

# ΑΡΧΕΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ- ΤΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΩΝ ΑΡΧΕΓΟΝΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

---

Χαράλαμπος Ποντίκογλου

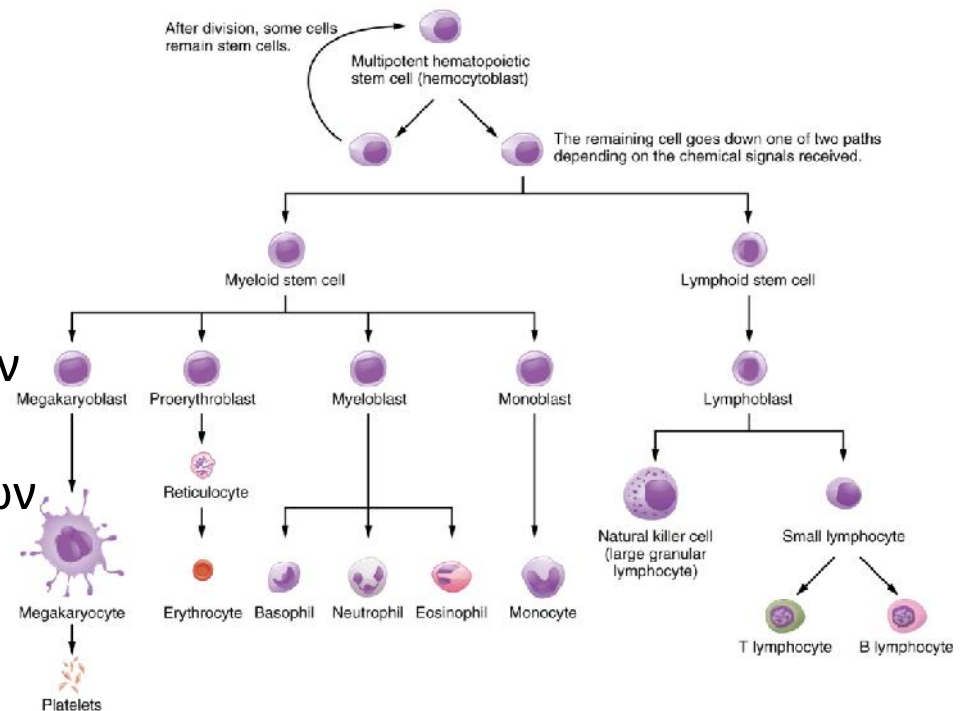
# ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

## Ορισμός

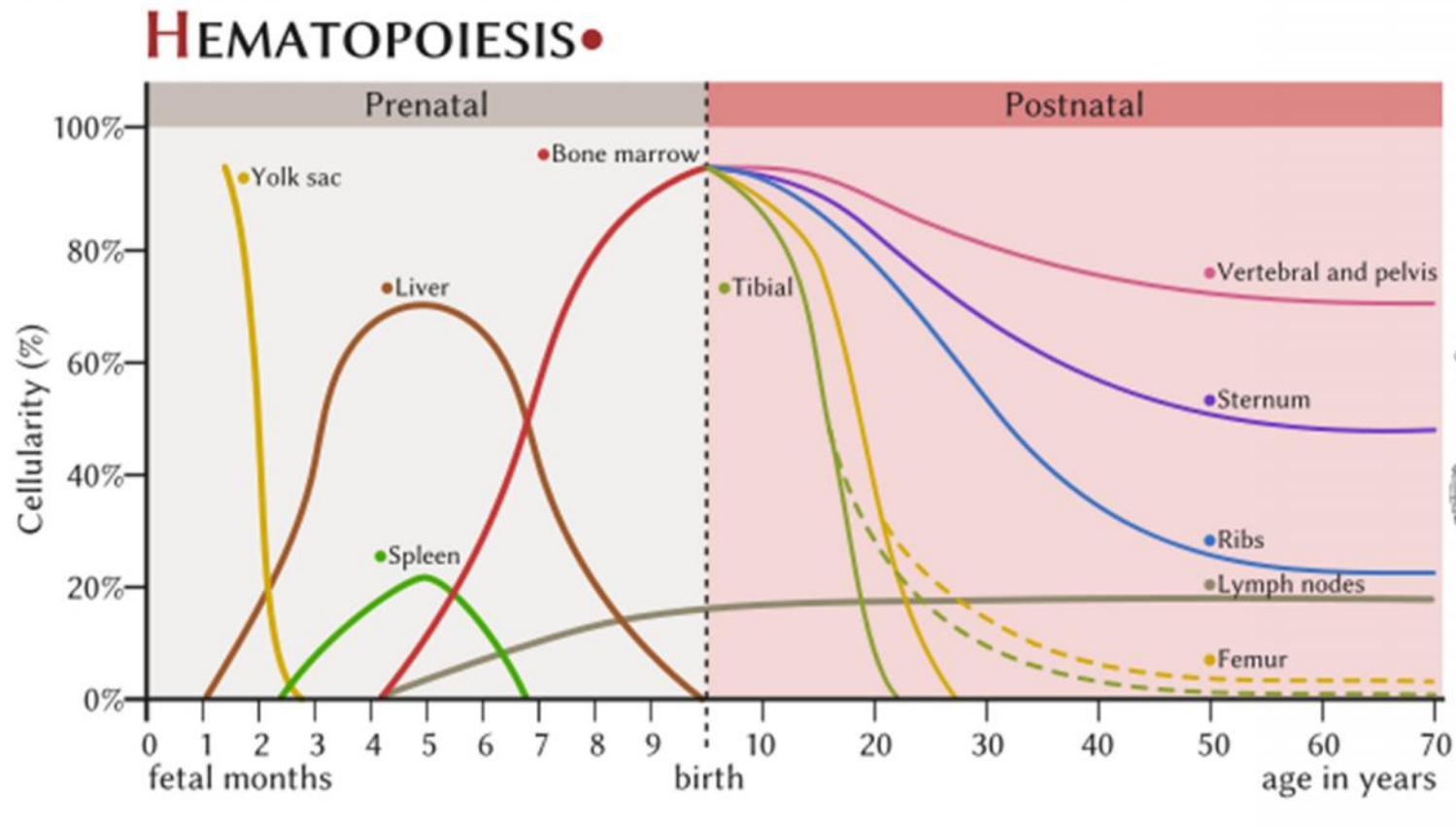
Είναι η διαδικασία παραγωγής των **ώριμων** κυττάρων του αίματος, από τα **αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα** και τις **πρόδρομες κυτταρικές μορφές**.

Τι περιλαμβάνει η διαδικασία αυτή;

1. **Αυτοανανέωση** των αρχέγονων κυττάρων
2. **Δέσμευση** ορισμένων προγονικών κυττάρων
3. **Πολλαπλασιασμό** των προγονικών κυττάρων
4. **Διαφοροποίηση** προς ώριμα κύτταρα



# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



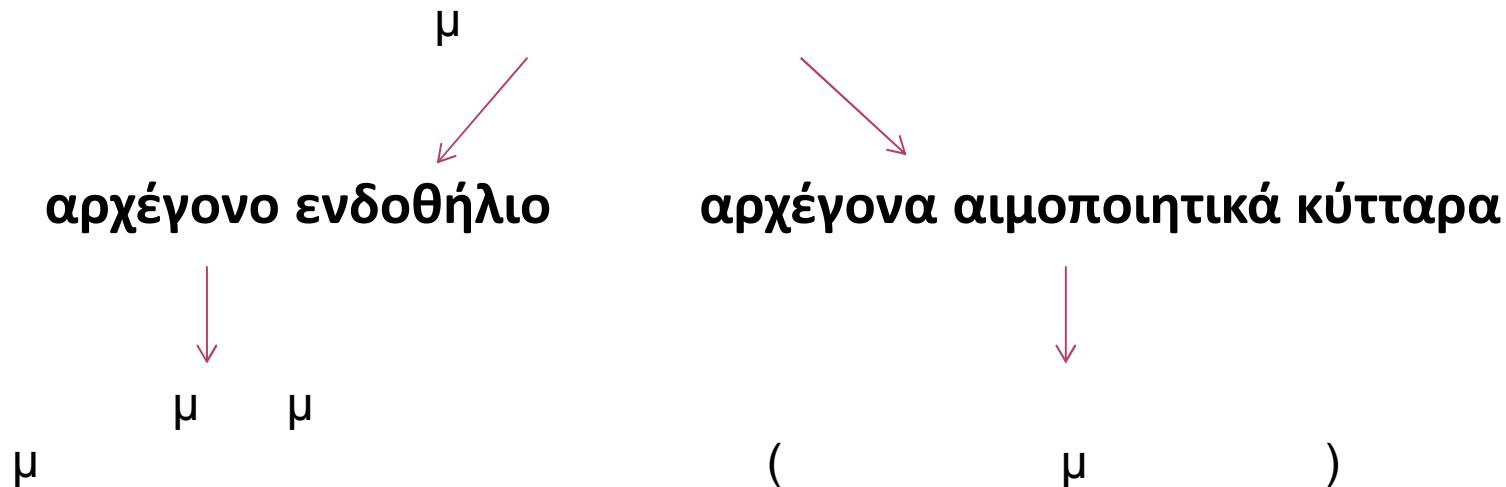
Source: "Sites of hematopoiesis," by Michał Komorniczak

# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ – ΕΜΒΡΥΪΚΗ

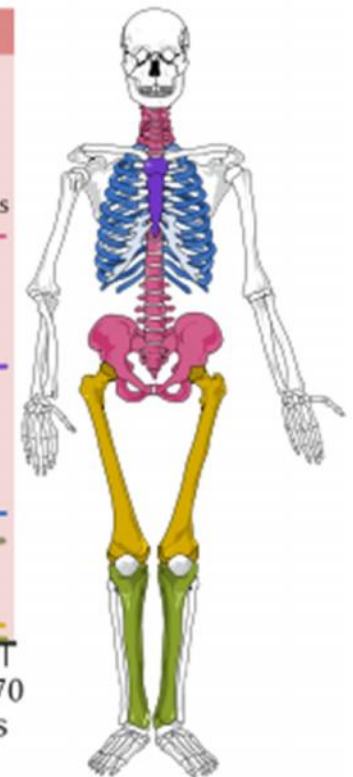
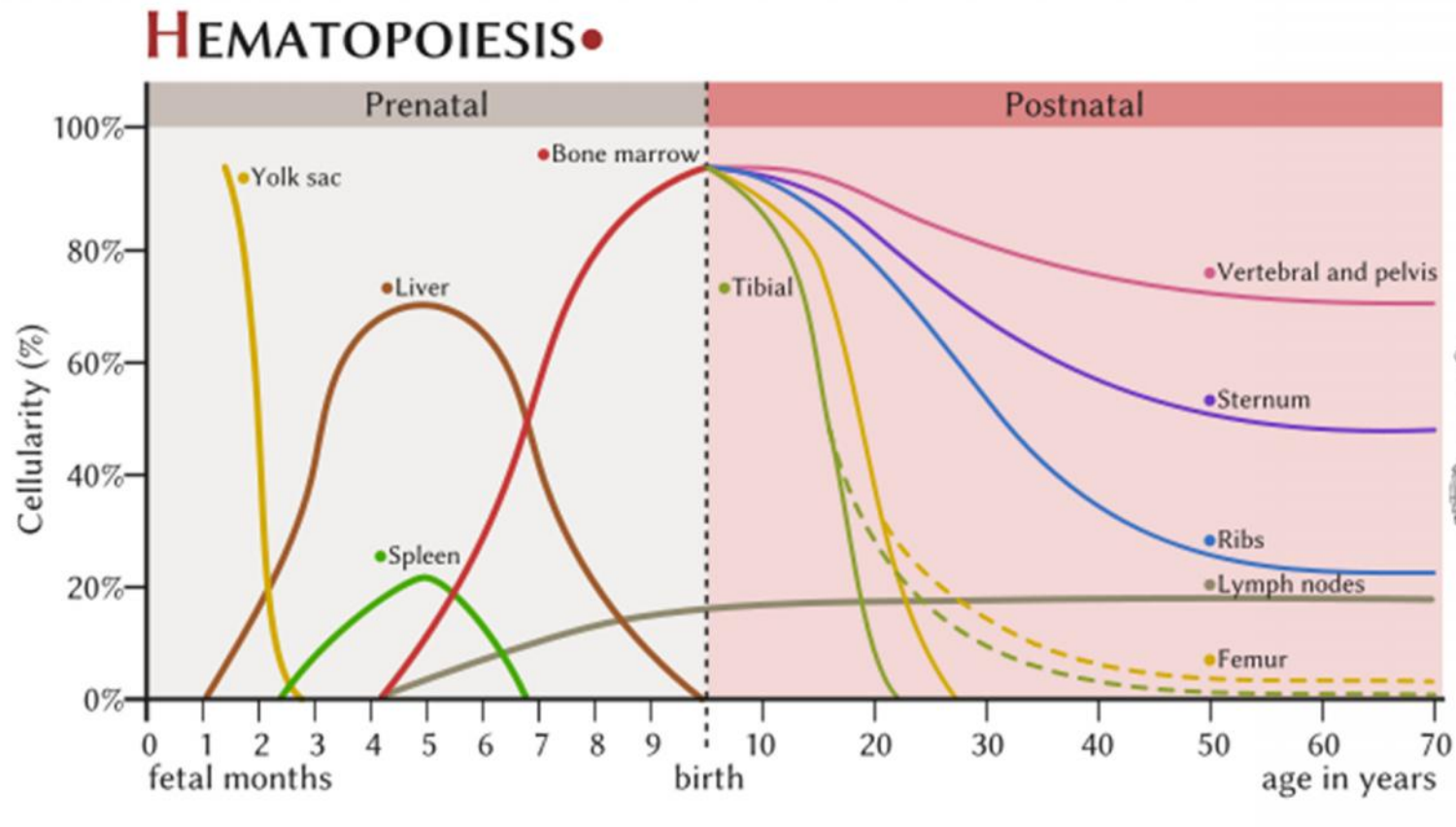
## Μεσοβλαστική Περίοδος

Από την 3<sup>η</sup> εβδομάδα (19<sup>η</sup> μέρα) κύησης έως τέλη 2<sup>ου</sup> μήνα η αιμοποίηση πραγματοποιείται στο **λεκιθικό ασκό**.

### Αιμοκυττοβλάστες/ Αιμαγγειοβλάστες



# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Source: "Sites of hematopoiesis," by Michał Komorniczak

# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ – ΕΜΒΡΥΪΚΗ

## Ηπατο-σπληνική Περίοδος

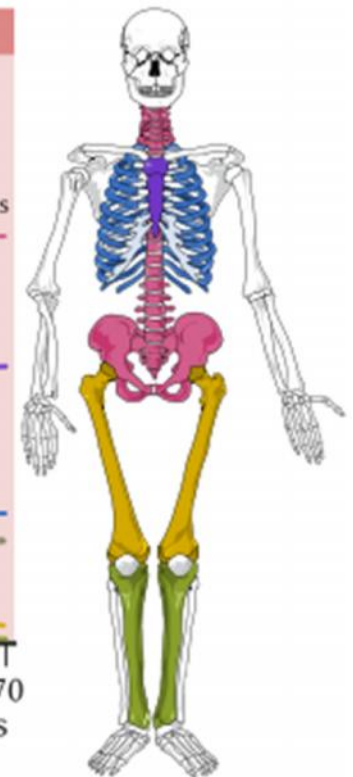
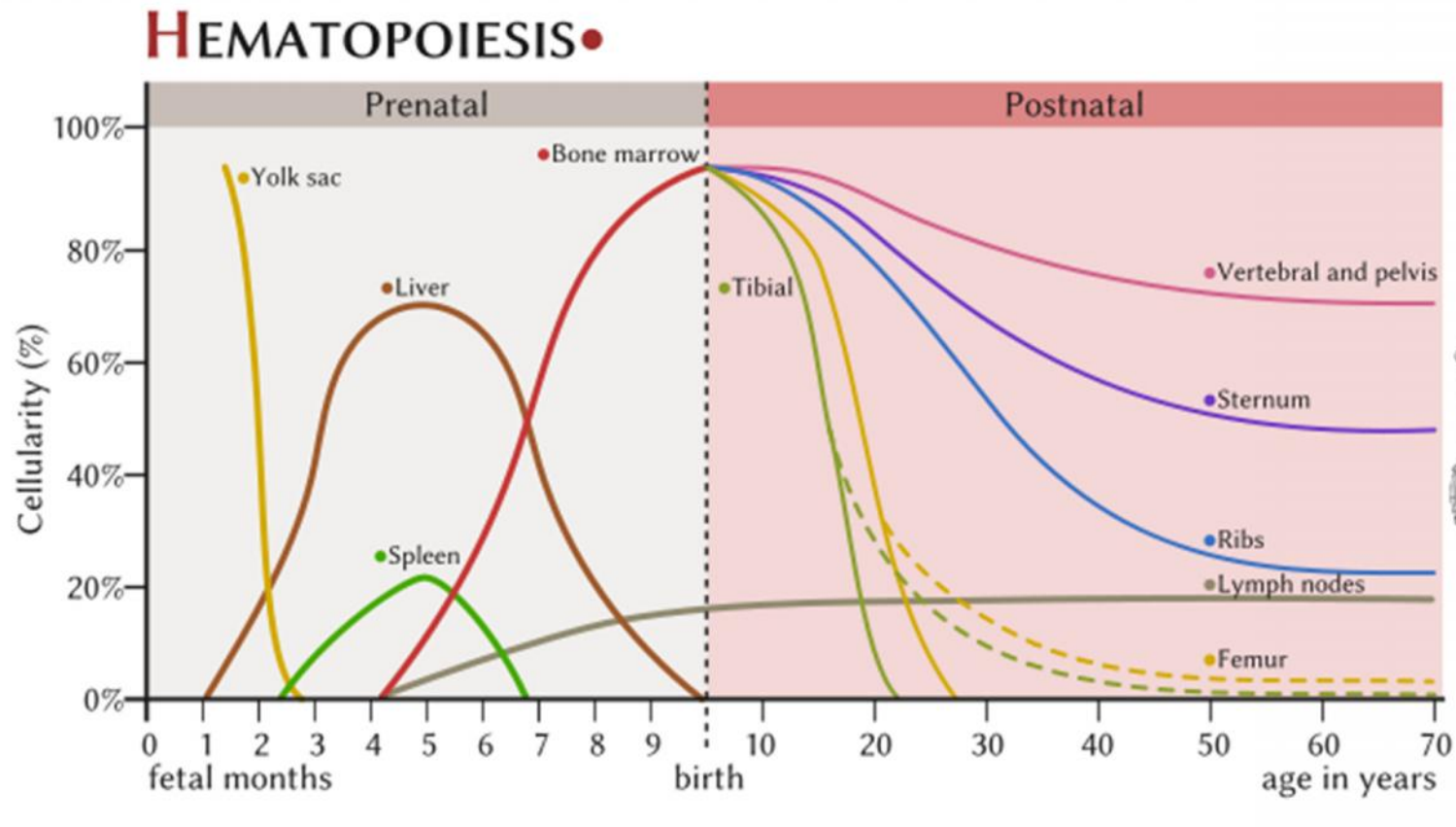
Από την 6<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα μεταναστεύουν στο **εμβρυϊκό ήπαρ**. Τα περισσότερα από αυτά έχουν αιμοσφαιρίνη στο πρωτόπλασμά τους- **αρχέγονοι ερυθροβλάστες**.

Η αιμοποίηση είναι πλέον **εξωαγγειακή** και πραγματοποιείται μέσα στις **αιμοποιητικές φωλιές**.

Κατά την 7<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης, εμφανίζονται τα **ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα** και **αιμοπετάλια**.

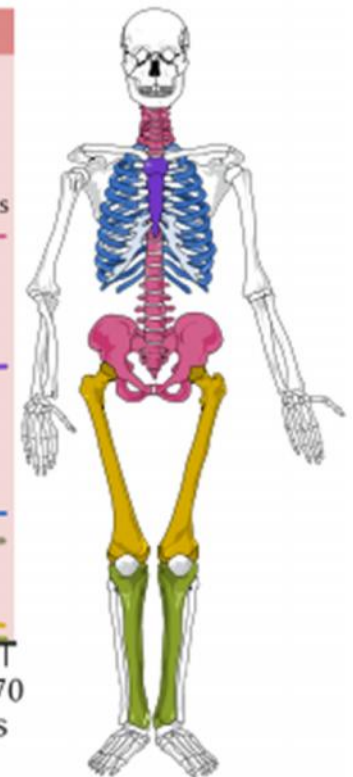
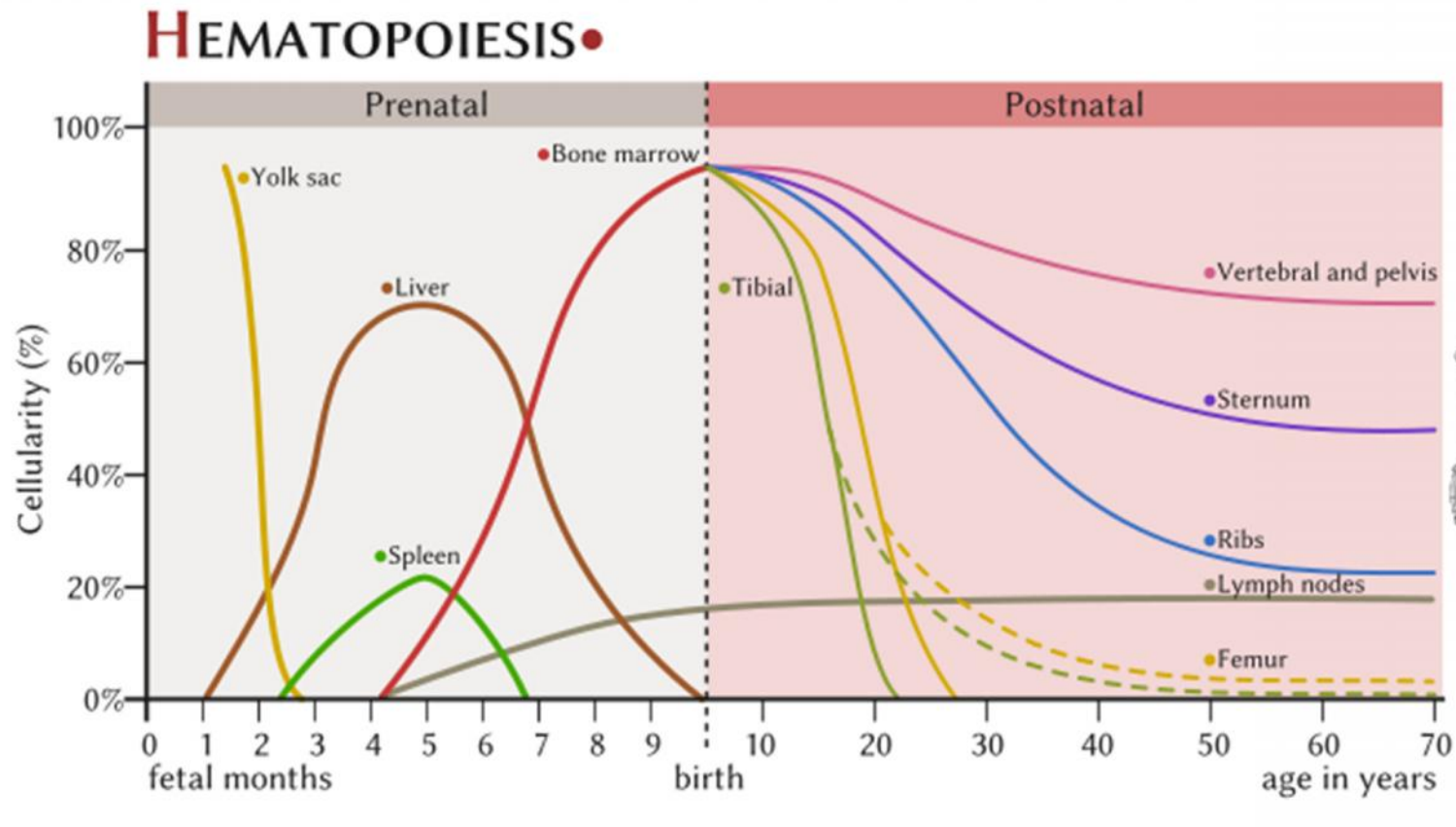
Η ηπατική αιμοποίηση φτάνει στο μέγιστο γύρω στον 4<sup>ο</sup>-5<sup>ο</sup> μήνα και φθίνει έως ότου να σταματήσει στη γέννηση.

# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Source: "Sites of hematopoiesis," by Michał Komorniczak

# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Source: "Sites of hematopoiesis," by Michał Komorniczak



# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ – ΕΜΒΡΥΪΚΗ

## Ηπατο-σπληνική Περίοδος

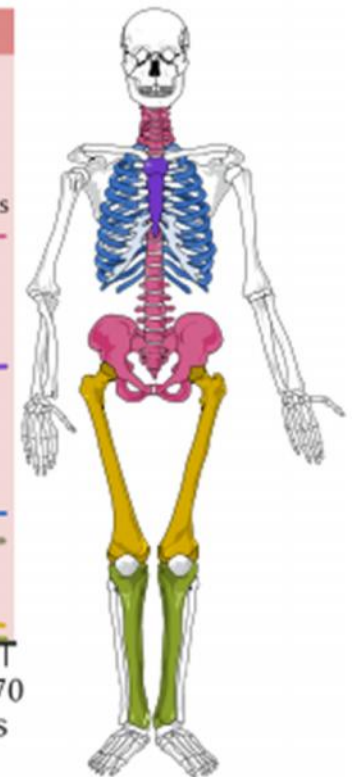
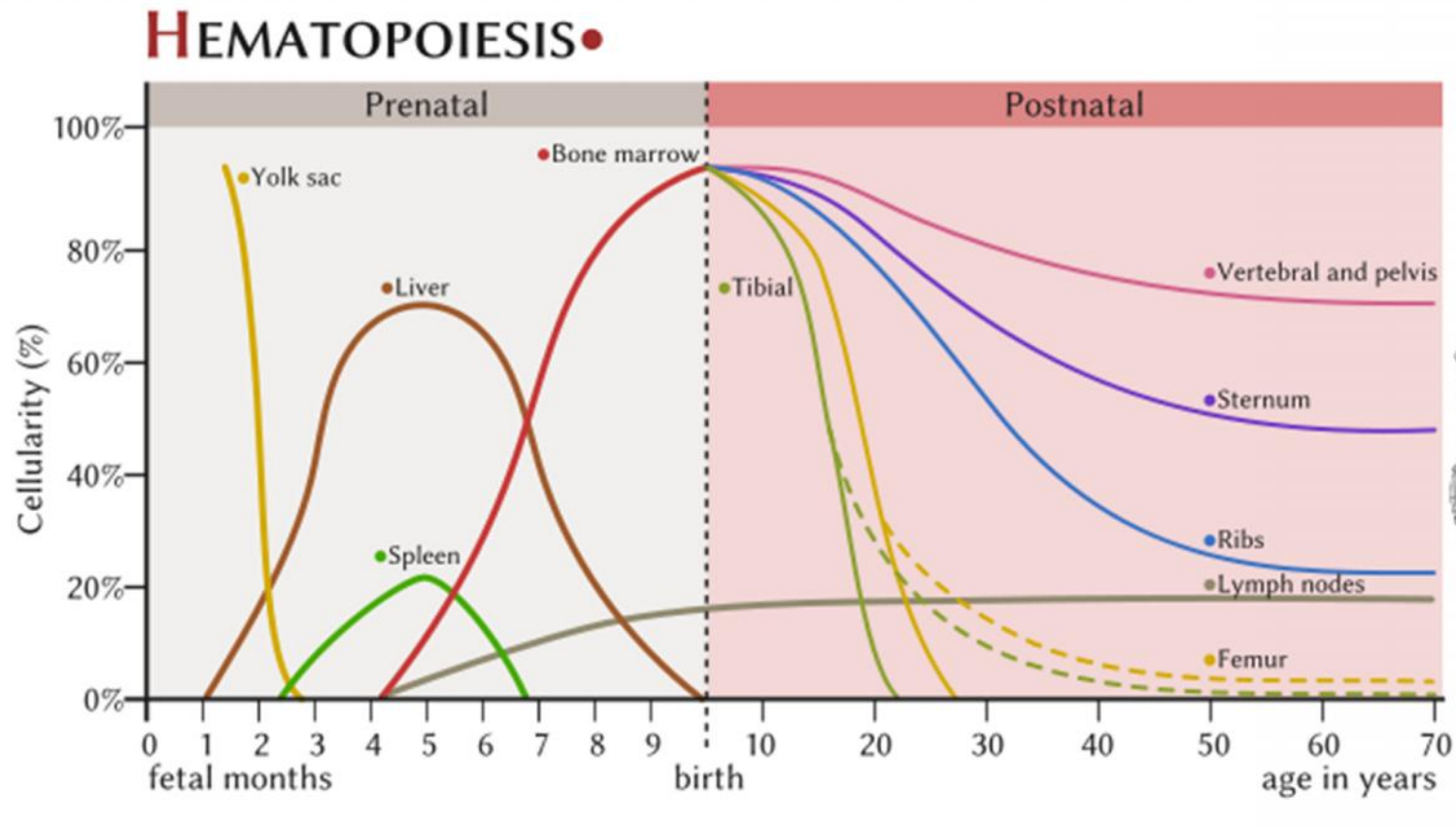
Από την 8<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης, ο **σπλήνας** αρχίζει να παράγει κυρίως **ερυθροκύτταρα**, και μικρό αριθμό **κοκκιοκυττάρων** και **αιμοπεταλίων**.

Η αιμοποίηση είναι **εξωαγγειακή**.

Η σπληνική αιμοποίηση φτάνει στο μέγιστο γύρω στον 4ο μήνα και φθίνει έως ότου να σταματήσει λίγο μετά τον 6<sup>ο</sup>.

Ακριβώς πριν τη γέννηση, η **λεμφοποίηση** αποτελεί μια σημαντική λειτουργία του σπλήνα

# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



Source: "Sites of hematopoiesis," by Michał Komorniczak

# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ – ΕΜΒΡΥΪΚΗ

## Μυελική Περίοδος

Από τη 10<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης η αιμοποίηση μετατοπίζεται σταδιακά στο **μυελό των οστών**.

Από την 24<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης αποτελεί την κύρια πηγή παραγωγής των εμμόρφων συστατικών του αίματος.

Η αιμοποίηση είναι **εξωαγγειακή**.

Από τη γέννηση και έπειτα είναι μοναδική πηγή παραγωγής όλων των αιματικών κυττάρων πλην των **λεμφοκυττάρων**, που παράγονται στο **θύμο αδένα** και τα **περιφερικά λεμφικά όργανα**.

# ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ – ΕΜΒΡΥΪΚΗ

## Μυελική Περίοδος

Από τη 10<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης η αιμοποίηση μετατοπίζεται σταδιακά στο **μυελό των οστών**.

Από την 24<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης αποτελεί την κύρια πηγή παραγωγής των εμμόρφων συστατικών του αίματος.

Η αιμοποίηση είναι **εξωαγγειακή**.

Από τη γέννηση και έπειτα είναι μοναδική πηγή παραγωγής όλων των αιματικών κυττάρων πλην των **λεμφοκυττάρων**, που παράγονται στο **θύμο αδένα** και τα **περιφερικά λεμφικά όργανα**.

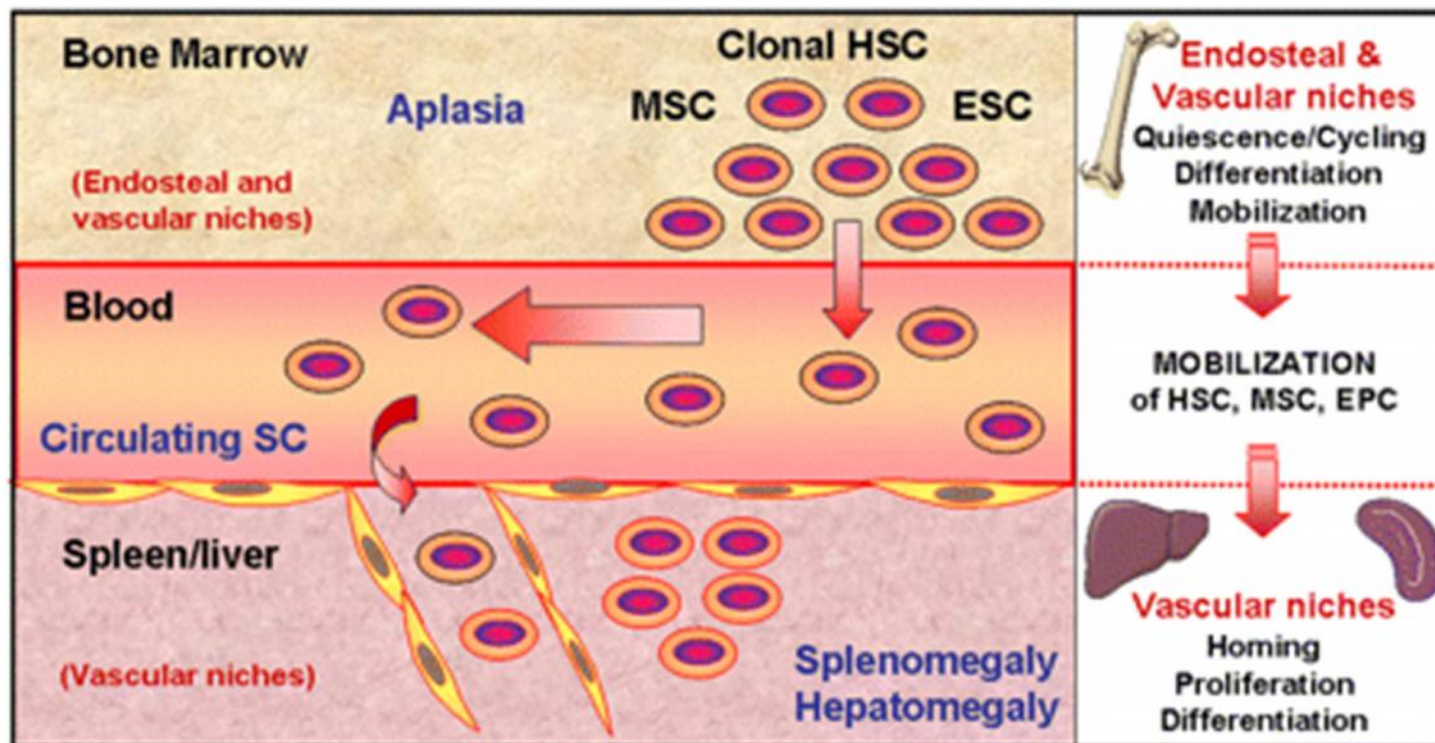
**Η εξωμυελική αιμοποίηση μετά τη γέννηση είναι ΠΑΝΤΟΤΕ παθολογική**

# ΕΞΩΜΥΕΛΙΚΗ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗ - Μυελοΐνωση

Ίνωση του μυελού των οστών -> Εξωμυελική αιμοποίηση

Υπερκυτταρικός μυελός με περίσσεια παθολογικών μεγακαρυοκυττάρων -> αυξητικοί παράγοντες -> πολλαπλασιασμός ινοβλαστών -> ίνωση

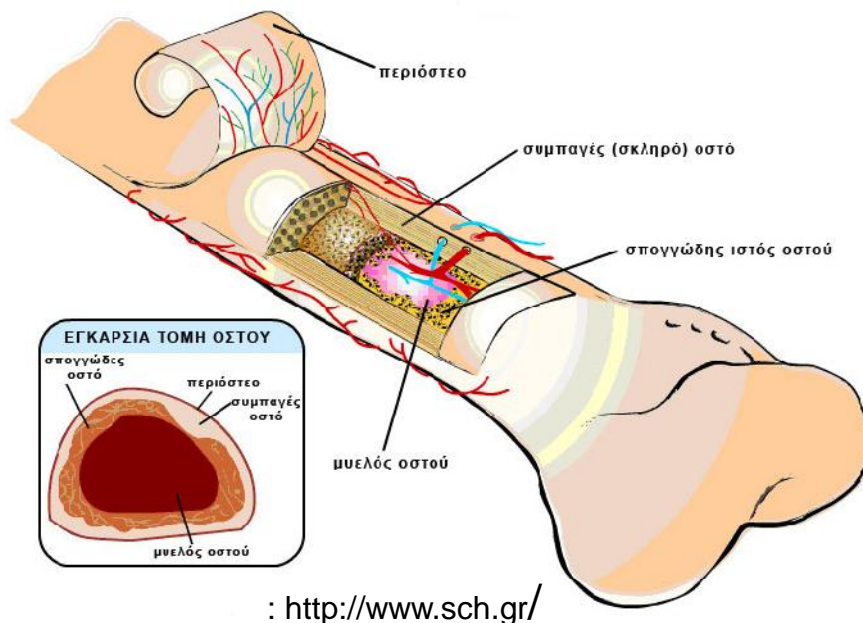
Σπληνομεγαλία, ηπατομεγαλία



Jean-Jacques Lataillade et al. Blood.2008;Vol.112(8):3026-3035

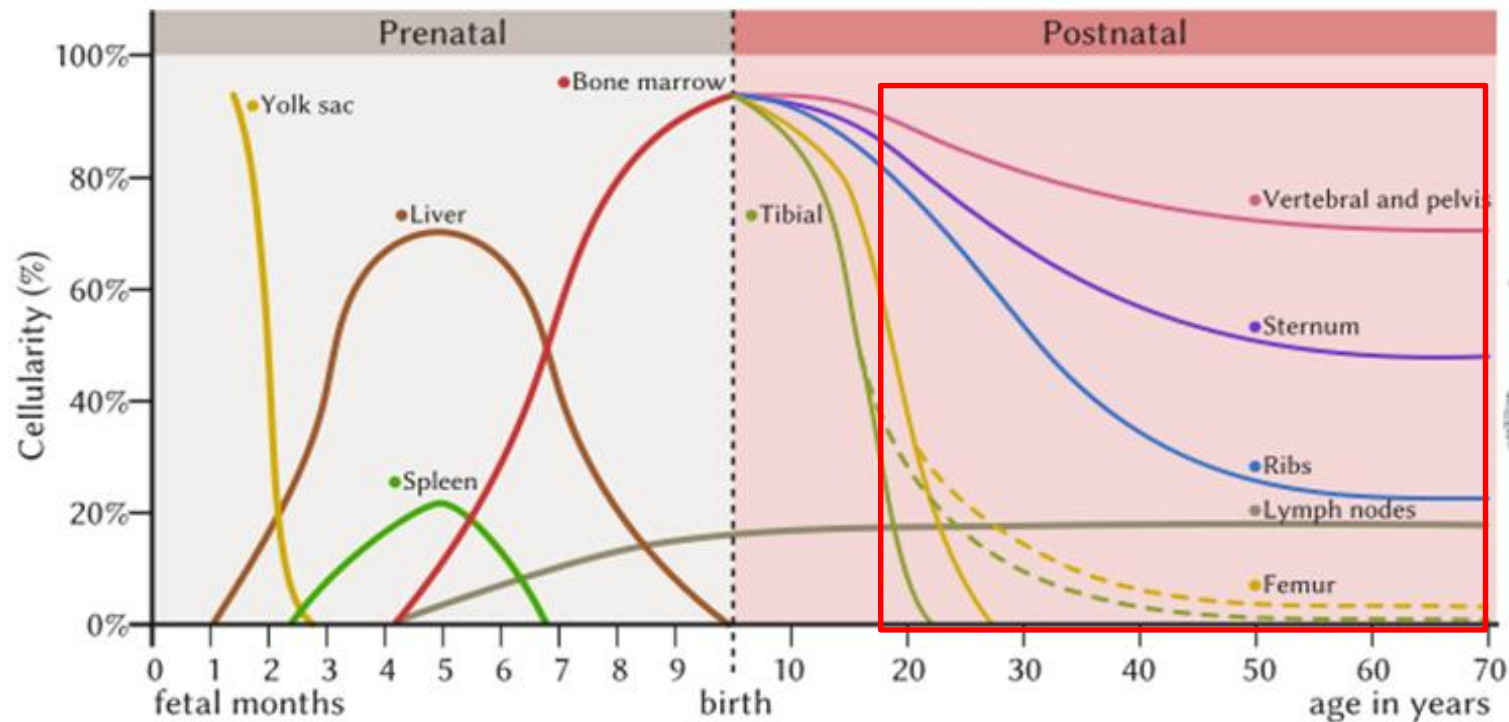
## ΜΥΕΛΟΣ των ΟΣΤΩΝ

- Βρίσκεται μέσα στις οστικές κοιλότητες που επενδύονται εσωτερικά με ένα παχύ στρώμα συνδετικολιπώδους ιστού
- «Ωχρός Μυελός» - συνδετικολιπώδες στρώμα
- «Ερυθρός μυελός» - αιμοπαραγωγικό μυελικό όργανο.



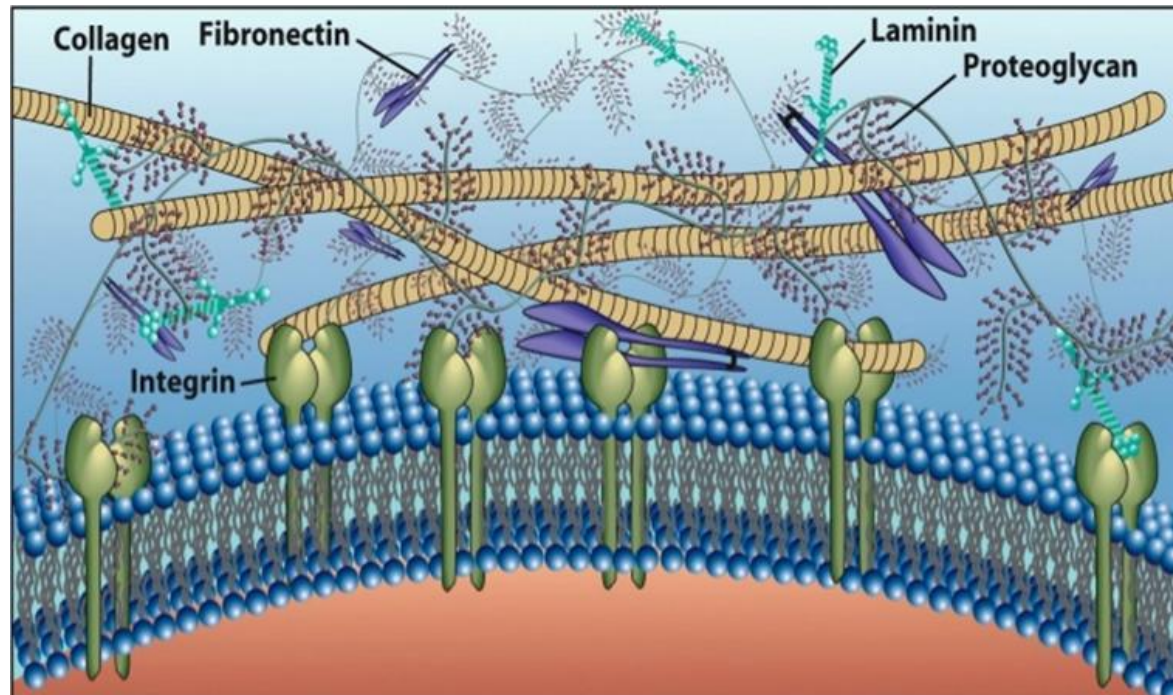
## ΜΥΕΛΟΣ των ΟΣΤΩΝ

- Στους ενήλικες βρίσκεται κυρίως στους σπονδύλους, στα πλατιά οστά της λεκάνης, τα πλευρά, το στέρνο, τις κλείδες, το θόλο κρανίου, τα άπω τμήματα των μακρών οστών άνω και κάτω άκρων (εγγύς επιφύσεις βραχιονίου και μηριαίου οστού)



## ΜΥΕΛΟΣ των ΟΣΤΩΝ

- Τρισδιάστατο πλέγμα από **ινίδια**, **αγγεία**, **στρωματικά και μη κύτταρα** που συγκρατούνται από μια **άμορφη πρωτεϊνούχο εξωκυττάρια ουσία** (extracellular matrix) ανάμεσα στις οστικές δοκίδες.



