα. Εμφανίζονται συνήθως κατά μικρές αθροίσεις (συχνά στα παιδιά, σπανιότερα και σε μικρούς αριθμούς στους ενήλικες).

7.3 Οστεοκλάστης

Μέγεθος περίπου 100 μm, 1-6 πυρήνες, ένα ή περισσότερα μικρά πυρήνια σε κάθε πυρήνα, άφθονο ερυθρωπό μέχρι γαλάζιο πρωτόπλασμα με λιγοστά ερυθρωπά κοκκία. Λόγω του μεγέθους και των πολλών πυρήνων πρέπει να γίνεται διάκρισή του από το μεγακαρυοκύτταρο (ο οστεοκλάστης έχει κανονικούς στρογγυλούς ή ωοειδείς πυρήνες που ο καθένας τους έχει ένα ή περισσότερα πυρήνια). Έχει το ίδιο προγονικό κύτταρο με τα άλλα μυελικά κύτταρα.

7.4 Ιστικό ουδετερόφιλο

Μεγάλο κύτταρο με στρογγυλό ή ωοειδή πυρήνα με κοκκιώδη κατανομή της χρωματίνης, ένα ή δύο πυρήνια, άφθονο άχρωμο πρωτόπλασμα που περιέχει πολλά αζουρόφιλα κοκκία. Συχνά συγχέεται με κύτταρο του δικτύου και αρκετές φορές φαίνεται σαν εκφυλισμένο ή κατεστραμμένο προμυελοκύτταρο.

7.5 Ιστικό ηωσινόφιλο

Μεγάλο κύτταρο με άωρο στρογγυλό ή ωοειδή πυρήνα και άφθονο πρωτόπλασμα που περιέχει πολλά ηωσινόφιλα κοκκία.

Η σχέση του ιστικού ουδετερόφιλου και ηωσινόφιλου με τα ουδετερόφιλα και ηωσινόφιλα του περιφερικού αίματος δεν είναι γνωστή.

7.6 Μαστοκύτταρο

Μέγεθος 15-30 μm, μικρός στρογγυλός πυρήνας, άφθονο πρωτόπλασμα γεμάτο από μαύρα μεταχρωματικά κοκκία. Είναι κύτταρο του συνδετικού ιστού με άγνωστη σχέση με τα κυκλοφορούντα βασεόφιλα και τις πρόδρομες μορφές τους.

7.7 Λιποκύτταρο

Μεγάλο κύτταρο με μικρό, πυκνοχρωματικό πυρήνα και άφθονο κενό πρωτόπλασμα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Williams WJ, Beutler E, Erslex AJ, Lichtman MA. Hematology, McGraw-Hill Publishing Company, 4th Edition, New York, 1990.
2. Wintrobe MM. Clinical Hematology, 8th ed. Lea and Febinger, New York, 1991.
3. Hoffbrand AV, Pettit JE. Essential Haematology.(3rd ed) Blackwell Scientific Publ. London, 1993.
4. Ηλιόπουλος Γ. Φυσιολογία και φυσιολογία του αίματος και των αιμοποιητικών οργάνων. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, 1989.
5. Φερτάκης Α. Αιματολογία. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα 1992
6. Ogawa M. Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. Blood 81, 1844-1853, 1993.
7. Σταυρίδης Ι. Βασική και διαγνωστική αιματολογία. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα 1993.
8. Κυριάκου Δ, Αλεξανδράκης Μ, Ηλιόπουλος Γ. Εισαγωγή στην Αιμοποίηση. Ιατρικές Εκδόσεις "Αιμοβιολογική" Ηράκλειο Κρήτης, 1966.
9. Μελέτης Ι. Από το Αιματολογικό Εύρημα στη Διάγνωση. Εκδόσεις "Νηρέας", Αθήνα, 1996.
10. Μελέτης Ι. Μεταμόσχευση Μυελού των Οστών στην Βαριά Απλαστική Αναμία. Εκδόσεις "Νηρέας", Αθήνα 1989.
11. Blancet JP, Mouchiroud G. Les cellules souches hematopoietiques: une population plus heterogene qu'il n'y parait. medicine/sciences 9, 959-963, 1993.
12. Testa NG, Molineux G. Haemopoiesis. A practical approach. IRL Press. Oxford University Press, 1993
13. Dexter TM, Allen TD, Lajitha LG. Conditions controlling the proliferation of haemopoietic stem cells in vitro. J. Cell Physiol. 91, 335-339, 1971.
14. Broxmeyer HE, Carow C, Hangoc G, Hendrie PC, Cooper S. Hematopoietic stem and progenitor cells in human umbilical cord blood. Hum Gene Transfer 219, 95-102, 1991.
15. Ηλιόπουλος Γ. Αυξητικοί αιμοποιητικοί παράγοντες και αναστολείς της αιμοποίησης. Σεμ. Εσωτ. Παθολ. 1, 99-110, 1994.
16. Coze CM. Glossary of cytokines. Bailliere's Clinical Hematology, 7. 1-15, 1994.
17. Metcalf D. Haematopoietic growth factors. Lancet I 825-827, 885-887, 1989.