

Κεφάλαιο 1

Φυσιολογική αιμοσφαιρίνη, έμμορφα στοιχεία αίματος και αιμοποίηση

Αντικειμενικοί στόχοι μάθησης

- 1 Κατανόηση της δομής και της λειτουργίας του μορίου της αιμοσφαιρίνης.
- 2 Γνώση των γενικών χαρακτηριστικών των γονιδίων της σφαιρίνης (Θέση, δομή, μεταγραφή, μετάφραση).
- 3 Ικανότητα αναγνώρισης των επιμέρους τύπων των έμμορφων στοιχείων του αίματος από εικόνες.
- 4 Γνώση των λειτουργιών, της συγκέντρωσης και της διάρκειας ζωής των έμμορφων στοιχείων του αίματος.
- 5 Κατανόηση των βασικών αρχών λειτουργίας του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου (stem cell).
- 6 Κατανόηση των μηχανισμών παραγωγής των έμμορφων στοιχείων του αίματος και τους ρυθμιστικούς μηχανισμούς της αιμοποίησης.
- 7 Ικανότητα αναγνώρισης της ερυθροβλάστης, των προγονικών μορφών των ουδετερόφιλων και των μεγακαρυοκυττάρων από εικόνες.
- 8 Κατανόηση των διαφοροποιήσεων της αιμοποίησης κατά τα διάφορα στάδια ανάπτυξης του ανθρώπινου οργανισμού και της επανεμφάνισης της εξωμυελικής αιμοποίησης σε ορισμένες αματολογικές παθήσεις.

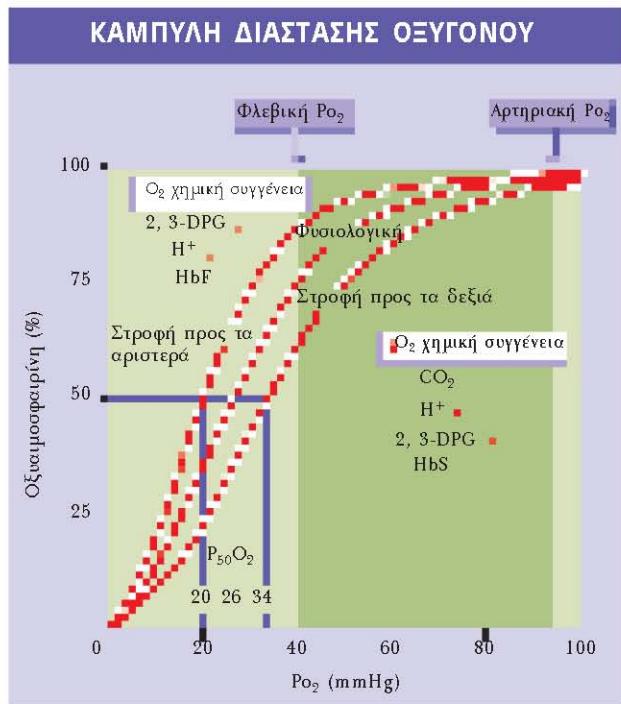
Σύνθεση φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης

Δομή και λειτουργία

Οι φυσιολογικές αιμοσφαιρίνες (Hb) είναι τετραμερή, αποτελούμενα από δύο ζεύγη ανόμοιων πολυπεπτιδικών αλυσίδων (σφαιρίνες). Κάθε μία από τις τέσσερις αλυσίδες συνδέεται με μία ομάδα αίμης, η οποία περιβάλλεται από υδρόφιβο θύλακα. Στις αι-

μοσφαιρίνες των ενηλίκων οι α-αλυσίδες συνδέονται, κατά κύριο λόγο, με β-αλυσίδες (HbA, $\alpha_2\beta_2$) και σε μικρότερο ποσοστό με δ-αλυσίδες (HbA₂, $\alpha_2\delta_2$). Στην ενδομήτρια ζωή, της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης οι α-αλυσίδες συνδέονται με γ-αλυσίδες (HbF, $\alpha_2\gamma_2$), ενώ στα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ζωής οι ζ-αλυσίδες ενώνονται με ε-αλυσίδες (Hb Gower I, $\zeta_2\epsilon_2$) ή με γ-αλυσίδες (Hb Gower II, $\alpha_2\epsilon_2$). Υπάρχουν δύο τύποι γ-αλυσίδων στην HbF οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους μόνο στη θέση 136, όπου βρίσκεται είτε το αμινοξύ γλυκίνη (^Gγ-αλυσίδες) ή το αμινοξύ αλανίνη (^Aγ-αλυσίδες).