Εξωκυττάρια  
ουσία

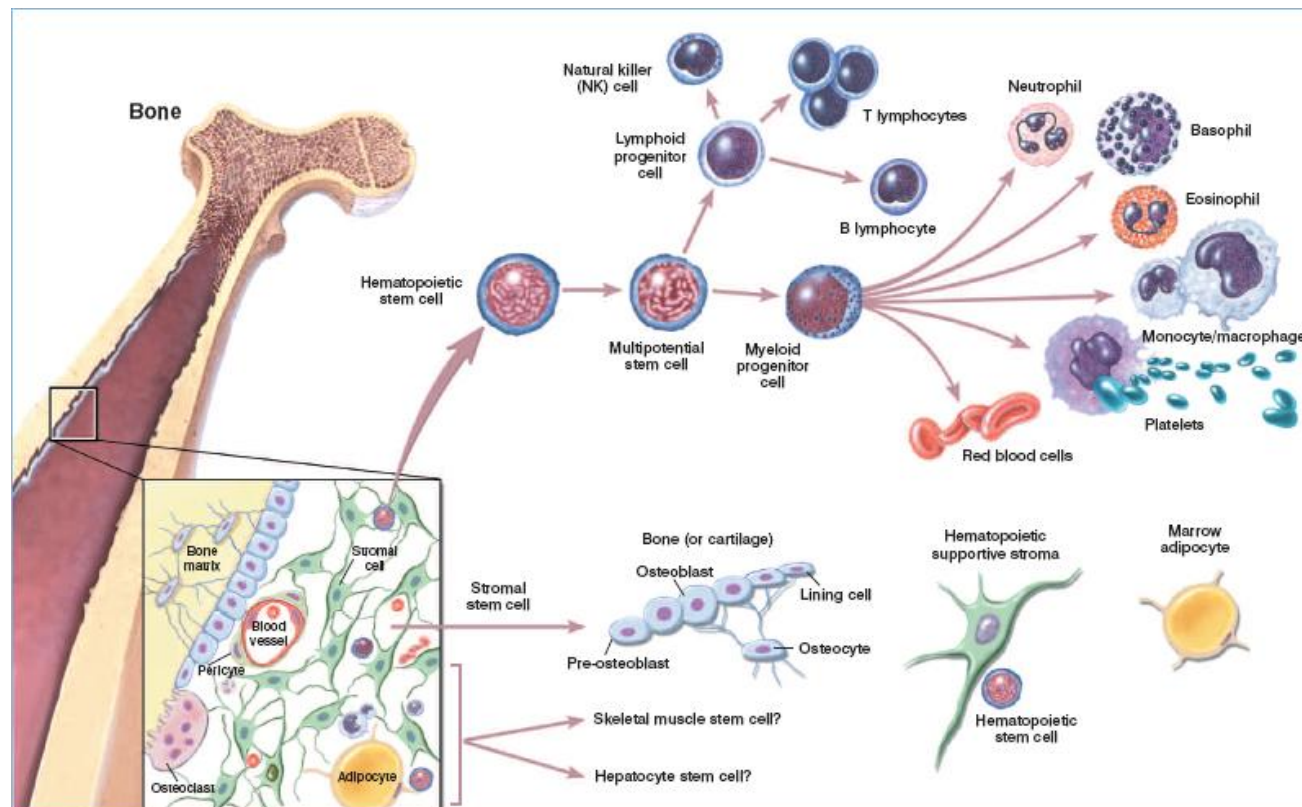


# ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

- **Ινίδια:** ίνες κολλαγόνου, συνδετικές, δικτυωτές και ελαστικές ίνες
- **Αγγεία:** αρτηρίες, τριχοειδή, λεμφαγγεία, φλέβες, κολποειδή, μυελικοί φλεβόκολποι, (**θυριδωτό ενδοθήλιο**, επιτρέπει στα ώριμα αιματικά κύτταρα να περνούν στην κυκλοφορία)
- **Κύτταρα στρώματος (αυτόχθονα)**
  - Ινοβλάστες, Δικτυωτά κύτταρα
  - Λιποκύτταρα
  - Μακροφάγα
  - Οστεοβλάστες, Οστεοκλάστες
  - Ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών & κολποειδών
  - Μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα
- **Κύτταρα στρώματος (ετερόχθονα)**
  - Λεμφοκύτταρα
  - Μονοκύτταρα/Μφ
- **Άμορφη πρωτεϊνούχος ουσία**
  - Κολλαγόνο I, IV
  - Πρωτεΐνες προσκόλλησης (γλυκοζαμινογλυκάνες(GAG), λαμινίνη, αιμονεκτίνη, φμπρονεκτίνη)

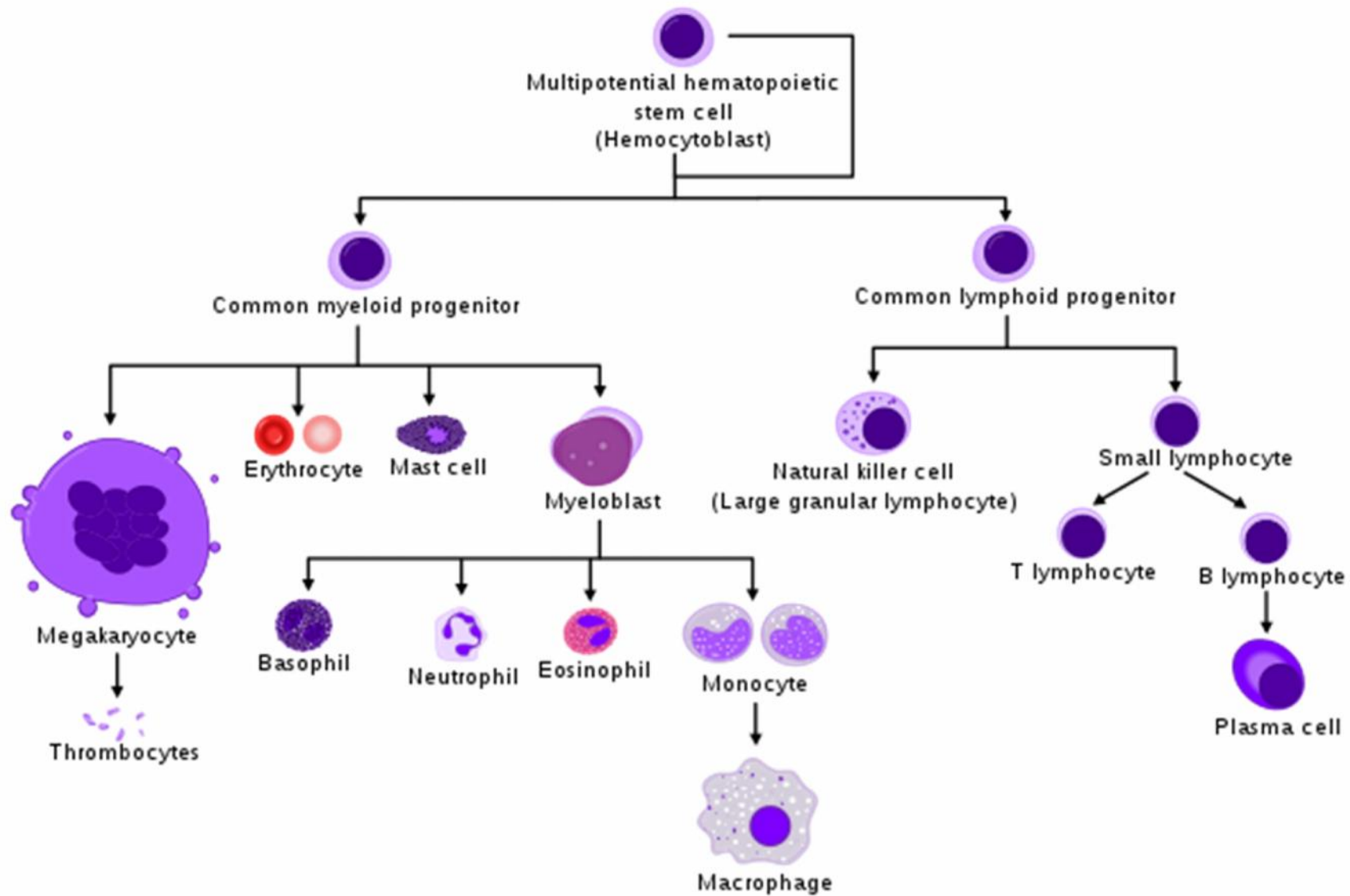
## ΜΥΕΛΟΣ των ΟΣΤΩΝ

- Το πλέγμα σχηματίζει **νησίδες / φωλιές (niches)**, μέσα στις οποίες βρίσκονται, πολλαπλασιάζονται, διαφοροποιούνται και ωριμάζουν οι **αιμοποιητικές κυτταρικές προβαθμίδες**.



Source: <https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/>

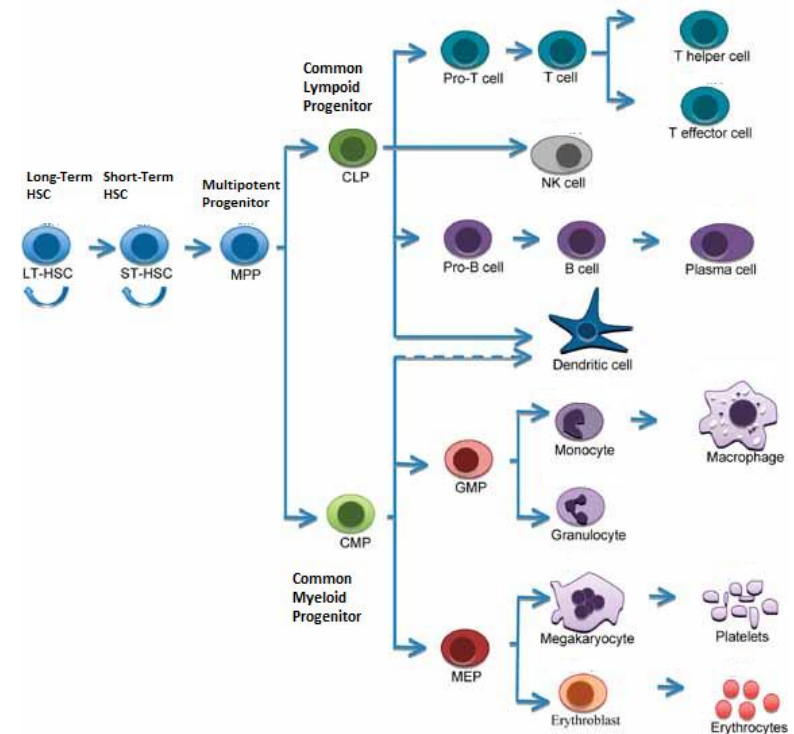
# ΙΕΡΑΡΧΙΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ



# ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

- Τα αιμοποιητικά κύτταρα διαιρούνται σε 4 ομάδες ανάλογα με την ικανότητά τους για **αυτοανανέωση**, κυτταρική διαίρεση και δυνατότητα σχηματισμού διαφόρων κυτταρικών τύπων:

- Τα **πολυδύναμα αρχέγονα** κύτταρα
- τα **προγονικά δεσμευμένα** κύτταρα
- τα **πρόδρομα** κύτταρα (βλάστες)
- τα **ώριμα** κύτταρα



# ΑΥΤΟΑΝΑΝΕΩΣΗ vs ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ

Μεταβολές των ιδιοτήτων των αιμοποιητικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης.

Αρχέγονα κύτταρα	Προγονικά κύτταρα	Πρόδρομα κύτταρα (βλάστες)	Ωριμα κύτταρα
Δυνητικότητα		Μιτωτική δραστηριότητα	
			Ευδιάκριτα μορφολογικά χαρακτηριστικά
Ικανότητα αυτοανανέωσης		Επίδραση αυξητικών παραγόντων	
			Διαφοροποιημένη λειτουργική δραστηριότητα

# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (stem cells)

## -Μικρή δεξαμενή

- 0.05-0.1% του συνόλου των αιμοποιητικών κυττάρων του ΜΟ
- $\sim 1-2 \times 10^6$ / άτομο αρχέγονα κύτταρα

## -Αυτοανανέωση

Τεράστιες δυνατότητες παραγωγής

- Παραγωγή  $> 100 \times 10^9$  κυττάρων/ ημέρα

## -Αναγνώριση

- Δεν είναι μορφολογικά αναγνωρίσιμα με τις συνήθεις τεχνικές.
- Εντόπιση ειδικών επιφανειακών αντιγόνων με ανοσοϊστοχημεία

## -Ήρεμη δύναμη

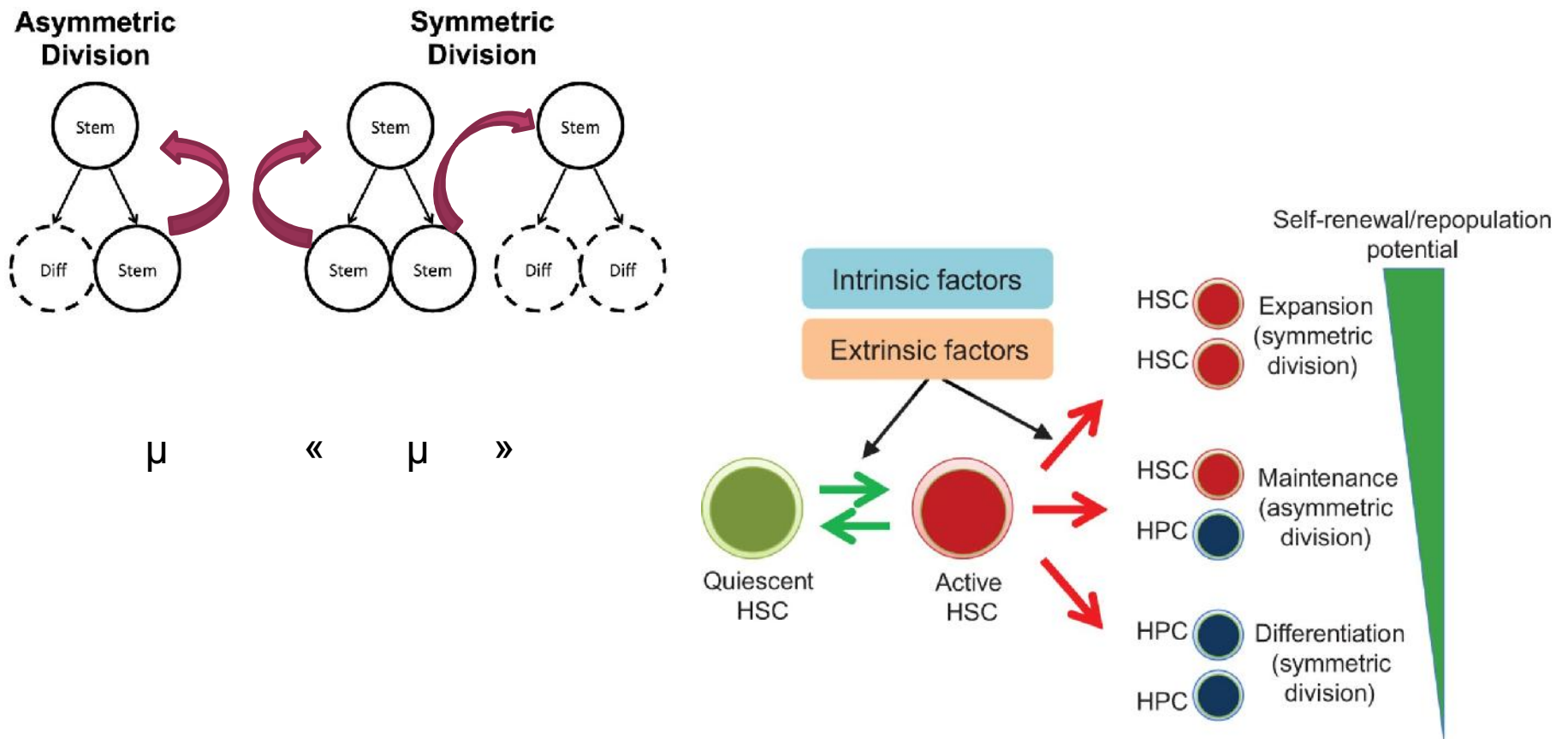
- Το 5% μόνο σε κυτταρικό κύκλο
- Το 95% εκτός κυτταρικού κύκλου( φάση ηρεμίας,  $G_0$ ) – διαμέρισμα «εφεδρείας»

## ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (stem cells)

Η παραγωγή των ώριμων κυττάρων του αίματος (αιμοποίηση) γίνεται με την δραστηριοποίηση μερικών από αυτά τα **πολυδύναμα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα**, ανάλογα τις εκάστοτε ανάγκες του οργανισμού, που δεσμεύονται για την παραγωγή κάθε μιας ξεχωριστής κυτταρικής σειράς.

Η εξάντληση ενός από αυτά τα αρχέγονα αιμοποιητικά 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.

# ΣΥΜΜΕΤΡΙΚΗ / ΜΗ-ΣΥΜΜΕΤΡΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΙΑΙΡΕΣΗ





# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (stem cells)

## -Μικρή δεξαμενή

- 0.05-0.1% του συνόλου των αιμοποιητικών κυττάρων του ΜΟ
- $\sim 1-2 \times 10^6$ / άτομο αρχέγονα κύτταρα

## -Αυτοανανέωση

## -Τεράστιες δυνατότητες παραγωγής

- Παραγωγή  $> 100 \times 10^9$  κυττάρων/ ημέρα

## -Αναγνώριση

- Δεν είναι μορφολογικά αναγνωρίσιμα με τις συνήθεις τεχνικές.
- Εντόπιση ειδικών επιφανειακών αντιγόνων με ανοσοϊστοχημεία

## -Ήρεμη δύναμη

- Το 5% μόνο σε κυτταρικό κύκλο
- Το 95% εκτός κυτταρικού κύκλου( φάση ηρεμίας,  $G_0$ ) – διαμέρισμα «εφεδρείας»

# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (stem cells)

## -Μικρή δεξαμενή

- 0.05-0.1% του συνόλου των αιμοποιητικών κυττάρων του ΜΟ
- $\sim 1-2 \times 10^6$ / άτομο αρχέγονα κύτταρα

## -Αυτοανανέωση

## -Τεράστιες δυνατότητες παραγωγής

- Παραγωγή  $> 100 \times 10^9$  κυττάρων/ ημέρα

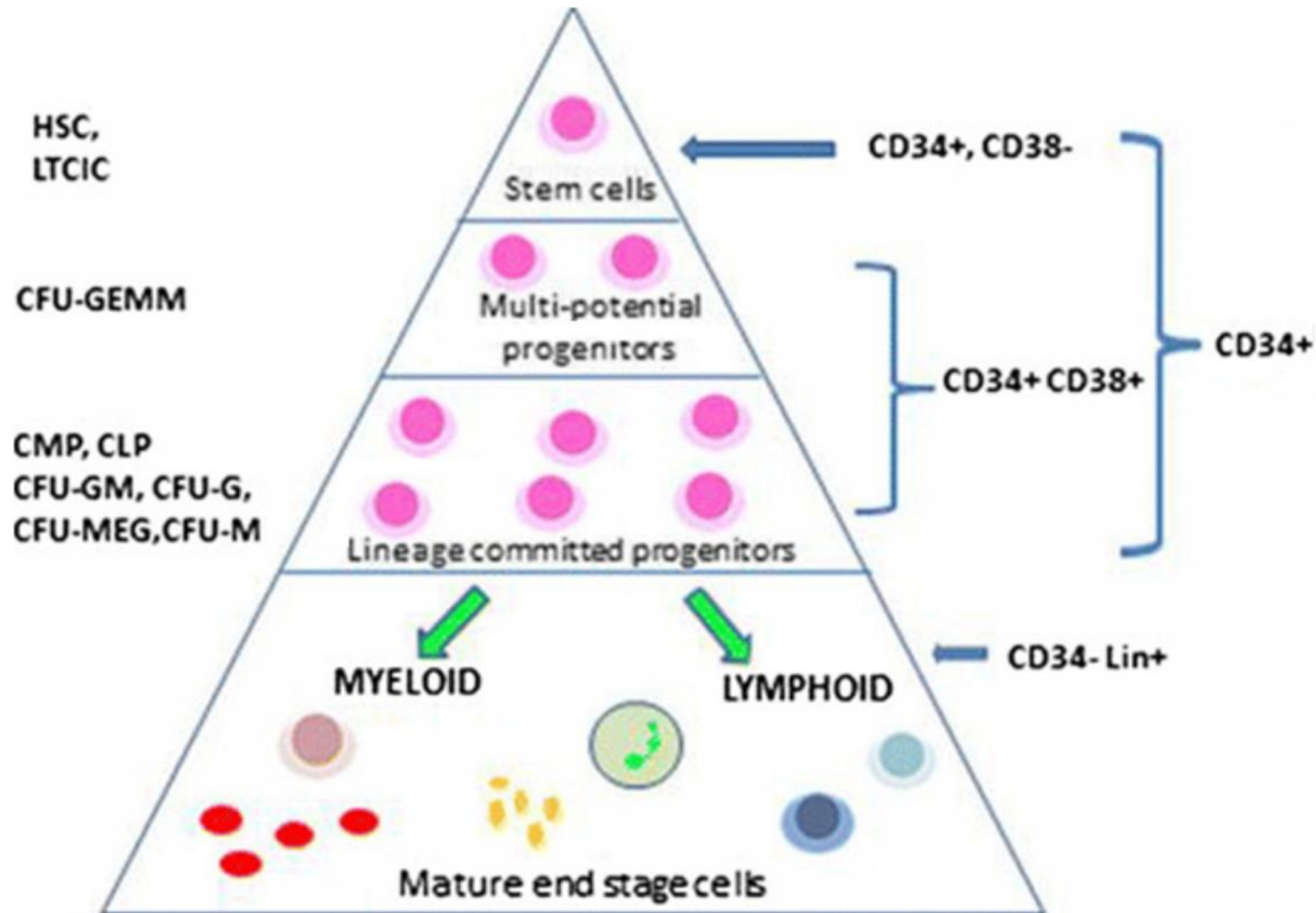
## -Αναγνώριση

- Δεν είναι μορφολογικά αναγνωρίσιμα με τις συνήθεις τεχνικές.
- Εντόπιση ειδικών επιφανειακών αντιγόνων με ανοσοϊστοχημεία

## -Ήρεμη δύναμη

- Το 5% μόνο σε κυτταρικό κύκλο
- Το 95% εκτός κυτταρικού κύκλου( φάση ηρεμίας,  $G_0$ ) – διαμέρισμα «εφεδρείας»

# ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ



# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (stem cells)

## -Μικρή δεξαμενή

- 0.05-0.1% του συνόλου των αιμοποιητικών κυττάρων του ΜΟ
- $\sim 1-2 \times 10^6$ / άτομο αρχέγονα κύτταρα

## -Αυτοανανέωση

## -Τεράστιες δυνατότητες παραγωγής

- Παραγωγή  $> 100 \times 10^9$  κυττάρων/ ημέρα

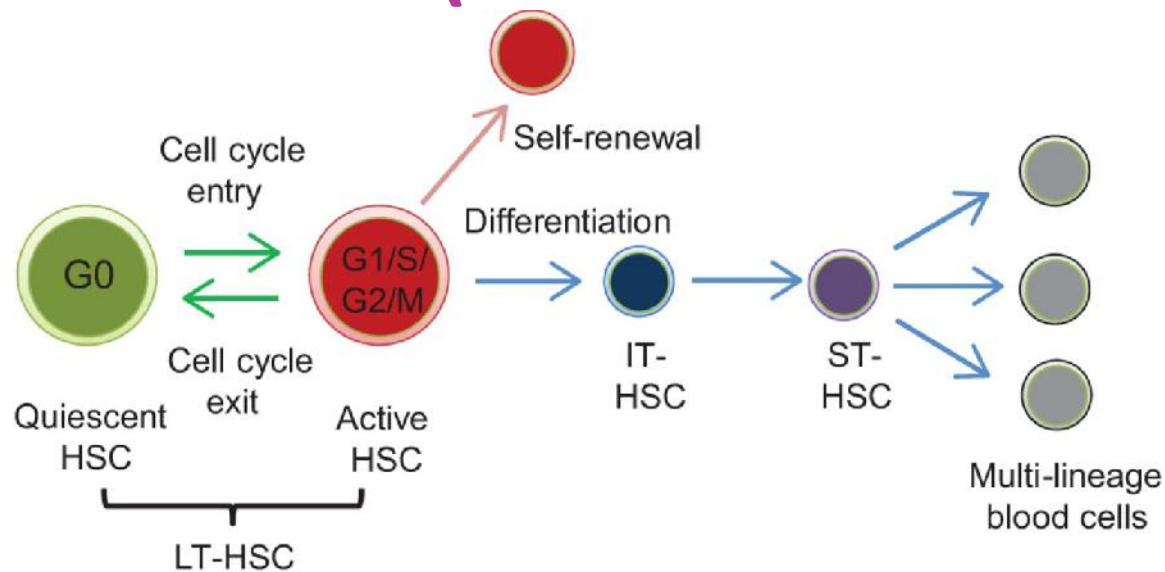
## -Αναγνώριση

- Δεν είναι μορφολογικά αναγνωρίσιμα με τις συνήθεις τεχνικές.
- Εντόπιση ειδικών επιφανειακών αντιγόνων με ανοσοϊστοχημεία

## -Ήρεμη δύναμη

- Το 5% μόνο σε κυτταρικό κύκλο
- Το 95% εκτός κυτταρικού κύκλου( φάση ηρεμίας,  $G_0$ ) – **διαμέρισμα «εφεδρείας»**

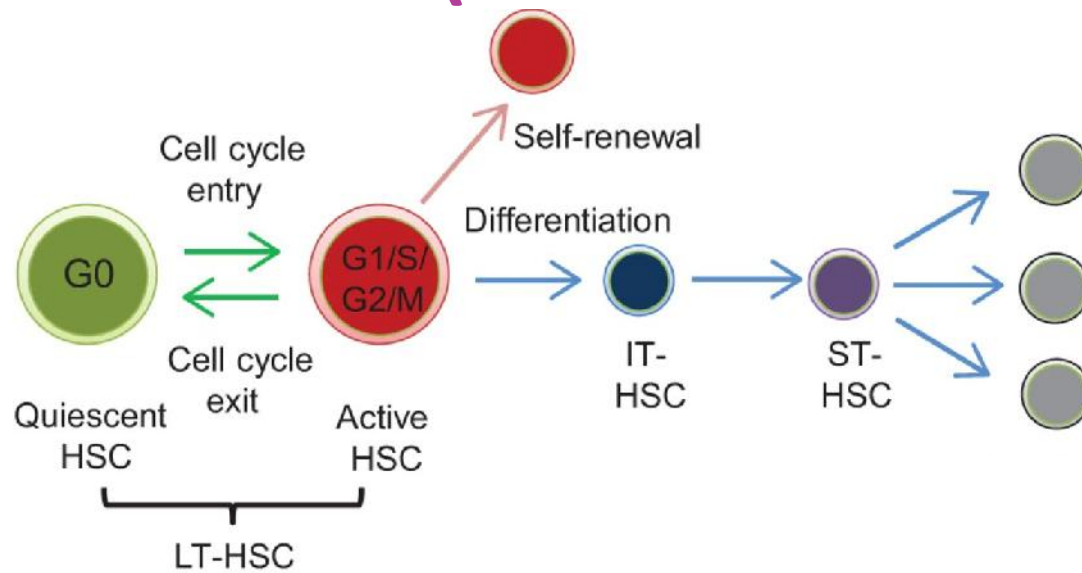
# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ)



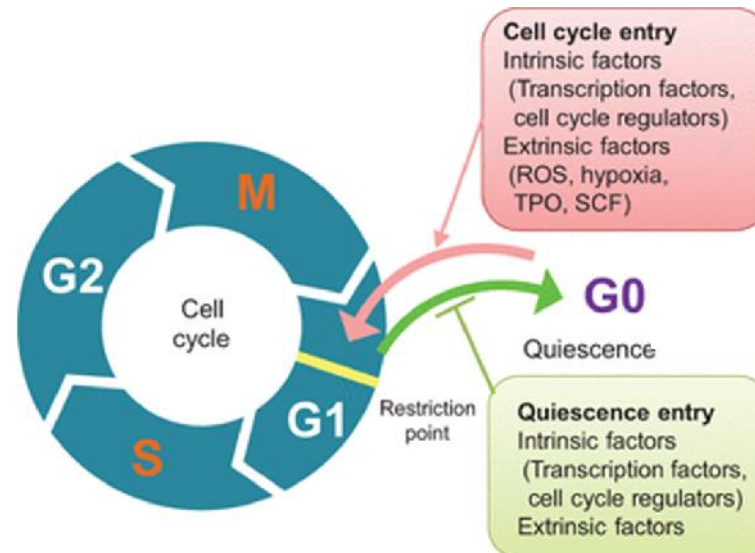
Η ικανότητα για αυτοανανέωση δεν είναι επαρκής για τη μακρόχρονη διατήρηση λειτουργικών αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSC), καθώς η συσσώρευση βλαβών σε τόσο μακρόβια κύτταρα μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία της αιμοποίησης (όπως σε σύνδρομο μυελικής ανεπάρκειας, λευχαιμογένεση, κτλ).

Επομένως, πρέπει το κύτταρο να διατηρείται σε φάση ηρεμίας (Quiescence).

# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ)



Τα αρχέγονα κύτταρα βγαίνουν από τη φάση ηρεμίας G0 όταν ενεργοποιούνται από εξωγενείς ή ενδογενείς παράγοντες.

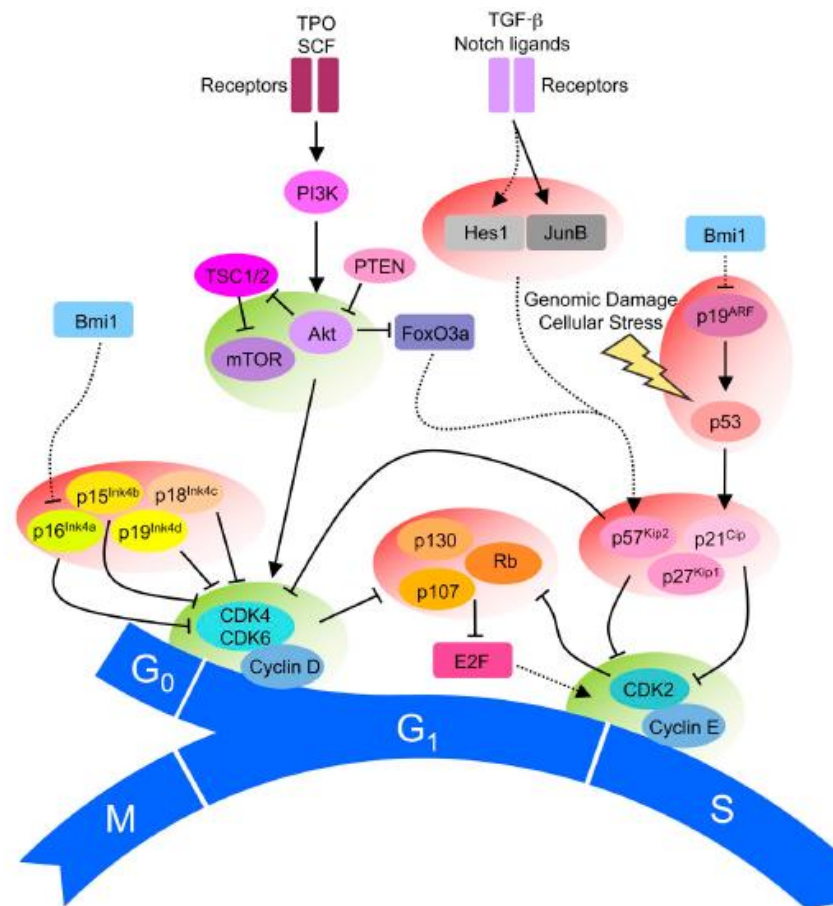


# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ)

Η εισαγωγή των αρχέγονων κυττάρων στον κυτταρικό κύκλο ρυθμίζεται από ένα περίπλοκο δίκτυο ενδογενών και εξωγενών παραγόντων.

Η εισαγωγή από **G<sub>0</sub> – G<sub>1</sub> φάση**, ρυθμίζεται κυρίως από το μονοπάτι PI3K/Akt/mTOR όπου ενεργοποιεί το σύμπλεγμα **Cyclin D–Cdk4/6**.

Η εισαγωγή από **G<sub>1</sub> – S φάση**, ρυθμίζεται από το σύμπλεγμα **Cyclin E–Cdk2**.



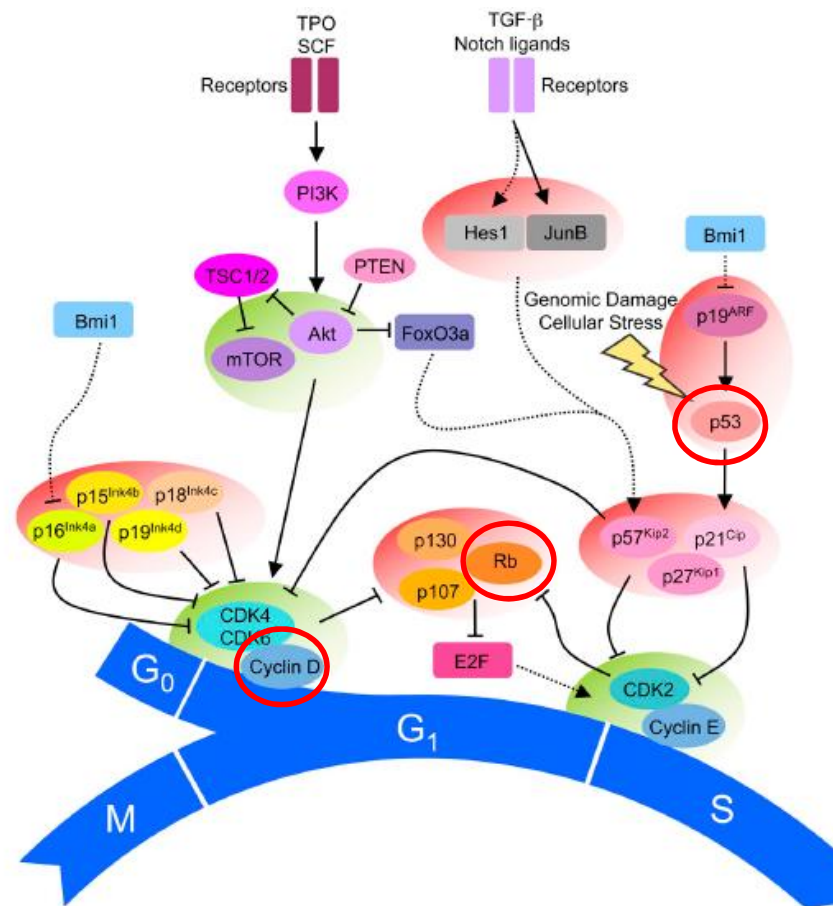
# ΑΡΧΕΓΟΝΑ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ)

Πολλά μόρια και παράγοντες που επηρεάζουν τον κυτταρικό κύκλο εμπλέκονται στην παθογένεια αιματολογικών κακοηθειών.

**Cyclin D1** – Λέμφωμα Μανδύα

**Rb** – Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία (ΧΛΛ), Μυέλωμα

**P53** – ΧΛΛ, Μυέλωμα, Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία





## ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

- **Στοχαστικό Μοντέλο (Stochastic Model):**

είναι εντελώς τυχαίο αν ένα κύτταρο θα διαφοροποιηθεί ή θα αυτοανανεωθεί

- **Προσδιοριστικό Μοντέλο (Deterministic model):**

Η τύχη του κυττάρου καθορίζεται από μεταγραφικούς παράγοντες, κυτταροκίνες και άλλους διαλυτούς εξωκυττάριους παράγοντες

# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Αυξητικοί αιμοποιητικοί παράγοντες

- Διαλυτοί ή μεμβρανικοί
- Δρουν τοπικά ή συστηματικά
- Αλληλεπιδρούν με τα αιμοποιητικά κύτταρα
- Έλεγχος αιμοποίησης (Πολλαπλασιασμός, Διαφοροποίηση, επιβίωση πρόδρομων κυττάρων, Προάγουν τη λειτουργία των ώριμων κυττάρων
- Έκκριση από τα κύτταρα του αιμοποιητικού μικροπεριβάλλοντος (ενδοθηλιακά κύτταρα , ινοβλάστες, στρωματικά κύτταρα) ή τα λεμφοκύτταρα ή μεταφορά στο μυελό των οστών από την περιφέρεια με την κυκλοφορία

# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Κυριότεροι Αιμοποιητικοί παράγοντες

### Με Αυξητική Δράση

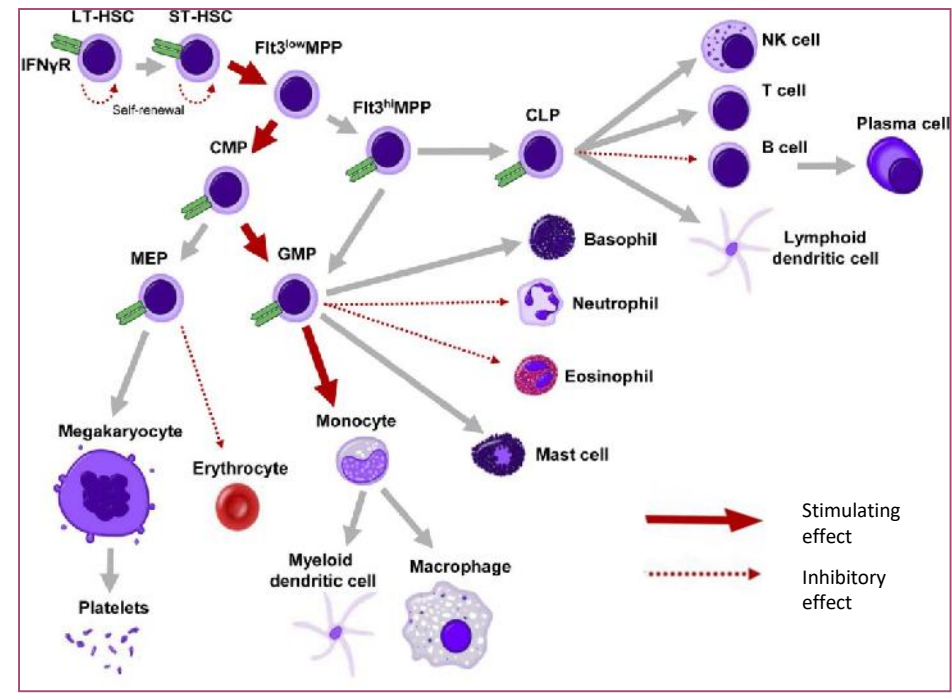
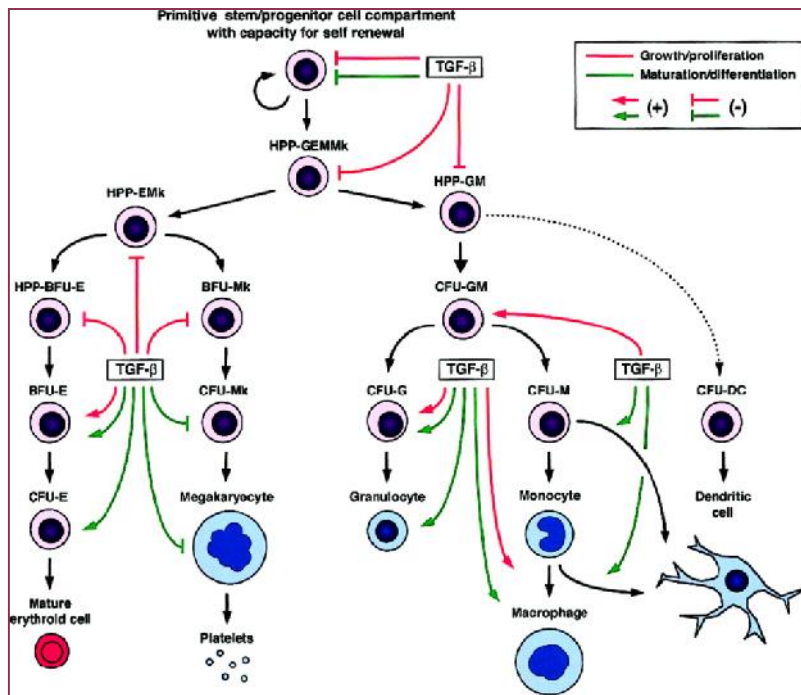
- IL-3
- GM-CSF
- G-CSF
- M-CSF
- EPO (ερυθροποίτινη)
- Eo-CSF
- Meg-CSF
- TPO (θρομβοποιητίνη)
- IL-1, IL-2, IL-4, IL-6

### Με Ανασταλτική Δράση

- Ιντερλευκίνες IL-8, IL-10
- Ιντερφερόνες INF-α, INF-γ
- TNF-α, TNF-β
- TGFβ
- MIP-1α

# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Δράση του TGFβ και INFγ στην διαφοροποίηση



# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Αιμοποιητικοί παράγοντες

Τα σχετικά **«ώριμα»**, **μονοδύναμα προγονικά κύτταρα** μπορεί να απαντούν στη διέγερση **μονήρων αυξητικών παραγόντων**.

Τα **πολυδύναμα προγονικά κύτταρα** πρέπει υποχρεωτικά να υποστούν τη **ταυτόχρονη επίδραση πολλών παραγόντων** προκειμένου να απαντήσουν με **πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση**, ένα γεγονός που «προστατεύει» τα περισσότερα αρχέγονα προγονικά κύτταρα, από την χωρίς λόγο «ανάλωσή» της πολυδυναμίας και της δυνατότητας διαφοροποίησής τους.

# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Κυριότεροι Αιμοποιητικοί παράγοντες

### Παράγοντες των αρχέγονων κυττάρων

- **SCF** (Stem cell factor /c-kit ligand)
- LIF (Leukemia inhibiting factor)
- Flt-3 ligand
- IL-6
- IL-11

### Παράγοντες των πολυδύναμων κυττάρων

- IL-1
- IL-3
- IL-4
- IL-9
- IL-11
- **GM-CSF**

### Παράγοντες των μονοδύναμων κυττάρων

- **Epo** (Erythropoietin)
- **TPO** (Thrombopoietin)
- G-CSF
- M-CSF
- IL-5

### Παράγοντες του στρώματος

VEGF (Vascular endothelial growth factor)

Angiopoietin-1

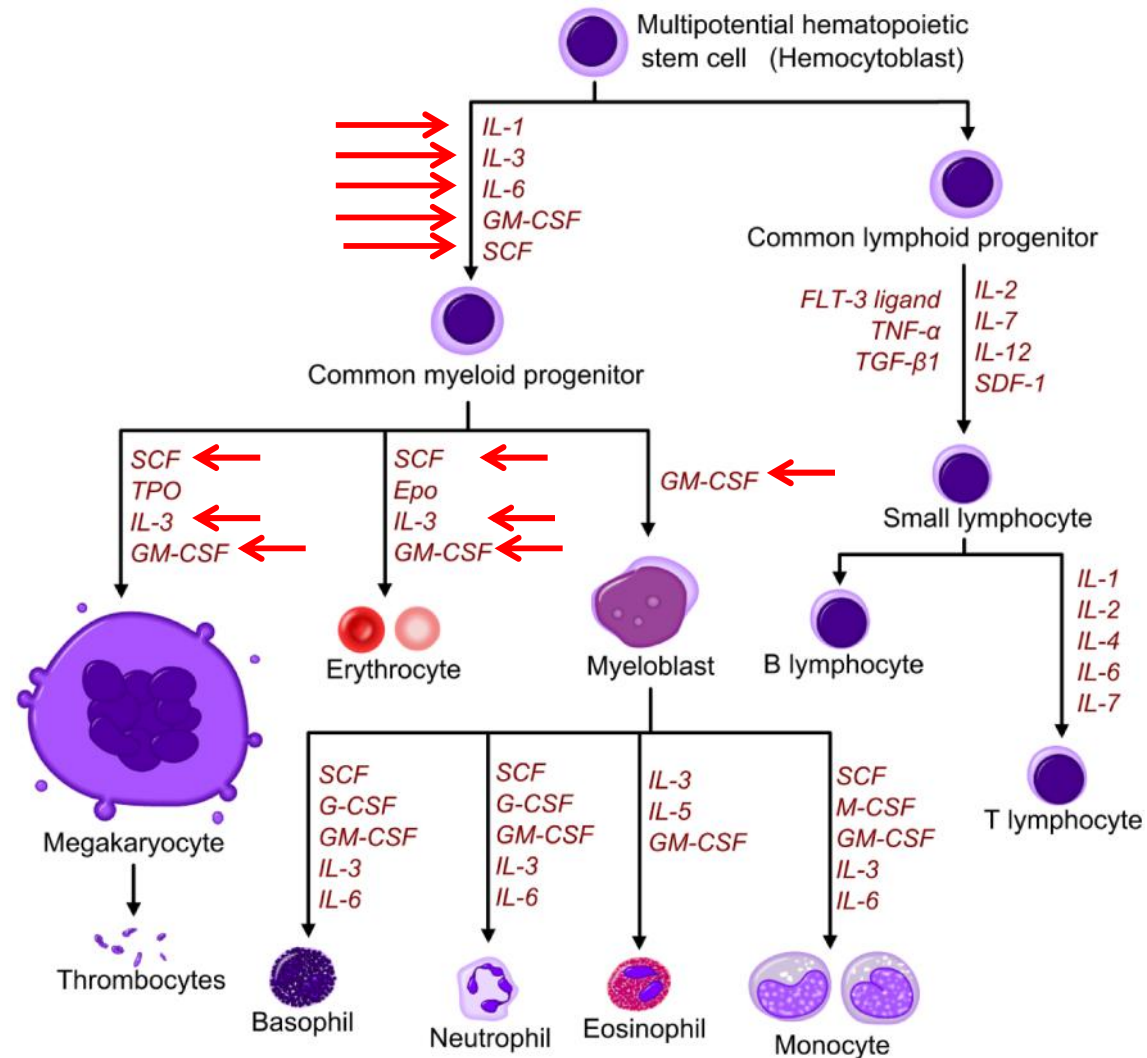
IL-8

**Wnt** Proteins

BMP (Bone morphogenetic proteins)

# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

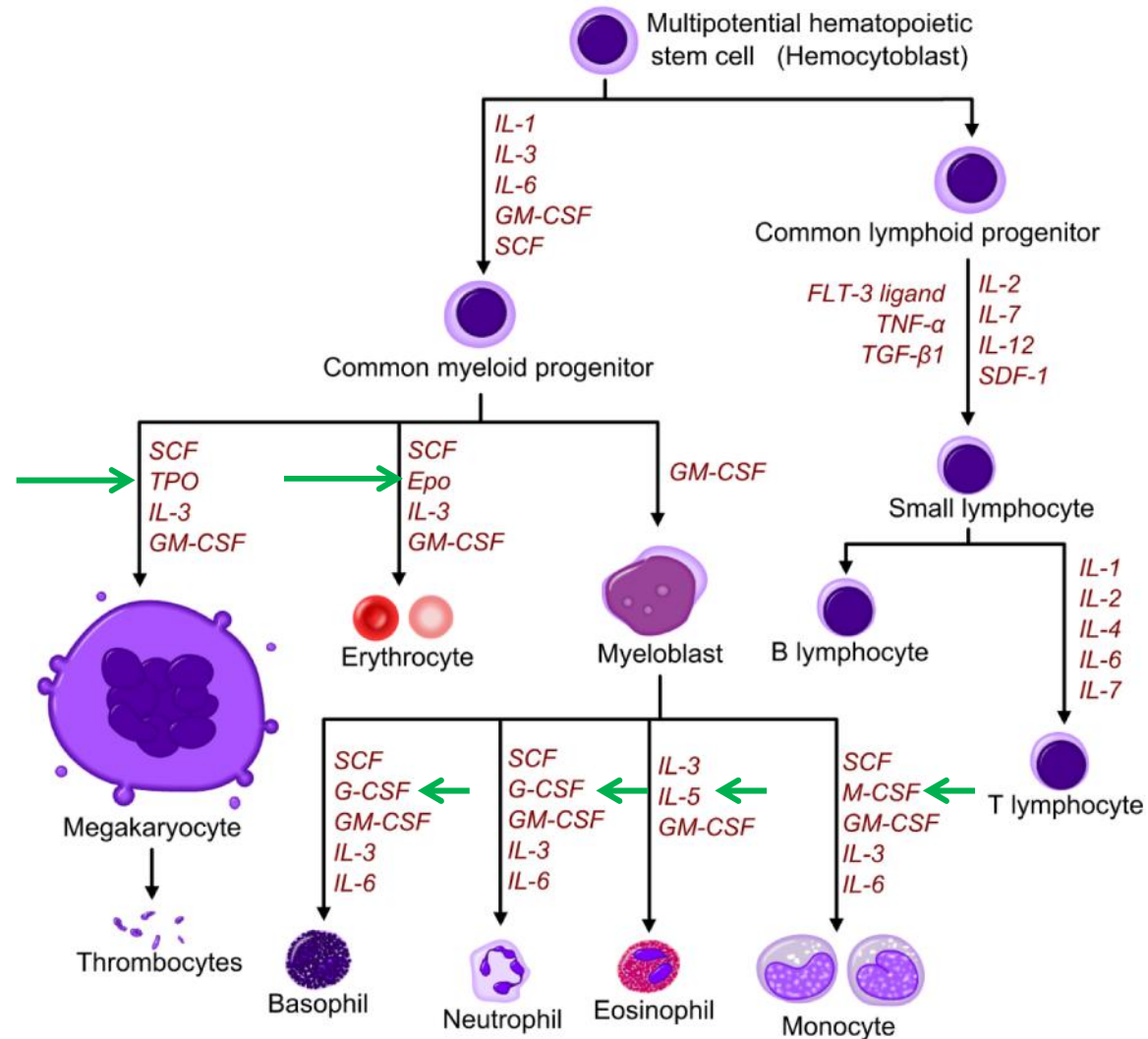
## Αυξητικοί παράγοντες



Source: commons.wikipedia.org

# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Αυξητικοί παράγοντες



Source: commons.wikipedia.org



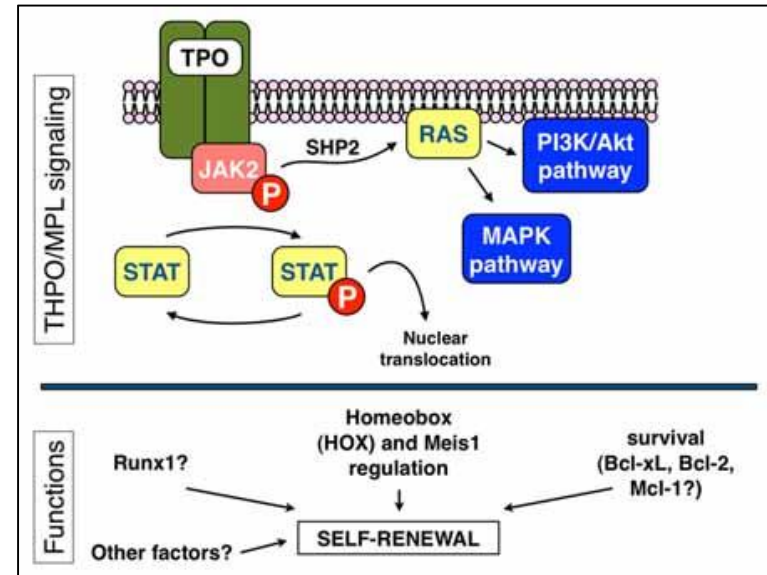
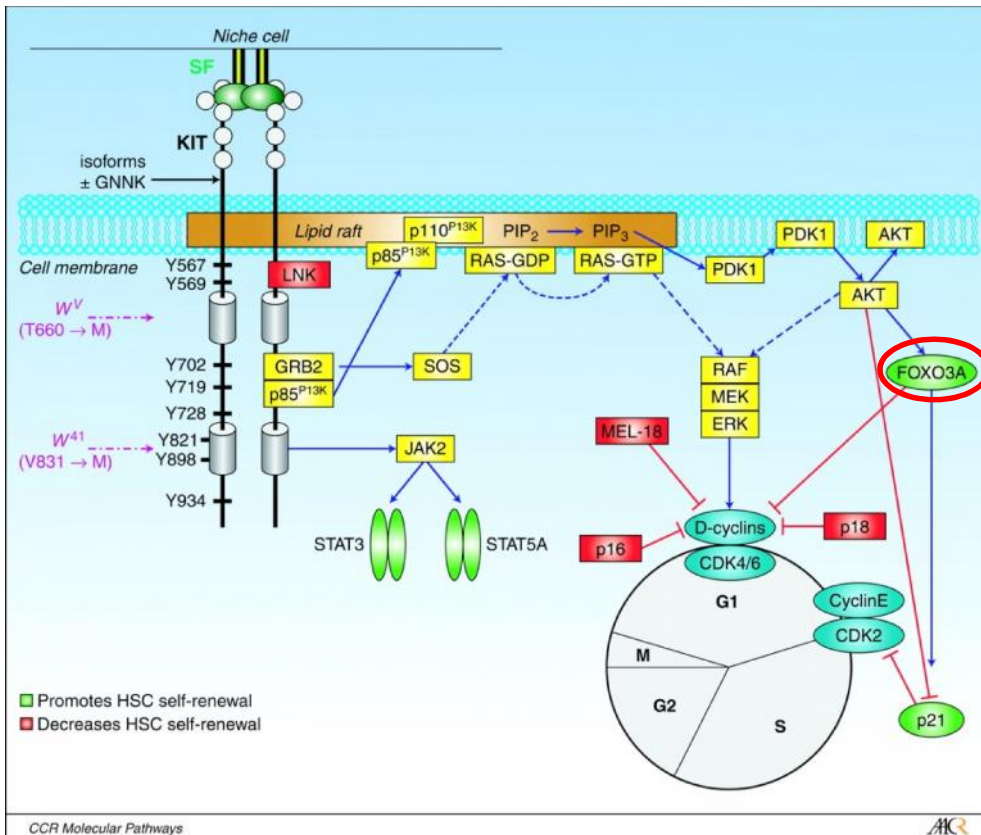
# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

μ

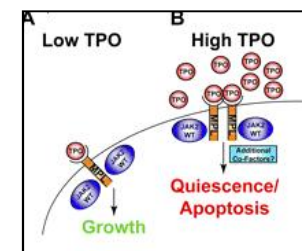
μ

μ /

## Σηματοδοτικά μονοπάτια SCF/c-kit & TPO/mpl - Επίδραση στην Αυτοανανέωση



Journal of Cellular Biochemistry. 2011;112(6):1491-8



Adapted from Blood. 2012;119:4579-4580

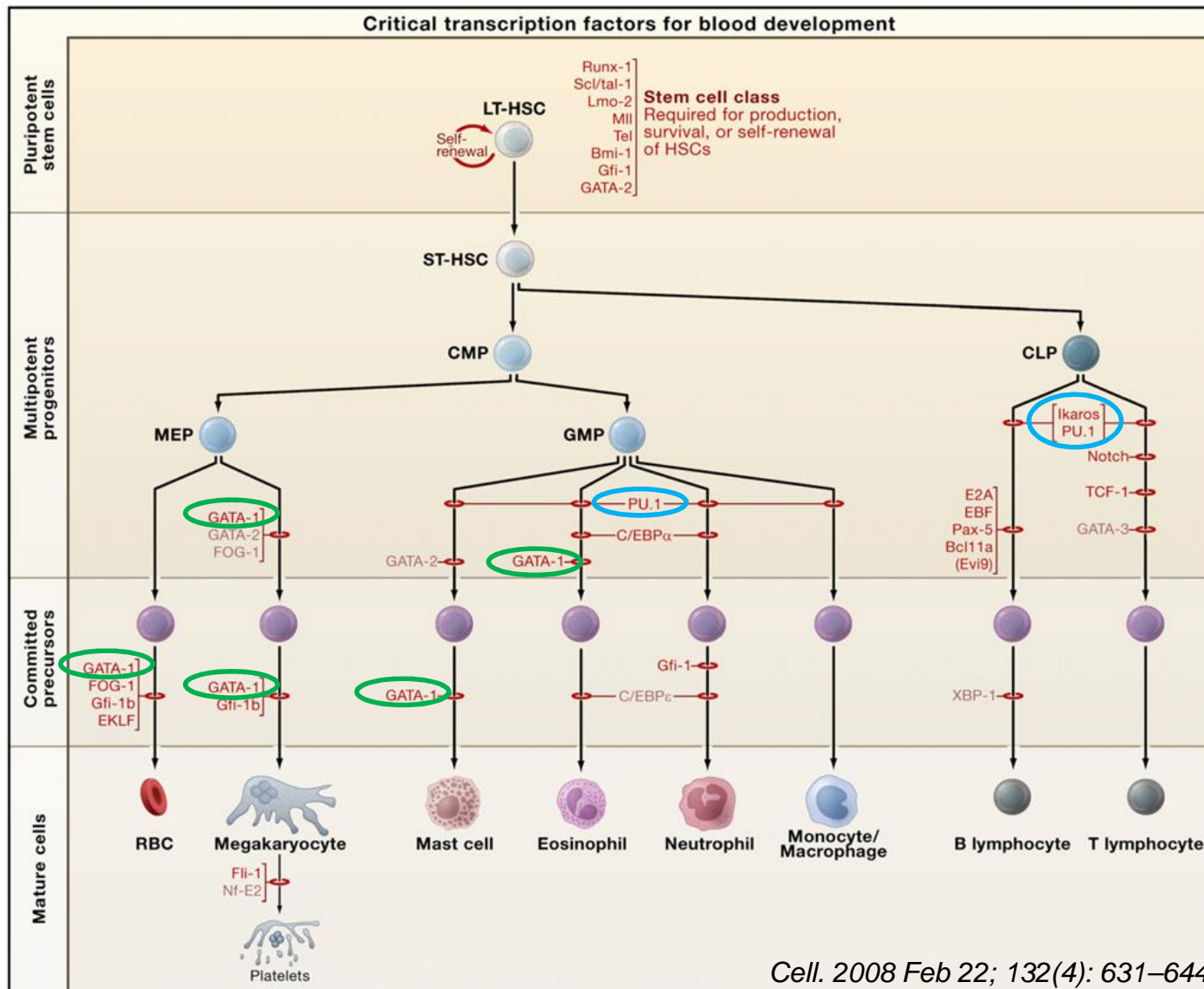
# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Μεταγραφικοί παράγοντες

HSC transcriptional factors related to self-renewal and function	HSC transcriptional factors involved in cell-lineage restricted differentiation pathways
MLL	Ikaros } PU-1 } Notch } GATA-3 } CLP → T/B-lymphocytes
AML1 (RUNX1)	
TEL/ETV6	
SCL/TAL-1	
LMO2	
	EZA } EBF } Pax-5 } Bcl-1a } CLP → T-lymphocyte
	PU-1 } C/EBPa } GATA-1 } GATA-2 } Gfi-1 } GMP → myeloid differentiation
	GATA-1 } GATA-2 } FOG-1 } Fli-1 } NF-E2 } MEP → megakaryocytic maturation
	GATA-1 } GATA-2 } FOG-1 } EKLF } MEP → erythroid differentiation

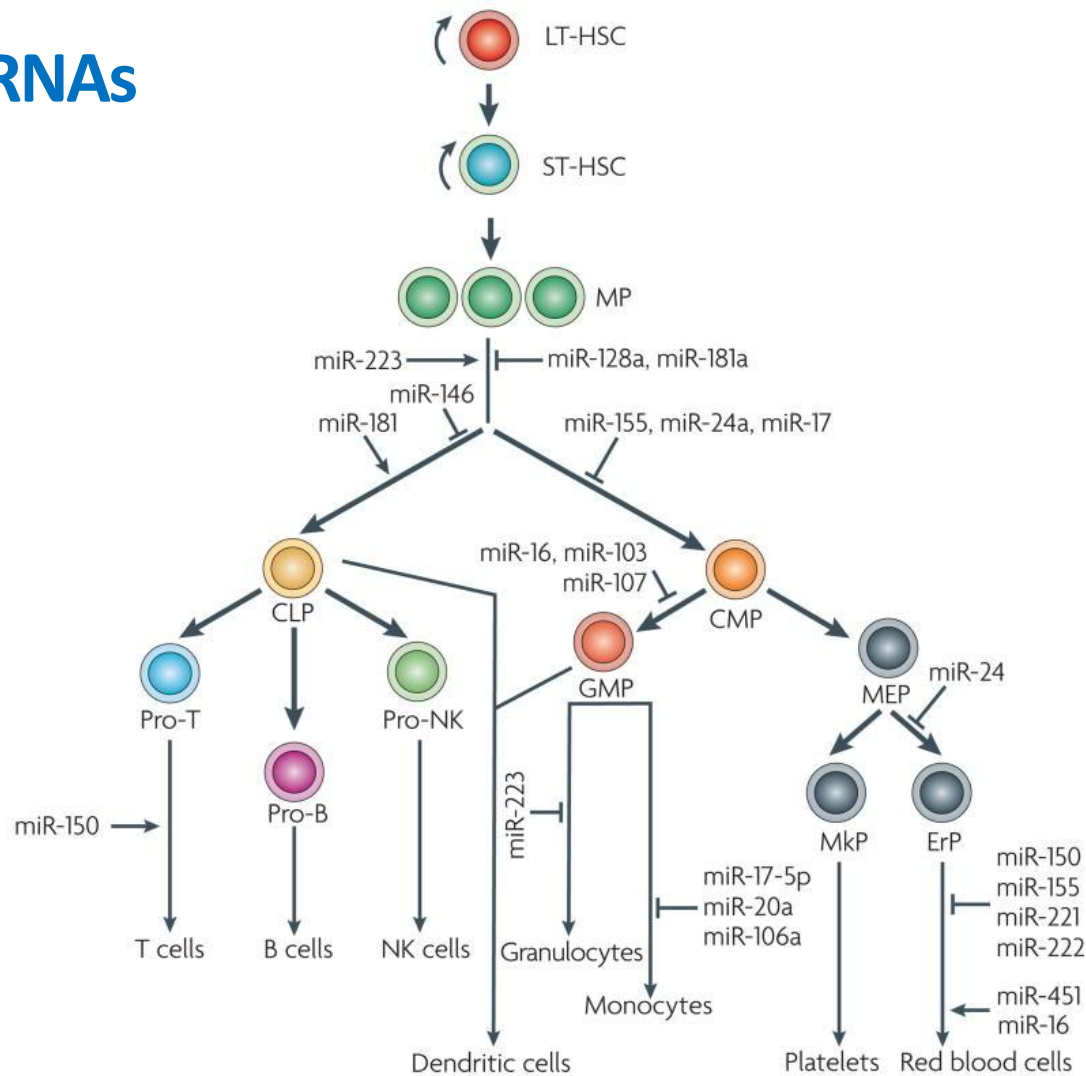
# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Μεταγραφικοί παράγοντες



# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Micro RNAs



Gangaraju, V., & Lin, H. (2009). MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10(2), 116-125.

## ΡΥΘΜΙΣΗ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η αιμοποίηση ρυθμίζεται από ένα πολύπλοκο αλλά αποτελεσματικό δίκτυο επικοινωνίας ανάμεσα στα αιμοποιητικά κύτταρα και τα κύτταρα του στρώματος, είτε με άμεση επαφή μέσω **επιφανειακών υποδοχέων**, είτε μέσω **κυτταροκινών**.

# Και εγώ τι θα κάνω...?

## Ο ρόλος της αιμοποιητικής φωλιάς

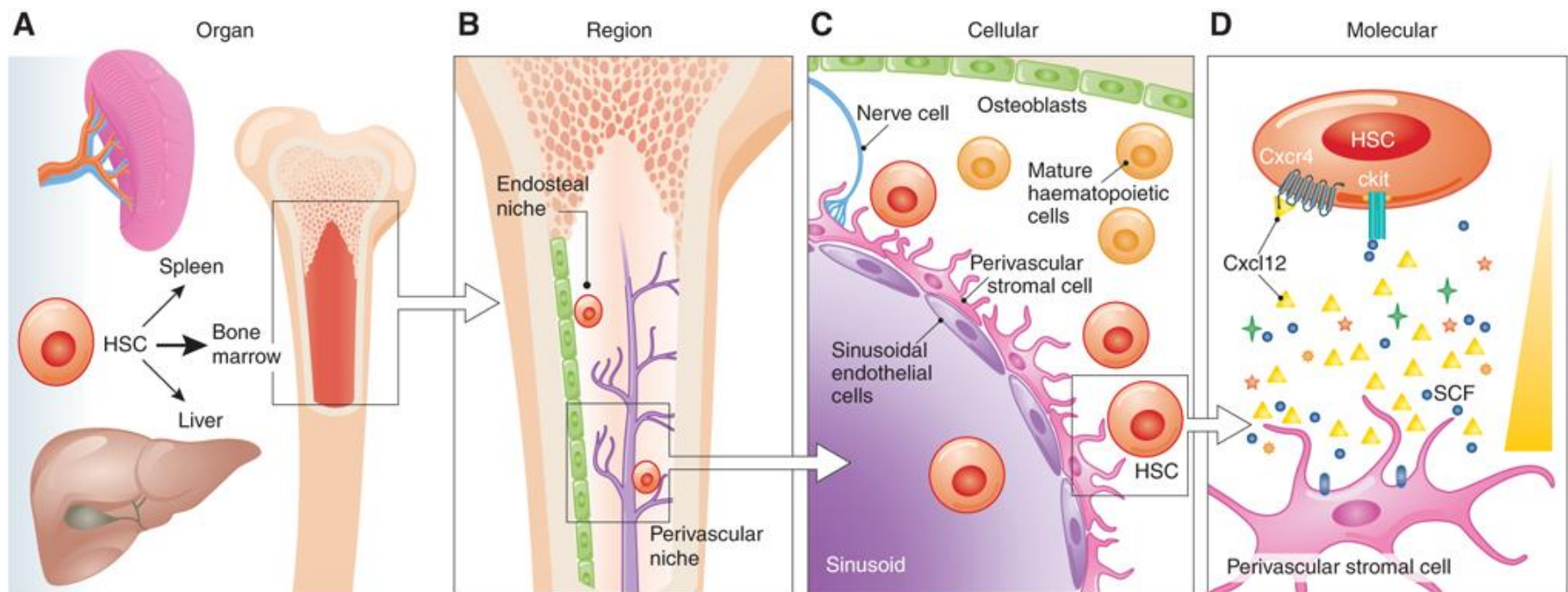
Το τί θα κάνει ένα προγονικό κύτταρο εξαρτάται από ένα συνδυασμό γεγονότων και συγκεκριμένα από

- **το 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.

Οι εκάστοτε ανάγκες για αιμοποίηση του οργανισμού καθορίζουν την αλληλουχία των γεγονότων για ηρεμία ή αυτοανανέωση ή πολλαπλασιασμό/ διαφοροποίηση.

# Αιμοποιητική Φωλιά

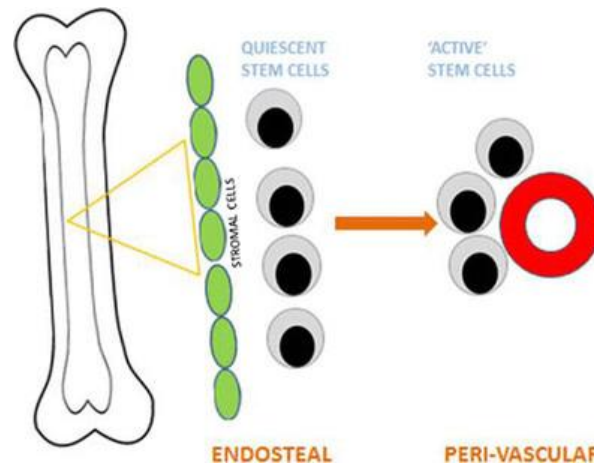
- Οι αιμοποιητικές φωλιές είναι ειδικά τοπικά μικροπεριβάλλοντα στους ιστούς που διατηρούν τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα και ρυθμίζουν τις λειτουργίες τους.



# ΕΙΔΗ ΜΥΕΛΙΚΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΦΩΛΙΩΝ

Υπάρχουν δύο κύρια είδη φωλιών:

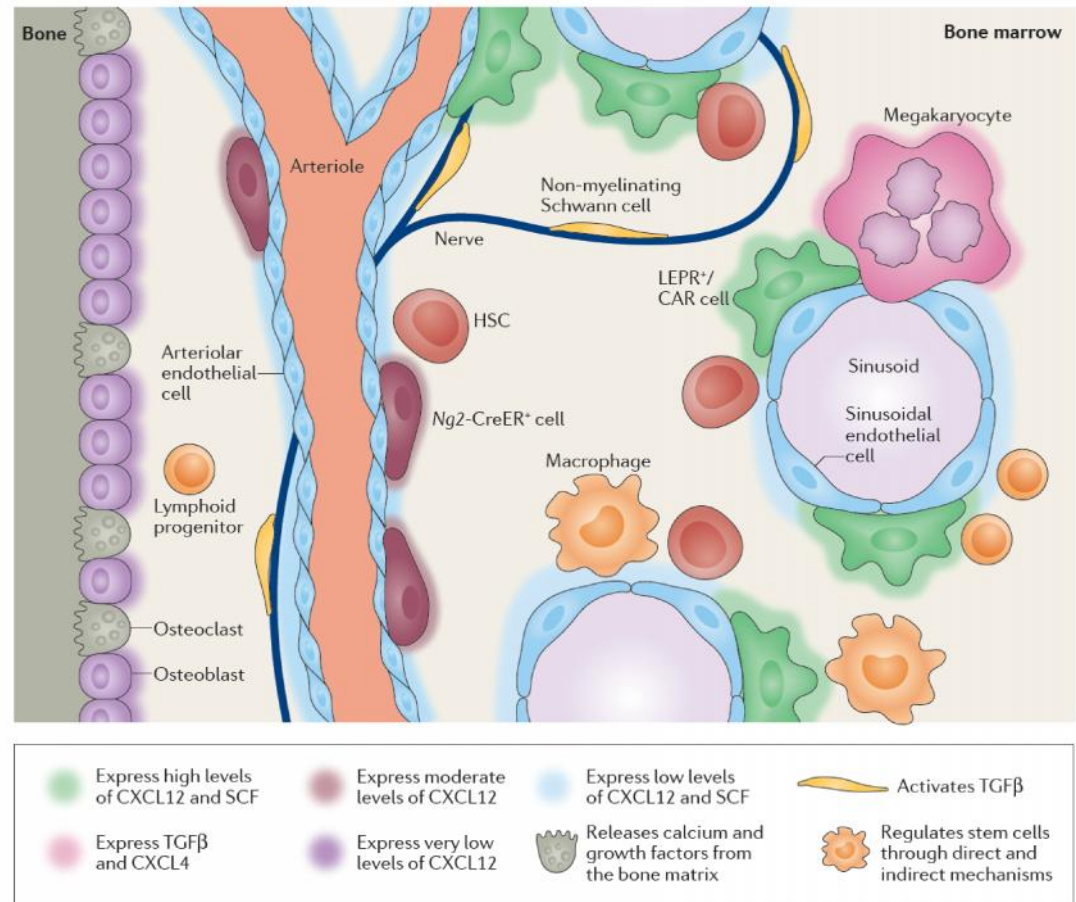
- Η **Οστική/Οστεοβλαστική Φωλιά (osteoblastic niche)**: Ενδοστεϊκή επιφάνεια, που επενδύεται από οστεοβλάστες στην περιοχή του σπογγώδους οστού.
- Η **Αγγειακή Φωλιά (vascular niche)**: Αποτελείται από αρτηριακό (arterial) ενδοθήλιο ή ενδοθήλιο κολποειδών (sinusoidal).





# Αιμοποιητική Φωλιά

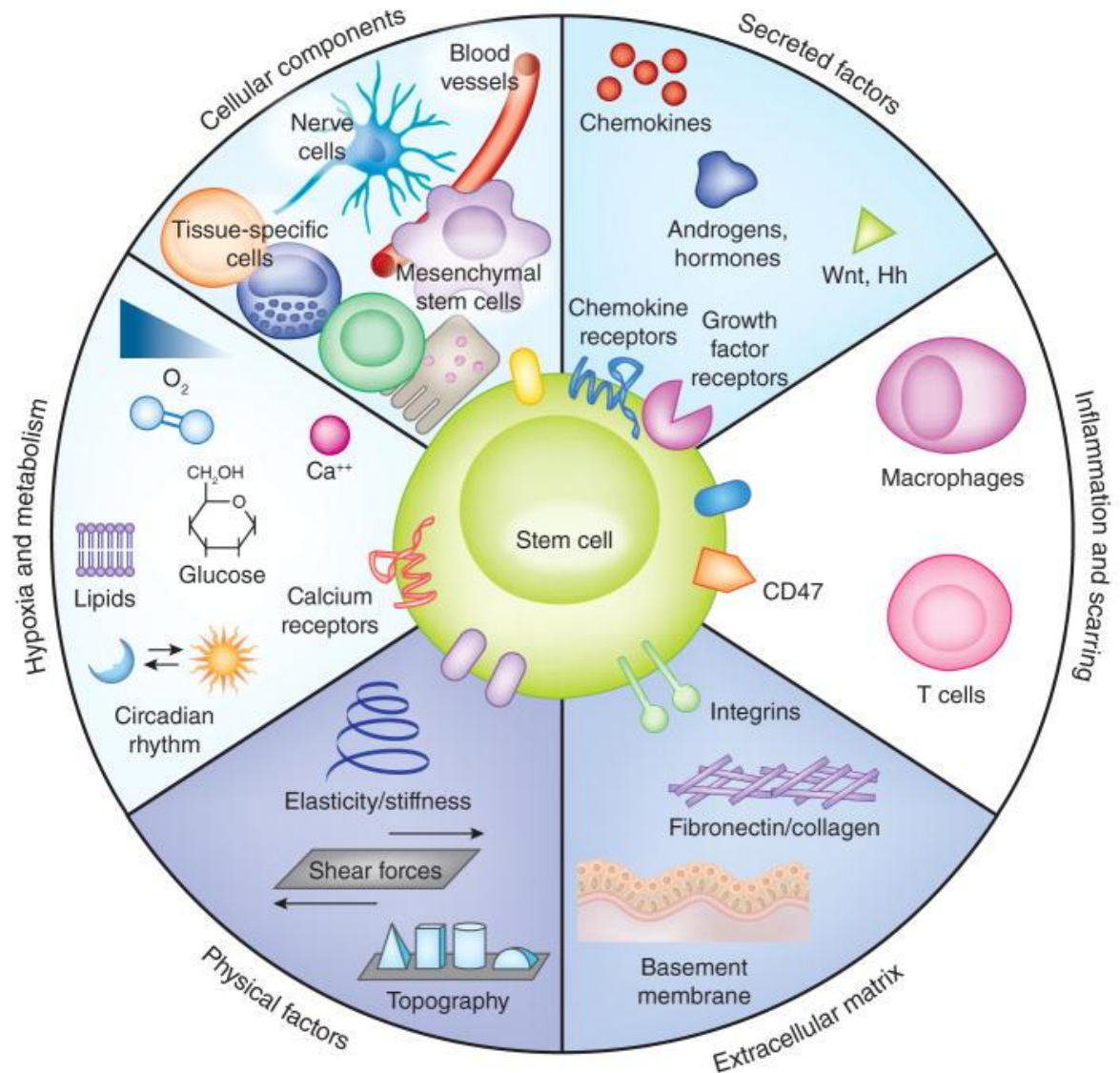
- 80%  $\mu$  HSCs  $\mu$  -
- 10% HSCs
- $\mu$  HSCs



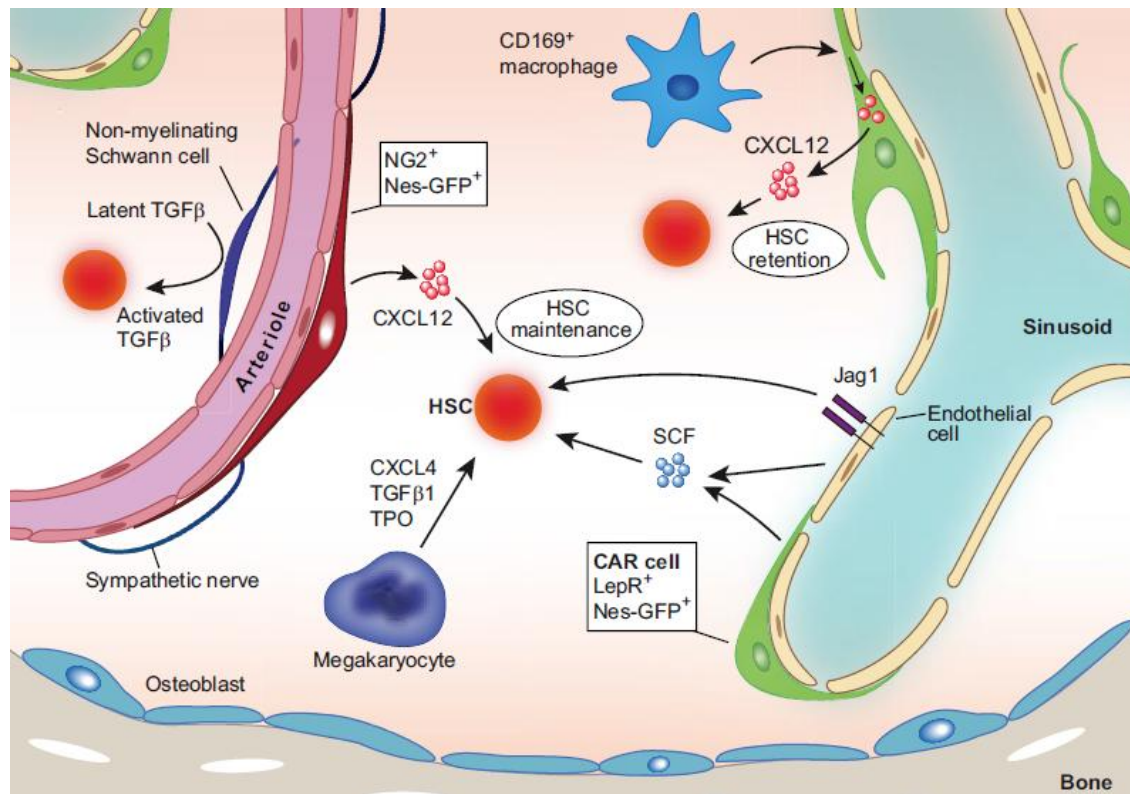
# ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ της ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΗΣ ΦΩΛΙΑΣ

Τη φωλιά την απαρτίζουν και την επηρεάζουν:

- Κύτταρα
- Εκκρινόμενοι παράγοντες
- Εξωκυττάρια ουσία
- Υποξία, μεταβολισμός
- Φυσικοί παράγοντες
- Φλεγμονή και τραυματισμός



# Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά



Xin Gao et al. Development (2018) 145, dev139691

# Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά

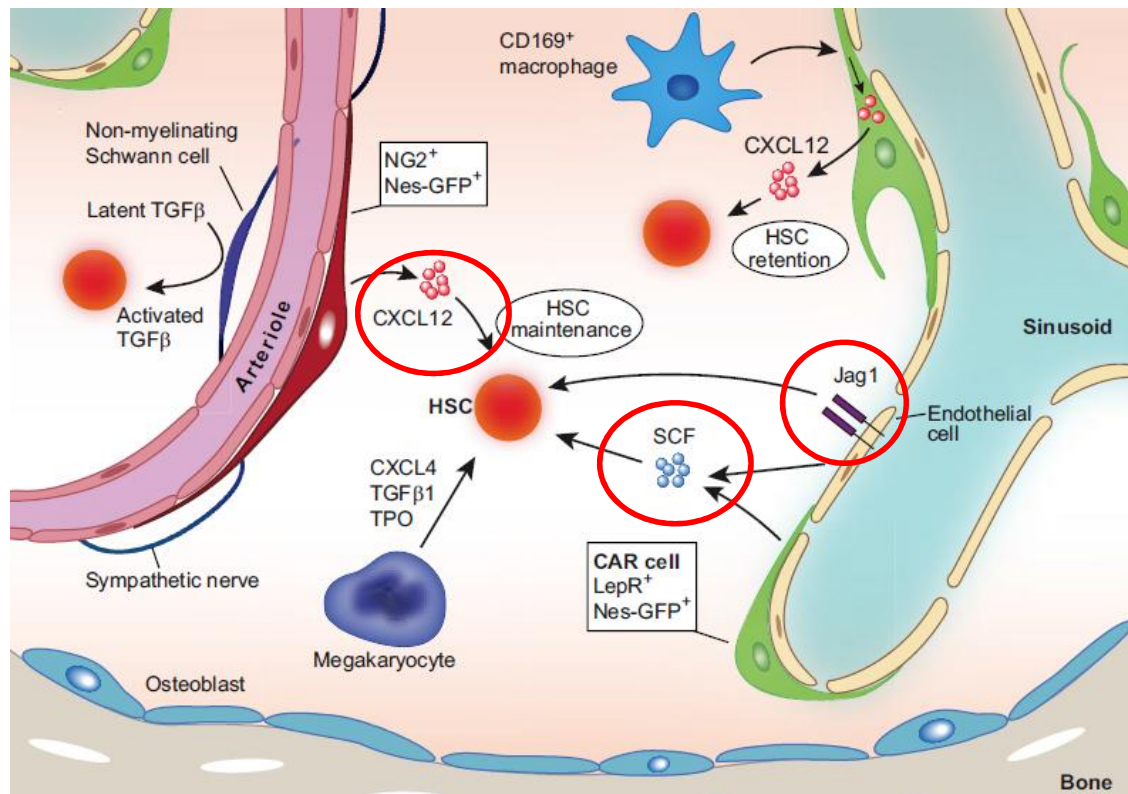
:

-

(CAR cells)

μ

SCF Jag1.  
CXCL12 SCF



Xin Gao et al. Development (2018) 145, dev139691

# Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά

Schwann

(CD169+)

TGF -> HSC

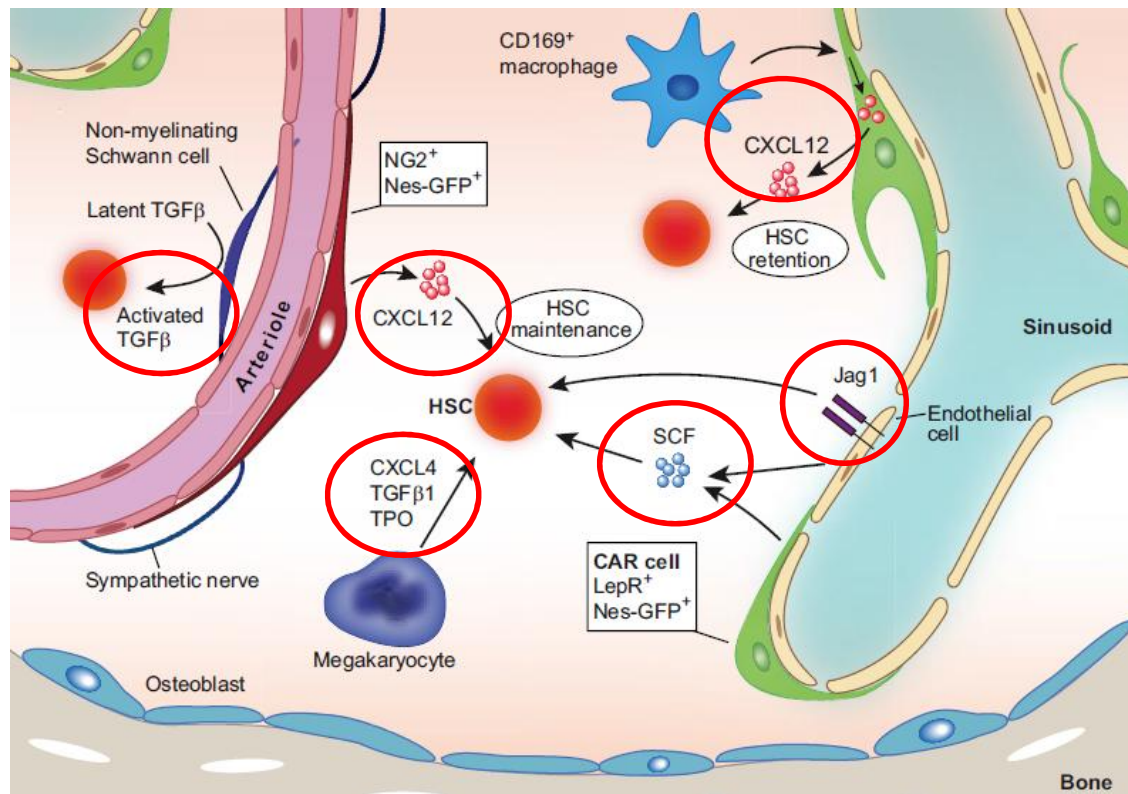
CXCL12

HSC

μ μ

μ  
CXCL4, TGF

TPO.



Xin Gao et al. Development (2018) 145, dev139691

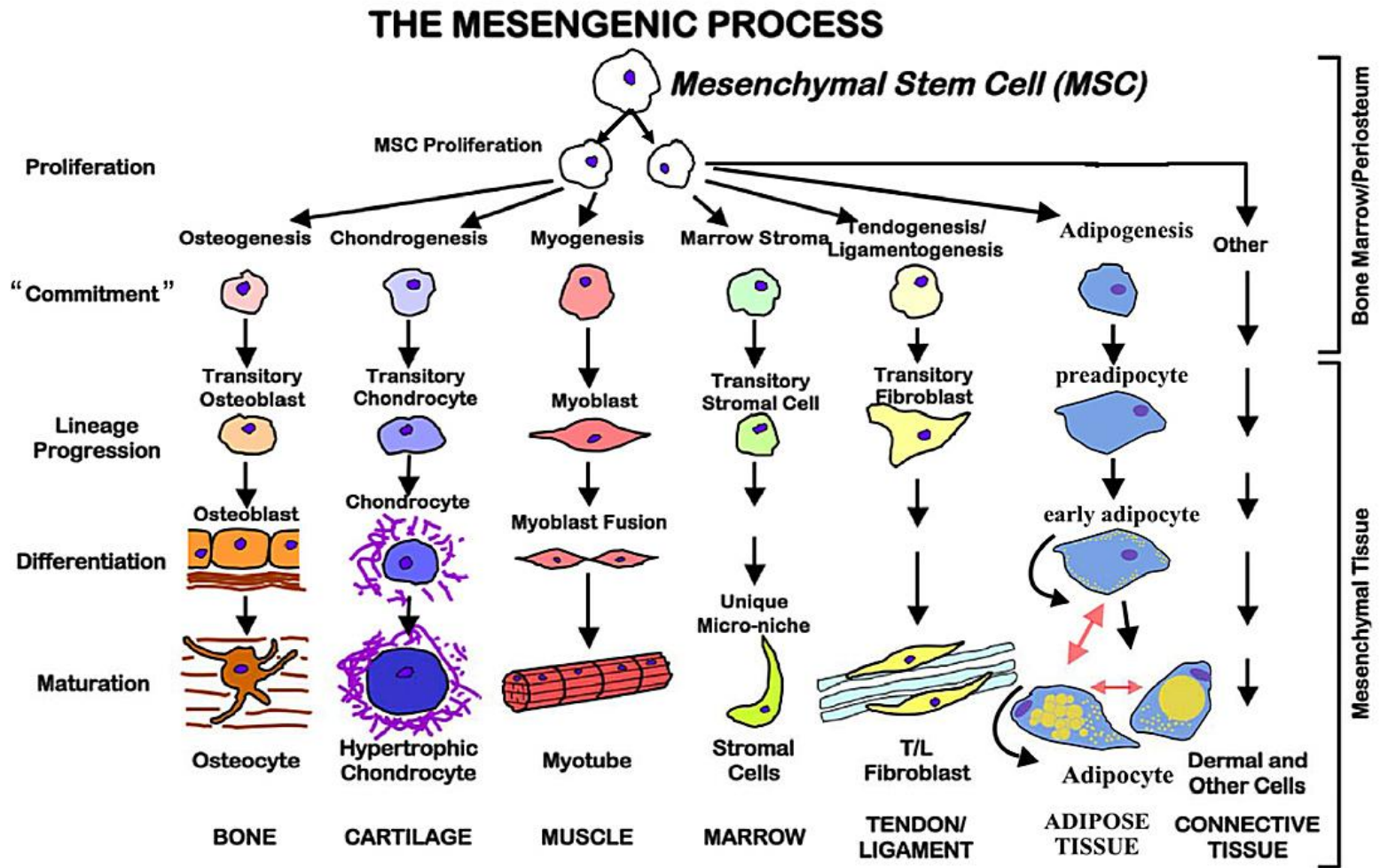
## Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά & MSCs

- Κύρια συστατικά της μυελικής αιμοποιητικής φωλιάς αποτελούν τα **στρωματικά κύτταρα**, που προέρχονται από το **μεσεγχυματικό προγονικό κύτταρο ( Mesenchymal Stem Cell – MSC)**
- Τα MSCs υποστηρίζουν και ρυθμίζουν την αιμοποίηση μέσω των διαλυτών παραγόντων που παράγουν ή των άμεσων κυτταρικών επαφών (cell-to cell-contact).
- Απορύθμιση του μυελικού μικροπεριβάλλοντος μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεια αιματολογικών νοσημάτων ή εμμέσως να διατηρεί αιματολογικές διαταραχές.

