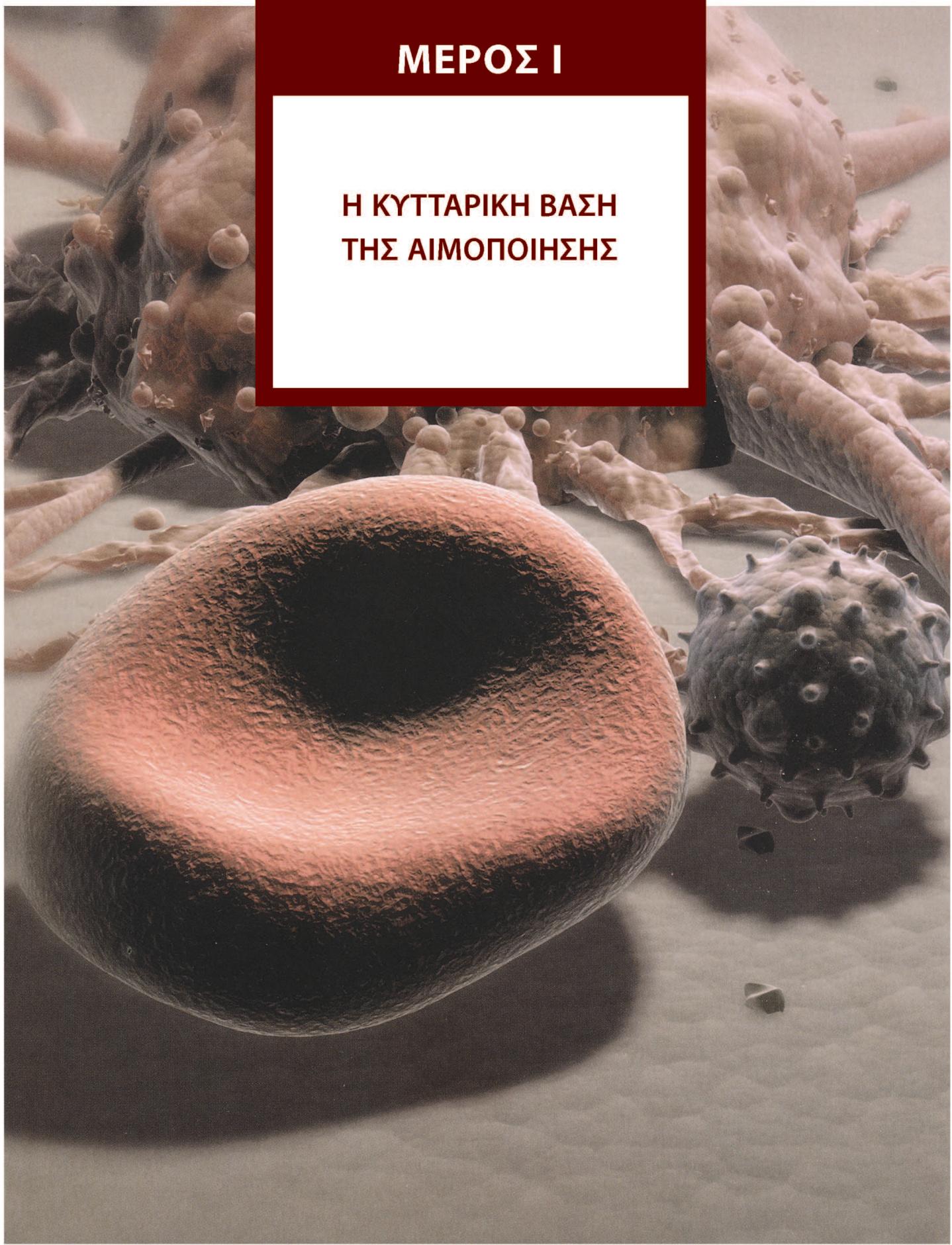


ΜΕΡΟΣ Ι

Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ





ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ

David T. Scadden ■ Dan L. Longo

■ Θεμελιώδεις λειτουργίες των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων.....	3
Αναπτυξιακή βιολογία των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων.....	4
Κινητικότητα των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων.....	4
Το μικροπεριβάλλον των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων	5
Αυξημένη ικανότητα των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων ...	5
Διαφοροποίηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων.....	5
Αυτοανανέωση	5
■ Ο καρκίνος μοιάζει με όργανο ικανό να αυτοανανεώνεται....	6
■ Τι άλλο μπορεί να κάνει το αιμοποιητικό βλαστοκύτταρο;	7
■ Βιβλιογραφία	7