Όταν στο εργαστήριο προσδιορίζεται ο επί τοις εκατό κορεσμός της Hb σε διαφορετικές τάσεις O₂ (mmHg) και οι δύο τιμές καταλαμβάνουν τους κάθετους άξονες του σχεδιαγράμματος, τότε προκύπτει η σιγμοειδής καμπύλη αποδέσμευσης του O₂ (χημική συγγένεια O₂) (Εικ. 1.1). Τούτο συμβαίνει γιατί η ένωση του ενός μορίου O₂ με την ομάδα της αίμης, μιας από τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες του τετραμερούς μορίου της Hb, επάγει την ένωση του επόμενου μορίου O₂ με την ομάδα της αίμης, μιας άλλης πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των ομάδων της αίμης προκύπτει από μικρή αλλαγή σχήματος του μορίου, που συμβαίνει όταν το O₂ ενώνεται με την αίμη. Όταν έχει αποδοθεί το μόριο του οξυγόνου στους ιστούς (κατάσταση αναγωγής), οι δύο β-αλυσίδες απομακρύνονται ελαφρώς μεταξύ τους, επιτρέποντας σε ένα μόριο 2,3 διφωσφορογλυκερινικό (2,3 DPG) να εισέλθει στο μόριο της αιμοσφαιρίνης και να ενωθεί με τις β-αλυσίδες. Όταν η Hb ξανά, οξυγονώνεται, τότε το 2,3 DPG αποβάλλεται. Η μερική πίεση του O₂ στην οποία η φυσιολογική αιμοσφαιρίνη είναι κατά 50%



Εικόνα 1.1 Καμπύλη διάστασης οξυγόνου.

οξυγονωμένη (P_{50}) είναι 26 mm Hg (σε pH 7.4 και 37°C). Υπό φυσιολογικές in vivo καταστάσεις, η ανταλλαγή του O_2 στο αρτηριακό αίμα πραγματοποιείται σε P_{O_2} 95 mm Hg (κορεσμός 95%) και στο φλεβικό αίμα σε P_{O_2} 40 mm Hg (κορεσμός 70%).

Η χημική συγγένεια του O_2 με την αιμοσφαιρίνη μειώνεται (στροφή της καμπύλης αποδέσμευσης προς τα δεξιά) όταν συνυπάρχει αύξηση του CO_2 στο αίμα (φαινόμενο Bohr). Τότε το CO_2 αντιδρά με το ύδωρ και παράγει ιόντα υδρογόνου. Στη συνέχεια τα ιόντα υδρογόνου ενώνονται με την δεօξυαιμοσφαιρίνη με αποτέλεσμα να μειώνεται η χημική συγγένεια του O_2 (απόδοση στους ιστούς). Τα ιόντα του υδρογόνου απελευθερώνονται όταν οξυγονωθεί η αιμοσφαιρίνη. Έτσι, το φαινόμενο Bohr διευκολύνει την απόδοση του O_2 στους ιστούς και την απομάκρυνση του CO_2 από τους πνεύμονες. Ο δεύτερος μηχανισμός, μέσω του οποίου το CO_2 που σχηματίζεται στους ιστούς μειώνει την χημική συγγένεια του O_2 με την αιμοσφαιρίνη (αύξηση απόδοσης του O_2 στους ιστούς), αφορά στην ένωση του CO_2 με τις αμινομάδες των α-αλυσίδων και την δημιουργία καρβαμιδικών ενώσεων.

Όταν επέλθει ένωση του O_2 με την αιμοσφαιρίνη (πνεύμονες) το CO_2 απελευθερώνεται από το αίμα στις κυψελίδες και απομακρύνεται με την εκπνοή.