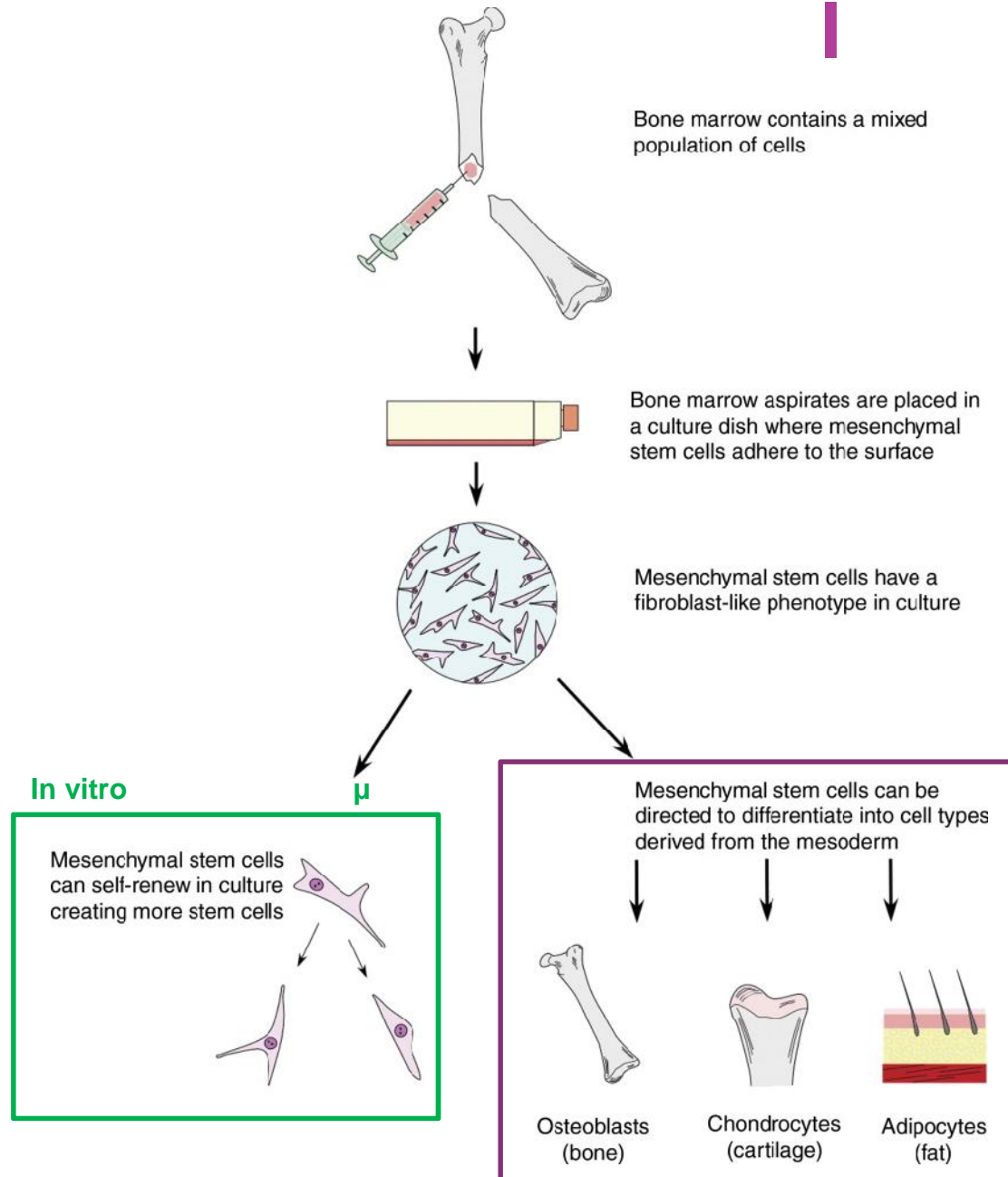
μ

μ

– MSCs



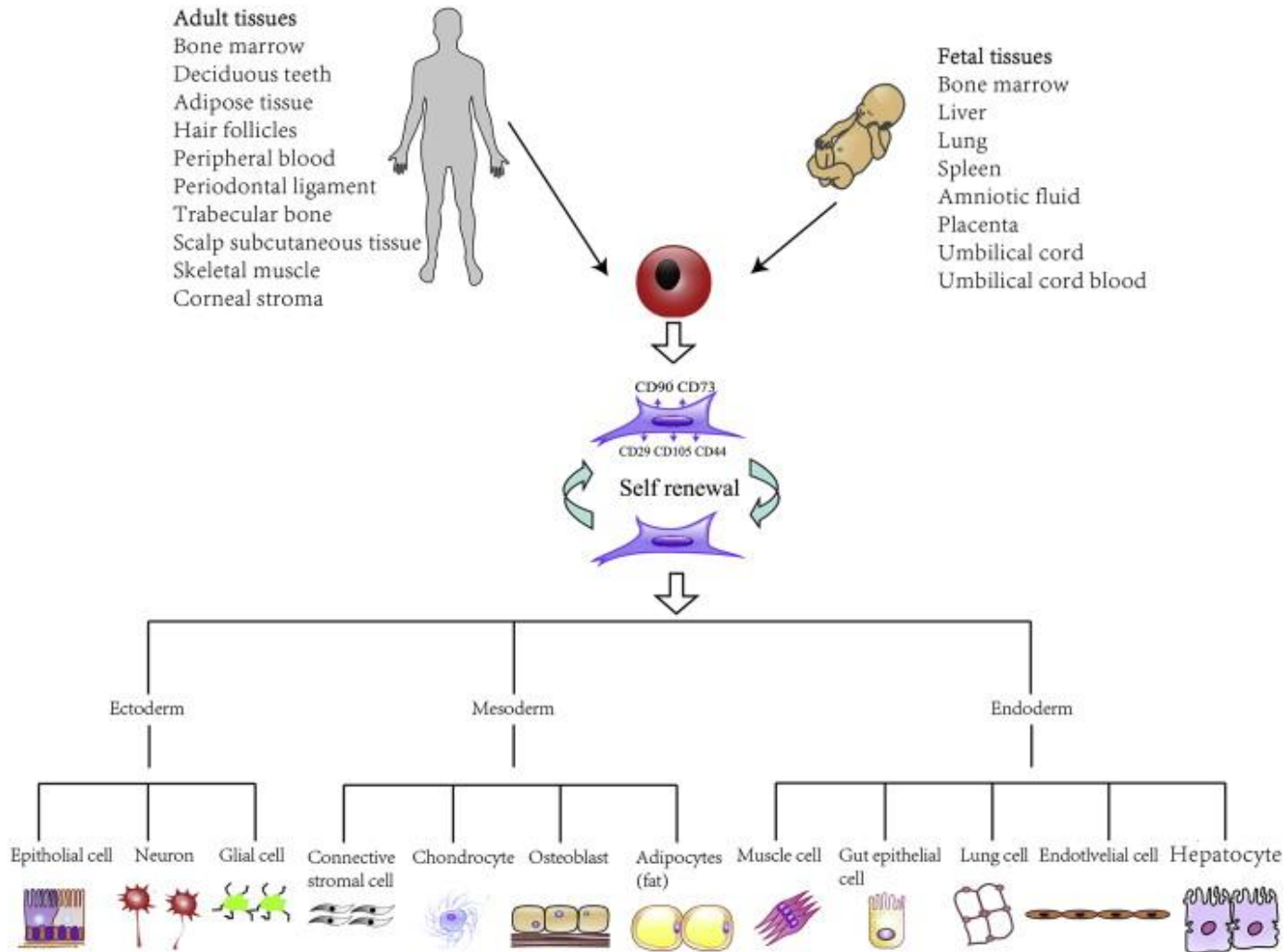
# MSCs





μ

# - MSCs



## Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά & MSCs

- Κύρια συστατικά της μυελικής αιμοποιητικής φωλιάς αποτελούν τα **στρωματικά κύτταρα**, που προέρχονται από το **μεσεγχυματικό προγονικό κύτταρο ( Mesenchymal Stem Cell – MSC)**
- Τα MSCs υποστηρίζουν και ρυθμίζουν την αιμοποίηση μέσω των διαλυτών παραγόντων που παράγουν ή των άμεσων κυτταρικών επαφών (cell-to cell-contact).
- Απορύθμιση του μυελικού μικροπεριβάλλοντος μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεια αιματολογικών νοσημάτων ή εμμέσως να διατηρεί αιματολογικές διαταραχές.

## Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά & MSCs

- Κύρια συστατικά της μυελικής αιμοποιητικής φωλιάς αποτελούν τα **στρωματικά κύτταρα**, που προέρχονται από το **μεσεγχυματικό προγονικό κύτταρο ( Mesenchymal Stem Cell – MSC)**
- Τα MSCs υποστηρίζουν και ρυθμίζουν την αιμοποίηση μέσω των διαλυτών παραγόντων που παράγουν ή των άμεσων κυτταρικών επαφών (cell-to cell-contact).
- Απορύθμιση του μυελικού μικροπεριβάλλοντος μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεια αιματολογικών νοσημάτων ή εμμέσως να διατηρεί αιματολογικές διαταραχές.

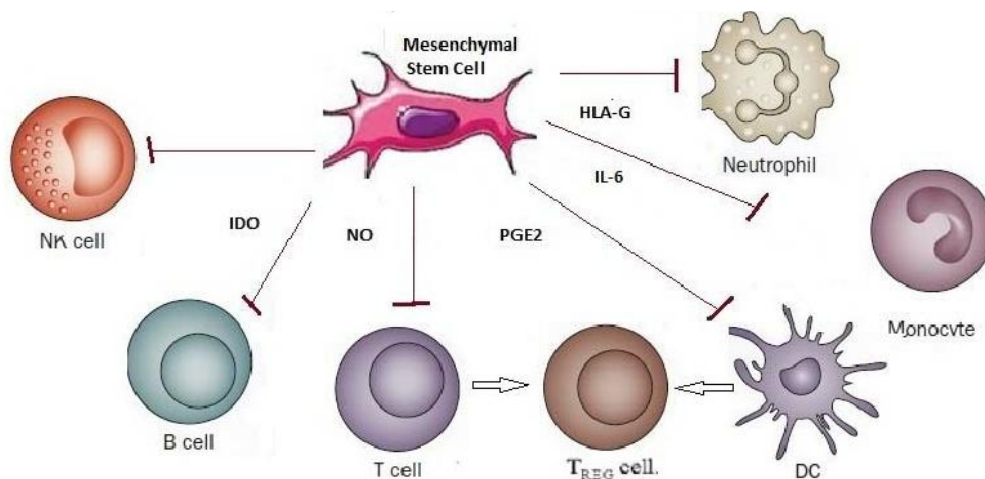
TABLE 1: Major cytokines and chemokines produced by BM MSCs regulating HSCs.

Cytokines	Chemokines
SCF	CCL2
Flt3 ligand	CCL3
TPO	CCL4
SDF-1	CCL5
TGF- $\beta$	CCL7
LIF	CCL20
IL-1	CCL26
IL-6	CXCL1
IL-7	CXCL2
IL-8	CXCL5
IL-11	CXCL8
IL-12	CXCL10
IL-14	CXCL11
IL-15	CXCL12
GM-CSF	
M-CSF	

# MSCs

TABLE 2: Immunosuppressive functions of BM MSCs on various immune cell types.

Cell types	MSC function
T cells	Inhibition of T lymphocyte proliferation/activation
B cells	Inhibition of B cell proliferation/maturation/anti-body secretion
NK cells	Inhibition of NK proliferation/function
DCs	Inhibition of DC maturation/function
Tregs	Promotion of Treg maturation and cell function



IDO: indoleamine 2,3-dioxygenase

NO: nitric oxide

PGE2: prostaglandin E2

Journal of stem cells 2013; 8(1):1-16

Kastrinaki MC et al Clinical & Developmental Immunology, (2013)

## MSCs

- Τα **MSCs** δεν δρουν συνεχώς ανοσοκατασταλτικά, αλλά χρειάζονται ειδικά σήματα από φλεγμονώδη μόρια όπως IFN $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TLR-ligands.
- Επιπλέον, η συγκέντρωση αυτών των μορίων στο μικροπεριβάλλον τους όπως η IFN $\gamma$  μπορεί να τα καταστήσει είτε ως αντιγονοπαρουσιαστικά είτε ως ανοσοκατασταλτικά κύτταρα.

## Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά & MSCs

- Κύρια συστατικά της μυελικής αιμοποιητικής φωλιάς αποτελούν τα **στρωματικά κύτταρα**, που προέρχονται από το **μεσεγχυματικό προγονικό κύτταρο ( Mesenchymal Stem Cell – MSC)**
- Τα MSCs υποστηρίζουν και ρυθμίζουν την αιμοποίηση μέσω των διαλυτών παραγόντων που παράγουν ή των άμεσων κυτταρικών επαφών (cell-to cell-contact).
- Απορύθμιση του μυελικού μικροπεριβάλλοντος μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεια αιματολογικών νοσημάτων ή εμμέσως να διατηρεί αιματολογικές διαταραχές.

## Μυελική Αιμοποιητική Φωλιά & MSCs

- Κύρια συστατικά της μυελικής αιμοποιητικής φωλιάς αποτελούν τα **στρωματικά κύτταρα**, που προέρχονται από το **μεσεγχυματικό προγονικό κύτταρο ( Mesenchymal Stem Cell – MSC)**
- Τα MSCs υποστηρίζουν και ρυθμίζουν την αιμοποίηση μέσω των διαλυτών παραγόντων που παράγουν ή των άμεσων κυτταρικών επαφών (cell-to cell-contact).
- Απορύθμιση του μυελικού μικροπεριβάλλοντος μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεια αιματολογικών νοσημάτων ή εμμέσως να διατηρεί αιματολογικές διαταραχές.



# MSCs &

# μ

J Exp Clin Cancer Res. 2019 Feb 12;38(1):73.

**Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote the growth and drug-resistance of **diffuse large B-cell lymphoma** by secreting IL-6 and elevating IL-17A levels.**

Zhong W, Zhu Z, Xu X, Zhang H, Xiong H, Li Q, Wei Y.

Stem Cell Rev. 2017 Dec;13(6):817-825

**Micro-RNA Profiling of Exosomes from Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells in Patients with **Acute Myeloid Leukemia**: Implications in Leukemogenesis.**

Barrera-Ramirez J, Lavoie JR, Maganti HB, Stanford WL, Ito C, Sabloff M, Brand M, Rosu-Myles M, Le Y, Allan DS.

Haematologica. 2018 Sep;103(9):1462-1471.

**Transforming growth factor  $\beta$ 1-mediated functional inhibition of mesenchymal stromal cells in **myelodysplastic syndromes** and **acute myeloid leukemia**.**

Geyh S, Rodríguez-Paredes M, Jäger P, Koch A, Bormann F, Gutekunst J, Zilkens C, Germing U, Kobbe G, Lyko F, Haas R, Schroeder T.

Hematology. 2018 Jul;23(6):337-345.

**TGF- $\beta$ 1 and CXCL12 modulate proliferation and chemotherapy sensitivity of **acute myeloid leukemia** cells co-cultured with multipotent mesenchymal stromal cells.**

Schelker RC, Iberl S, Müller G, Hart C, Herr W, Grassinger J.

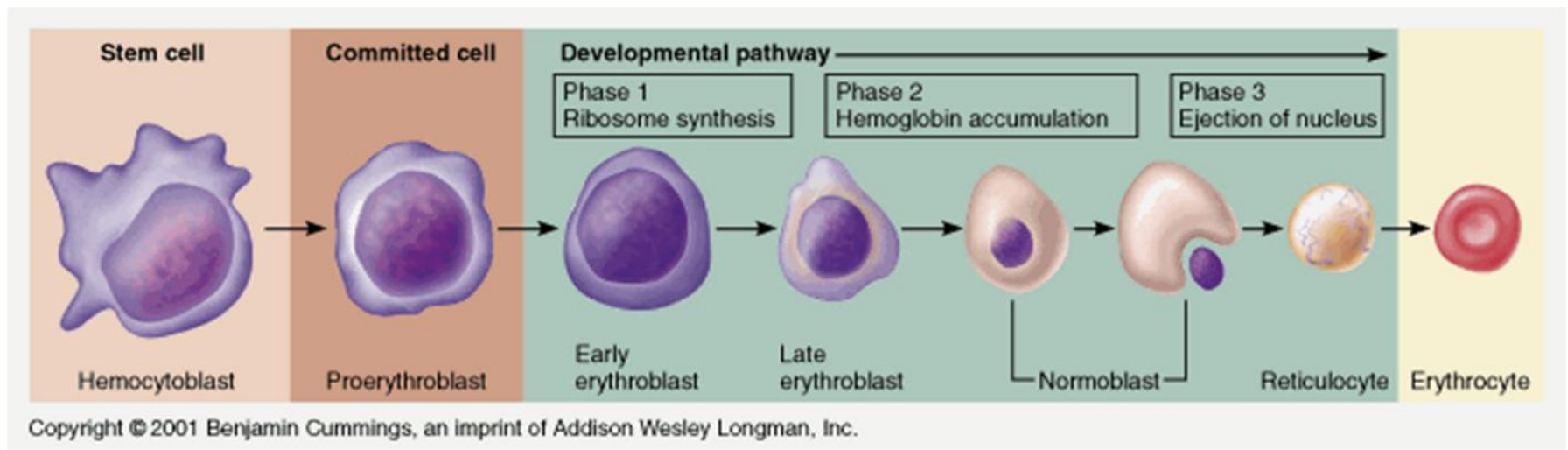
# ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

---

Ερυθρά σειρά και παράγοντες της ερυθροποίησης  
Κινητική και ρύθμιση της ερυθροποίησης

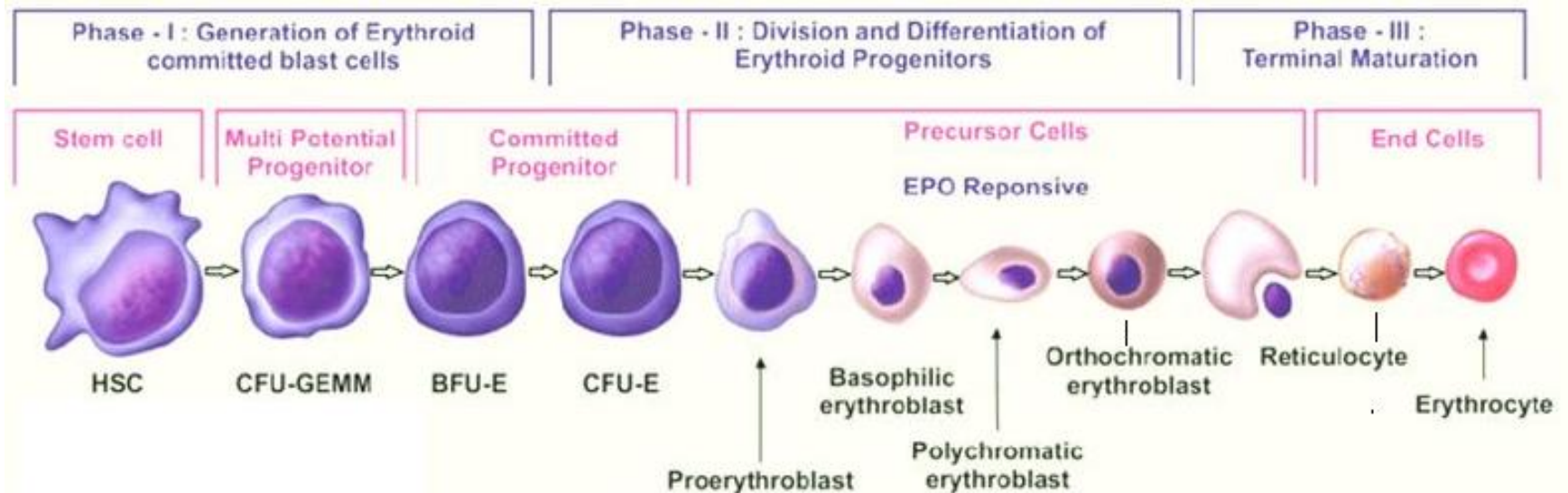
# ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗ

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

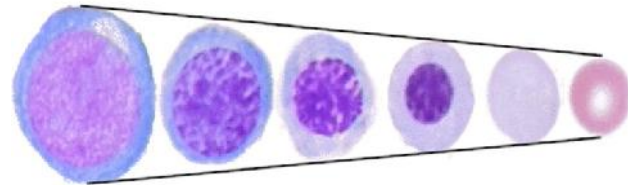


## ΕΡΥΘΡΑ ΣΕΙΡΑ

- BFU-E (Burst Forming Unit – Erythroid)
- CFU-E (Colony Forming Unit- Erythroid)
- Προερυθροβλάστη
- Βασεόφιλη ερυθροβλάστη I & II
- Πολυχρωματόφιλη ερυθροβλάστη
- Ορθοχρωματική / Οξύφιλη ερυθροβλάστη
- Δικτυοερυθροκύτταρο
- Ώριμο Ερυθρό κύτταρο

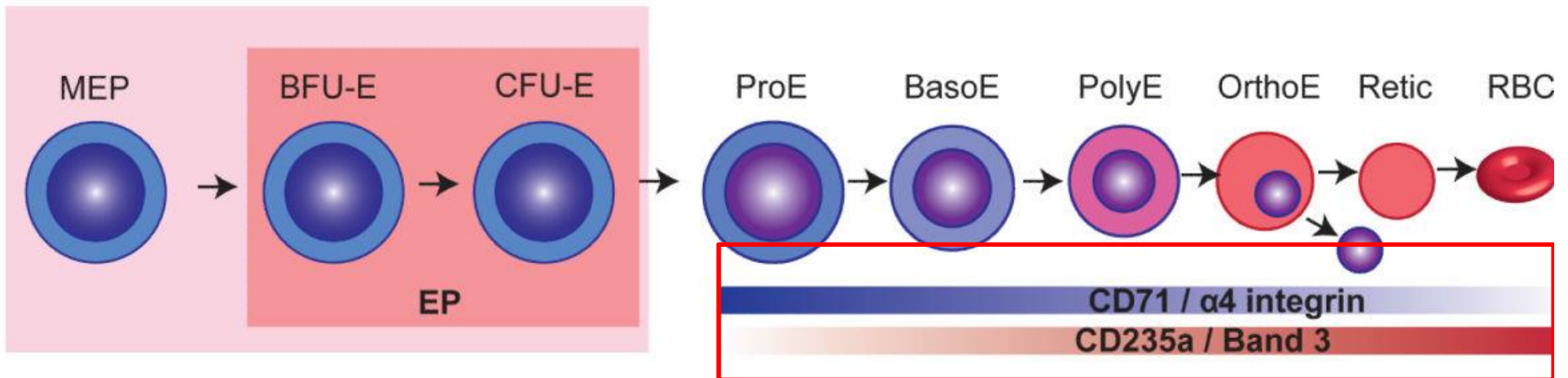


## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΕΡΥΘΡΑΣ ΣΕΙΡΑΣ



- **Μείωση** του μεγέθους του κυττάρου
- **Αύξηση** της σχέσης πρωτοπλάσματος προς πυρήνα
- **Μείωση** της σύνθεσης του RNA και μείωση του ποσού του RNA που περιέχει το κύτταρο, από τη βασεόφιλη ερυθροβλάστη και μετά.
- **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.

# ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ – ΕΡΥΘΡΑΣ ΣΕΙΡΑΣ



**MEP** Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> Flt3<sup>-</sup> CD45RA<sup>-</sup> (Edvardsson *et al.*, 2006)

**MEP** Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> Flt3<sup>-</sup> CD45RA<sup>-</sup> (Doulatov *et al.*, 2010)

**MEP** Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> IL3RA<sup>-</sup> CD45RA<sup>-</sup> (Manz *et al.*, 2002)

**EP** Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> IL3RA<sup>-</sup> CD45RA<sup>-</sup> CD105<sup>+</sup> CD71<sup>int/+</sup> (Mori *et al.*, 2015)

**BFU-E** CD45<sup>+</sup> GPA<sup>-</sup> IL3RA<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> CD36<sup>-</sup> CD71<sup>low</sup> (Li *et al.*, 2014)

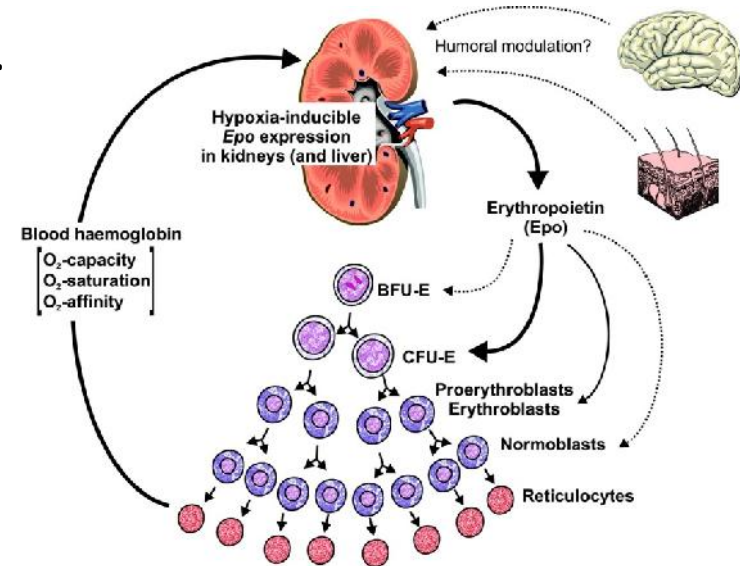
**CFU-E** CD45<sup>+</sup> GPA<sup>-</sup> IL3RA<sup>-</sup> CD34<sup>-</sup> CD36<sup>+</sup> CD71<sup>high</sup> (Li *et al.*, 2014)

**CD71:** Transferrin receptor

**CD235a / GPA:** Glycophorin A

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ

- Η **ερυθροποιητίνη** είναι η κύρια κυτταροκίνη για την παραγωγή ερυθρών
- Είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 34.4 Kd
- **Δεν υπάρχει σε απόθεμα.** Συντίθεται άμεσα, κυρίως στους **νεφρούς** (περισωληναριακά κύτταρα) (90%) και λιγότερο (~10%) στο **ήπαρ**, σε **ανταπόκριση προς τις ανάγκες κάθε στιγμής (υποξία)**, μεταφέρεται μέσω του πλάσματος στον μυελό και συνδέεται με τους υποδοχείς της πάνω στη μεμβράνη των κυττάρων της ερυθράς σειράς.



## ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ

- Προασπίζει από τον πρόωρο θάνατο (απόπτωση) τα ωριμάζοντα κύτταρα της ερυθράς σειράς, που έχουν εκφράσει Ερο- υποδοχείς
- Δρα στο επίπεδο του ερυθροκυτταρικού πρόδρομου κυττάρου CFU-E όπου προάγει τον **πολλαπλασιασμό** και τη **διαφοροποίηση** τους, ενδεχομένως αυξομειώνοντας ανάλογα και τον αριθμό των τελικών διαιρέσεων
- Προάγει και τη **σύνθεση αιμοσφαιρίνης**.

Όταν **EPO** ↑ => **πολλαπλασιασμός/ διαφοροποίηση**

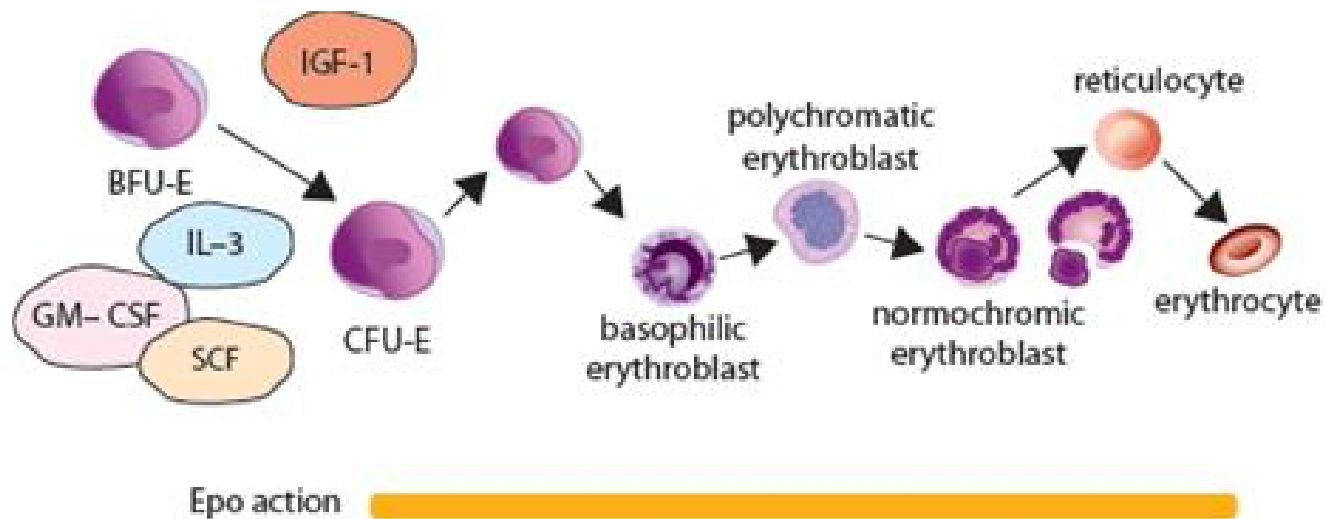
Όταν **EPO** ↓ => **απόπτωση**



# ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Ο υποδοχέας της Epo πρωτοεμφανίζεται σε μικρούς αριθμούς στα πρώιμα **BFU-E (300 EpoR/κύτταρο)**, αυξάνει στα **CFU-E (1.100EpoR/κύτταρο)** και τους προερυθροβλάστες και στη συνέχεια ελαττώνεται στις μεταγενέστερες βαθμίδες.

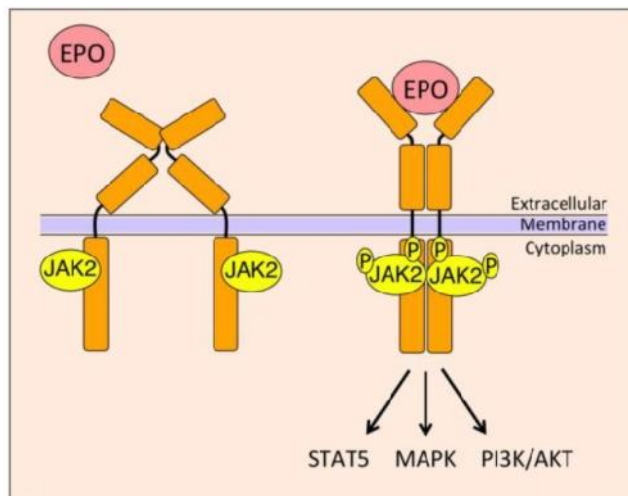
Τα **CFU-E** και οι προερυθροβλάστες αποτελούν τα κύτταρα-στόχους για τη ρύθμιση του ρυθμού ερυθροποίησης.



# ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Ο **υποδοχέας της EPO (EpoR)** είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που κινείται χαλαρά μέσα στην διπλοστοιβάδα των λιποειδών και διμερίζεται για να λειτουργήσει.

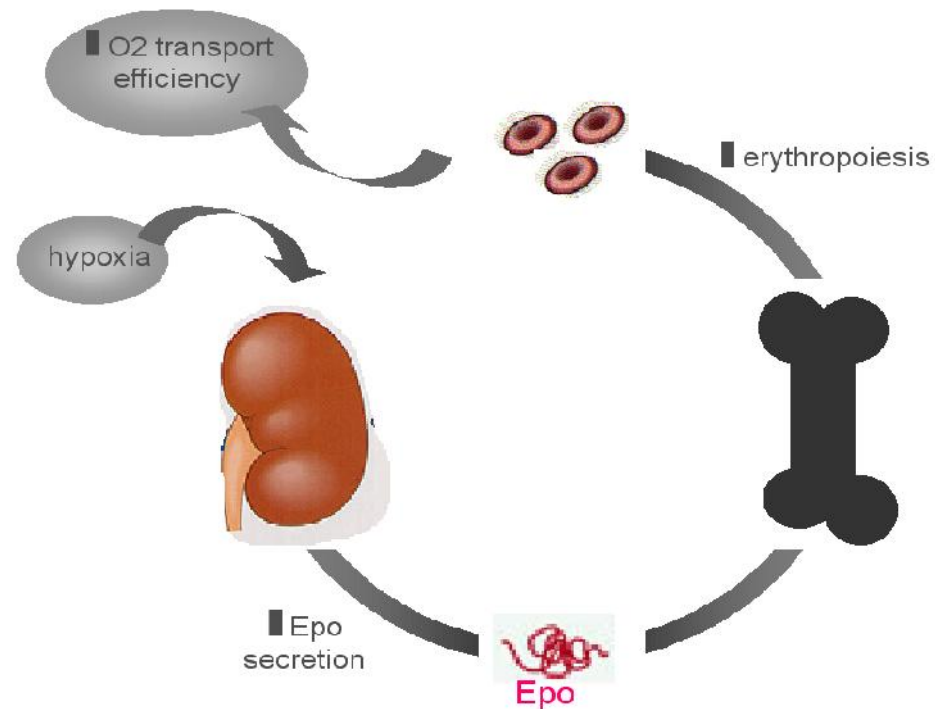
Η σύνδεση ενός μορίου EPO με το εξωμεμβρανικό άκρο του διμερούς υποδοχέα της επιφέρει αλλαγή στη στερεοδομή του, και ενεργοποιείται η δεσμευμένη στο ενδομεμβρανικό άκρο του **κινάση τυροσίνης (Janus kinase 2 (JAK2))** προκειμένου να μεταφέρουν το ερέθισμα.



μ μ (V617F) JAK2 =>  
EPO => EPOR μ

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Η ελάττωση της τάσης του οξυγόνου επηρεάζει τα επίπεδα Epo μέσω αυξημένης έκφρασης του γονιδίου της.



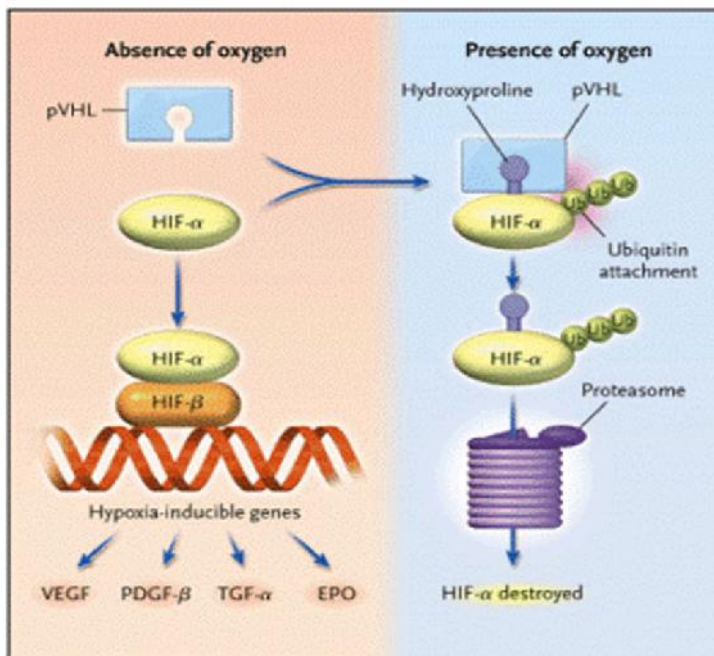
## ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ- μέσω HIF

Η ενεργοποίηση του γονιδίου *Epo* ρυθμίζεται με έναν καταρράκτη διεργασιών

- **αισθητήρες της τάσης οξυγόνου** στα περιωληναριακά κύτταρα του νεφρού που το μόριό τους περιέχει αίμη με ένα άτομο σιδήρου στο κέντρο της => ρυθμίζουν τη σύνθεση του παράγοντα **HIF $\alpha$  (hypoxia inducible factor)**.
- Ο HIF είναι ένας ετεροδιμερής μεταγραφικός παράγοντας με 2 υπομονάδες.
- Την **ευαίσθητη σε οξυγόνο** υπομονάδα **HIF-1 $\alpha$**  που α) όταν υπάρχει επάρκεια οξυγόνου συντίθεται συνεχώς σε περίσσεια και αποδομείται ταχέως και β) σε έλλειψη οξυγόνου συσσωρεύεται ταχέως και
- τη **μη-ευαίσθητη σε οξυγόνο** υπομονάδα **HIF-1 $\beta$** , που εκφράζεται συνεχώς σε σταθερή συγκέντρωση.

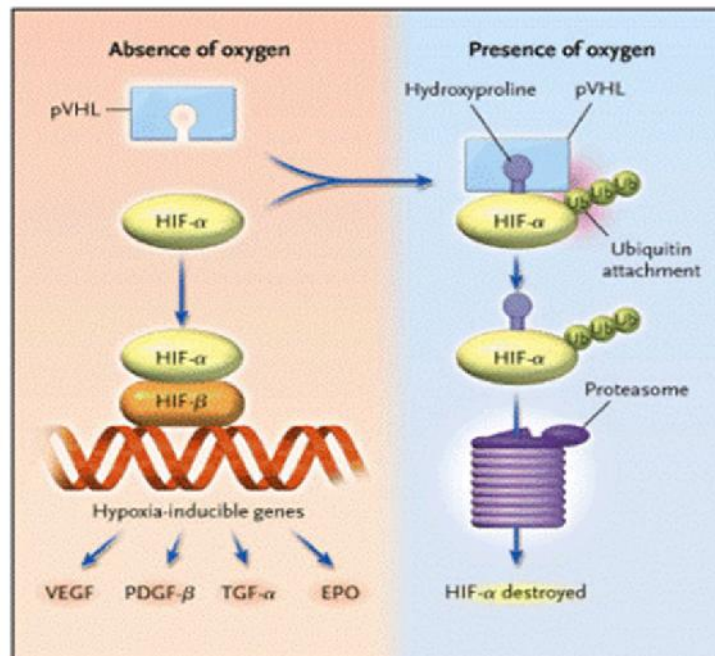
## ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ- μέσω HIF

- Σε φυσιολογική πίεση οξυγόνου, υδροξυλιώνονται κατάλοιπα προλίνης στον HIF-1α, με τη δράση **Fe<sup>2+</sup>-εξαρτώμενων υδροξυλασών προλίνης (PHD)** που χρησιμοποιούν O<sub>2</sub> ως συνπαράγοντα.
- Η υδροξυλίωση του HIF-1α τον στοχοποιεί για πρωτεόλυση, καθώς αναγνωρίζεται από τον παράγοντα **VHL (von Hippel-Lindau)**.
- Ο παράγοντας VHL βρίσκεται σε συνέργεια με το σύμπλοκο της **E3 λιγάση ουβικουΐτινης** και συντελεί στην ουβικουΐτινιλύωση του παράγοντα HIF-1α με αποτέλεσμα την πρωτεολυτική αποδόμησή του



## ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ- μέσω HIF

- Σε φυσιολογική πίεση οξυγόνου, υδροξυλιώνονται κατάλοιπα προλίνης στον HIF-1α, με τη δράση **Fe<sup>2+</sup>-εξαρτώμενων υδροξυλασών προλίνης (PHD)** που χρησιμοποιούν O<sub>2</sub> ως συνπαράγοντα.
- Η υδροξυλίωση του HIF-1α τον στοχοποιεί για πρωτεόλυση, καθώς αναγνωρίζεται από τον παράγοντα **VHL (von Hippel-Lindau)**.
- Ο παράγοντας VHL βρίσκεται σε συνέργεια με το σύμπλοκο της **E3 λιγάση ουβικουΐτινης** και συντελεί στην ουμπικουΐτινιλύωση του παράγοντα HIF-1α με αποτέλεσμα την πρωτεολυτική αποδόμησή του



Επί απουσίας ή αδρανοποίησής του VHL, ο HIF-1α δεν αποδομείται και μπορεί να υπάρχει απρόσφορη διέγερση της παραγωγής EPO -> **μη-προσήκουσα ερυθραιμία.**

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Αυξητικοί Παράγοντες

Εκτός από την ερυθροποιητίνη, στην ρύθμιση της ερυθροποίησης μετέχουν πολλοί πρόσθετοι παράγοντες.