Όλοι οι κυτταρικοί τύποι του περιφερικού αίματος και μερικά κύτταρα σε κάθε ιστό του σώματος προέρχονται από αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα. Εάν τα βλαστοκύτταρα υποστούν βλάβη και αδυνατούν πλέον να λειτουργήσουν (π.χ. λόγω του πυρηνικού ατυχήματος στο Τσερνομπίλ), το άτομο μπορεί να επιζήσει μέχρι 2–4 εβδομάδες χωρίς εξαιρετικά μέτρα προστασίας. Με την κλινική χρήση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, δεκάδες χιλιάδες ζωές σώζονται κάθε χρόνο (Κεφ. 108). Τα βλαστοκύτταρα παράγουν δεκάδες δισεκατομμύρια αιμοσφαίρια κάθε μέρα από μια δεξαμενή βλαστοκυττάρων που υπολογίζεται ότι περιέχει μόνο μερικές εκατοντάδες χιλιάδες κύτταρα. Πώς το καταφέρουν αυτό τα βλαστοκύτταρα, πώς διατηρούνται επί πολλές δεκαετίες παρά τις απαιτήσεις της παραγωγής και πώς είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν καλύτερα στην κλινική πράξη είναι σημαντικά θέματα στην ιατρική.

Η μελέτη της παραγωγής αιμοσφαιρίων δίνει ένα παράδειγμα του πώς μπορεί άλλοι ιστοί να είναι οργανωμένοι και ρυθμισμένοι. Η βασική έρευνα για την αιμοποίηση που περιλαμβάνει τον καθορισμό των σταδιακών μοριακών αλλαγών που συνοδεύουν τις λειτουργικές αλλαγές της ωρίμανσης των κυττάρων, τη συγκέντρωση κυττάρων σε λειτουργικές υποομάδες και την αποκάλυψη της ρύθμισης των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων από ένα εξειδικευμένο μικροπεριβάλλον είναι θέματα που μελετήθηκαν στην αιματολογία, αλλά αποτελούν μοντέλα για άλλους ιστούς. Επιπλέον, τα θέματα αυτά ενδέχεται να μην περιορίζονται στη λειτουργία των φυσιολογικών ιστών αλλά να προεκτείνονται στην κακοήθεια. Τα βλαστοκύτταρα αποτελούν μικρή μειονότητα στον ετερογενή πληθυσμό των κυτταρικών τύπων και η συμπεριφορά

τους εκτιμάται κυρίως σε πειραματικά ζωικά μοντέλα που αφορούν στην αποκατάσταση της αιμοποίησης. Έτσι, τα περισσότερα από όσα γνωρίζουμε για τα βλαστοκύτταρα είναι ανακριβή και προέρχονται από γενετικά τροποποιημένα ζώα.

ΘΕΜΕΛΙΩΔΕΙΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Όλοι οι τύποι των βλαστοκυττάρων διαθέτουν δύο θεμελιώδεις λειτουργίες: αυτοανανέωση και διαφοροποίηση (**Εικ. 1-1**). Τα βλαστοκύτταρα υπάρχουν για να δημιουργούν, να συντηρούν και να επιδιορθώνουν ιστούς. Λειτουργούν με επιτυχία, δύνανται μπορούν να αντικαθιστούν επί μεγάλα χρονικά διαστήματα μεγάλη ποικιλία ώριμων κυττάρων με βραχύτερη διάρκεια ζωής. Η διαδικασία της αυτοανανέωσης (βλέπε παρακάτω) εξασφαλίζει τη διατήρηση μέσα στον χρόνο ενός πληθυσμού βλαστοκυττάρων. Χωρίς την αυτοανανέωση, η δεξαμενή των βλαστοκυττάρων θα εξαντληθεί με την πάροδο του χρόνου και θα καταστεί αδύνατη η συντήρηση των ιστών. Η διαδικασία της διαφοροποίησης προσφέρει τους εκτελεστές της ιστικής λειτουργίας: ώριμα κύτταρα. Χωρίς την κατάλληλη διαφοροποίηση, θα ήταν αδύνατη η συνέχιση της ιστικής λειτουργίας και θα επακολουθούσε οργανική ανεπάρκεια.