Η χημική συγγένεια του O_2 με την αιμοσφαιρίνη αυξάνεται όταν μειώνονται τα επίπεδα του 2,3 DPG (συντηρημένο αίμα) και μειώνεται όταν αυξάνουν τα επίπεδα του 2,3 DPG (καταστάσεις υποξυγοναμίας). Η χημική συγγένεια του O_2 με την HbA είναι μικρότερη από την χημική συγγένεια που εμφανίζεται με την HbF, καθόσον το 2,3 DPG ενώνεται ασθενέστερα με τις γ-αλυσίδες παρά με τις β-αλυσίδες. Συνέπεια της αυξημένης αυτής συγγένειας είναι η ευχερέστερη μεταφορά του O_2 από τη μητέρα στο έμβρυο. Επίσης, μειωμένη χημική συγγένεια εμφανίζεται στη δρεπανοκυτταρική νόσο και κατά την διάρκεια ανόδου της θερμοκρασίας του σώματος (π.χ. πυρετός).

Σύνθεση

Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις ε-, γ-, α-, δ- και β- αλυσίδες βρίσκονται στο χρωμόσωμα 11 με αυτή την σειρά αλληλουχίας (5' προς 3'). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις

α-αλυσιδές είναι διπλασιασμένα και συνεπώς υπάρχουν δύο γονιδία α-αλυσιδών που βρίσκονται σε στενή επαφή με αυτό των ζ-αλυσιδών στο χρωμόσωμα 16 και με την σειρά ζ , α_2 και α_1 ($5'$ προς $3'$). Το ενδιαφέρον έγκειται στο ότι η αλληλουχία των γονιδίων στα χρωμοσώματα 11 και 16 είναι ακριβώς ίδια με την σειρά που αυτά δραστηριοποιούνται κατά την διάρκεια της ενδομήτριας ζωής.

Στη περιοχή των υπεύθυνων για την παραγωγή των σφαιρινών γονιδίων υπάρχουν διατηρημένες αλληλουχίες, οι οποίες εμπλέκονται στην ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και είναι γνωστές σαν προαγωγοί ή πρωθητές (promoter). Επίσης, στα άκρα $5'$ και $3'$, σε διαφορετικές αποστάσεις, υπάρχουν άλλες αλληλουχίες που χαρακτηρίζονται σαν ενισχυτές (enhancers). Οι προαγωγοί είναι υπεύθυνοι για την προσκόλληση και την ορθή τοποθέτηση του εναρκτήριου της μεταγραφής συμπλέγματος και σε αυτούς συγκαταλέγεται η RNA πολυμεράση, δηλαδή το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για τον σχηματισμό του mRNA. Προαγωγοί και ενισχυτές των γονιδίων των σφαιρινών διακρίνονται σε μη ειδικούς μεταγραφικούς παράγοντες, σε ειδικούς μεταγραφικούς παράγοντες των ερυθρών (GATA-1, GATA-2), σε δίκηνη Krüppel παράγοντες των ερυθρών (EKLF) και σε μεταγραφικούς παράγοντες των ειδικών σταδίων. Η έκφραση δύο των γονιδίων της β -ομάδας επηρεάζεται από απομακρυσμένη ρυθμιστική περιοχή γνωστή σαν μεγάλη ρυθμιστική περιοχή των β -tόπων (β -LCR), η οποία είναι τοποθετημένη αντίθετα από το ϵ -γονίδιο. Η έκφραση των γονιδίων δύο της α -ομάδας ρυθμίζεται από ρυθμιστική περιοχή γνωστή σαν HS-40 που τοποθετείται αντίθετα από το ζ -γονίδιο.

Κάθε γονίδιο εμπεριέχει δύο μη κωδικοποιούμενες περιοχές, γνωστές σαν παρεμβατικές αλληλουχίες (IVS) ή ιντρόνια (π.χ. περιοχές που δεν αντιπροσωπεύονται στο ωριμό mRNA) και τρεις κωδικοποιούμενες περιοχές ή εξώνια (Εικ. 1.2). Το αρχικό αντίγραφό του mRNA (πρόδρομο mRNA) είναι μεγάλο και συμπληρωματικό δύο των γονιδιακών περιοχών (κωδικοποιούμενων και μη) των σφαιρινών, αλλά οι συμπληρωματικές περιοχές των βασικών αλληλουχιών των ιντρονών γρήγορα απομακρύνονται με

την διαδικασία του ματίσματος (splicing) και αποστίζουν στο ωριμό mRNA. Στον πυρήνα η τροποποίηση του mRNA ξεκινά από το $5'$ άκρο του με τον σχηματισμό μιας CAP δομής και σταθεροποιείται με πολυαδενύλωση του άκρου $3'$. Το ωριμό mRNA εισέρχεται στον πυρήνα, προσδένεται στα ριβοσώματα και ξεκινά ο σχηματισμός των αλυσίδων μέσω της διαδικασίας της μετάφρασης.