Πρόκειται για κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους εμφανίζονται σταδιακά πάνω στα εξελισσόμενα κύτταρα της ερυθράς σειράς, και ρυθμίζουν τη ενεργοποίηση γονιδίων

**Θετική δράση στην ερυθροποίηση:**

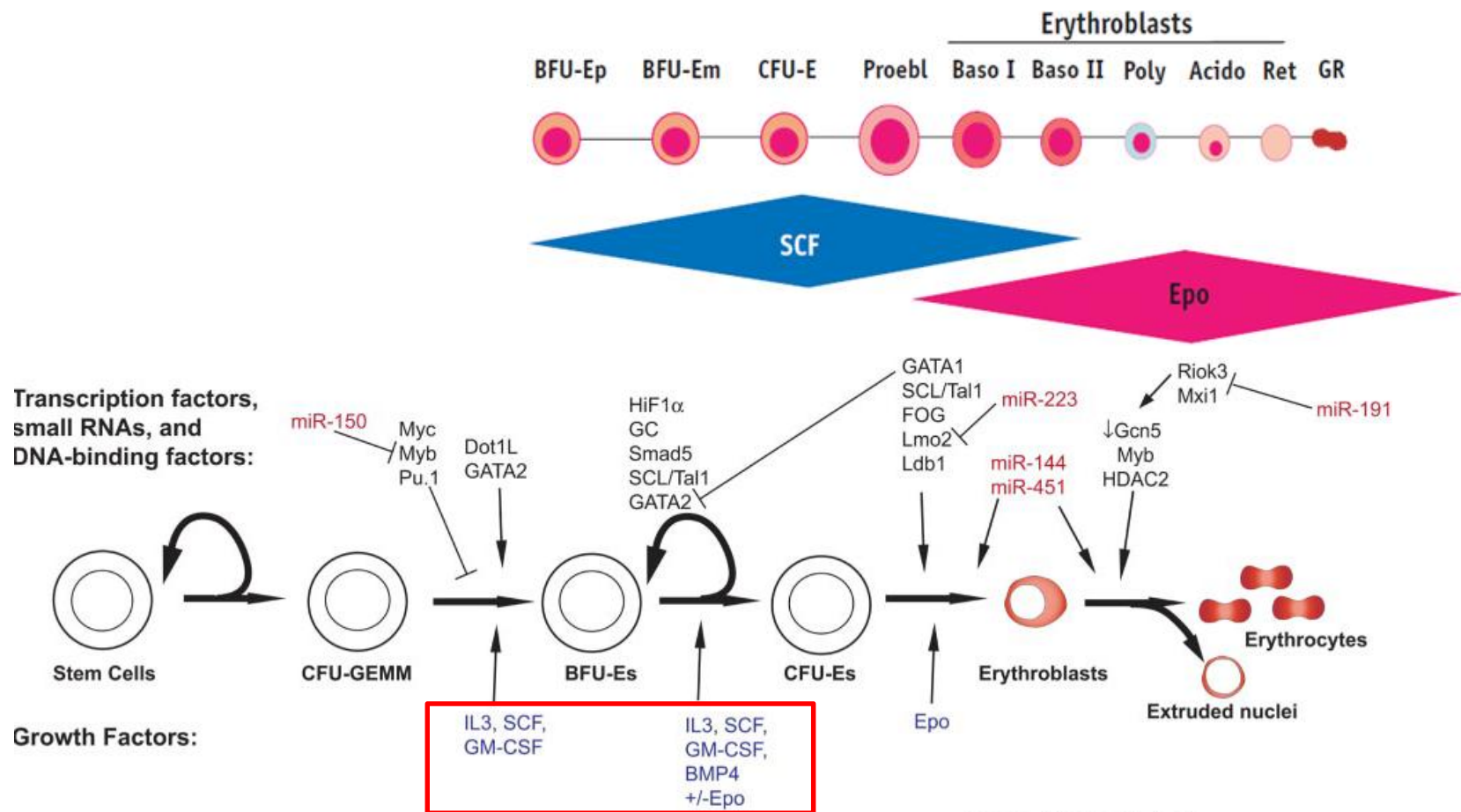
- **SCF** (stem cell factor)/ **c-kit**
- **IGF1** (insulin growth factor),
- **TPO** (θρομβοποιητίνη )
- **IL-3, IL-6, IL-9, IL-11**
- **GM-CSF**

**Αρνητική δράση στην ερυθροποίηση**

- **FAS /FAS-L,**
- **TNF-α**
- **INFγ**
- **TGF-β1** (Transforming Growth Factor)
- **SDF-1** (Stromal Derived Factor)
- **Αναστολείς φωσφορυλίωσης**

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Αυξητικοί Παράγοντες





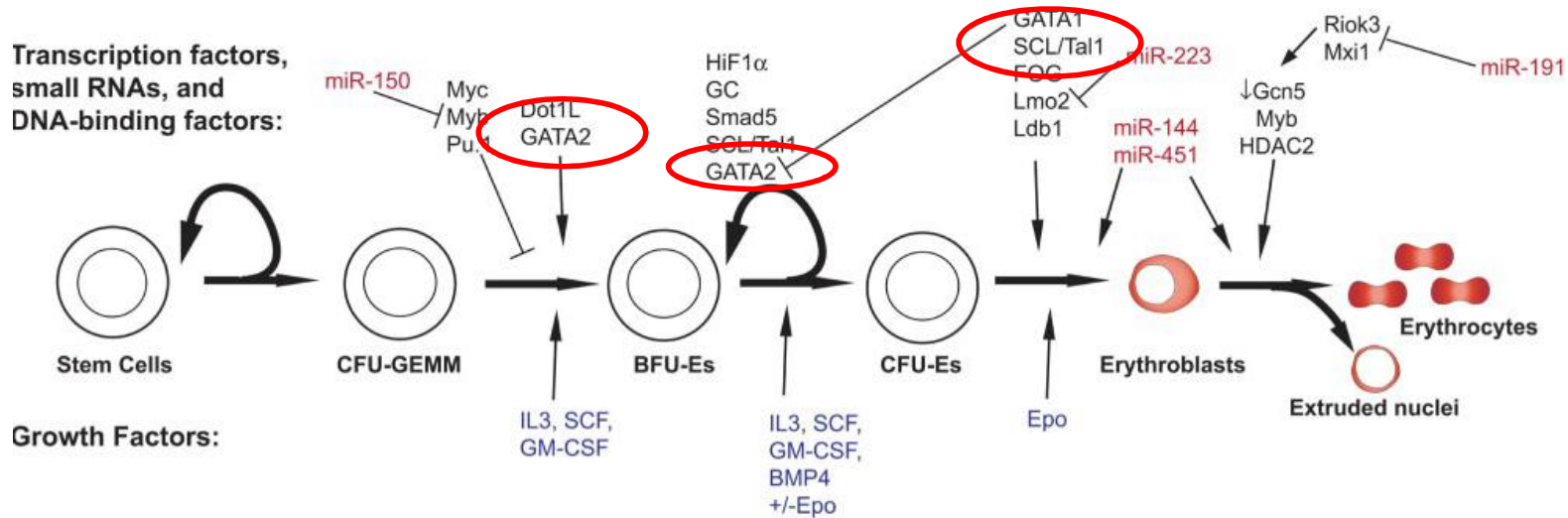
# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

- EPO ( )
- , HIF
- $\mu$  (Fe)/  $\mu$
- 
- 
- MicroRNAs

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

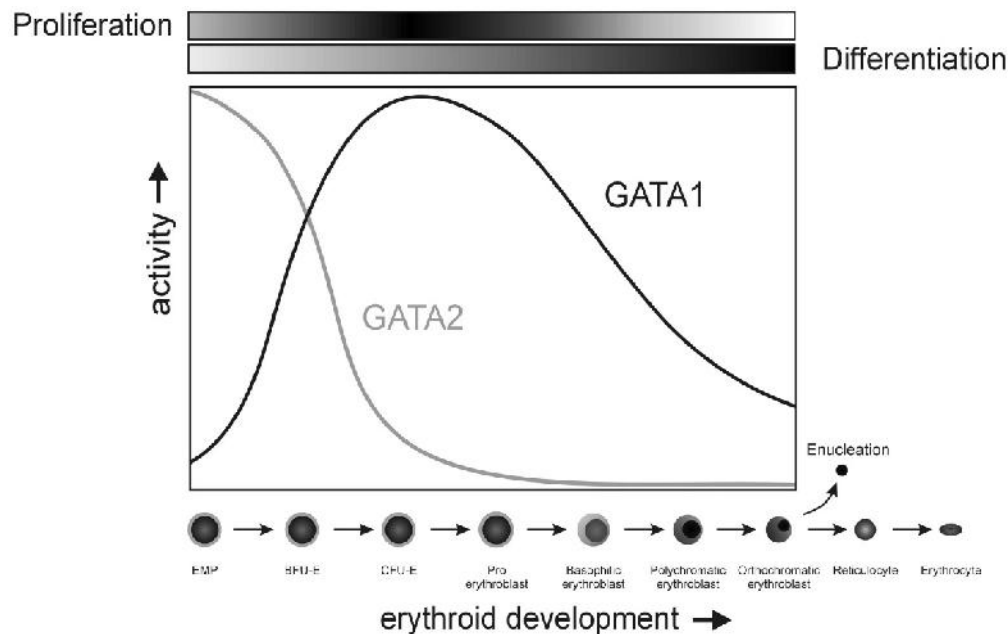
## Μεταγραφικοί Παράγοντες

Οι μεταγραφικοί παράγοντες οι οποίοι ευνοούν την παραγωγή ερυθροκυττάρων, περιλαμβάνουν: **GATA-1, GATA-2, KLF1, TAL1, LMO2, LDB1, NF-E2p, Gfi-1B κ.α.**



# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Μεταγραφικοί Παράγοντες



### GATA-1:

ρυθμίζει θετικά τη μεταγραφή στην ερυθρά σειρά.

Καταστέλλει την πολυδυναμία των προγονικών κυττάρων μέσω καταστολής GATA-2 & PU.1

Προάγει την επιβίωση των ωριμαζόντων κυττάρων της ερυθράς σειράς (επάγει αντι-αποπτωτικά γονίδια (Bcl- $\chi_1$ )).

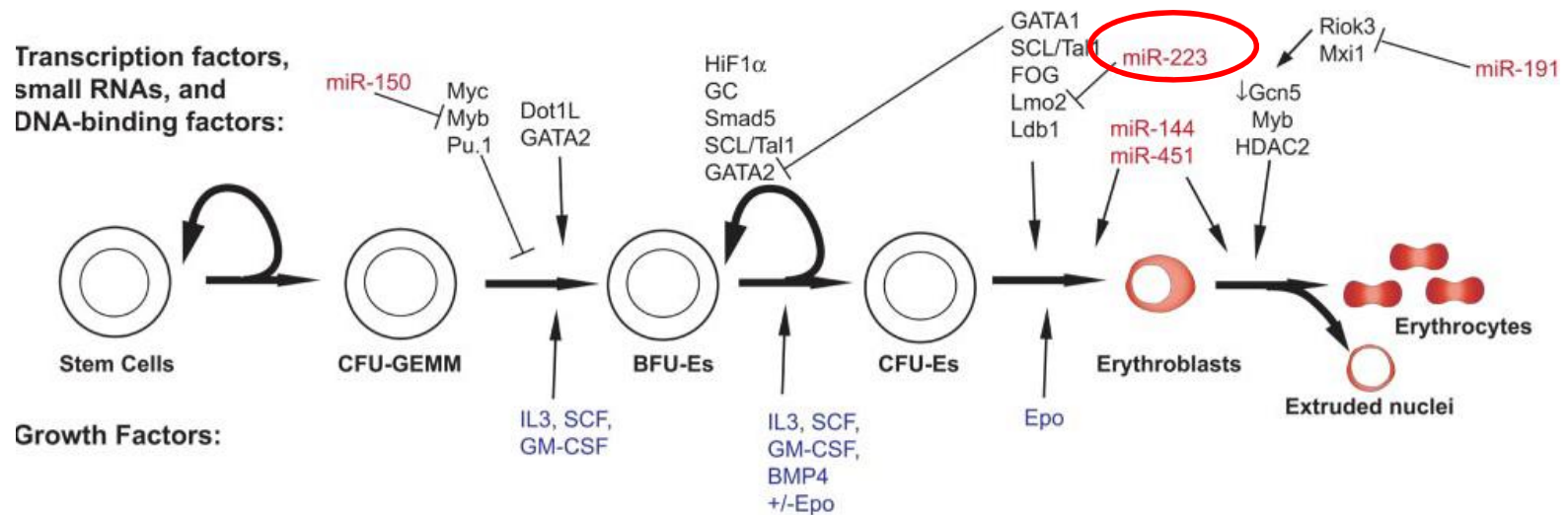
Προάγει την καταστολή του κυτταρικού κύκλου στην τελική διαφοροποίηση μέσω καταστολής μιτωγόνων γονιδίων (όπως το myc)

GATA-1 =>  $\mu$  Diamond-Blackfan

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

- EPO ( )
- , HIF
- $\mu$  (Fe)/  $\mu$
- 
- 
- **MicroRNAs**

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ MicroRNAs



# ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## MicroRNAs

**Table 1. microRNAs are Important regulators for erythropoiesis**

microRNA	Organism and experimental system	Function	Target
miR-150	Human cord blood megakaryocyte-erythrocyte and megakaryocyte progenitor	miR-150 induces differentiation toward the megakaryocytic lineage at the expense of erythroid lineage	<i>MYB</i>
miR-221 and miR-222	Human cord blood CD34 <sup>+</sup> cells	Down-regulation of miR-221 and miR-222 is required for terminal erythroid progenitor proliferation	<i>KIT</i>
miR-24	Human cord blood CD34 <sup>+</sup> cells and K562 cell line	Down-regulation of miR-24 is required for terminal erythroid differentiation	<i>ALK4</i>
miR-223	Human cord blood CD34 <sup>+</sup> cells	Down-regulation of miR-223 is required for terminal differentiation	<i>LMO2</i>
miR-144	Zebrafish embryo	miR-144 is required for zebrafish embryonic $\alpha$ -globin gene expression	<i>Klf1</i>
miR-451	Zebrafish embryo	miR-451 is required for zebrafish erythropoiesis	<i>Gata2</i>
	Knockout mice	miR-451 is required for steady-state erythropoiesis and resistance to oxidation during stress erythropoiesis	<i>14-3-3zeta</i>
miR-15a and miR-16-1	Human cord blood CD34 <sup>+</sup> cells	miR-15a and miR-16-1 were identified as potential candidates causing elevated fetal hemoglobin expression; increased expression in elevated fetal hemoglobin gene expression	<i>MYB</i>
miR-191	Mouse primary erythroid progenitors	The down-regulation of miR-191 is required for erythroblast chromatin condensation and enucleation	<i>Riok3</i> and <i>M</i>

# ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

---

**Κοκκιοκύτταρα**

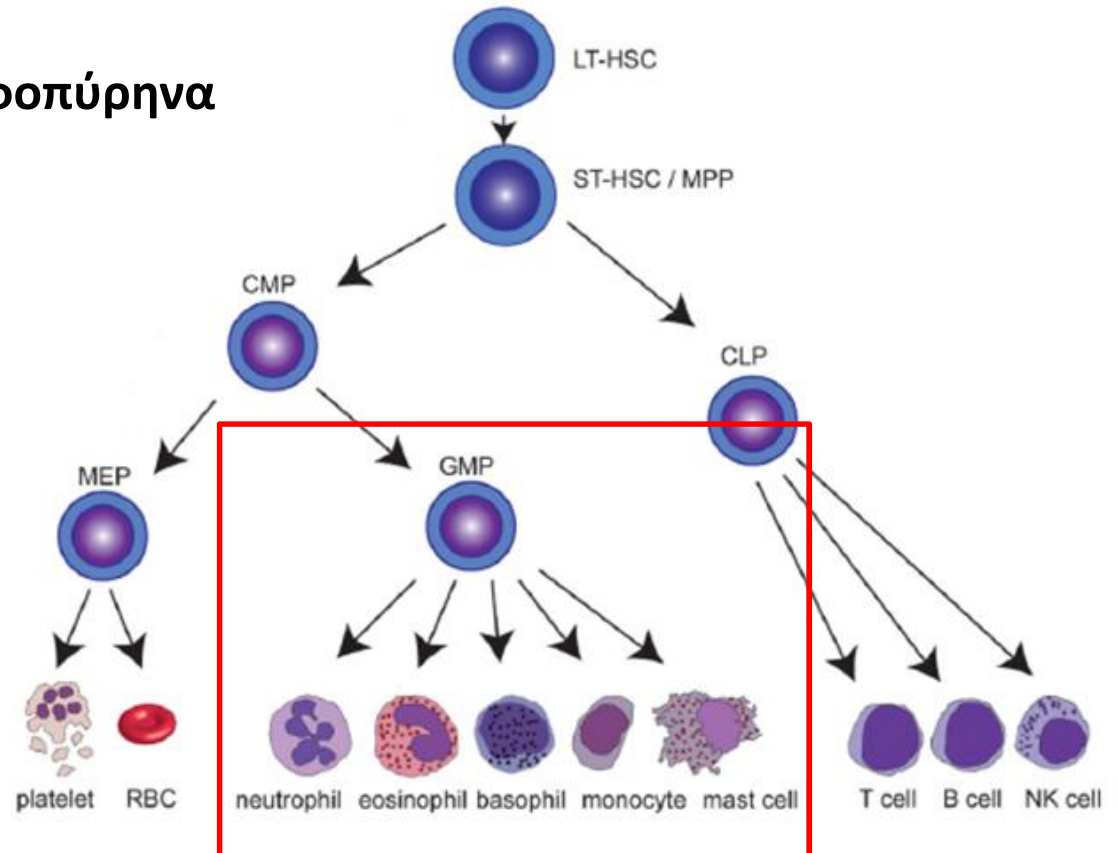
**Ρύθμιση της κοκκιώδους (μυελικής) σειράς**

# ΜΥΕΛΟΠΟΙΗΣΗ

- **Μυελοποίηση** είναι η διαδικασία παραγωγής ωρίμων κυττάρων της μυελικής σειράς στο μυελό των οστών.

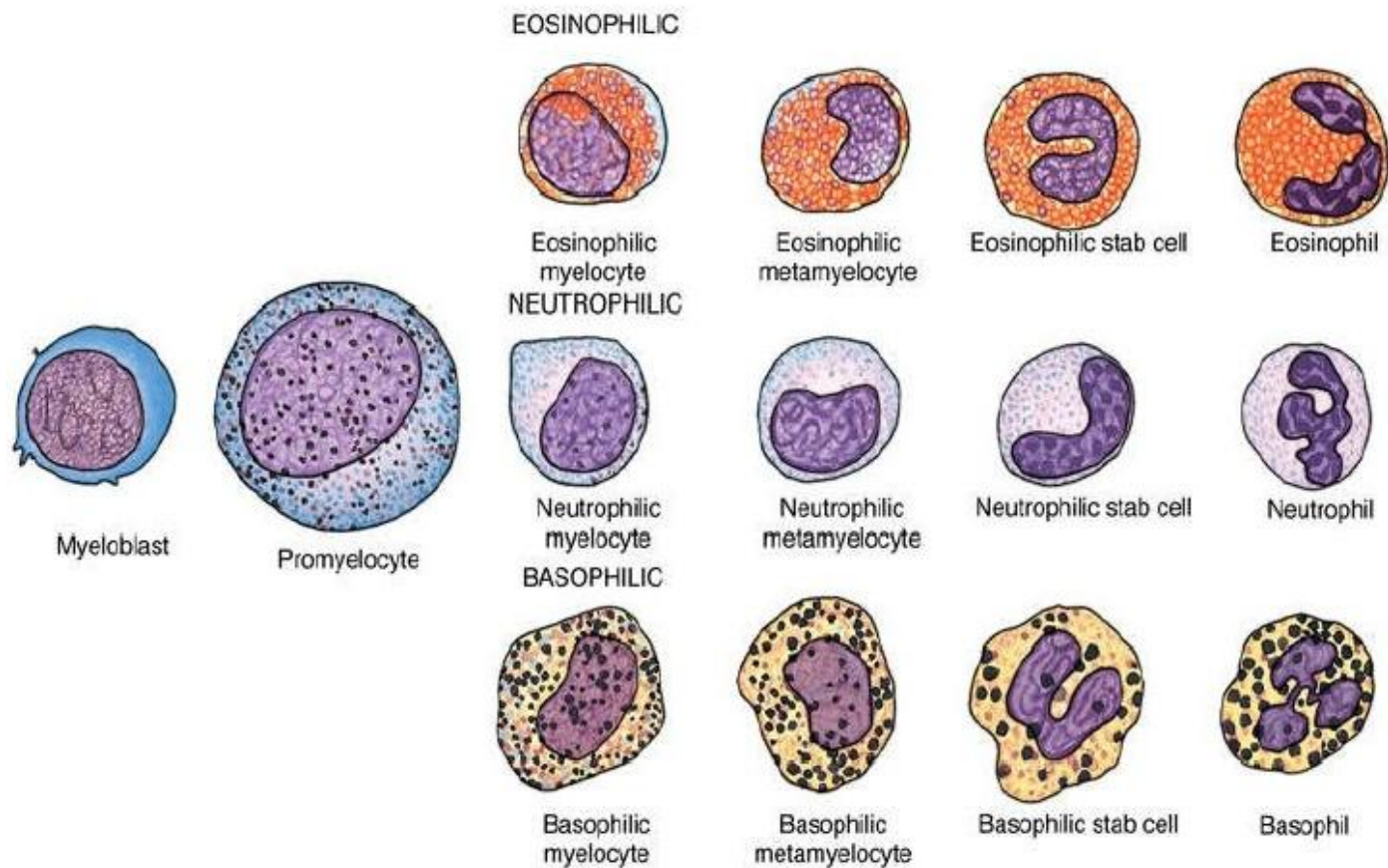
Κύτταρα μυελικής σειράς:

- **Κοκκιοκύτταρα/ Πολυμορφοπύρρηνα**
  - Ουδετερόφιλα
  - Ηωσινόφιλα
  - Βασεόφιλα
- **Μονοκύτταρα**





# ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΤΑΡΟΠΟΙΗΣΗ

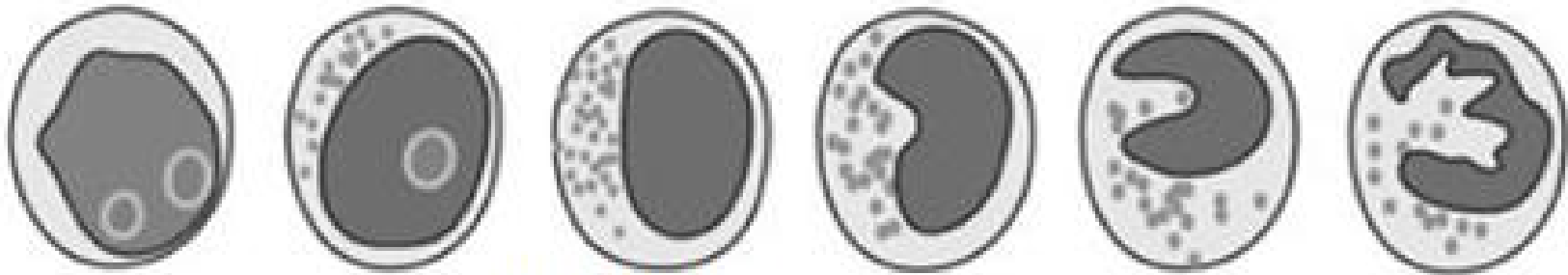


Μέχρι το στάδιο του **προμυελοκυττάρου** δεν υπάρχει μορφολογική διαφορά στις προβαθμίδες της ουδετερόφιλης, ηωσινόφιλης και βασεόφιλης σειράς.

# ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΚΟΚΚΙΩΔΟΥΣ ΣΕΙΡΑΣ

- Προοδευτική μείωση στο μέγεθος των κυττάρων  
*(εξαίρεση: προμυελοκύτταρο > μυελοβλάστη)*
- Αλλαγές στο σχήμα του πυρήνα
- Αλλαγές στο χρώμα που λαμβάνει το κυτταρόπλασμα λόγω των διαφορετικών κοκκίων  
*Αζουρόφιλα (πρωτογενή) -> από στάδιο μυελοβλάστης*  
*Ουδετερόφιλα (δευτερογενή) ->στάδιο μυελοκύτταρου*
- Προοδευτική μείωση των μιτωτικών διαιρέσεων

# ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΗ ΚΟΚΚΙΩΔΗΣ ΣΕΙΡΑ



Μυελοβλάστη

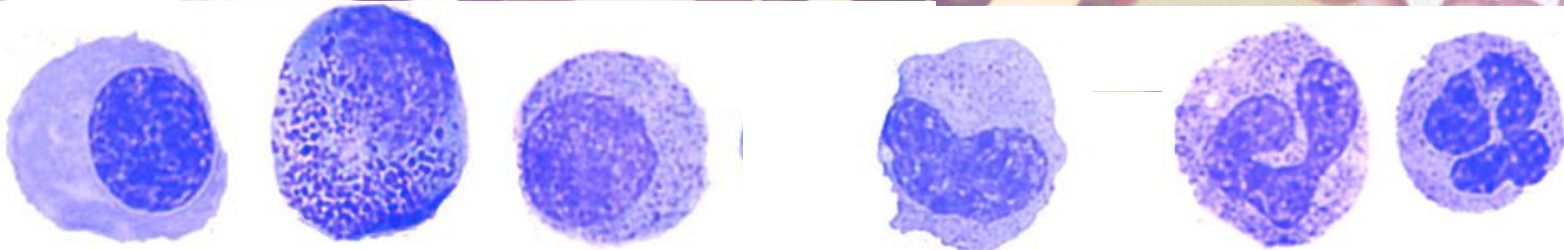
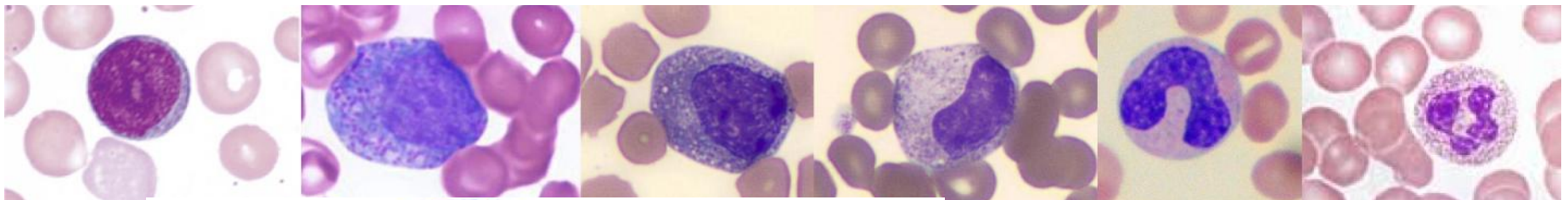
Προμυελοκύτταρο

Μυελοκύτταρο

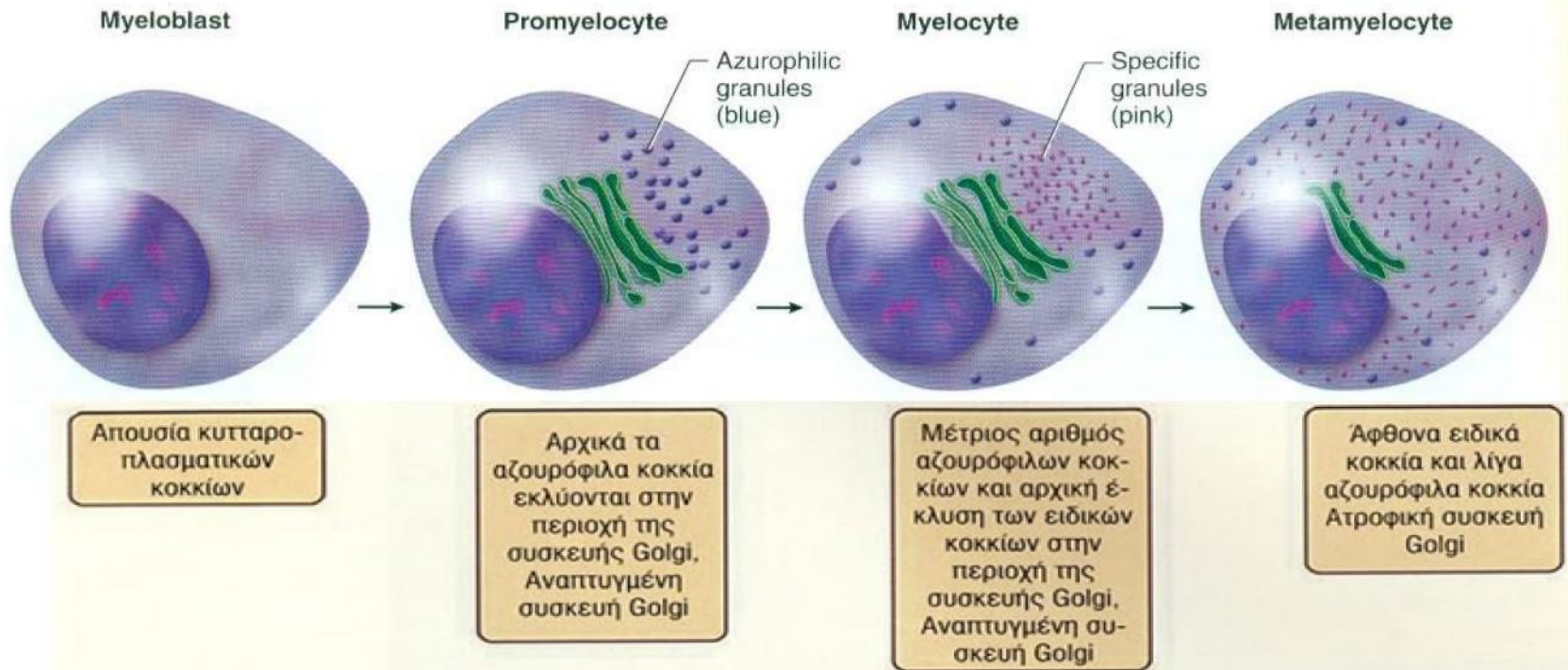
Μεταμυελοκύτταρο

Ραβδοπύρηνιο

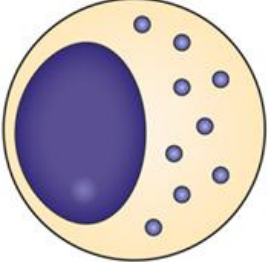
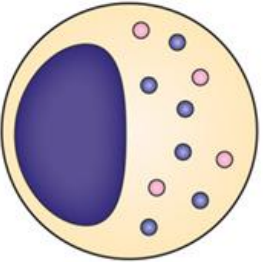
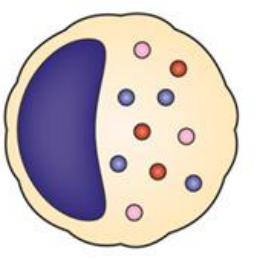
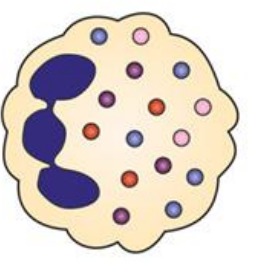




Ουδετερόφιλο πολυμορφοπύρηνιο



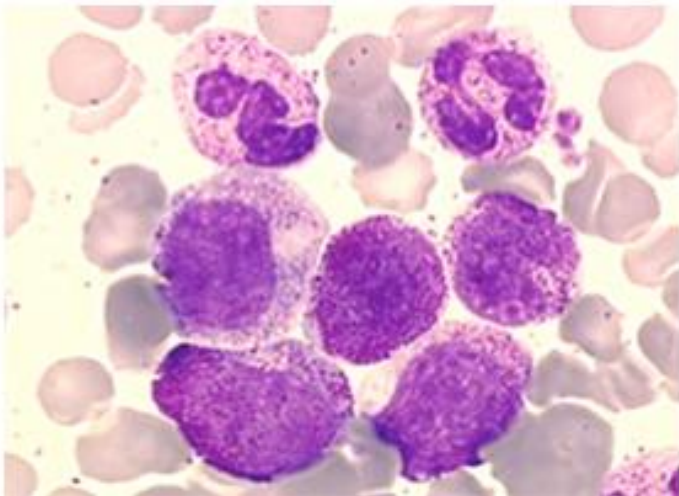
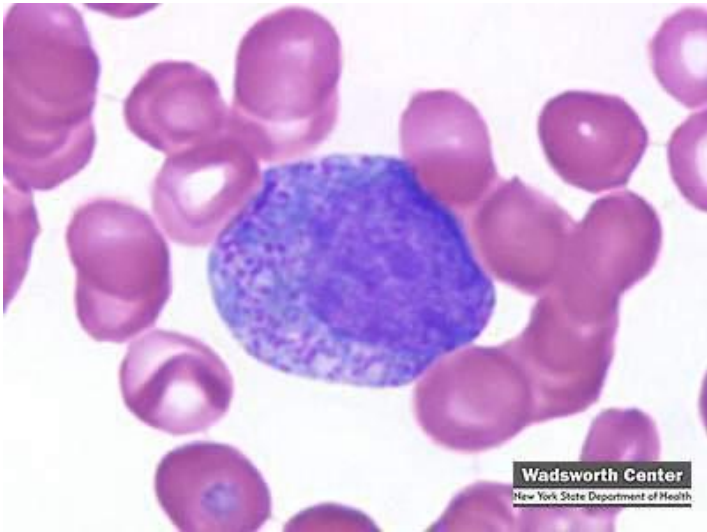
# ΩΡΙΜΑΣΗ ΤΩΝ ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΤΑΡΩΝ



# ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΩΝ ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Promyelocyte	Myelocyte	Metamyelocyte	Neutrophil
			
			
<b>Azurophilic</b>	<b>Specific</b>	<b>Gelatinase</b>	<b>Secretory</b>
<b>ROS and Killing Within Phagosomes</b>	<b>Intracellular and Extracellular Killing</b>	<b>Migration and Extravasation</b>	<b>Adherence</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Myeloperoxidase</li> <li>- Defensins</li> <li>- BPI</li> <li>- Azuracidin</li> <li>- Elastase</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lactoferrin</li> <li>- Metalloproteinases</li> <li>- Cathelicidin</li> <li>- Lipocalin 2</li> <li>- Olfactomedin 4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Gelatinase</li> <li>- Arginase 1</li> <li>- Lysozyme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plasma Proteins</li> <li>- Membrane Receptors</li> <li>- Alkaline Phosphatase</li> </ul>

# ΠΡΟ-ΜΥΕΛΟΚΥΤΤΑΡΟ



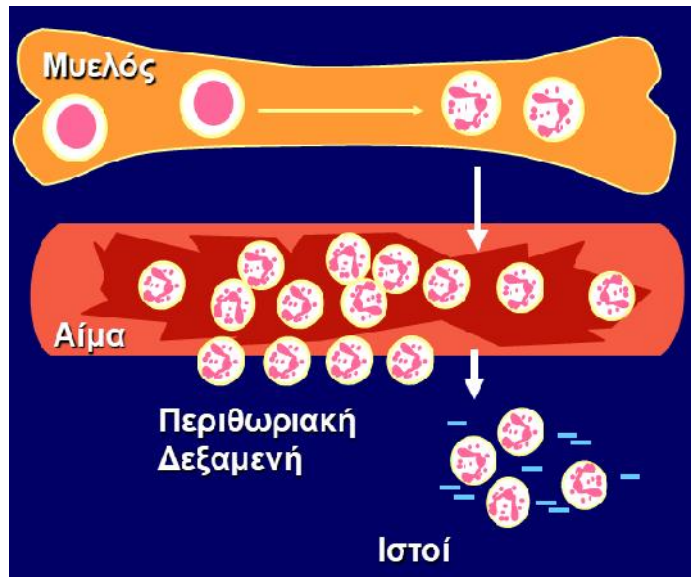
## Οξεία προμυελοκυτταρική Λευχαιμία

Αναστολή της κυτταρικής διαφοροποίησης, που σταματά στο στάδιο του προμυελοκυττάρου, λόγω αδρανοποίησης του υποδοχέα ρετινοϊκού οξέος RAR $\alpha$ , που παίζει ρόλο στη διαφοροποίηση.

Λόγω της μετάθεσης t(15;17)(q22;q21), το γονίδιο PML μεταφέρεται και συντήκεται με το γονίδιο RAR $\alpha$ .

# ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ

- Τα ουδετερόφιλα βρίσκονται σε διάφορα διαμερίσματα:
  - **μυελός οστών** (μυελική αποθήκη/ εφεδρείες άμεσης ανάγκης)
  - **Περιφερικό αίμα** (διαμέρισμα κυκλοφορούντων κοκκιοκυττάρων & διαμέρισμα των προσκολλημένων στο τοίχωμα αγγείων)
  - **Ιστοί** (διαμέρισμα των ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων των ιστών)
- Ο αριθμός των λευκών κυττάρων (WBC) και ο τύπος τους μας δίνουν πληροφορίες μόνο για το τί συμβαίνει στην κυκλοφορία



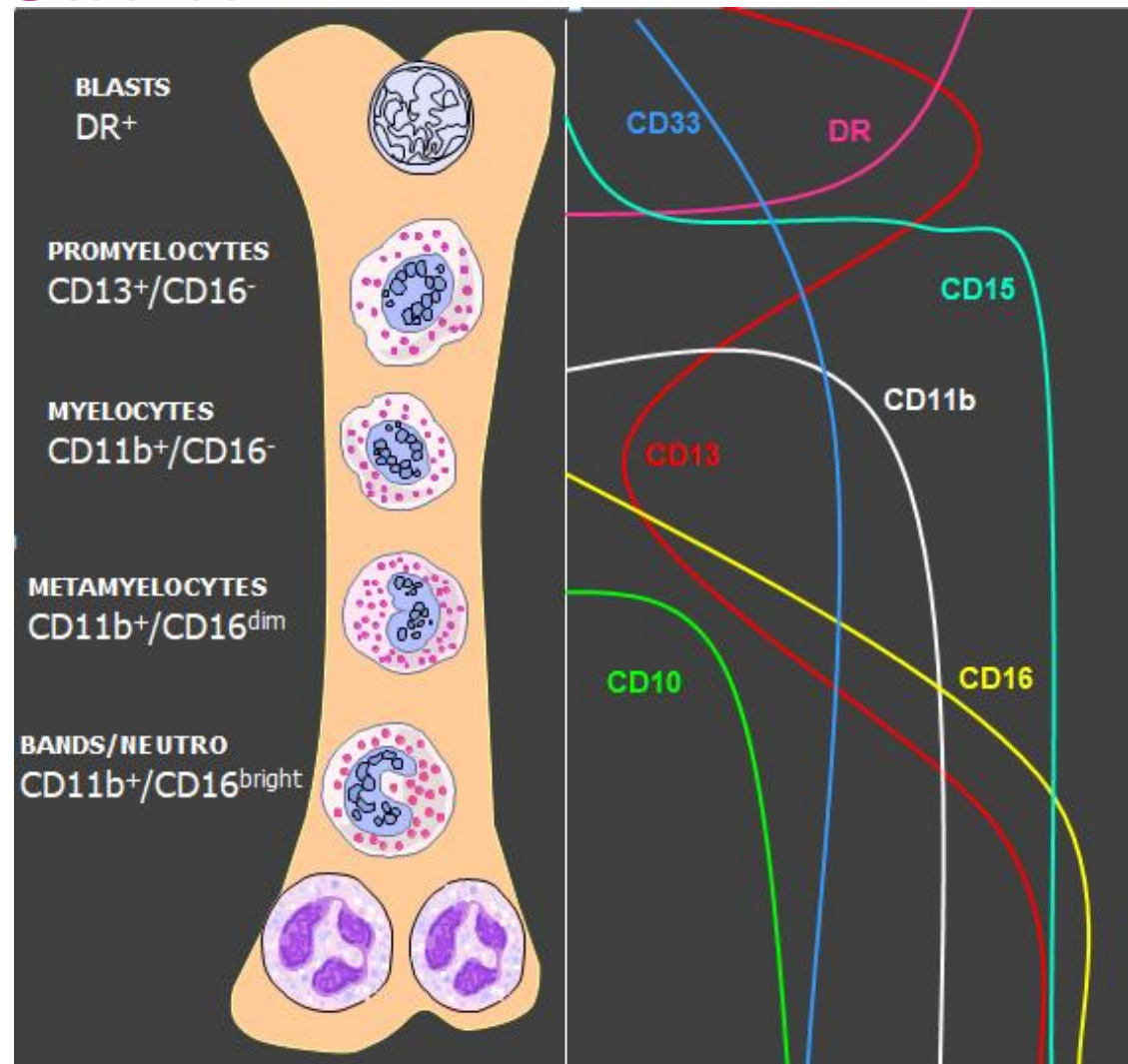
Ενήλικες	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ στο ΑΙΜΑ
Αριθμός Λευκών	4.0 – 11.0 x 10 <sup>9</sup> /L
Ουδετερόφιλα	2.5 – 7.5 x 10 <sup>9</sup> /L
Ηωσινόφιλα	0.04 – 0.4 x 10 <sup>9</sup> /L
Βασεόφιλα	0.01 – 0.1 x 10 <sup>9</sup> /L
Μονοκύτταρα	0.2 – 0.8 x 10 <sup>9</sup> /L
Λεμφοκύτταρα	1.5 – 3.5 x 10 <sup>9</sup> /L

# ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΑΡΟΠΟΙΗΣΗ

Χρειάζεται συνδυασμός δεικτών επιφανείας για να διακριθούν τα διάφορα στάδια ωρίμανσης,

Σταθεροί δείκτες κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης:

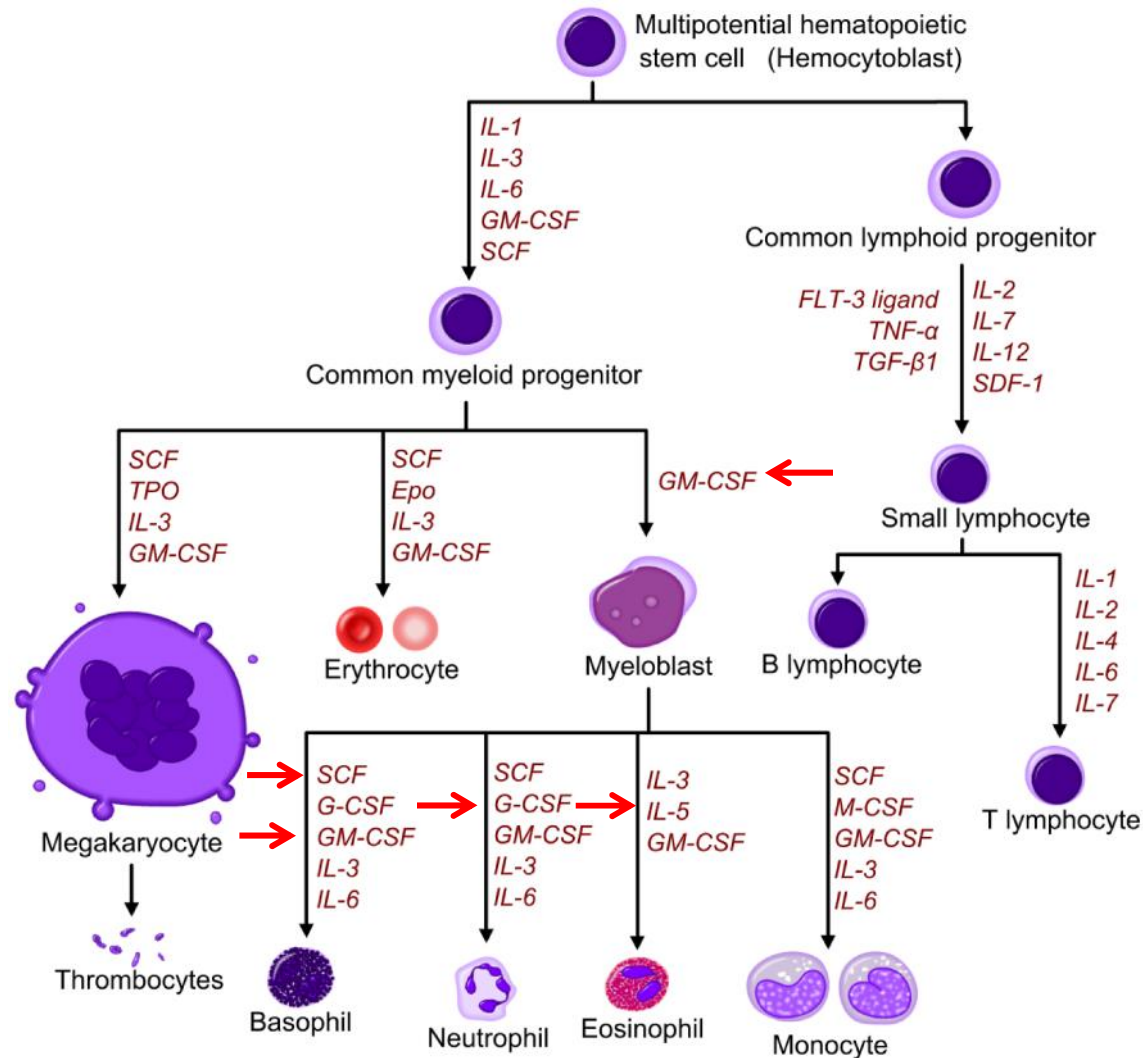
- **CD33** (πιο πρώιμος)
- **CD15**





# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΑΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Αυξητικοί παράγοντες