Στο αίμα, τα ώριμα κύτταρα έχουν διαφορετική μέση διάρκεια ζωής, από 7 ώρες των ώριμων ουδετερόφιλων έως μερικούς μήνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων και πολλά έτη των λεμφοκυττάρων μνήμης. Ωστόσο, η δεξαμενή των βλαστοκυττάρων είναι η κεντρική, μακρόβια πηγή όλων των αιμοσφαιρίων και των ανοσοποιητικών κυττάρων, διατηρούσα την ικανότητα να παράγει ευρεία

ποικιλία κυττάρων από μία και μόνη πηγή, παραμένουσα ακμαία στις δεκαετίες της ζωής. Καθώς ένα βλαστοκύτταρο διαιρείται έχει τρεις δυνατότητες: να δώσει δύο βλαστοκύτταρα, να δώσει δύο κύτταρα προορισμένα να διαφοροποιηθούν ή να δώσει ένα βλαστοκύτταρο και ένα διαφοροποιησμένο κύτταρο. Οι πρώτες δύο δυνατότητες είναι αποτέλεσμα συμμετρικής διαίρεσης, ενώ η τελευταία επιφυλάσσει διαφορετική μοίρα για κάθε θυγατρικό κύτταρο—γεγονός αποκαλούμενο ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση. Η σχετική ισορροπία μεταξύ αυτών των δυνατοτήτων μπορεί να αλλάξει κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και ανάλογα με τις συγκεκριμένες απαιτήσεις από τη δεξαμενή των βλαστοκύτταρων.

ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, αιμοσφαίρια παράγονται σε διάφορες θέσεις. Αρχικά, ο λεκιθικός σάκος παρέχει ερυθρά αιμοσφαίρια μεταφοράς οξυγόνου και αργότερα εμπλέκονται αρκετές θέσεις ενδοεμβρυϊκής παραγωγής αιμοσφαιρίων, οι οποίες, κατά σειρά, έχουν ως εξής: μετακίνηση της αιμοποίησης από τη γεννητική ακρολοφία στην περιοχή έκφυσης της αορτής, της γονάδος και του μεσόνεφρου, ακολούθως προς το εμβρυϊκό ήπαρ και κατόπιν, κατά το δεύτερο τρίμηνο, στον μυελό των οστών και στον σπλήνα. Καθώς ο εντοπισμός των βλαστοκύτταρων αλλάζει, μεταβάλλεται επίσης η σχετική αφθονία των κυττάρων που παράγονται προσδευτικά αυξανόμενης της πολυπλοκότητας των κυτταρικών τύπων από εκείνους που απλώς μεταφέρουν οξυγόνο μέχρι τα αιμοπετάλια που υποστηρίζουν πιο περιπλοκό δίκτυο αγγείων και από τα κύτταρα της έμφυτης ανοσίας έως τα κύτταρα της επίκτητης ανοσίας. Ο πολλαπλασιασμός των βλαστοκύτταρων παραμένει υψηλός, ακόμη και στον μυελό των οστών, μέχρι λίγο πριν τη γέννηση, οπότε σημειώνεται δραματική μείωση. Πιστεύεται ότι τα κύτταρα στον μυελό των οστών καταφθάνουν κατά τη διακίνηση με το αίμα κυττάρων από το εμβρυϊκό ήπαρ μετά την έναρξη της επασβέστωσης των μακρών οστών. Η παρουσία βλαστοκύτταρων στην κυκλοφορία δεν είναι χαρακτηριστικό συγκεκριμένης χρο-