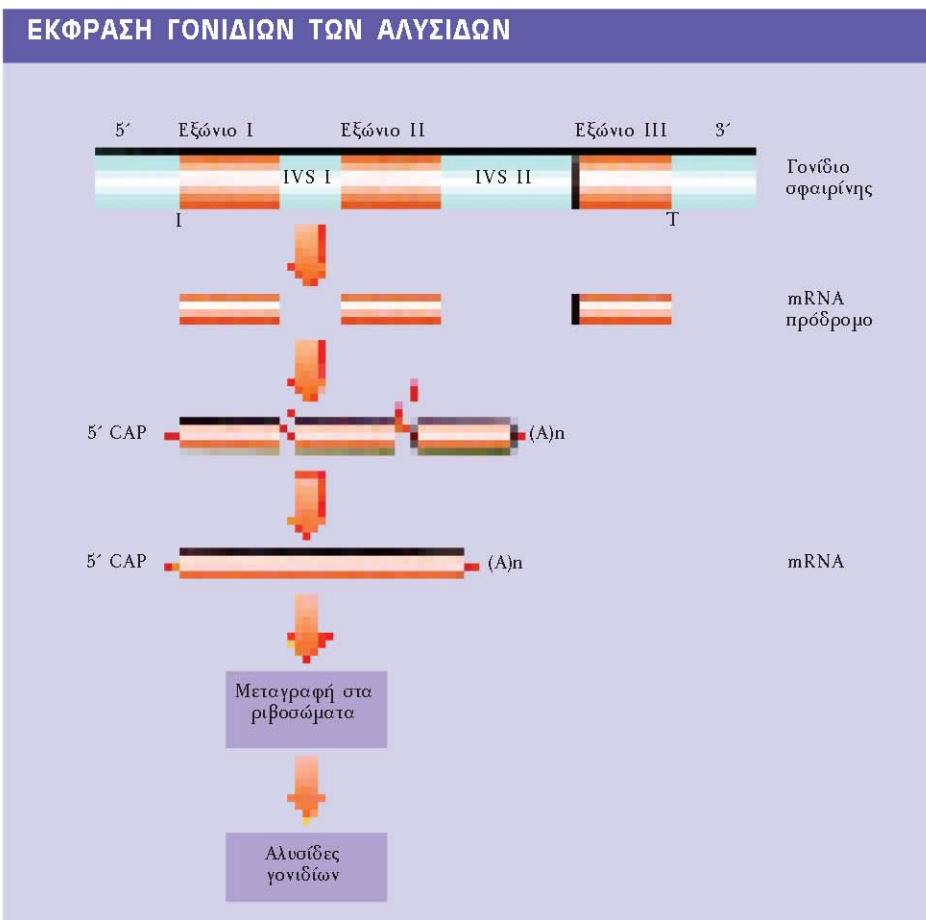
Έμμορφα στοιχεία αίματος

Μορφολογικά χαρακτηριστικά

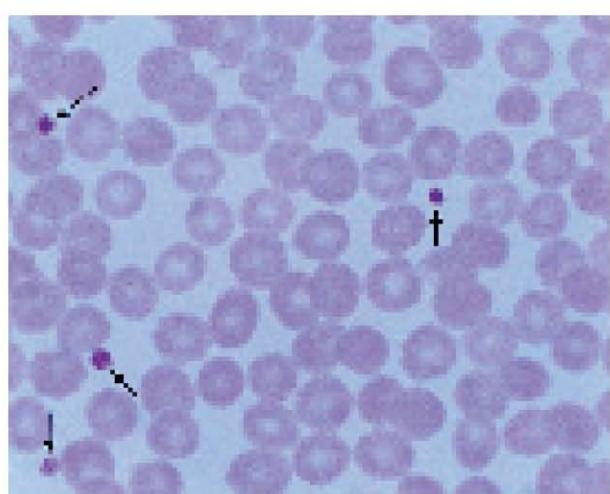
Στα επιχρίσματα αίματος που έχουν βαφτεί με την χρωστική Romanowsky, τα ερυθρά αιμοσφαίρια εμφανίζονται σαν αμφίκοιλοι, στρογγυλοί και απύρηνοι σχηματισμοί, διαμέτρου 6.7-7.7 μμ (μέση διάμετρος 7.2 μμ). Η μορφολογία των έμμορφων στοιχείων του αίματος πρέπει να διενεργείται σε περιοχή που δεν υπάρχει μεγάλη συρροή κυττάρων. Στις περιοχές αυτές, τα ερυθρά αιμοσφαίρια έχουν κεντρική ωχρά περιοχή της οποίας η διάμετρος είναι περίπου το 1/3 της συνολικής διαμέτρου του κυττάρου.

Επίσης, εκτός από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, το επίχρισμα αίματος περιέχει αιμοπετάλια και διαφόρων τύπων λευκά αιμοσφαίρια. Κατά μέσο όρο, η αναλογία ερυθρά/αιμοπετάλια/λευκά αιμοσφαίρια ισούται με 700: 40: 1. Τα αιμοπετάλια είναι μικρού μεγέθους απύρηνοι σχηματισμοί με διάμετρο 2-3 μμ (Εικ. 1.3). Έχουν ανοιχτό μπλε χρώμα και περιέχουν μικρά αζουρόφιλα κοκκία, τα οποία συνήθως συναθροίζονται στο