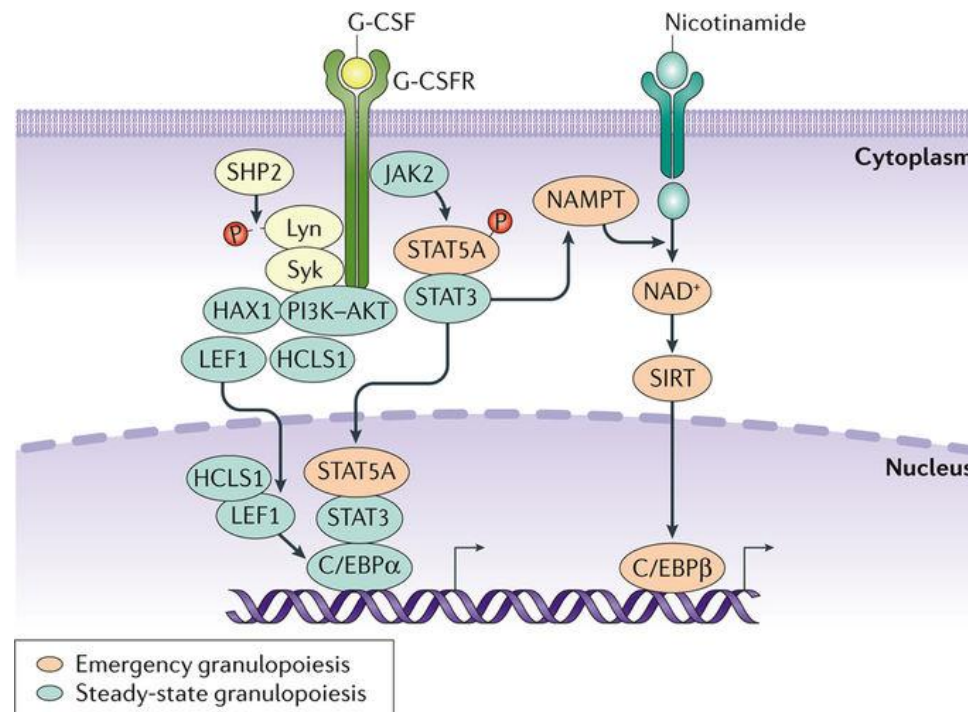
Source: commons.wikipedia.org

# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΑΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Υποδοχέας G-CSF (G-CSFR)

Μεταγωγή σήματος:

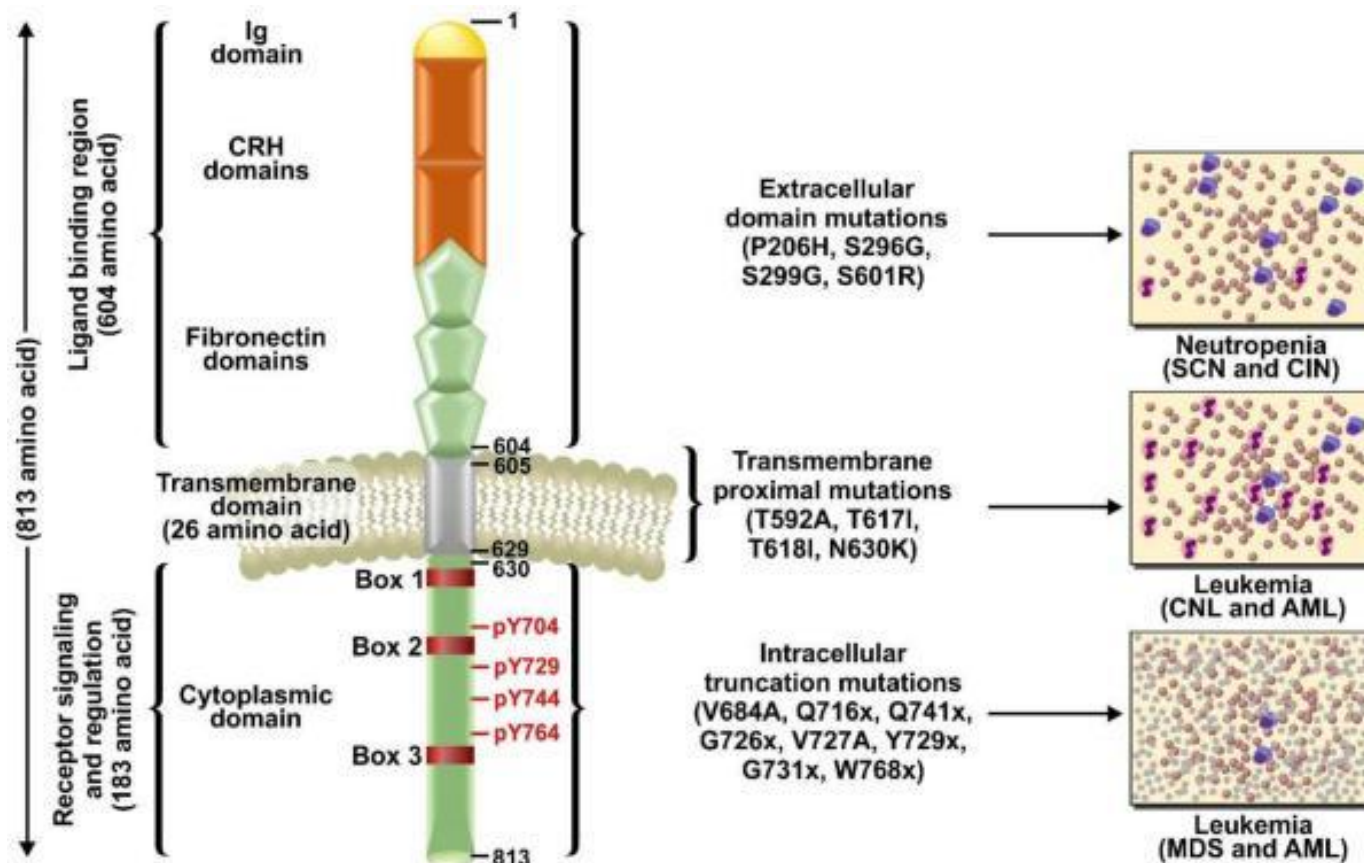
- JAK2->STAT3, STAT5 => **μεταγραφικός παράγοντας C/EBPα**
- SHP2 φωσφατάση > Lyn κινάση, Syk κινάση-> HCLS1 μεταγραφικός συνπαράγον -> LEF1 Μεταγραφικός παράγοντας => **μεταγραφικός παράγοντας C/EBPα**



# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΑΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Υποδοχέας G-CSF (G-CSFR)

Μεταλλάξεις στον G-CSF-R => Ουδετεροπενία (Severe Congenital Neutropenia) ή Λευχαιμία

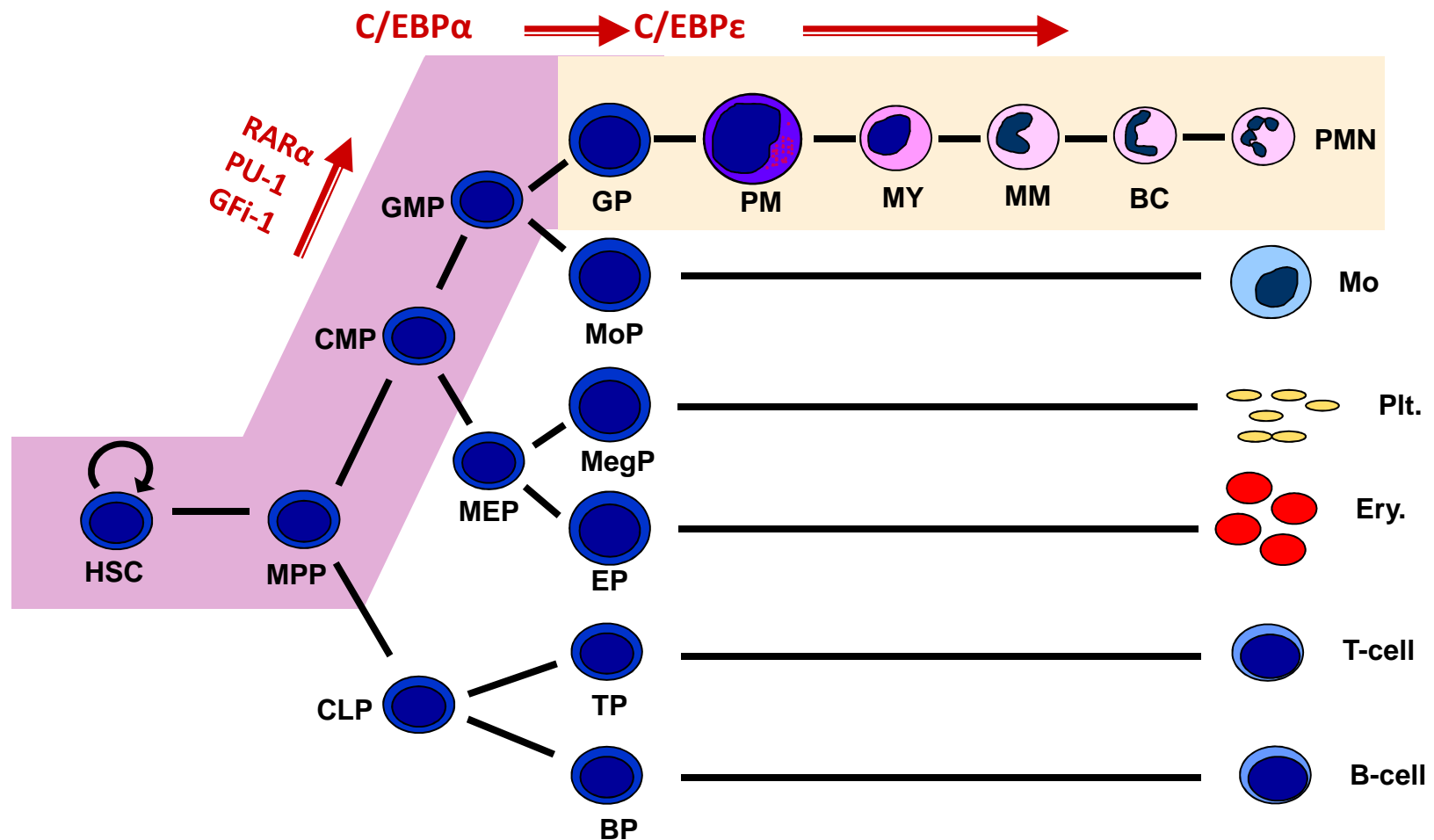


# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΑΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Μεταγραφικοί παράγοντες

Πρώιμη διαφοροποίηση  
-δέσμευση  
-πολλαπλασιασμός

Τελική διαφοροποίηση  
-παύση πολλαπλασιασμού  
-απόκτηση ειδικών λειτουργιών



# ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΤΗΝ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΚΟΚΚΙΩΔΟΥΣ ΣΕΙΡΑΣ

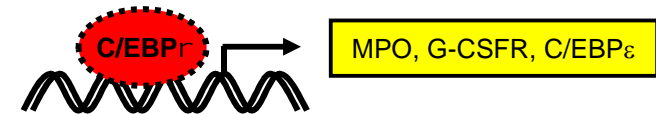
Ο μεταγραφικός παράγοντας **C/EBP $\gamma$**

- Εκφράζεται στα πρόδρομα στάδια της κοκκιοκυτταρικής ανάπτυξης επάγοντας την διαφοροποίηση.
- Επάγει την έκφραση γονιδίων ειδικών για τη μυελική σειρά όπως η **MPO** (myeloperoxidase) και ο **G-CSFR** αλλά και γονιδίων που δρουν ανασταλτικά στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό προσδενόμενος στον E2F.
- Επάγει επίσης την έκφραση του **C/EBP $\nu$** .

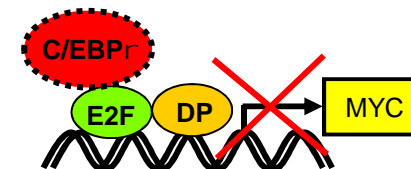
Ο μεταγραφικός παράγοντας **C/EBP $\nu$**

- Εκφράζεται σε προχωρημένα στάδια της διαφοροποίησης, και συγκεκριμένα στα προμυελοκύτταρα και μυελοκύτταρα αλλά όχι στα πολυμορφοπύρηνα.
- Επάγει την σύνθεση των πρωτεϊνών των κοκκίων των προμυελοκυττάρων.
- Επάγει την αναστολή του κυτταρικού κύκλου στα Μεταμυελοκύτταρα.

C/EBP target genes

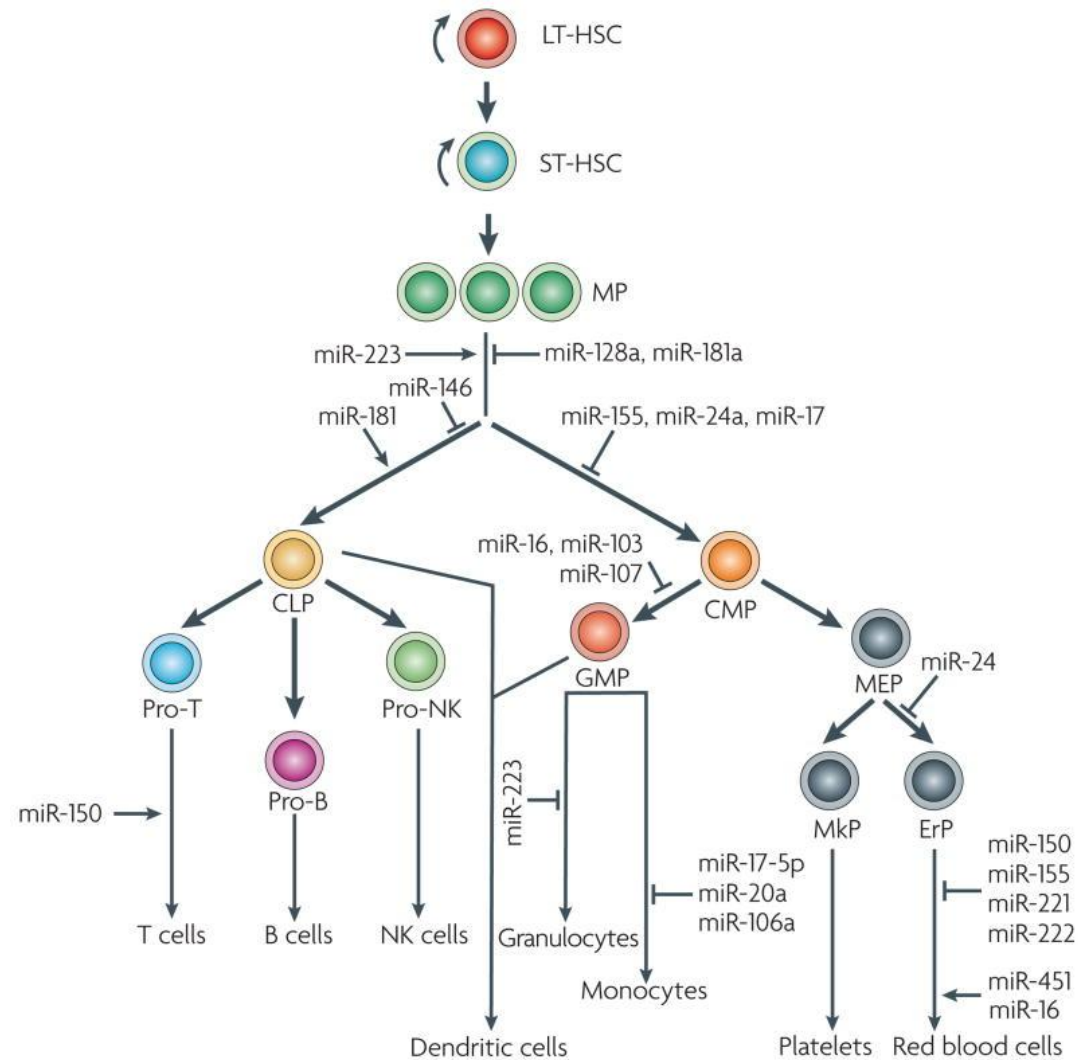


Ο C/EBP $\alpha$  προσδένεται στον E2F και καταστέλλει την μεταγραφή των E2F target genes G1-S



# ΡΥΘΜΙΣΗ της ΚΟΚΚΙΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Micro RNAs



Gangaraju, V., & Lin, H. (2009). MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10(2), 116-125.

# ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

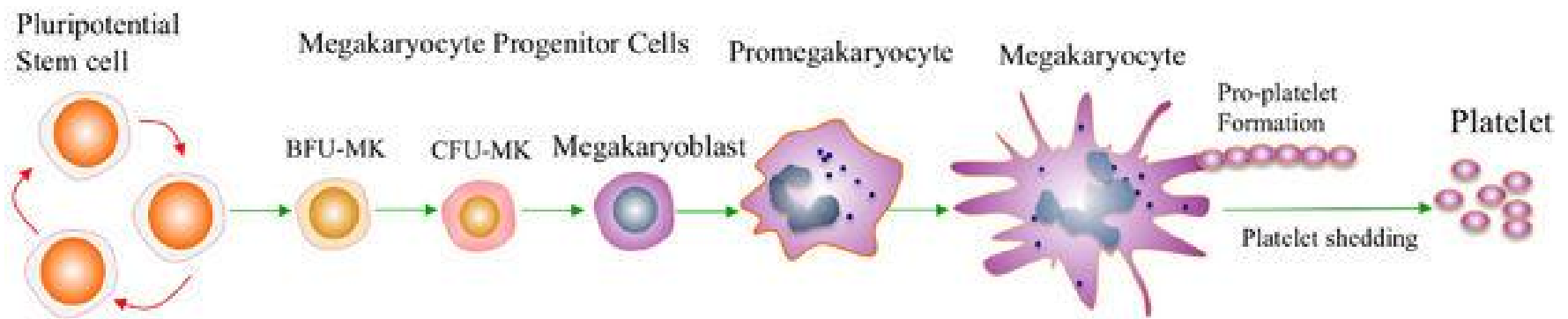
---

**Αιμοπετάλια και Θρομβοποίηση**

**Μεγακαρυοκυτταρική σειρά και παράγοντες ρύθμισης**

# ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΠΟΙΗΣΗ/ ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΣΗ

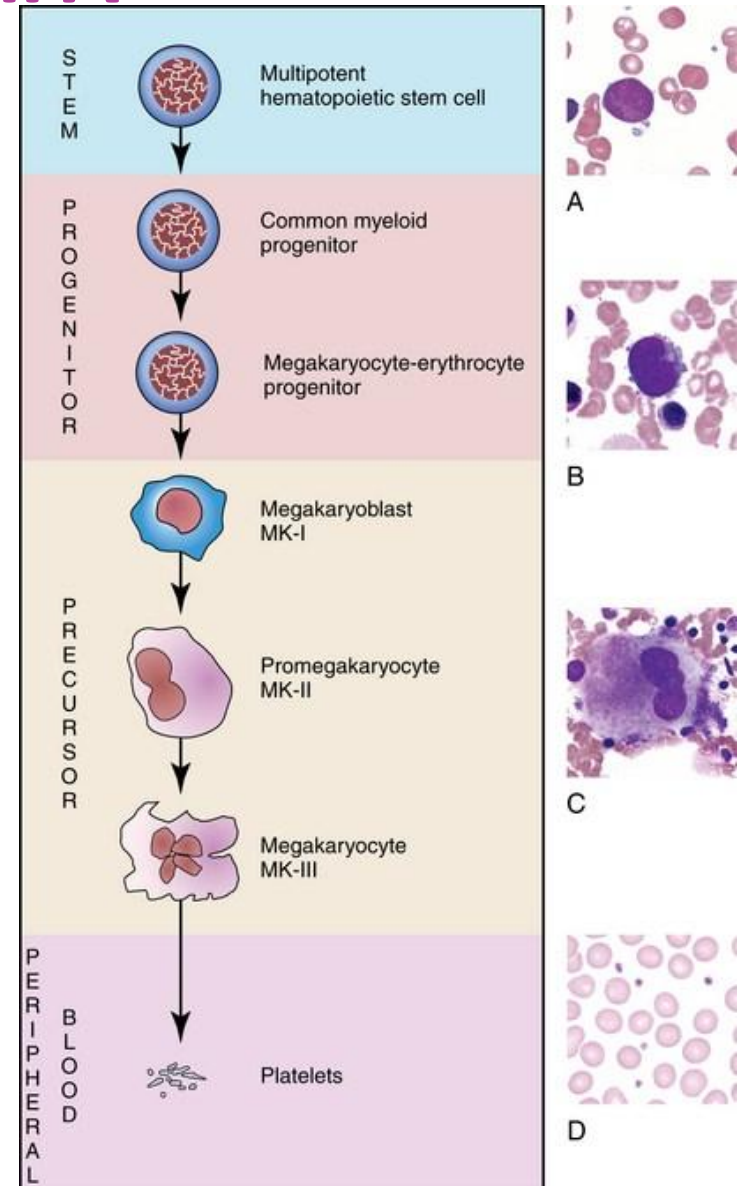
- **Μεγακαρυοποίηση** είναι η διαδικασία της διαφοροποίησης και ωρίμανσης των μεγακαρυοκυττάρων από αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα.





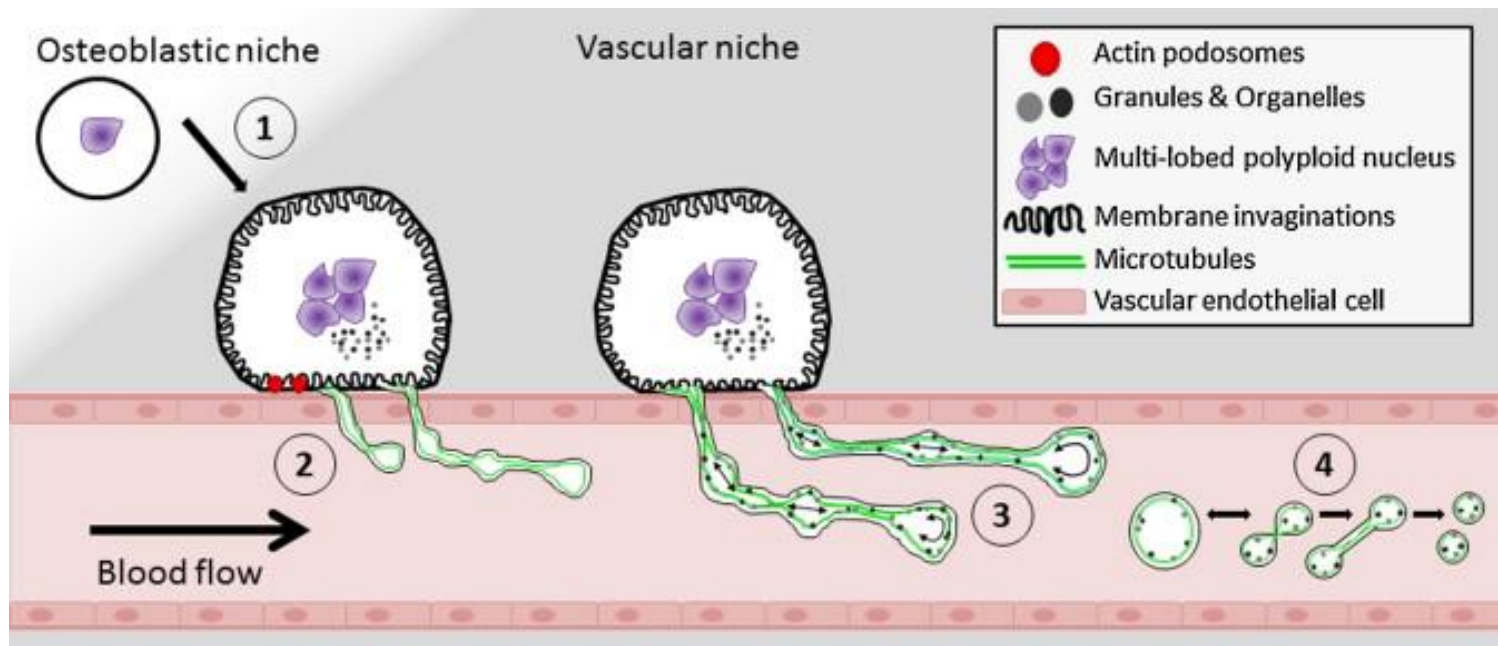
# ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ

- CFU-Meg
- Μεγακαρυοβλάστη
- Προμεγακαρυοκύτταρο/ Άωρο  
μεγακαρυοκύτταρο
- Όριμο Μεγακαρυοκύτταρο
- Αιμοπετάλια



# ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΣΗ

Τα ώριμα Μκ αναπτύσσουν πολλαπλές διακλαδισμένες προσεκβολές (δυναμική οργάνωση τουμπουλίνης(tubulin) - ολίσθηση μικροσωληνίσκων) που προβάλλονται στα κολλοειδή από όπου θα απελευθερωθούν τα αιμοπετάλια στην κυκλοφορία.



N.S.Poulter, S.G.Thomas, Cytoskeletal regulation of platelet formation: Coordination of F-actin and microtubules, The international journal of biochemistry & cell biology 66 · July 2015

# ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

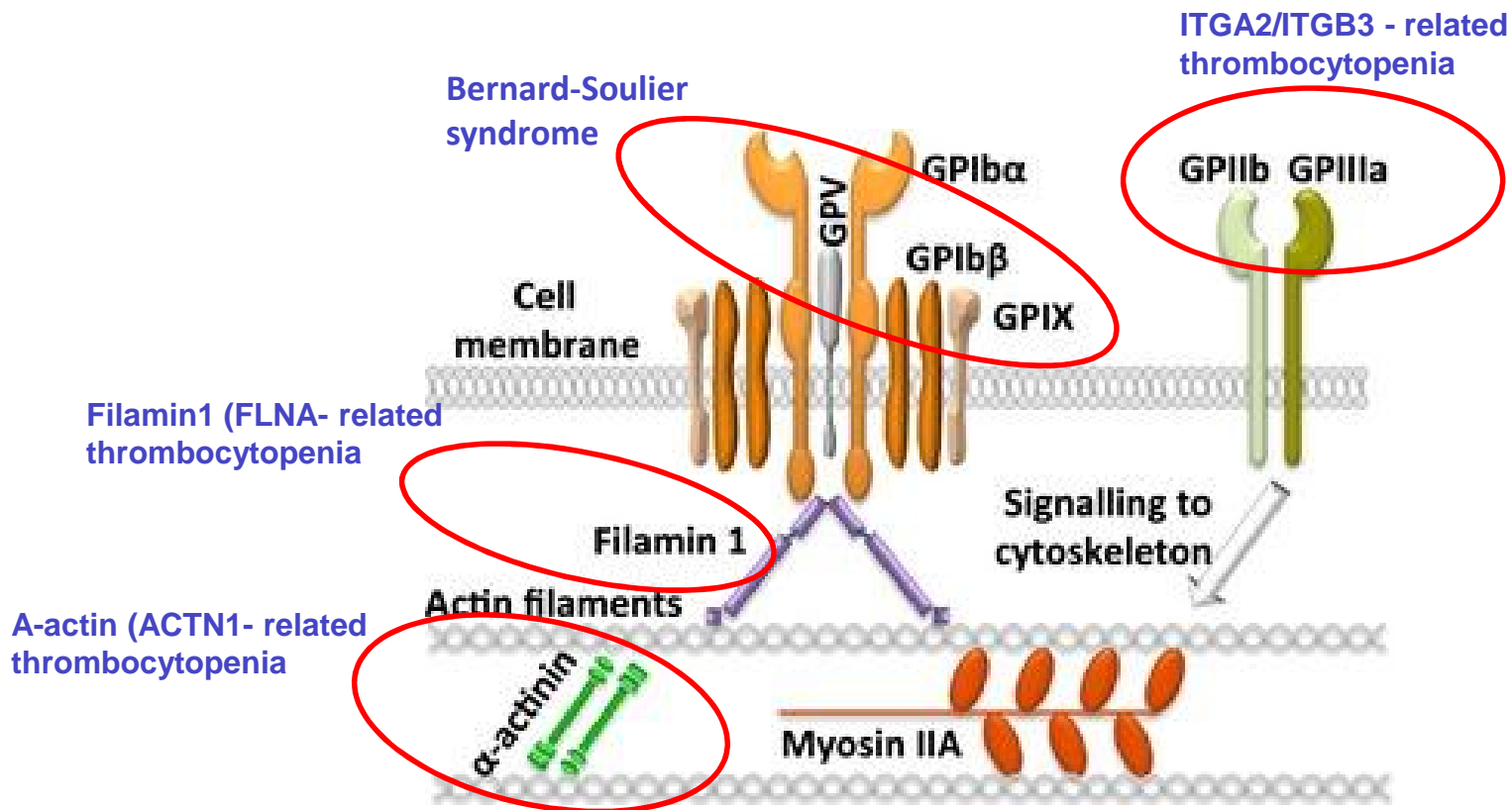
Το μικροπεριβάλλον του μυελού επηρεάζει πέρα από την ωρίμανση των Μκ, και την παραγωγή αιμοπεταλίων.

Μετά την **ωρίμανση τους στην οστεοβλαστική φωλιά**, τα Μκ **μεταναστεύουν** κοντά στα **φλεβικά κολποειδή** από όπου τα προ-αιμοπετάλια απελευθερώνουν νέα αιμοπετάλια απευθείας στην κυκλοφορία.

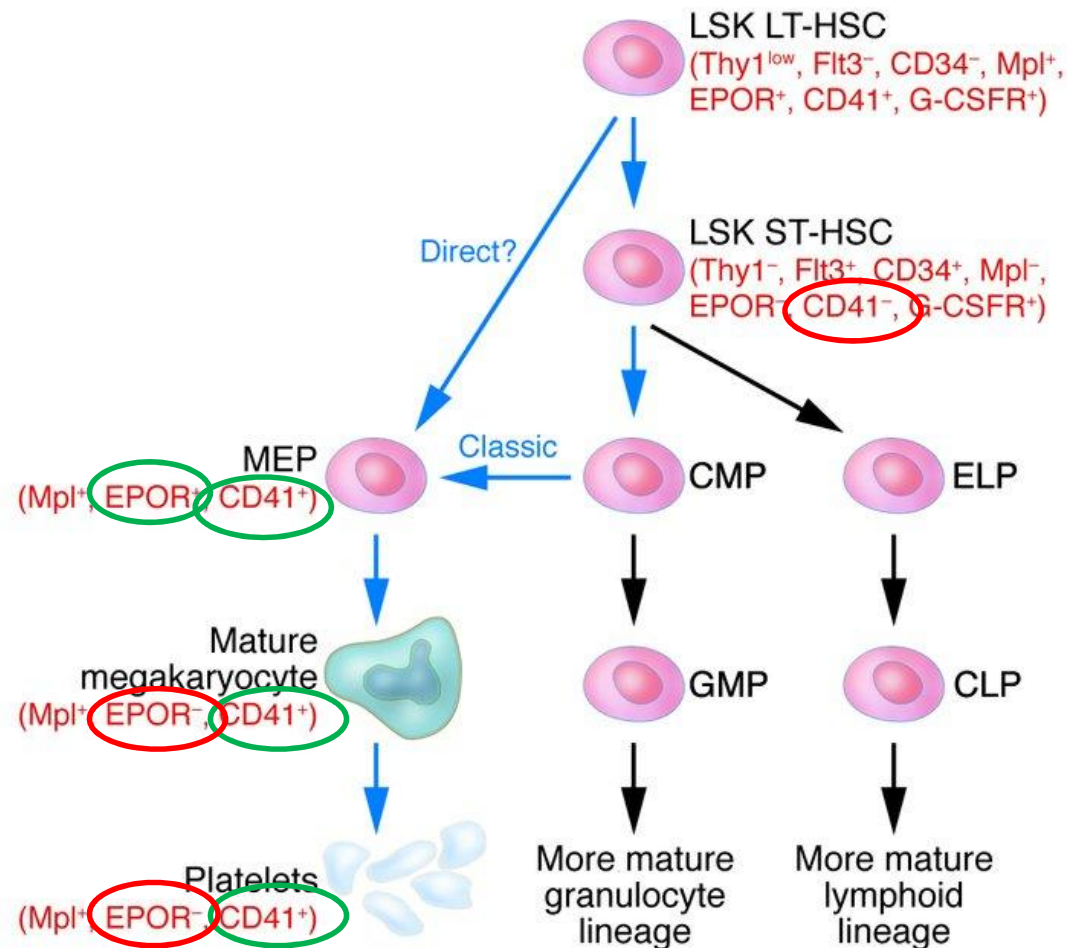
Οι αλληλεπιδράσεις των Μκ με τα διάφορα **μόρια προσκόλλησης** στην εξωκυττάρια ουσία κατά τη διάρκεια αυτής της διεργασίας παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του σχηματισμού αιμοπεταλίων.

# ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ στην ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Μεταλλάξεις στα συστατικά του **κυτταροσκελετού** σχετίζονται με **συγγενείς θρομβοπενίες**- καθώς δεν σχηματίζονται σωστά τα προαιμοπετάλια και δεν απελευθερώνονται στα κολποειδή.



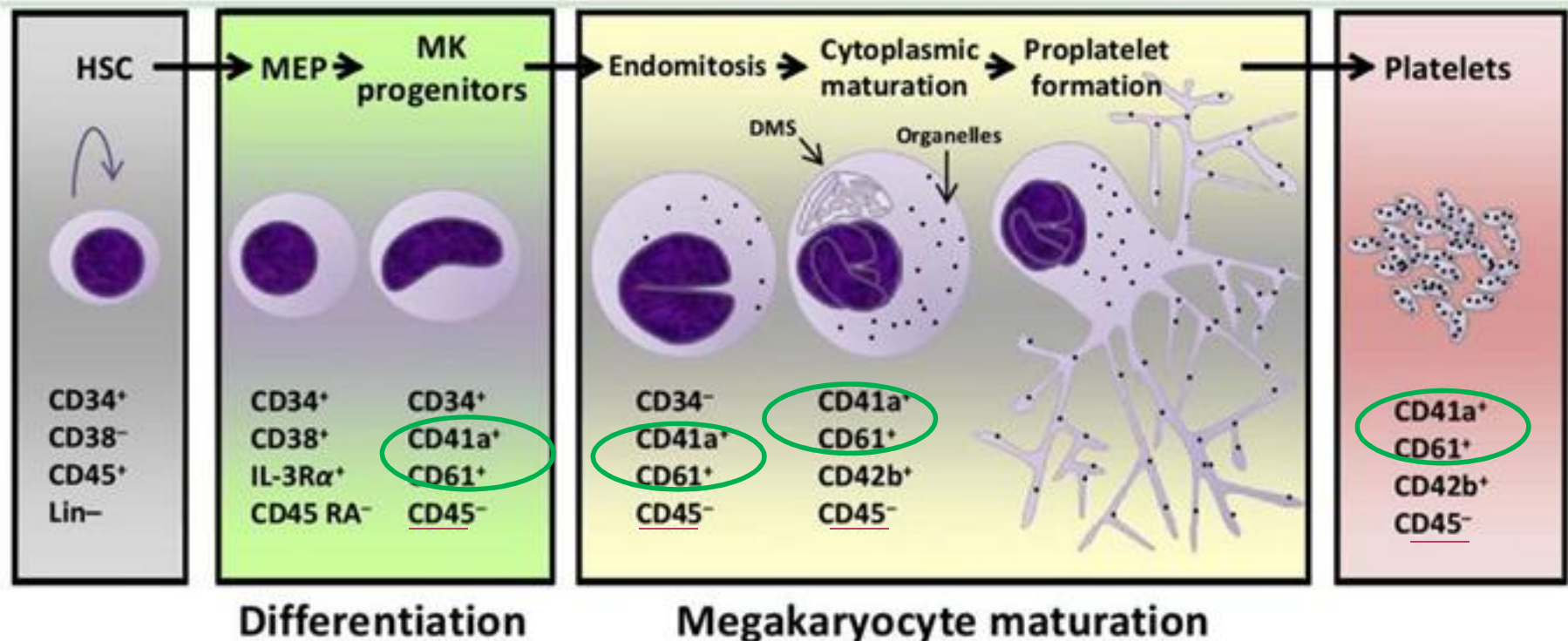
# ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ – ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ



# ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ – ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ

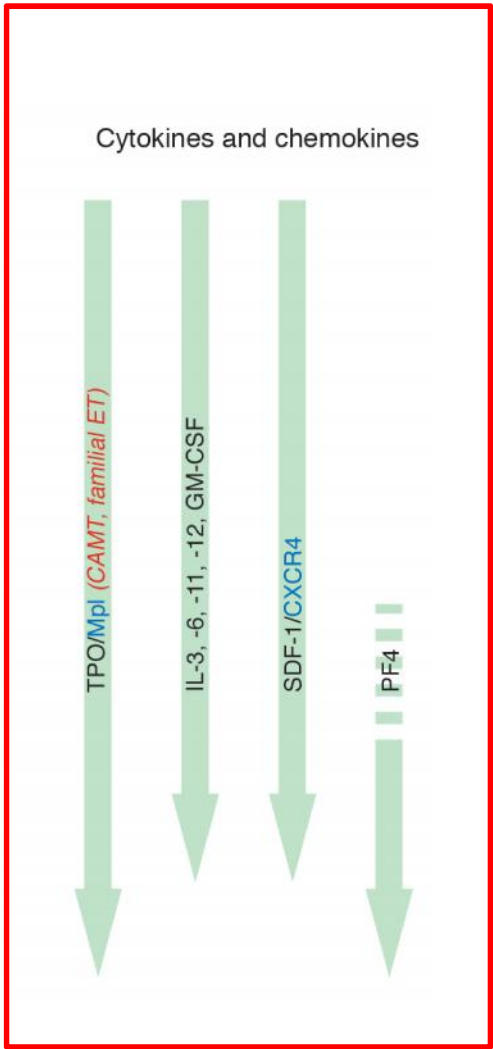
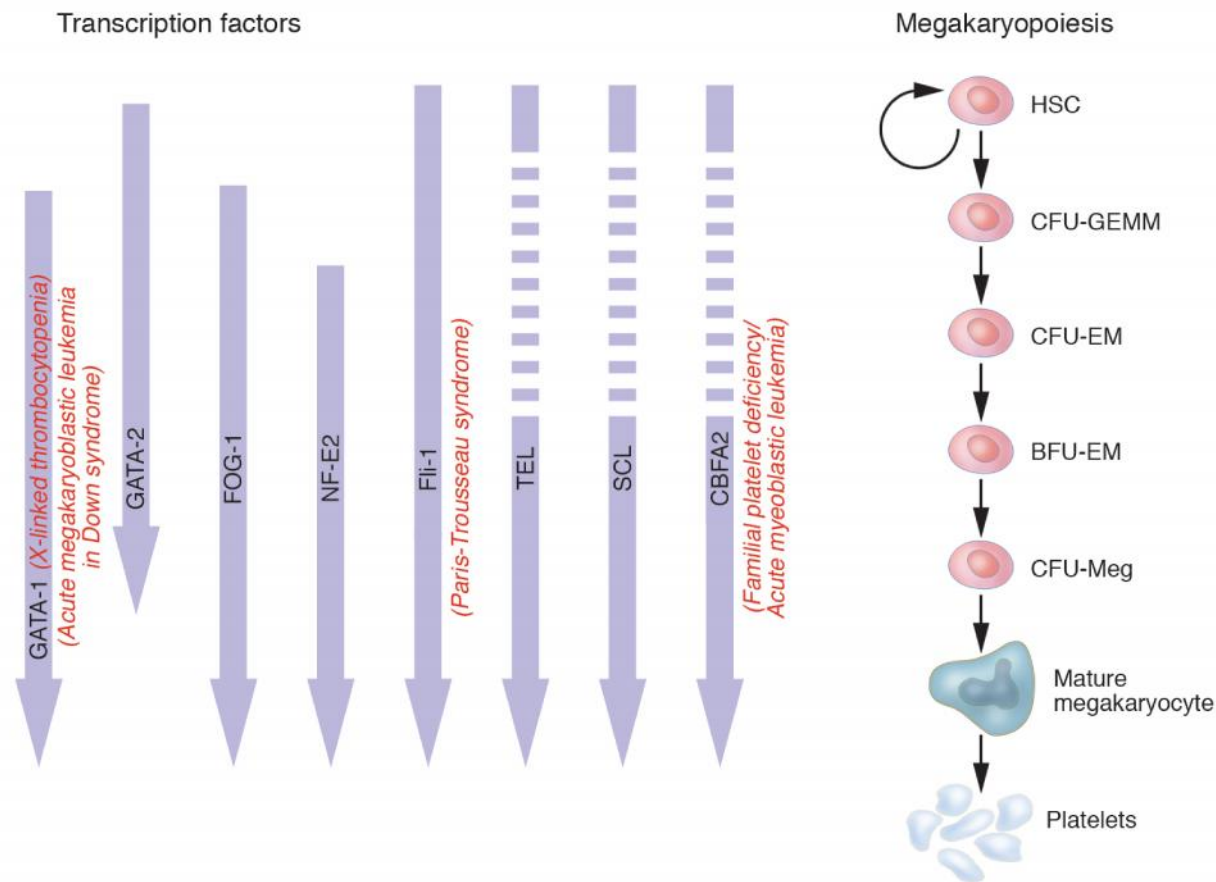
- CD41a (integrin IIb)
- CD61 (integrin  $\alpha$ 3)
- CD42b (GPIb) –

Von Willebrand



# ΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΠΟΙΗΣΗΣ

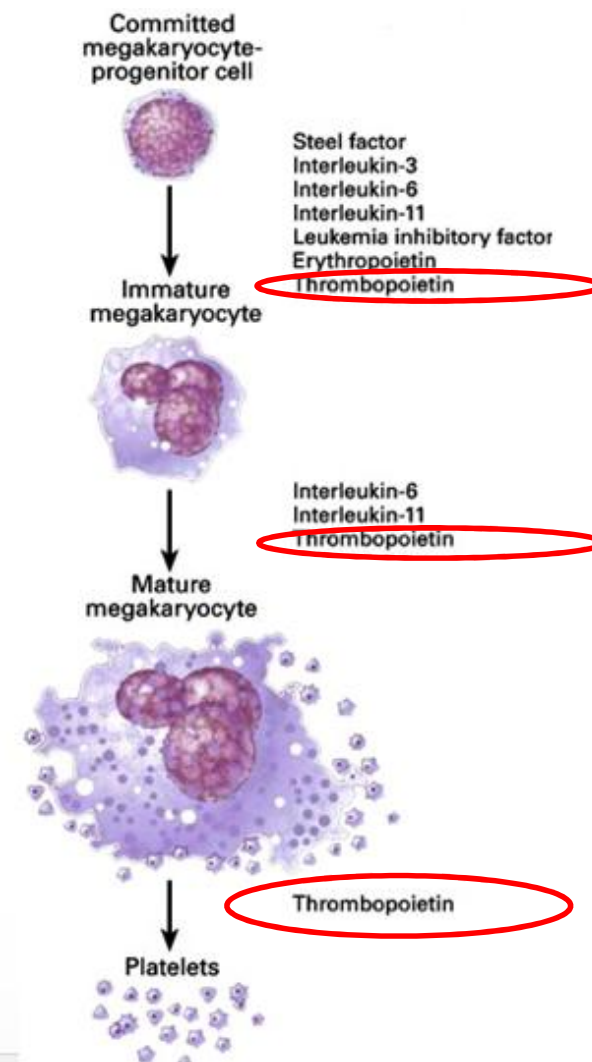
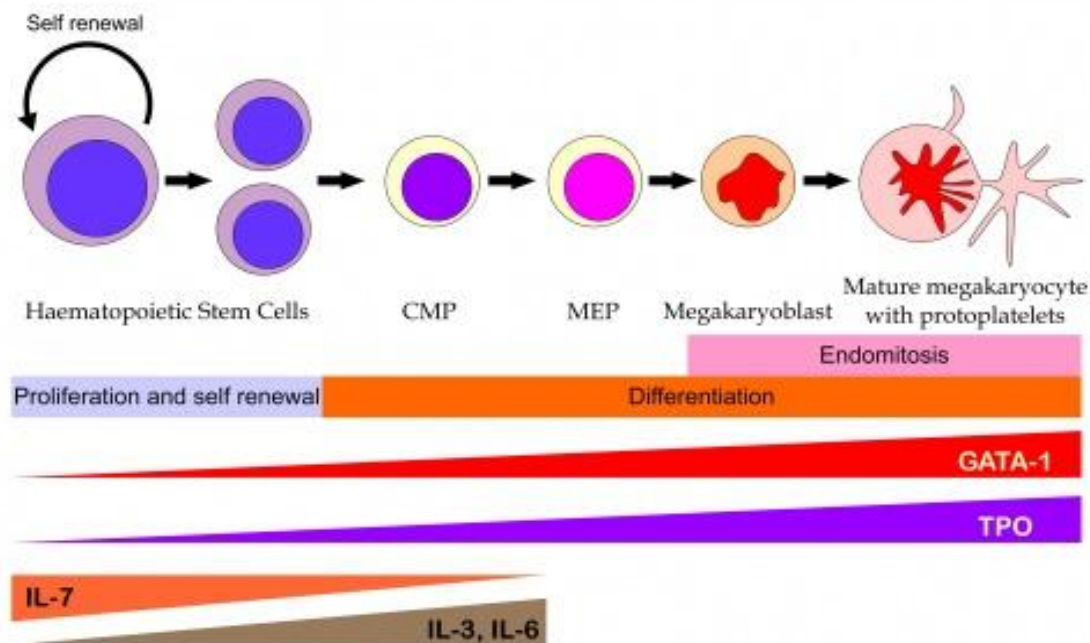
## Κυτταροκίνες



# ΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Αυξητικοί Παράγοντες

Κύριος ρυθμιστής: **Θρομβοποιητίνη**

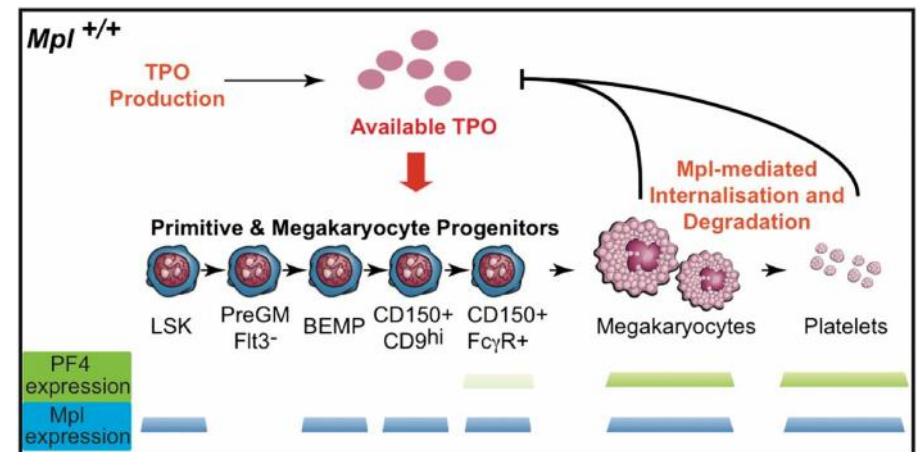




# ΠΑΡΑΓΩΓΗ και ΡΥΘΜΙΣΗ ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Η θρομβοποιητίνη (ΤΡΟ) παράγεται συνεχώς από το ήπαρ.