νικής περιόδου της ανάπτυξης, αλλά μάλλον αυτά κυκλοφορούν στο αίμα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής. Ο χρόνος της ελεύθερης κυκλοφορίας των κυττάρων στο αίμα φαίνεται ότι είναι σύντομος (ολίγων λεπτών στον ποντικό), αλλά τα κύτταρα που κυκλοφορούν είναι λειτουργικά και κατάλληλα για μεταμόσχευση. Ο αριθμός των βλαστοκύτταρων που κυκλοφορούν μπορεί να αυξηθεί με διάφορους τρόπους, για να διευκολυνθεί η συλλογή και η μεταφορά τους στο ίδιο ή σε διαφορετικό άτομο.

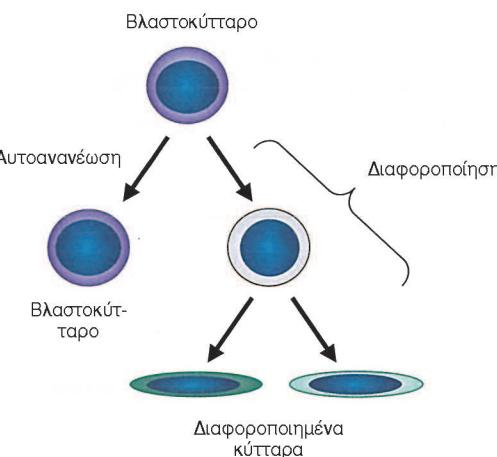
ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα κύτταρα εισέρχονται στον μυελό των οστών και εξέρχονται από αυτόν μέσω σειράς μοριακών αλληλεπιδράσεων. Τα κυκλοφορούντα βλαστοκύτταρα (μέσω των CD162 και CD44) συγκρατούν τις ευρισκόμενες στην επιφάνεια των ενδοθηλίων λεκτίνες σελεκτίνη-Ρ και σελεκτίνη-Ε, για να επιβραδύνουν την κίνηση των κυττάρων σε κυλιόμενο φαινότυπο. Στη συνέχεια ενεργοποιούνται ιντεγκρίνες των βλαστοκύτταρων και επιτυγχάνουν σταθερή προσκόλληση των βλαστοκύτταρων στο αγγειακό τοίχωμα, με ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο του VCAM-1 των βλαστοκύτταρων που συνδέεται με το ενδοθηλιακό VLA-4. Η αλληλεπίδραση της χημοκίνης CXCL12 (SDF1) με τους υποδοχείς CXCR4 των βλαστοκύτταρων φαίνεται επίσης να είναι σημαντική για την απόσπαση των βλαστοκύτταρων από την κυκλοφορία εκεί που θα εμφυτευθούν στον μυελό των οστών. Αυτό συμβαίνει κυρίως κατά την αναπτυξιακή μετακίνηση από το εμβρυϊκό ήπαρ στον μυελό των οστών. Πάντως, ο ρόλος αυτού του μορίου στους ενήλικες φαίνεται να σχετίζεται περισσότερο με τη συγκράτηση των βλαστοκύτταρων στον μυελό παρά με την απομάκρυνσή τους από αυτόν. Η διακοπή της διαδικασίας συγκράτησης, είτε με ειδικούς μοριακούς ανταγωνιστές της αλληλεπίδρασης CXCR4/CXCL12 είτε με αποκοπή του CXCL12 ή τέλος με καταστολή του υποδοχέα, έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση βλαστοκύτταρων στην κυκλοφορία. Αυτή η διεργασία έχει μεγάλη σημασία για τη λήψη βλαστοκύτταρων για θεραπευτική χρήση, επειδή επιτρέπει τη συλλογή να γίνει με λευκαφαίρεση παρά με παρακέντηση του μυελού στο χειρουργείο. Εάν κατανοήσουμε καλύτερα πώς τα βλαστοκύτταρα εισέρχονται και εξέρχονται από τον μυελό ίσως μπορέσουμε να βελτιώσουμε τη συλλογή τους και να τα μεταφέρουμε πιο αποτελεσματικά στις θέσεις αιμοποίησης.