κέντρο. Τα σημαντικά μορφολογικά χαρακτηριστικά των λευκών αιμοσφαίριων αναγράφονται στον Πίνακα 1.1. Τα ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα κοκκιούτταρα περιγράφονται επίσης και σαν πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα ή πολυμορφοπύρηνα. Χαρακτηριστικά, ο πυρήνας τους αποτελείται από δύο ή περισσότερους λοβούς ενωμένους με λεπτούς σχηματισμούς χρωματίνης. Σε φυσιολογικές συνθήκες, λιγότερο από το 3% των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων έχουν περισσότερους από 5 ή 7 λοβούς. Στη Εικ. 1.4γ φαίνεται ένα μονοπύρηνο. Τα μικρά λεμφοκύτταρα (Εικ. 1.5) αποτελούν το 90% του συνόλου των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος, ενώ το υπόλοιπο 10% ανήκει στα μεγάλα λεμφοκύτταρα. Πολλά

Κεφάλαιο 1 Φυσιολογική αιμοσφαιρίνη, έμμορφα στοιχεία αίματος και αιμοποίηση



Εικόνα 1.2 Έκφραση γονιδίων των αιμοσίδων. IVS (παρεμβαίνουσα αθήνησύχια), I (αρχικό κωδικόνιο), T (τελικό κωδικόνιο), (A)n (σημείο πολυαδενυλώσης), 5'CAP (δομικό συστατικό που περιέχει 7-μεθυλ-γουανοσίνη).