Ο υποδοχέας για την ΤΡΟ, εκφράζεται στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, τις προβαθμίδες της ΜΚ σειράς, αλλά κυρίως από τα ΜΚ και τα ΑΜΠ.

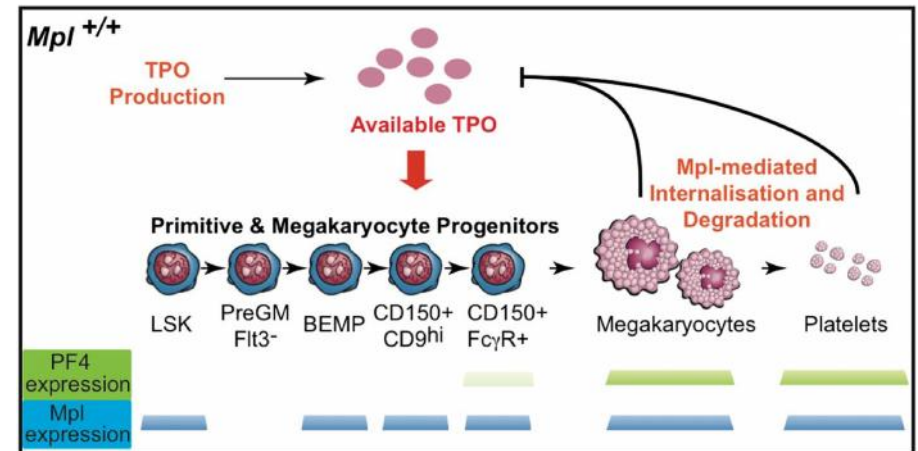


# ΡΥΘΜΙΣΗ ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Η **θρομβοποιητίνη (TPO)** παράγεται συνεχώς από το ήπαρ.

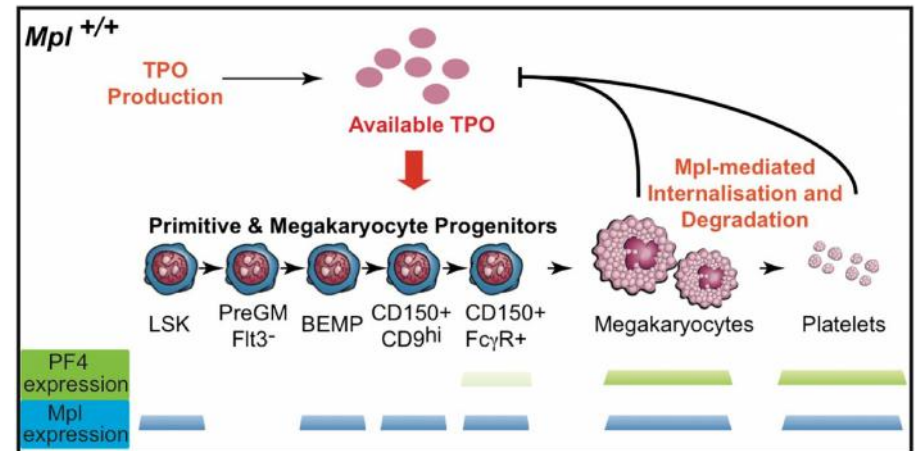
Ο υποδοχέας για την TPO, εκφράζεται στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, τις προβαθμίδες της MK σειράς, αλλά κυρίως από τα MK και τα ΑΜΠ.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, ικανός αριθμός ΑΜΠ στην περιφέρεια, δεσμεύει την παραχθείσα TPO, οπότε ενδοκυτταρώνεται και αποδομείται και επομένως υπάρχει μόνο ελάχιστη αδέσμευτη διαθέσιμη για την ενεργοποίηση των προγονικών κυττάρων προς πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση προς MK σειρά, για παραγωγή νέων αιμοπεταλίων.



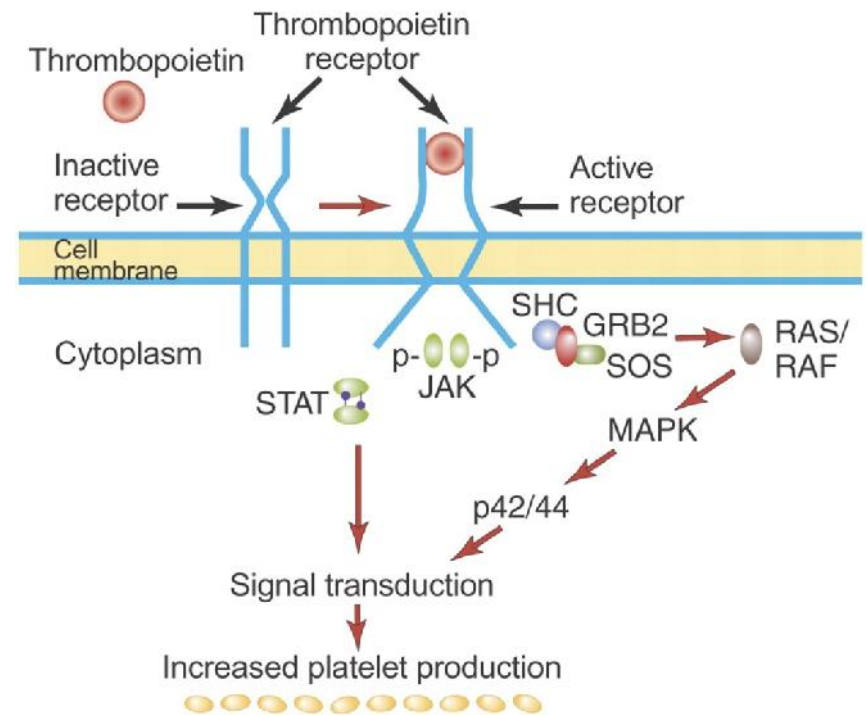
# ΡΥΘΜΙΣΗ ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Εάν τα επίπεδα των αιμοπεταλίων είναι χαμηλά, τότε υπάρχει περισσότερη διαθέσιμη αδέσμευτη ΤΡΟ, ώστε να ενεργοποιήσει τα προγονικά κύτταρα προς πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση προς ΜΚ σειρά, για παραγωγή νέων αιμοπεταλίων.



# ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Η σύνδεση ενός μορίου ΤΡΟ με το εξωμεμβρανικό άκρο του διμερούς **υποδοχέα** της επιφέρει αλλαγή στη στερεοδομή του, και έτσι αυτό-φωσφορυλιώνεται και ενεργοποιείται η δεσμευμένη στο ενδομεμβρανικό άκρο του κινάση τυροσίνης (Janus kinase 2 (**JAK2**) η οποία μεταφέρει το σήμα, με ενεργοποίηση των μονοπατιών mitogen-activated protein kinases (**MAPK**), phosphoinositol-3 kinase (**PI3K**) και signal transducers and activators of transcription (**STATs**) με στόχο την επαγωγή ή καταστολή γονιδίων που εμπλέκονται στη διαφοροποίηση της ΜΚ σειράς.



# ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

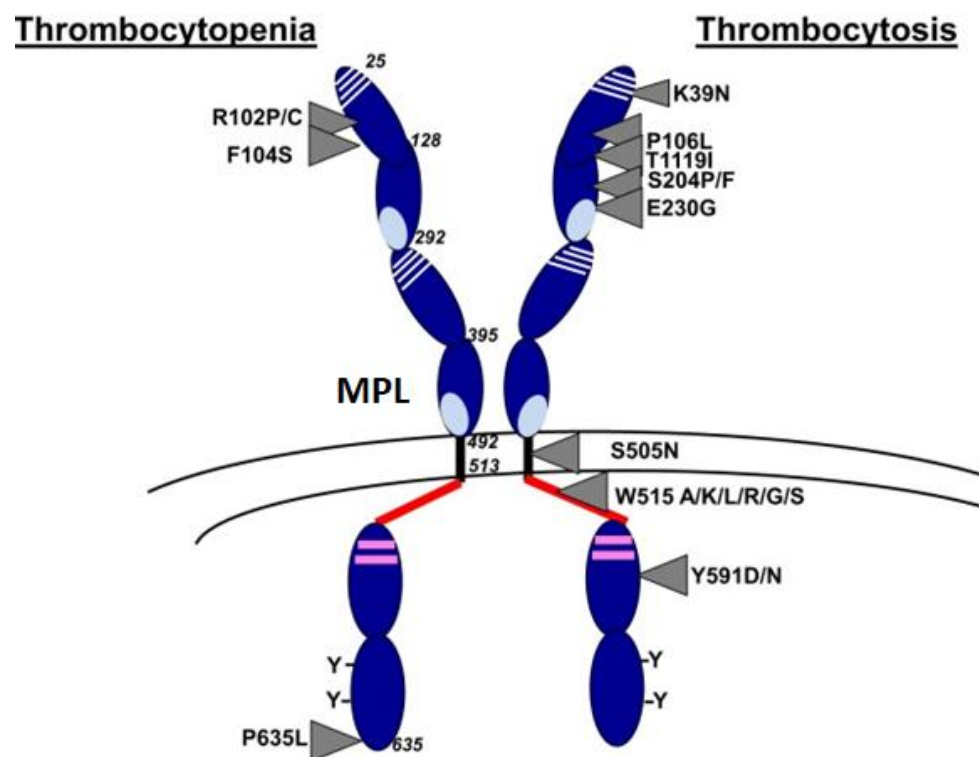
## Μεταλλάξεις στον Υποδοχέα ΤΡΟ (MPL)

Μεταλλάξεις στον υποδοχέα της ΤΡΟ, μπορεί να συντελέσουν:

- είτε στην παρεμπόδιση της μεταγωγής του σήματος => **θρομβοπενία**

(π.χ. συγγενής αμεγακαροκυτική θρομβοκυτταροπενία)

- Είτε στη συνεχή ενεργοποίηση του υποδοχέα => **θρομβοκυττάρωση**



# ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΘΡΟΜΒΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

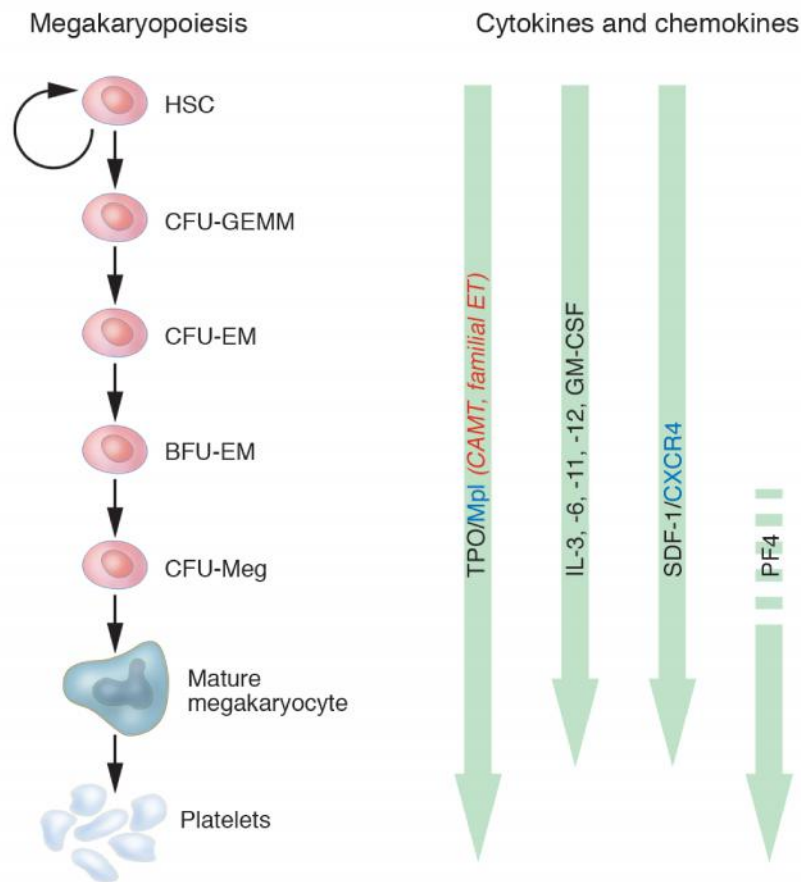
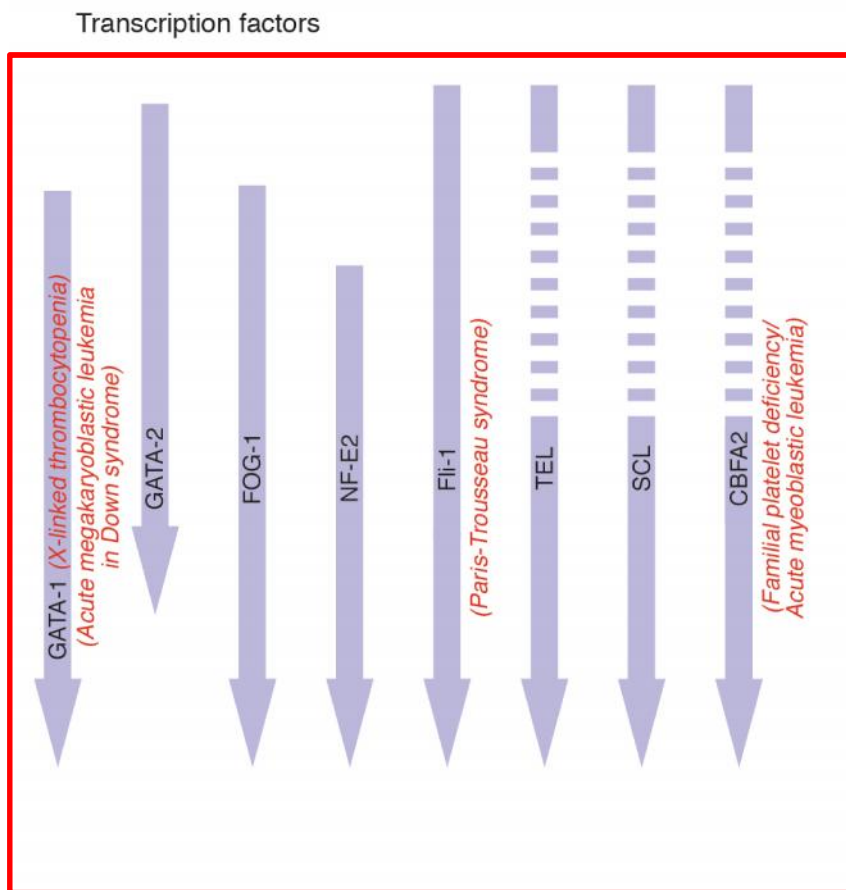
## Μεταλλάξεις στο JAK2

Η μετάλλαξη **JAK2V617F** οδηγεί σε **συνεχή ενεργοποίηση της JAK2** και εμφανίζεται σε:

- 50%-60% ασθενών με ιδιοπαθή θρομβοκυτταραιμία (essential thrombocythemia ;ET)
- 50%-60% ασθενών με μυελοϊνωση (primary myelofibrosis ;PMF)
- Πάνω από 90% ασθενών με αληθή πολυκυτταραιμία (polycythemia vera; PV)

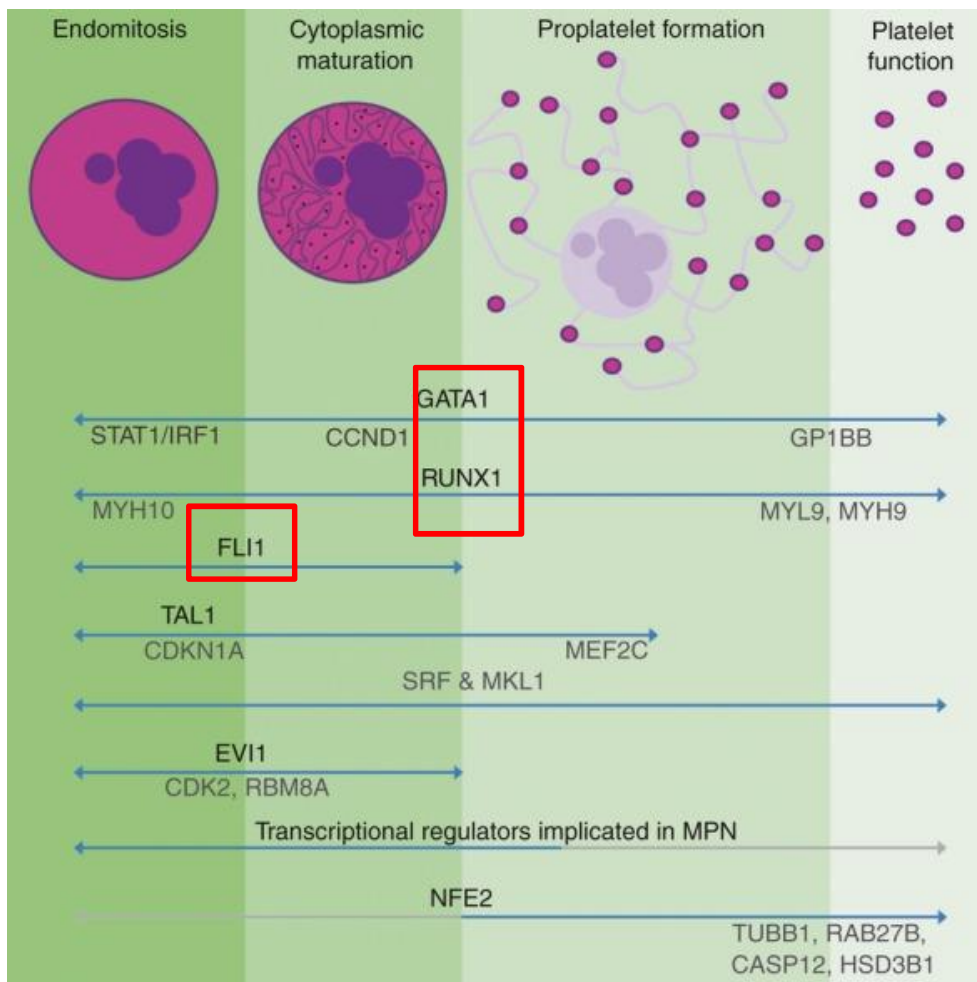
# ΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Μεταγραφικοί παράγοντες - Κυτταροκίνες



# ΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Μεταγραφικοί παράγοντες – διαταραχές θρομβοποίησης





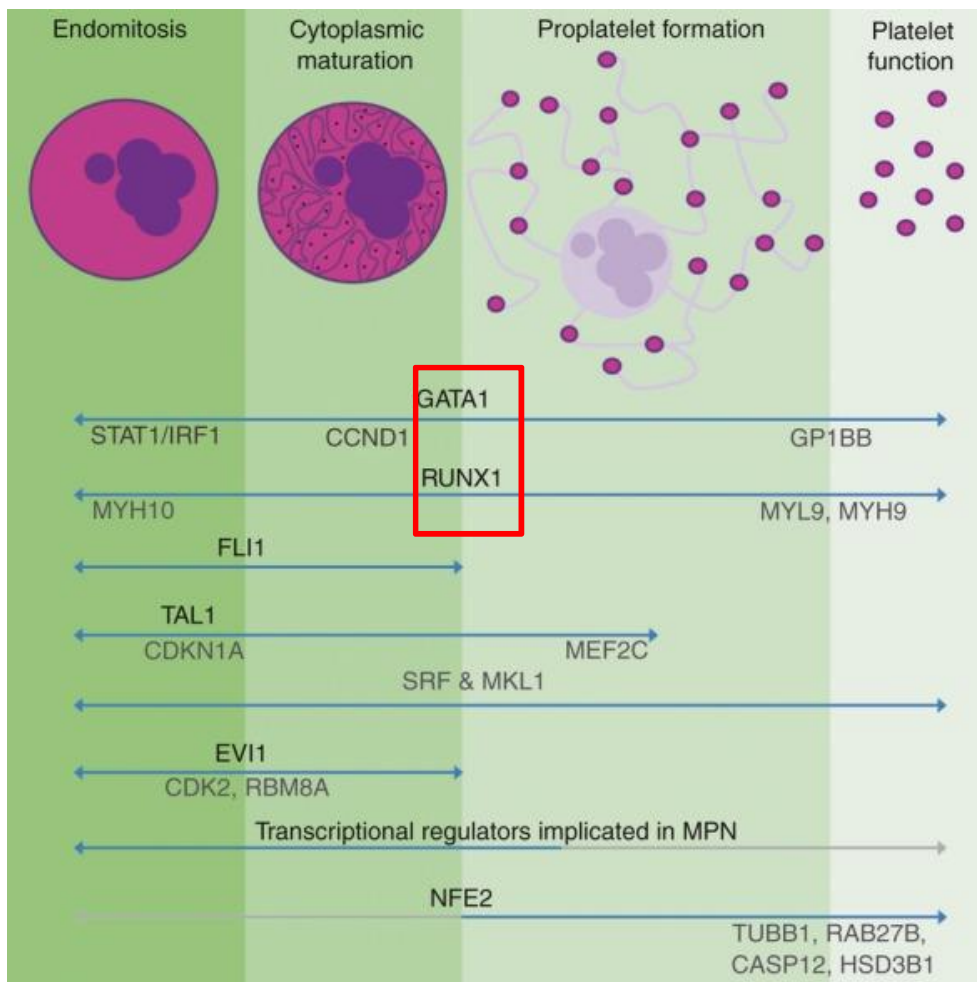
# FLI 1

## Μεταγραφικοί παράγοντες – διαταραχές θρομβοποίησης

- Ο FLI1 (Friend leukemia virus integration 1) σε συνεργασία με τον GABPA (GA binding protein transcription factor, alpha subunit), επηρεάζουν την ωρίμανση των Μκ.
- Ο GABPA ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων των ΜΚ στα πρώτα στάδια της διαδικασίας ωρίμανσης (όπως της GPIIB και του υποδοχέα ΤΡΟ; MPL)
- Ο FLI1 προσδέεται σε γονίδια των Μκ τόσο στα πρώτα όσο και στα τελευταία στάδια της ωρίμανσης των Μκ (όπως GPIBA, GPIX, PF4 [platelet factor 4])
- Έλλειψη στο Χρωμόσωμα 11q και ετερόζυγη απώλεια του FLI1 => παρεμπόδιση ωρίμανσης, μικρο ΜΚ, μη-φυσιολογικά κοκκία => **σύνδρομο Paris-Trousseau**

# ΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΠΟΙΗΣΗΣ

## Μεταγραφικοί παράγοντες – διαταραχές θρομβοποίησης



J Thromb Haemost. 2013 Apr; 11(4): 593–604.

# GATA1 - FOG1

## Μεταγραφικοί παράγοντες – διαταραχές θρομβοποίησης

- Ο GATA1 (GATA-binding factor 1) συνδέεται με τον συμπαράγοντα ZFPM1 (FOG1; friend of GATA 1).
- Εκφράζεται στα κύτταρα της ερυθράς σειράς και Μκ
- Έλλειψη του GATA-1 στην Μκσειρά οδηγεί σε μείωση πολυπλοειδίας και έλλειψη ωρίμανσης πυρήνα.
- **Μεταλλάξεις στον GATA-1** ευθύνονται για διάφορες διαταραχές.
- **Missense μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη συγγένειά του με το ZFPM1 (FOG1)** επηρεάζουν αρνητικά τον αριθμό και την ωρίμανση των Μκ, και τα ΑΜΠ έχουν ανώμαλο σχήμα με λίγα α-κοκκία => **Θρομβοκυτταροπενία συνδεόμενη με το Χ-χρωμόσωμα**
- Ο GATA1 εμπλέκεται επίσης στην εξέλιξη προς **οξεία μεγακαρυοβλαστική λευχαιμία (ΑΜΚΛ)**.

# RUNX1

## Μεταγραφικοί παράγοντες – διαταραχές θρομβοποίησης

- Ο **RUNX1 (AML1)** με τον συνπαράγοντά του **CBFB** (core-binding factor, beta subunit) ρυθμίζει τα συστατικά του κυτταροσκελετού των Μκ και ΑΜΠ και επομένως τα τελευταία στάδια της μεγακαρυοποίησης και τον σχηματισμό ΑΜΠ.
- Ετερόζυγες **μεταλλάξεις στον RUNX1** => μη φυσιολογική έκφραση TPO-R, MYL9 (myosin light chain 9) => θρομβοκυτταροπενία, και διαταραχή της λειτουργικότητας των ΑΜΠ => **οικογενής διαταραχή αιμοπεταλίων (familial platelet disorder)** -> εξέλιξη σε **οξεία μυελογενή λευχαιμία (FDP/AML)**.

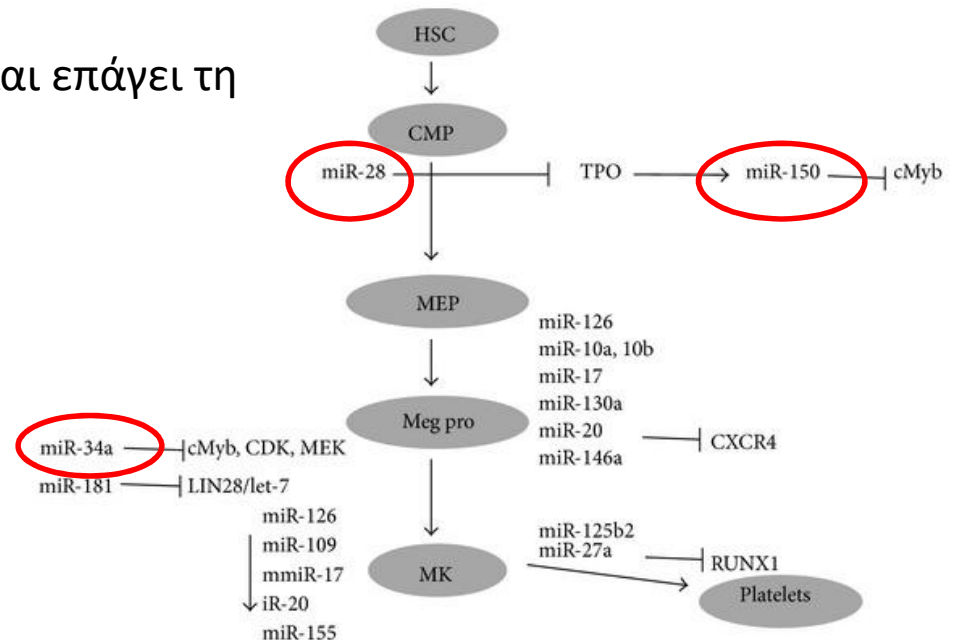
# ΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΠΟΙΗΣΗΣ


## MicroRNAs

Υψηλά επίπεδα **miR-150** => Μεγακαρυοκυτταρική σειρά  
 Χαμηλά επίπεδα **miR-150** => ερυθρά σειρά

**miR-28** εμποδίζει τη μεταγραφή του TPO-R => ρυθμίζει αρνητικά τη διαφοροποίηση προς Μκ.

**miR-34** καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό και επάγει τη διαφοροποίηση προς Μκ σειρά.  
 (γονίδια στόχοι: cMyb, CDKs και MEK1)





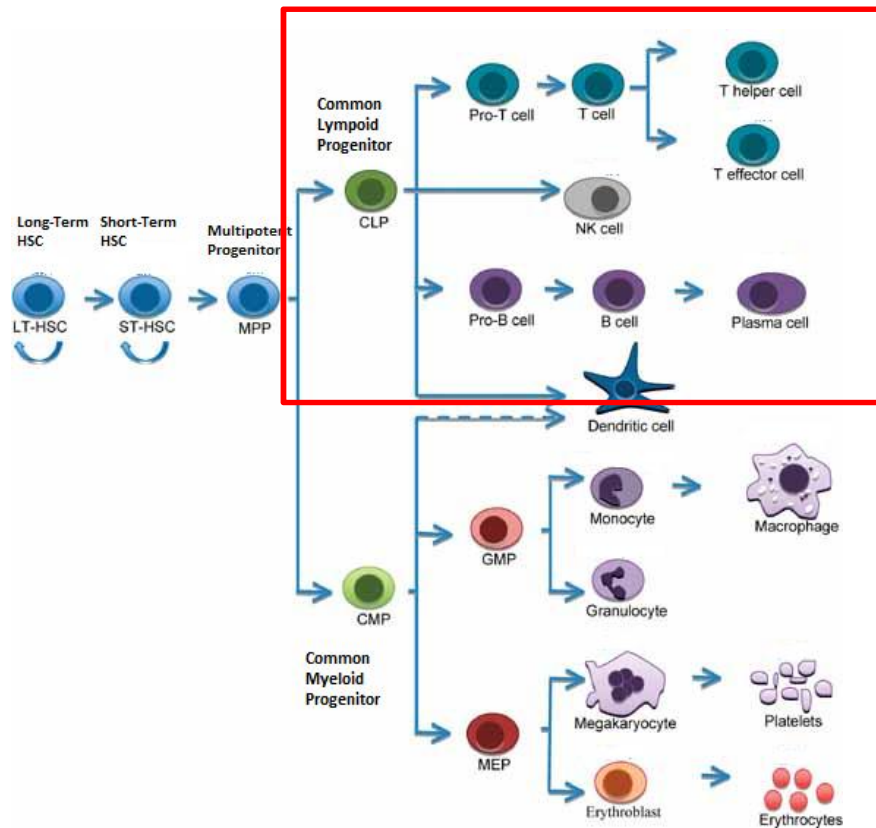
# ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

---

**B και T Λεμφοκυτταρικοί πληθυσμοί-Λεμφοποίηση**

# ΛΕΜΦΟΠΟΙΗΣΗ

Η διαδικασία παραγωγής Β και Τ λεμφοκυττάρων καθώς και ΝΚ κυττάρων και υποκατηγοριών Δενδριτικών κυττάρων από προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα



# B & T ΛΕΜΦΙΚΗ ΣΕΙΡΑ

	<b>B-κύτταρα</b>	<b>T-κύτταρα</b>
Μεμβρανικοί υποδοχείς	ανοσοσφαιρίνη-υποδοχέας (ασθενής έκφραση) BCR: B-cell receptor	T-υποδοχέας TCR: T-cell receptor
Δείκτες αναγνώρισης	CD19, CD20, CD22, CD9, CD 10, CD79 Μόρια HLA τάξης I ή II	CD1, CD2, CD3, CD4 ή CD8, CD5, CD6, Μόρια HLA τάξης I ή II
Αναδιατάξεις	Γονίδια ελαφρών (κ/λ) και βαριών αλυσίδων (H) των ανοσοσφαιρινών	Γονίδια α,β,γ, και δ αλυσίδων του T-υποδοχέα
Λειτουργία	Χυμική ανοσία (κυρίως)	Κυτταρική ανοσία
Ποσοστό στο αίμα	20% του λεμφοκυτταρικού πληθυσμού	80% του λεμφοκυτταρικού πληθυσμού
Προέλευση	Μυελός των οστών	Θύμος αδένας

**Πίνακας 10.1** Κατανομή και γνωρίσματα T και B λεμφοκυττάρων.

Δ. Λουκόπουλος, Μ. Πολίτου «Μαθήματα Αιματολογίας», 2015, Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα

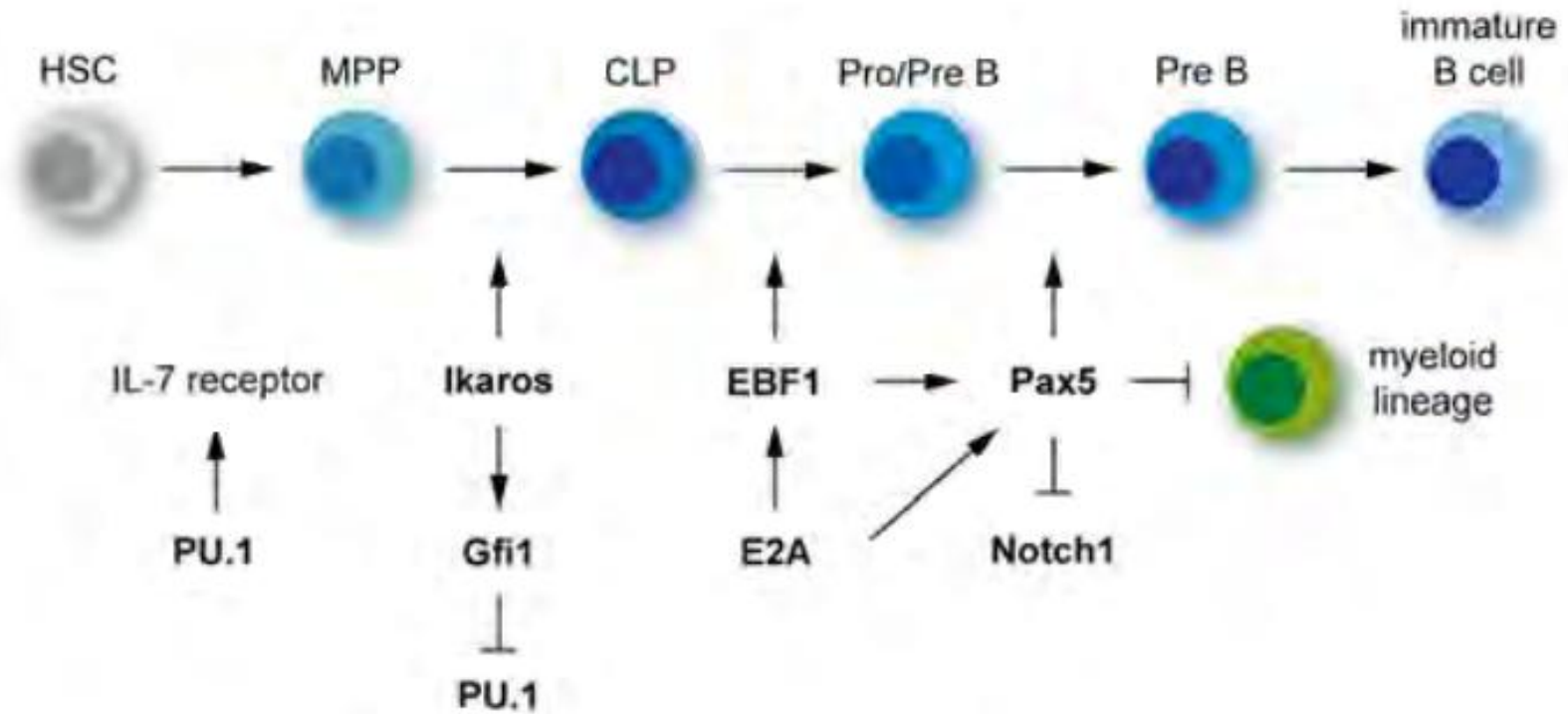


# μ

- 
- - :
- - : μ
- ( μ ) IgM
- μ : IgM IgD ..

# ΡΥΘΜΙΣΗ Β-ΛΕΜΦΟΠΟΙΗΣΗΣ

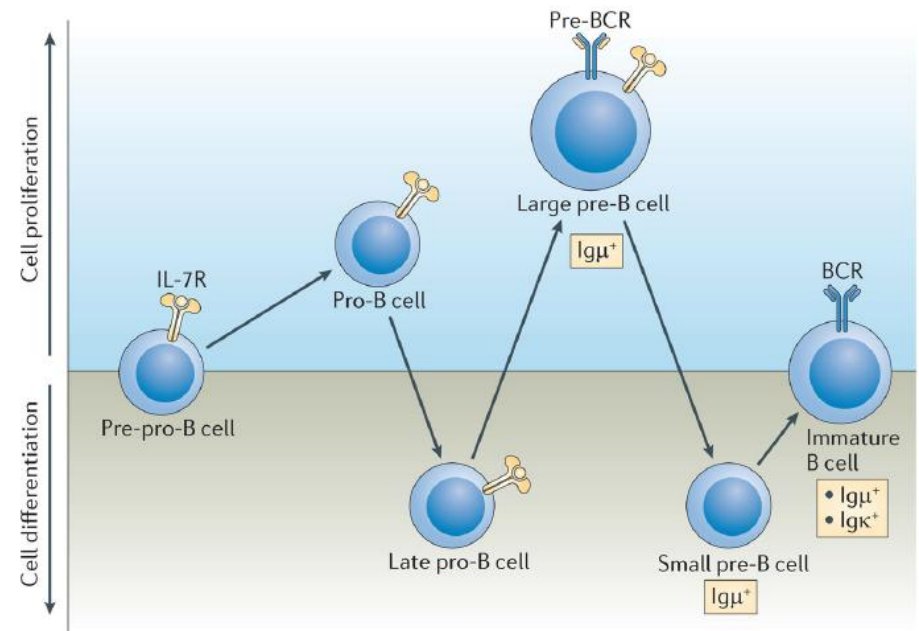
## Μεταγραφικοί Παράγοντες



K.Fiedler C.Brunner "Mechanisms Controlling Hematopoiesis" Chapter in book: Hematology - Science and Practice, March 2012

# IL-7R και pre-BCR: ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ

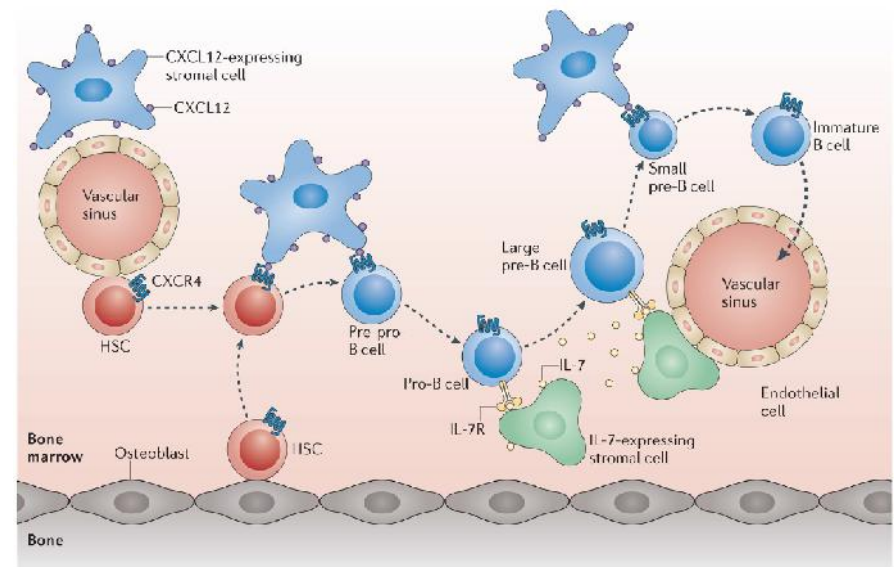
- Ο πολλαπλασιασμός των δεσμευμένων για τη Β-σειρά προγονικών κυττάρων εξαρτάται από τη σηματοδότηση μέσω του υποδοχέα της IL-7 ο οποίος εκφράζεται πρώτα στα **pre-pro-B** κύτταρα και κατόπιν παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των **pro-B** και **large pre-B** κυττάρων.
- Στα **late pro-B** γίνεται ο ανασυνδυασμός V-DJ του **Igμ** και τα οποία δεν πολλαπλασιάζονται και εκφράζουν μικρότερα επίπεδα **IL-7R**.
- Στα **large pre-B** κύτταρα η έκφραση του **pre-BCR** συσχετίζεται με έκρηξη πολλαπλασιασμού που ακολουθείται από έξοδο από τον κυτταρικό κύκλο και μετάβαση στα **small pre-B** κύτταρα διευκολύνοντας τον ανασυνδυασμό του **Igκ** γονιδίου. Τα **Small pre-B** κύτταρα δεν εκφράζουν **IL-7R**.