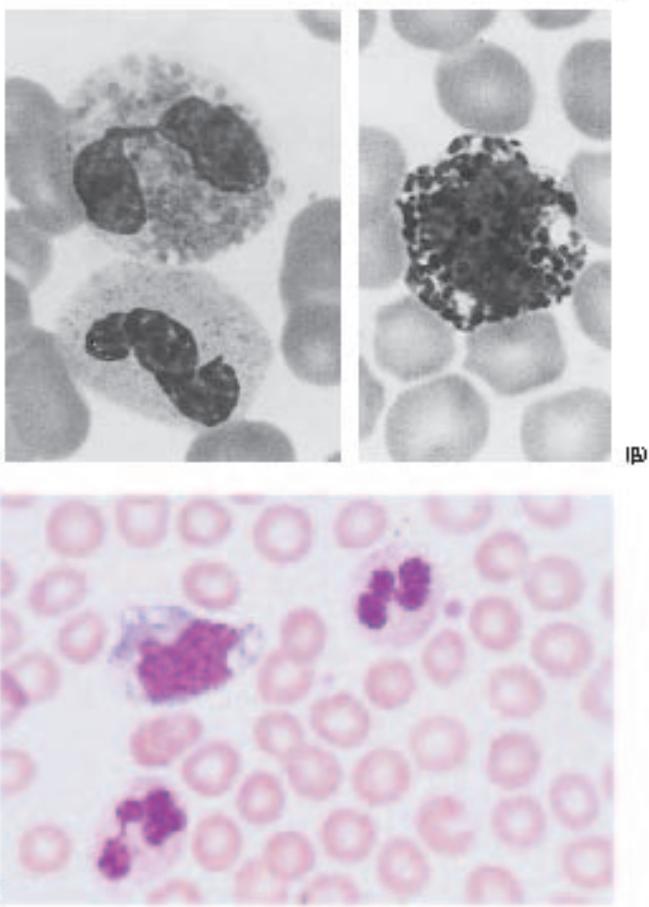


Εικόνα 1.3 Επίχρισμα φυσιολογικού φλεβικού περιφερικού αίματος. Τα ερυθρά αιμοσφαιρία έχουν στρογγυλό σχήμα χωρίς να εμφανίζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις στο μέγεθος. Είναι πλήρη αιμοσφαιρίνης και η κεντρική ωχρά περιοχή είναι μικρού μεγέθους. Τα βέλη υποδεικνύουν την παρουσία αιμοπεταλίων.

Πίνακας 1.1 Μορφολογία πεικών αιμοσφαιρίων με κράση Romanowsky σε επίκριση περιφερικού αιμάτος.

Κυτταρόπλασμα					
Τύπος	Μέγεθος (μμ)	Χρώμα	Vc/Vn*	Κόκκια	Πυρίνας
Οιδετερόφιλο κοκκιοκύτταρο	9-15	Εποφρύς ρόδινο	Μεγάλη	Πολυαύριθμα, διακριτά, αριθμός πορφυρών πολλών, μεγάλων σφρουγγιών, πορτοκαλί πόρωση	Συνίθιας 2-5 ποροίς
Ηανούφιλο κοκκιοκύτταρο	12-17	Αλυκό μπλε	Μεγάλη	Πολλά, μεγάλα και σφρουγγιώτερα	Συνίθιας 2 ποροίς
Βασεόφιλο κοκκιοκύτταρο	10-14		Μεγάλη	Αρκετά, μεγάλα και σφρουγγιώτερα, σκούρα πορφυρά	Συνίθιας 2 ποροίς, τα κόκκια καπιτόπουν τον πυρίνα
Μονοκύτταρο	15-20	Αλυκό γκρι- μπλε, ενιο- κυτταρο- πλομπωτική κενοτόπια	Μεγάλη ή μερικά μεριών μεγάλη πορφυροειδή τε σρατά	Πολλοίς αριθμός πορφυροειδών	Ποκιπόροφας ιστοφρουγγιός, νεφροειδής, ποβατός, γηρατοειδής ή δαντελωτή κραματίνη
Λειφοκύτταρο μικρά	7-12	Αλυκό μπλε	Μικρή ή πολλή μικρή	Λίγα, μικρά πορφυροειδή	Σφρουγγιώτερο με μεγάλο αθροίσματα πικνοκραμωτικής κραματίνης
Λειφοκύτταρο μεγάλα	12-16	Αλυκό μπλε	Μεγάλη περι	Αρκετά, μεγάλα πορφυροειδή	Λιγότερο πικνοκραμωτική κραματίνη

*Vc: Όγκος κυτταροπλάσματος, Vn: Όγκος πυρίνας



Εικόνα 1.4 Επίκριση φυσιολογικού φλεγμονικού περιφερικού αιμάτος. ΙαΙ Οιδετερόφιλο κοκκιοκύτταρο και ηανούφιλο κοκκιοκύτταρο. ΙβΙ Βασεόφιλο κοκκιοκύτταρο. ΙγιΙ Μονοκύτταρο και δύο οιδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα. Το μονοκύτταρο έχει αλυκό, γκριζομπλε, κενοτοπιώδες πρωτόπλασμα. Η εικόνα ιγιΙ είναι σε μικρότερη μεγεθύνση από τις ιαΙ και ιβΙ.