# ΡΥΘΜΙΣΗ Β-ΛΕΜΦΟΠΟΙΗΣΗΣ

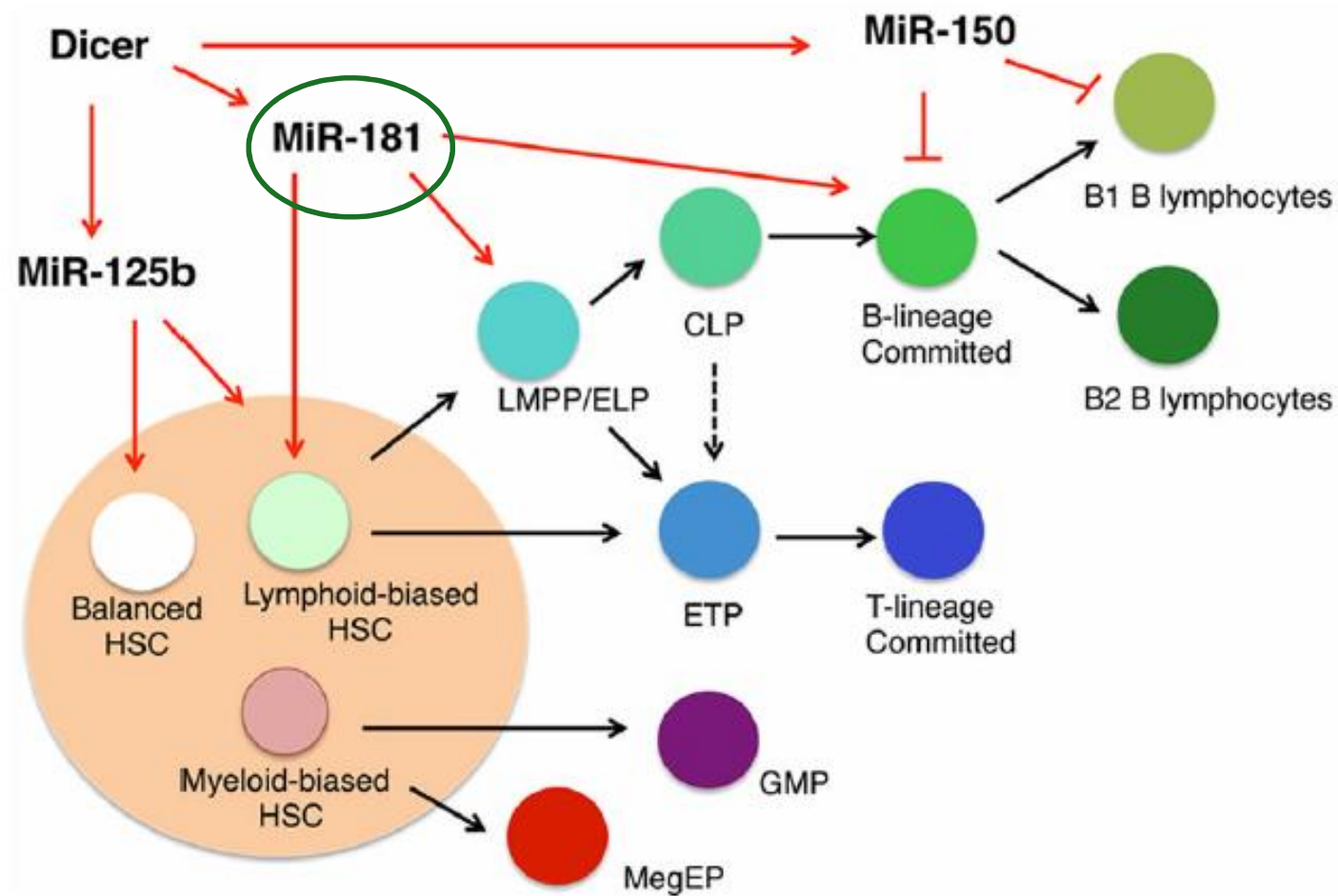
## κύτταρα στρώματος και μυελικές φωλιές

- Τα **Pre-pro-B** κύτταρα [(D-J)H] βρίσκονται σε στενή επαφή με κύτταρα του στρώματος που εκφράζουν **CXCL12** γύρω από ενδοθηλιακά κύτταρα των κολλοειδών.
- Τα **Pro-B** κύτταρα βρίσκονται σε στενή επαφή με κύτταρα που εκφράζουν **IL-7** ξεκάθαρα διαχωρισμένα από τα κύτταρα του στρώματος που εκφράζουν **CXCL12** και τους οστεοβλάστες.
- Τα **Pre-B** κύτταρα που έχουν εκφράσει τον **pre-BCR** αρχίζουν να εκφράζουν **CXCR4** μέσω έκφρασης **IRF4** και μεταναστεύουν στις φωλιές που εκφράζουν **CXCL12**, μειώνοντας την επίδραση της **IL-7**, βγαίνουν από τον κυτταρικό κύκλο και επάγουν γονίδια για την ελαφριά αλυσίδα Ig.
- Τα **ανώριμα B κύτταρα** με **IgM+**, καταστέλλουν τον **CXCR4** και βγαίνουν από το μυελό.

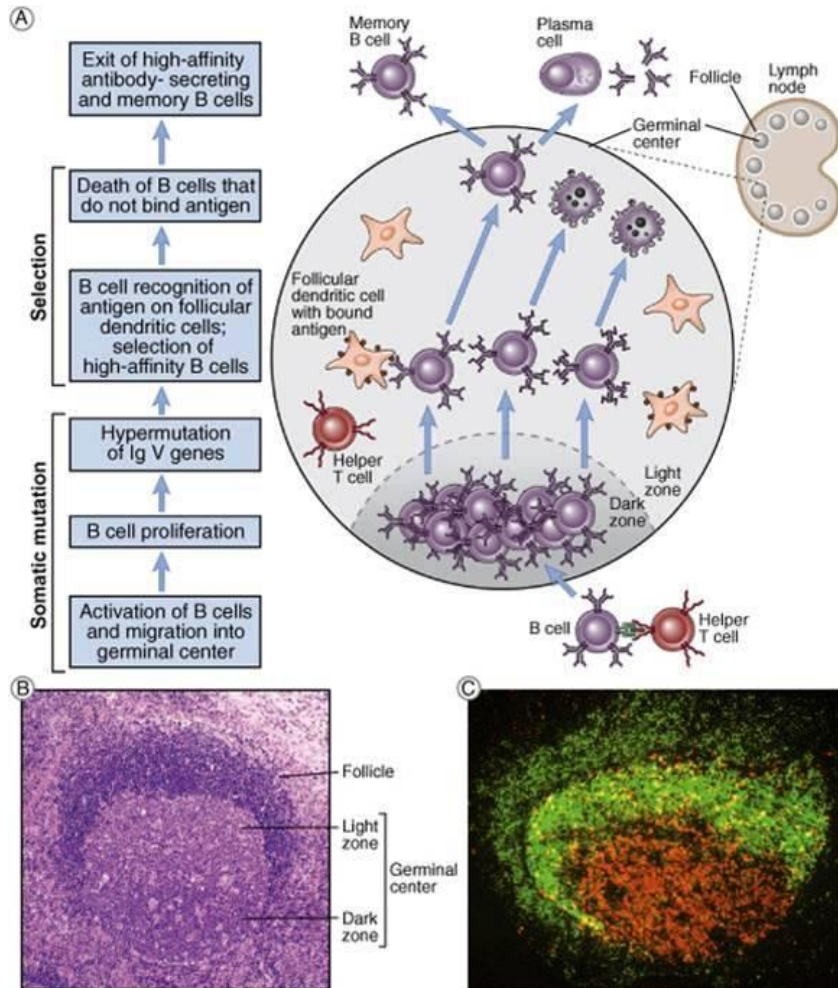


# ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ Β- ΛΕΜΦΟΠΟΙΗΣΗΣ

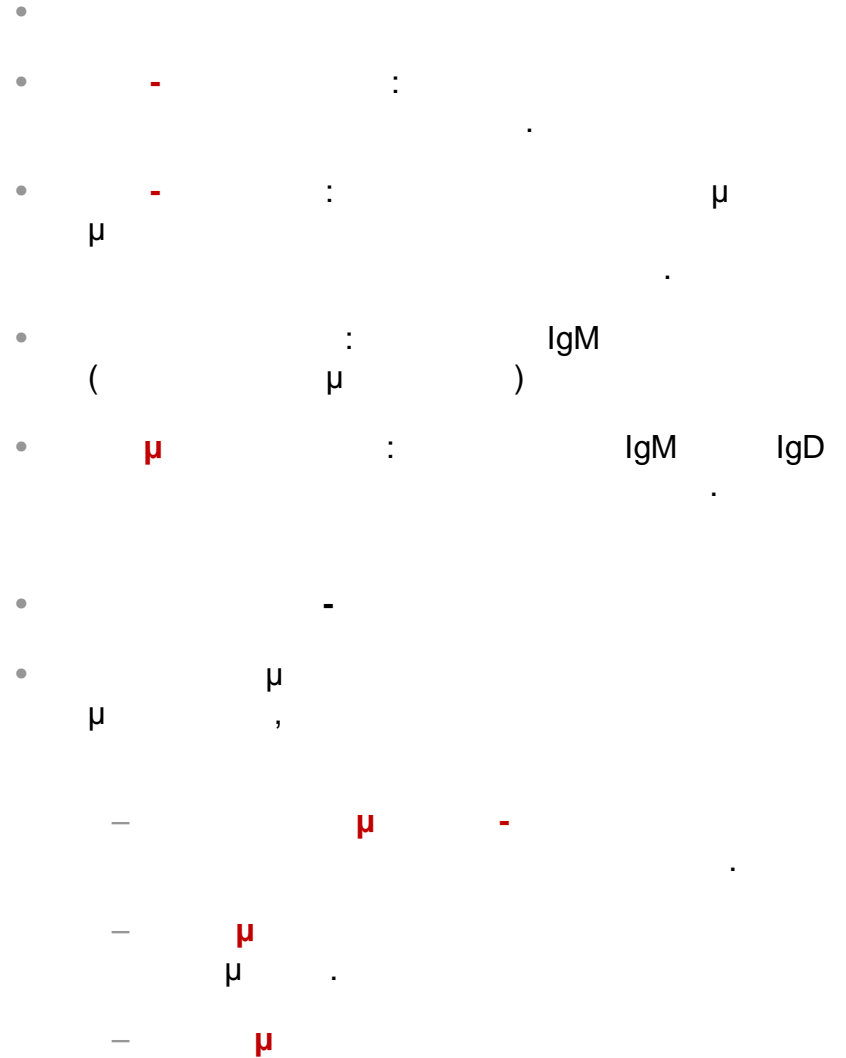
## micro-RNAs



# μ

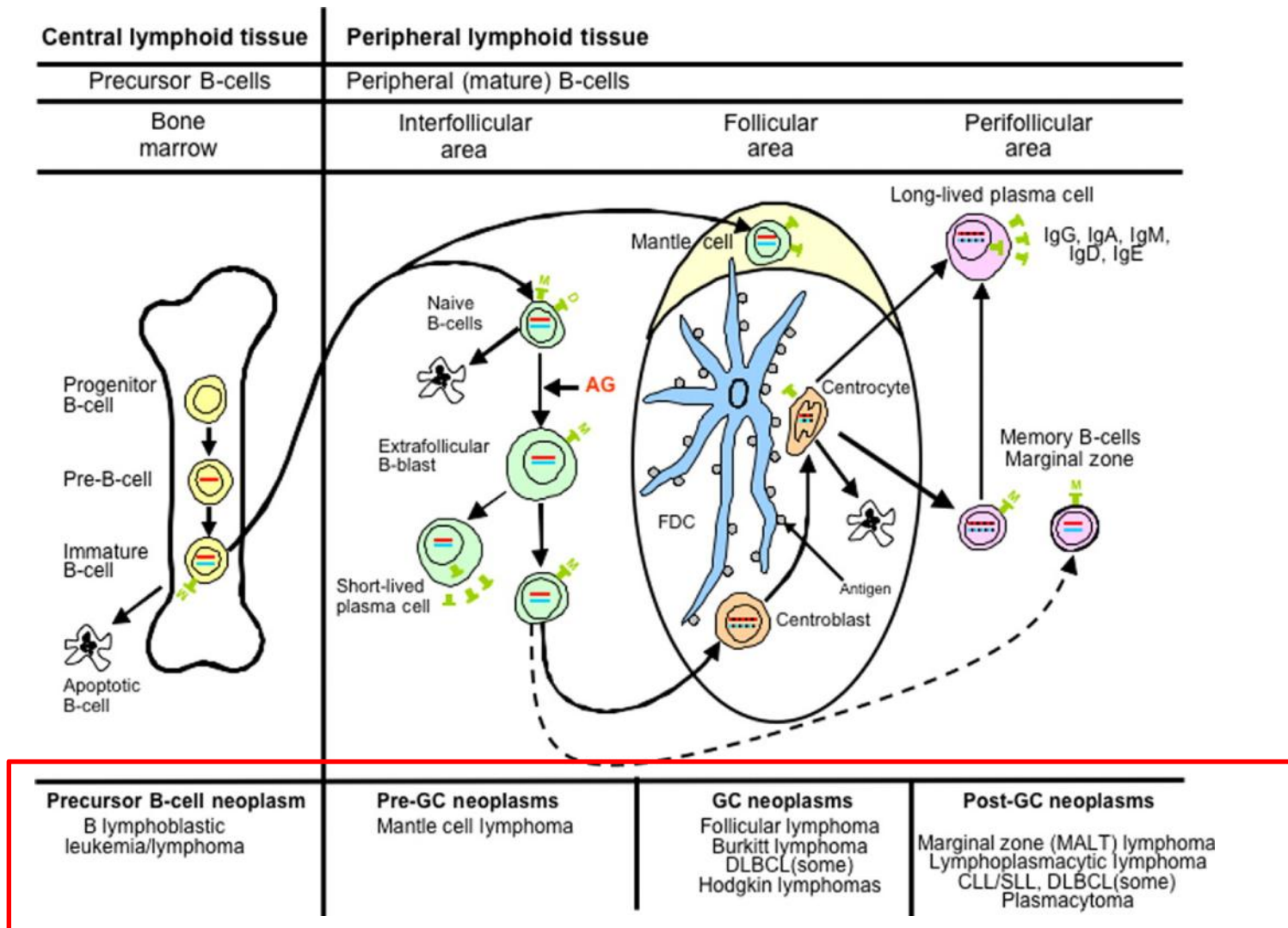


© Elsevier. Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology 6e - www.studentconsult.com





# B-ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΚΑΙ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΝΟΣΟΙ



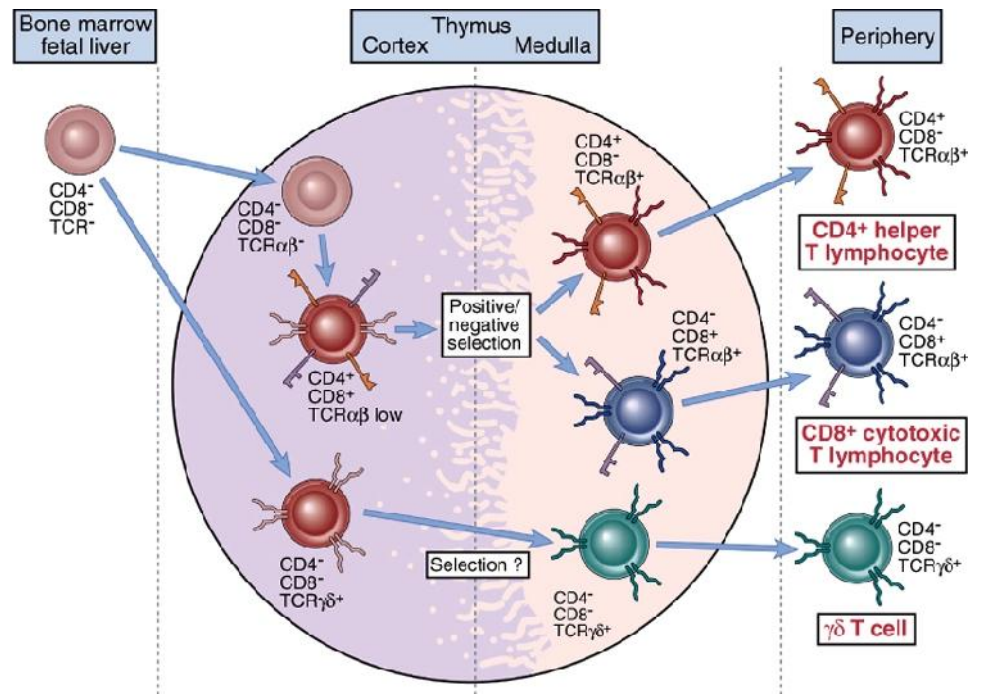




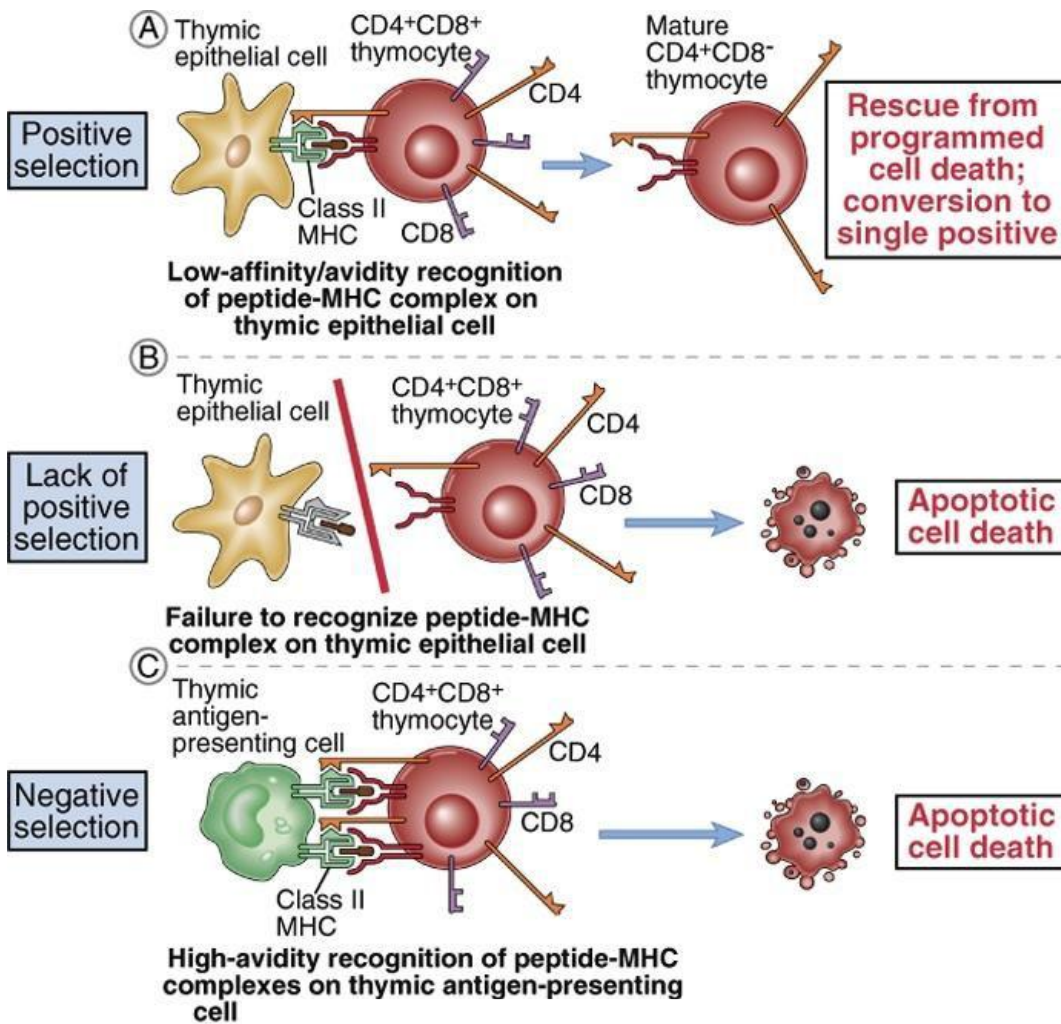
# T-ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ

# μ

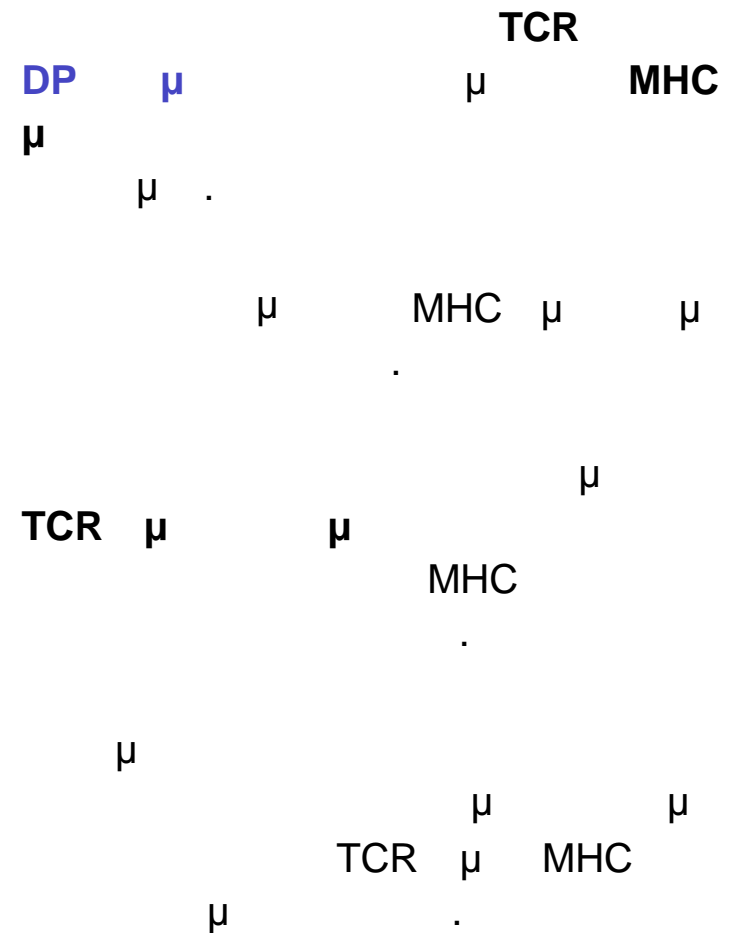
- $\text{CD4}^- \text{CD8}^- \text{TCR}^{\mu}$  (DN - double negative).
- $\text{CD4}^+ \text{CD8}^+ \text{TCR}^{\mu}$  (DP - double positive).
- $\text{CD4}^- \text{CD8}^- \text{TCR}^{\mu}$  (MHC).
- $\text{CD8}^+ \text{CD4}^- \text{TCR}^{\mu}$  (SP - single positive).



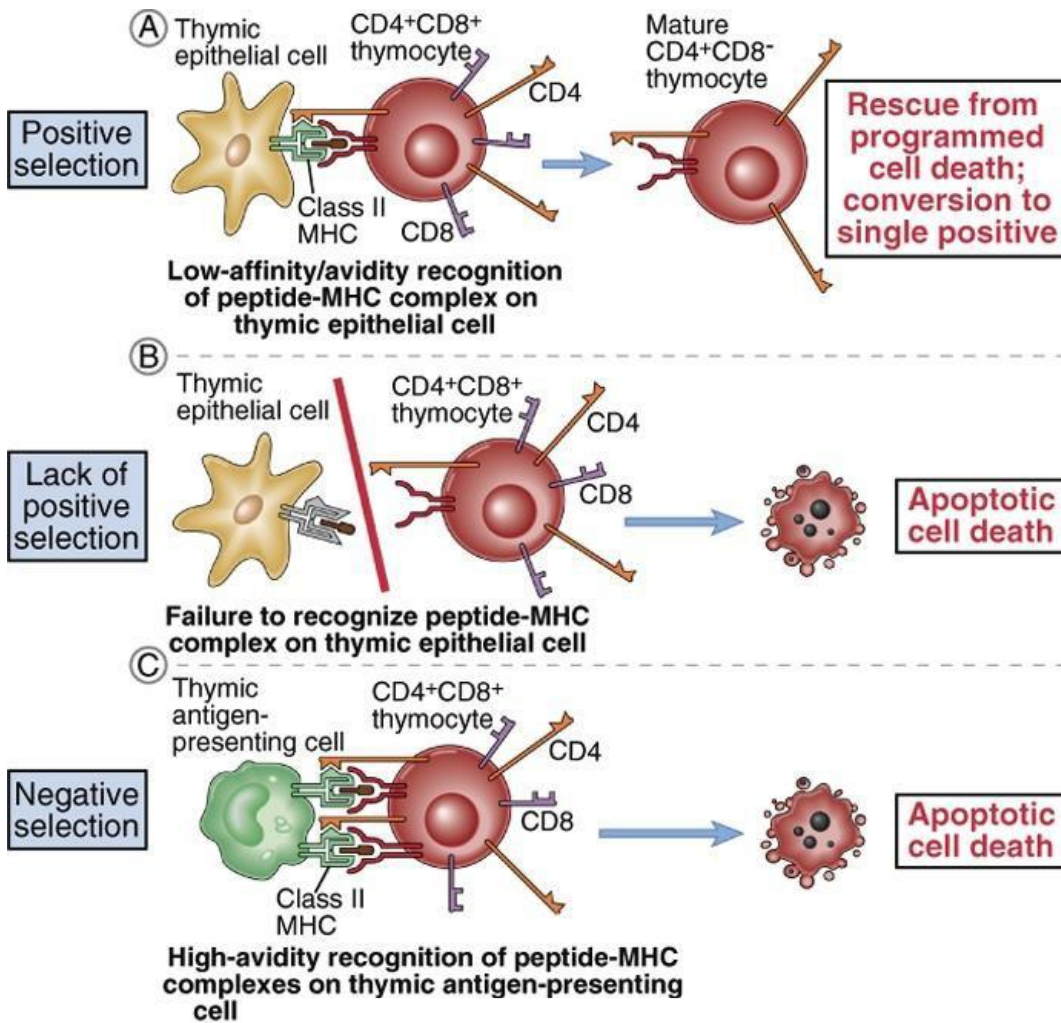
# ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΝ ΘΥΜΟ



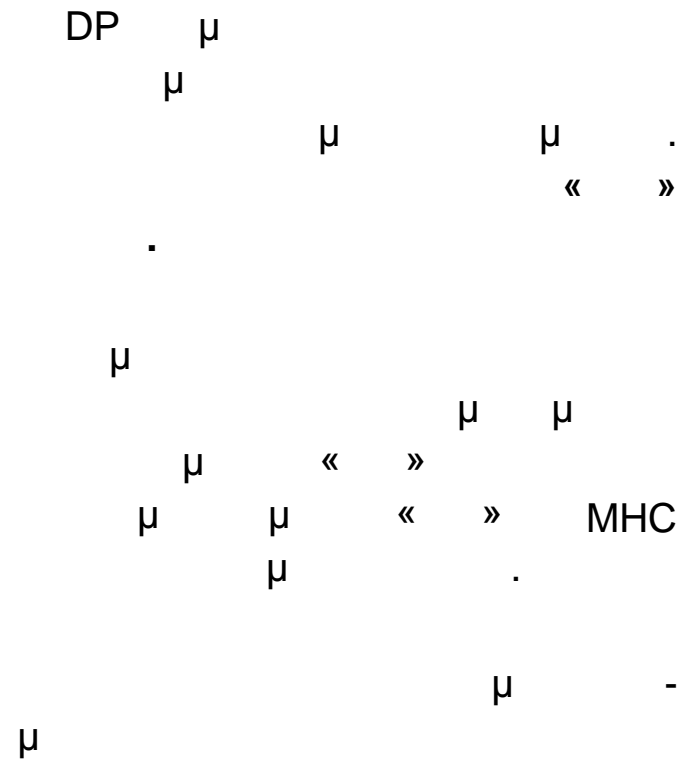
## Θετική επιλογή



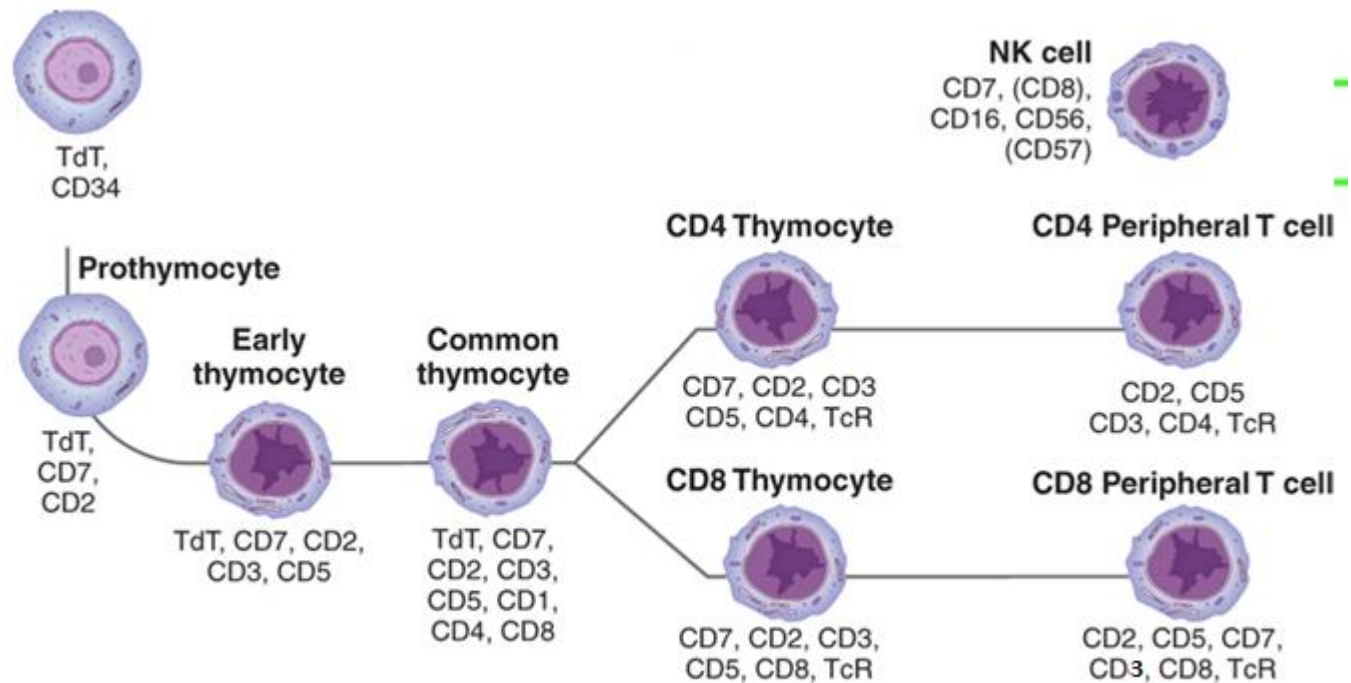
# ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΝ ΘΥΜΟ



## Αρνητική επιλογή



# T-ΛΕΜΦΟΠΟΙΗΣΗ – ΔΕΙΚΤΕΣ



Source: R.S. Hillman, K.A. Ault, M. Leporrier, H.M. Rinder: Hematology in Clinical Practice, Fifth Edition, www.hemonc.mhmedical.com  
Copyright © McGraw-Hill Education. All rights reserved.

# ΈΞΟΔΟΣ ΑΠΟ ΜΥΕΛΟ->ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΟ ΘΥΜΟ

(A) Τα HSCs παραμένουν στην αιμοποιητική φωλιά (σε φάση Go) κοντά στο ενδόστεο αλληλεπιδρώντας με τους οστεοβλάστες. Σημαντική η αλληλεπίδραση Ang-1/Tie2 και ομοτυπικές αλληλεπιδράσεις μέσω N-cadherin.

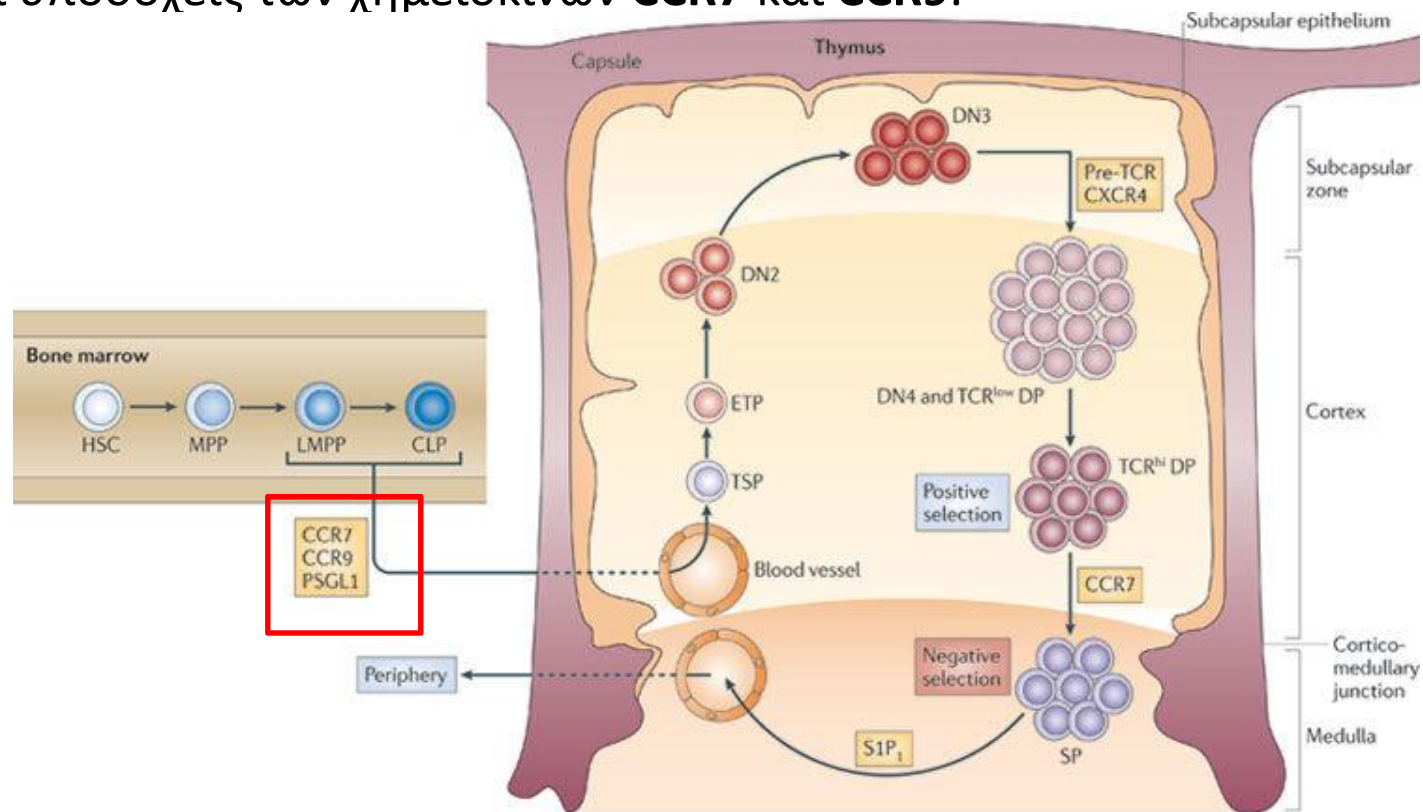
(B) Βγαίνοντας από την αιμοποιητική φωλιά τα HSCs μπορούν να πολλαπλασιαστούν και να διαφοροποιηθούν περαιτέρω σε απάντηση σε διάφορες κυτταροκίνες όπως ο SCF.

(C) Τα προγονικά κύτταρα μπορούν να γυρίσουν στην αιμοποιητική φωλιά ή να μετακινηθούν σε άλλες φωλιές κάτι που εξαρτάται από τη συγκέντρωση του SDF-1 και από την αλληλεπίδραση VLA-4/VCAM-1.

(D) Η έξοδος στην περιφέρεια προϋποθέτει την αυξημένη συγκέντρωση SCF και ελάττωση της έκφρασης του VLA-4 και του υποδοχέα του SDF-1.

# T- ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΟ ΘΥΜΟ

Σημαντικά μόρια για την είσοδο στο Θύμο είναι : **P-selectin (CD62P)** και οι υποδοχείς των χημειοκινών **CCR7** και **CCR9**.



Nature Reviews | Immunology

## T- ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ - ΣΗΜΑΤΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ

Τα πρώτα σήματα που επιδρούν στα **Early Thymic Progenitors (ETPs)** είναι του σηματοδοτικού μονοπατιού του **Notch** :

- Δέσμευση προς T-σειρά
- Απώλεια B lymphoid, natural killer (NK), και δυναμικού μυελικής σειράς.

**Χαμηλά** επίπεδα σήμανσης **Notch** : επαρκή για αναστολή προς B-διαφοροποίηση

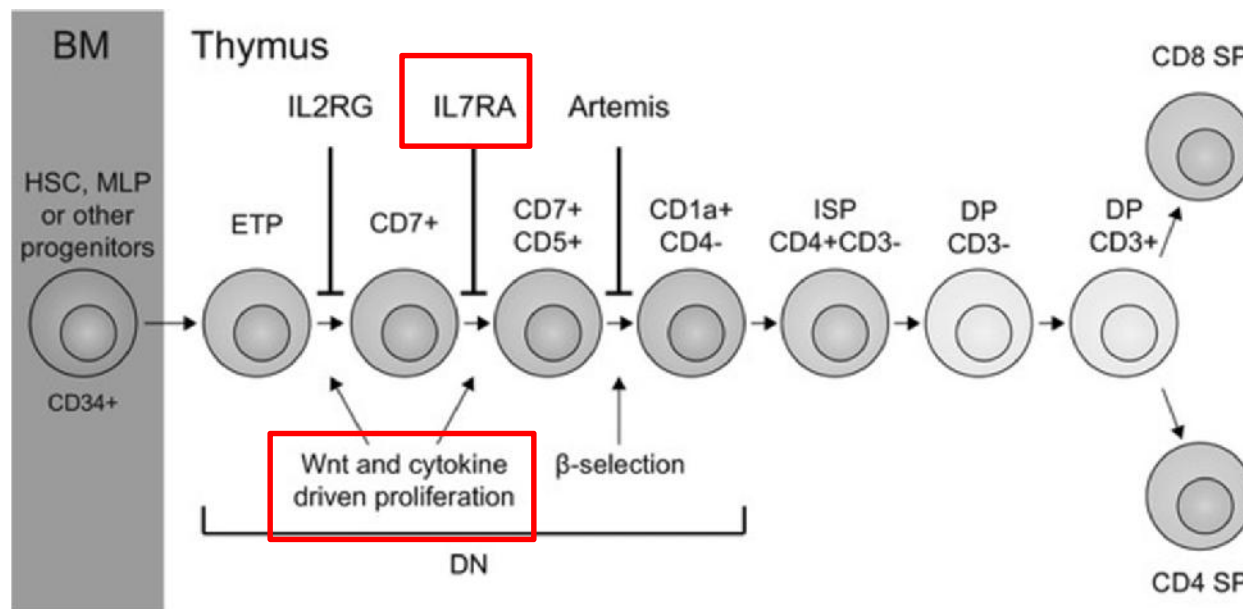
**Υψηλά** επίπεδα σήμανσης **Notch** : απαιτούνται για πολλαπλασιασμό **ETP & DN**



## T- ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ - ΣΗΜΑΤΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ

Multipotent (MPPs) εγκαθίστανται στο θύμο και πολλαπλασιάζονται γρήγορα κυρίως λόγω σημάτων από **SCF** και **Wnt**.

Αργότερα η διαδικασία αυτή εξαρτάται από σήματα του **IL-7R**.

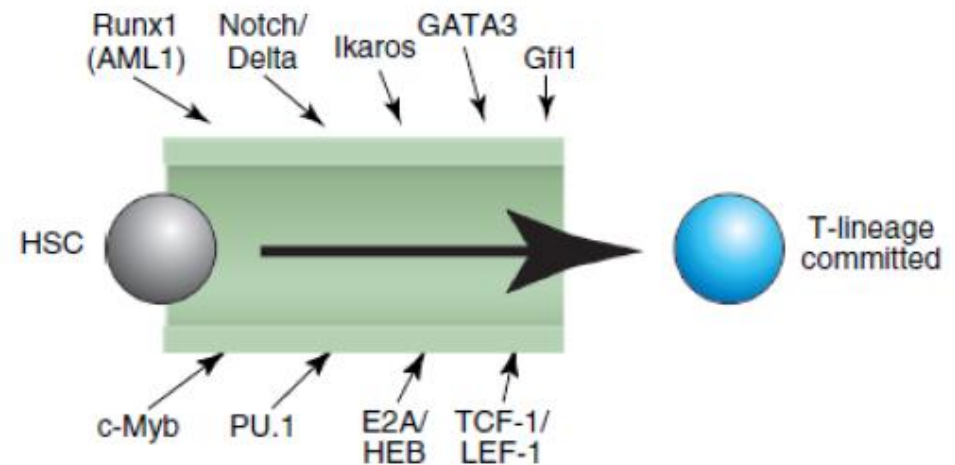


# ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΗΣΗ ΠΡΟΣ Τ-ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ

## Μεταγραφικοί παράγοντες

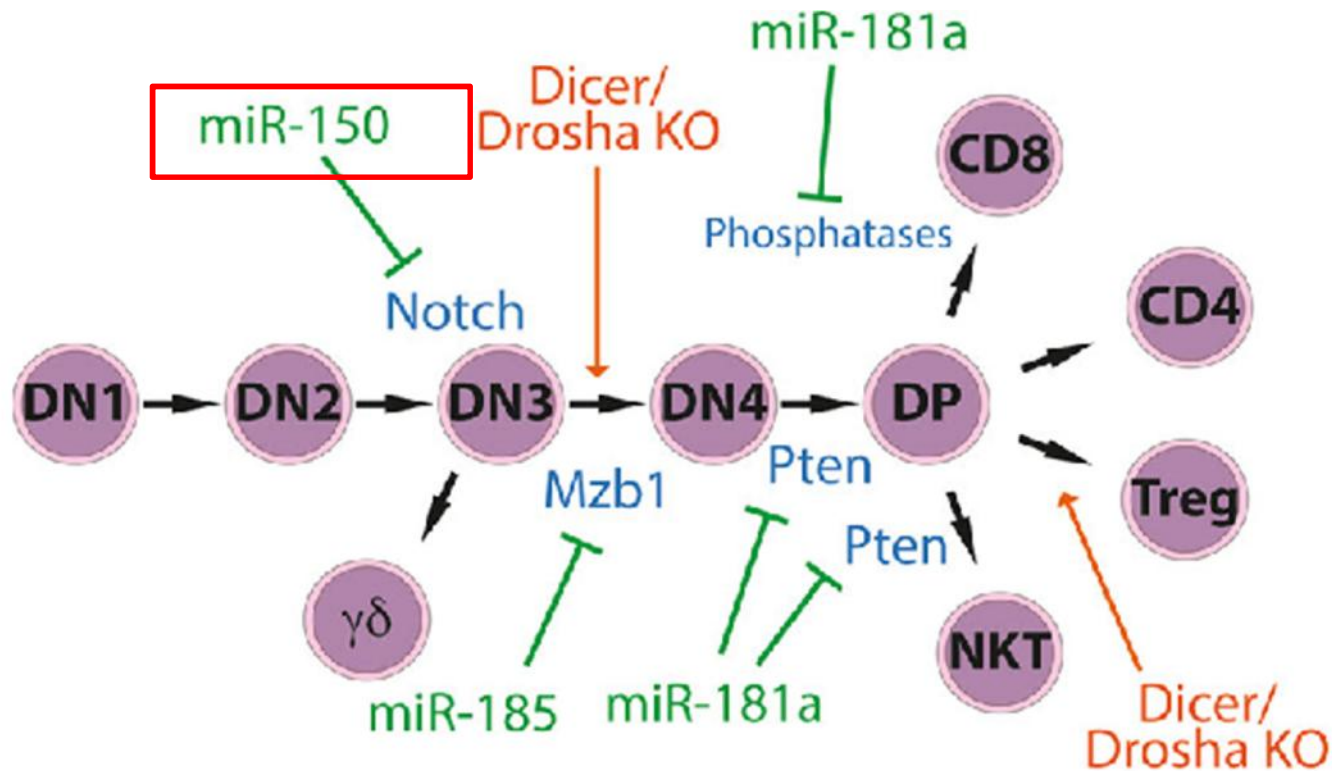
Η διαφοροποίηση προς την Τ-κυτταρική σειρά σχετίζεται με συμβολή «κατάλληλης δόσης» 9 τουλάχιστον μεταγραφικών παραγόντων

- **Ikaros** (early hit-and-run λειτουργία)
- **PU.1** (early hit-and-run λειτουργία)
- **Notch/Delta** (μέσω μεταγραφικού παράγοντα RBPSuh [CSL, RBP-Jk] με τον MAML ως συν-παράγοντα )
- **E2A/HEB** basic helix-loop-helix (bHLH)
- **Runx** οικογένεια
- **GATA-3**
- **c-Myb**
- **TCF-1/LEF-1** (επαγωγή μέσω β-catenin)
- **Gfi1** (καταστολέας μεταγραφής)



# ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΗΣΗ ΠΡΟΣ Τ-ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ

## miRNAs



# -cell differentiation and relationship to major -cell neoplasms