ΤΟ ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η έννοια του ειδικού μικροπεριβάλλοντος, ή φωλιάς (*niche*), των βλαστοκύτταρων προτάθηκε, για να εξηγηθεί πώς τα κύτταρα που προέρχονται από τον μυελό οστών ενός ζώου μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μεταμόσχευση και να βρεθούν πάλι στον μυελό των οστών του λήπτη. Πάντως, αυτή η φωλιά είναι κάτι περισσότερο από περιοχή φιλοξενίας των βλαστοκύτταρων. Είναι μια ανατομική θέση στην οποία παράγονται ρυθμιστικά σήματα που επιτρέπουν στα βλαστοκύτταρα να ευδοκιμούν, να πολλαπλασιάζονται εάν χρειαστεί και να παράγουν ποικίλες ποσότητες θυγατρικών κυττάρων. Επιπλέον, η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των βλαστοκύτταρων μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα λόγω της αδιαφοροποίησης κατάστασής τους και της ικανότητας για αυτοανανέωση. Έτσι, η φωλιά θα πρέπει επίσης να ρυθμίζει τον αριθμό των παραγόμενων βλαστοκύτταρων. Επομένως, η φωλιά έχει τη διπλή λειτουργία να χρησιμεύει ως τόπος ανατροφής και να θέτει όρια στα βλαστοκύτταρα· δηλ. να είναι ταυτόχρονα φωλιά και κλουβί.

Η φωλιά των βλαστοκύτταρων του αίματος αλλάζει ανάλογα με τις θέσεις παραγωγής αίματος κατά την ανάπτυξη, αλλά για το μεγαλύτερο μέρος της ζωής εντοπίζεται στον μυελό των οστών, εντός του οποίου έχουν προταθεί δύο τουλάχιστον θέσεις: στις επιφάνειες των δοκιδωτών οστών και στον περιαγγειακό χώρο. Βλαστοκύτταρα μπορεί να βρεθούν και στις δύο θέσεις με ιστολογική



ΕΙΚΟΝΑ 1-1

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του βλαστοκύτταρου. Τα βλαστοκύτταρα έχουν δύο σημαντικά χαρακτηριστικά: την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε διάφορους ώριμους κυτταρικούς τύπους και την ικανότητα να αυτοανανεώνονται. Οι ενδογενείς περιόδους που σχετίζονται με την αυτοανανέωση περιλαμβάνουν την έκφραση των Bmi-1, Gfi-1, PTEN, STAT5, Tel/Atv6, p21, p18, MCL-1, Mel-18, RAE28 και HoxB4. Τα εξωγενή σήματα για ανανέωση περιλαμβάνουν Notch, Wnt, SHH και Tie2/Ang-1. Σύμφωνα με πειράματα κυρίως σε ποντικούς, τα βλαστοκύτταρα εκφράζουν τα εξής επιφανειακά μόρια: CD34, Thy-1 (CD90), υποδοχέα c-Kit (CD117), CD133, CD164 και c-Mpl (CD110, γνωστό και ως μποδοχέας της θρομβοποιητίνης).

4 ανάλυση και έχει διαπιστωθεί λειτουργική ρύθμιση στην επιφάνεια του οστού. Συγκεκριμένα, τα μεσεγχυματικά κύτταρα που σχηματίζουν οστούν, οι οστεοβλάστες, συμμετέχουν στη λειτουργία των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, επηρεάζοντας τον εντοπισμό, τον πολλαπλασιασμό και τον αριθμό τους. Η βάση αυτής της αληθηπόδρασης βρίσκεται σε ορισμένα μόρια που μεσολαβούν για τον εντοπισμό, όπως η χημοκίνη CXCL12 (SDF1) και η N-καδχερίνη, σε σήματα πολλαπλασιασμού μέσω της αγγειοποιητίνης 1 και σε παράγοντες όπως οι συνδέτες Notch, οι συνδέτες kit και Wnt που σηματοδοτούν τις μεταβολές της αυτοανανέωσης ή της επιβίωσης. Άλλα συστατικά των οστών, όπως η γλυκοπρωτεΐνη οστεοποντίνη της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και το άφθονο ιοντικό ασβέστιο στις επιφάνειες των δοκίδων, συναποτελούν το μοναδικό μικροπεριβάλλον, ή φωλιά των βλαστοκυττάρων, στο δοκιδώδες οστούν. Η φυσιολογία αυτή έχει πρακτικές εφαρμογές. Πρώτον, τα φάρμακα που αλλάζουν στοιχεία της φωλιάς μπορεί να επηρεάσουν τη λειτουργία των βλαστοκυττάρων. Αυτό έχει αποδειχθεί για ορισμένες ουσίες και με μερικές ήδη γίνονται κλινικά πειράματα. Δεύτερον, τώρα είναι δυνατόν να εκτιμηθεί η συμμετοχή της φωλιάς στις νόσους και να εξεταστεί εάν η στόχευση της φωλιάς με φάρμακα μπορεί να αλλάξει την έκβαση ορισμένων νόσων.

ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Σε απουσία νόσου τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα ποτέ δεν εξαντλούνται. Πράγματι, οι μελέτες με επανειλημμένες μεταμοσχεύσεις σε ποντικούς έδειξαν ότι υπάρχει ικανός αριθμός βλαστοκυττάρων, για να αποκαταστήσει διαδοχικά αρκετά ζώα, το καθένα με φυσιολογική παραγωγή αιμοσφαιρίων. Το γεγονός επίσης ότι οι δέκτες αλλογενούς μοσχεύματος βλαστοκυττάρων ποτέ δεν μένουν χωρίς αιμοσφαιρία στη ζωή τους, που μπορεί να διαρκέσει δεκαετίες, ενισχύει την άποψή ότι ακόμη και οι περιορισμένοι αριθμοί βλαστοκυττάρων που τους δόθηκαν είναι αρκετοί. Το πώς απαντούν τα βλαστοκύτταρα στις διάφορες καταστάσεις, για να αυξομειώσουν την παραγωγή ωρίμων κυττάρων, δεν είναι εντελώς κατανοητό. Είναι σαφές ότι μηχανισμοί αρνητικής ανατροφοδότησης επηρεάζουν το επίπεδο της παραγωγής των περισσότερων κυττάρων, με αποτέλεσμα τους αυστηρά ελεγχόμενους φυσιολογικούς αριθμούς αιμοσφαιρίων. Ωστόσο, πολλοί από τους ελεγκτικούς μηχανισμούς που ρυθμίζουν την παραγωγή περισσότερο ωρίμων προγονικών κυττάρων δεν έχουν εφαρμογή ή εφαρμόζονται διαφορετικά στα βλαστοκύτταρα. Ομοίως, τα περισσότερα από τα μόρια που αποδείχθηκε ότι μπορούν να αλλάξουν το μέγεθος της δεξαμενής των βλαστοκυττάρων έχουν μικρή επίδραση στα περισσότερο ωρίμα αιμοσφαιρία. Για παράδειγμα, ο αυξητικός παράγων ερυθροποιητίνη, που διεγείρει την παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων από πιο ωρίμα πρόδρομα κύτταρα, δεν έχει καμία επίδραση στα βλαστοκύτταρα. Το ίδιο και ο παράγων διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων υποκινεί τον ταχύ πολλαπλασιασμό των πρόδρομων κοκκιοκυττάρων, αλλά δεν επηρεάζει τον κυτταρικό κύκλο των βλαστοκυττάρων. Μάλλον αλλάζει με έμμεσο τρόπο τη θέση των βλαστοκυττάρων, ενεργώντας επί των μορίων, σαν το CXCL12, που προσδένουν τα βλαστοκύτταρα στη φωλιά τους. Τα μόρια που αποδείχθηκε ότι επηρεάζουν σημαντικά τον πολλαπλασιασμό των βλαστοκυττάρων, όπως ο εξαρτώμενος από κυκλίνη αναστολέας κινάσης p21Cip1, επηρεάζουν ελάχιστα ή καθόλου τον πολλαπλασιασμό των προγονικών κυττάρων. Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα διαθέτουν ρυθμιστικούς μηχανισμούς διαφορετικούς από αυτούς των κυττάρων που παράγουν.

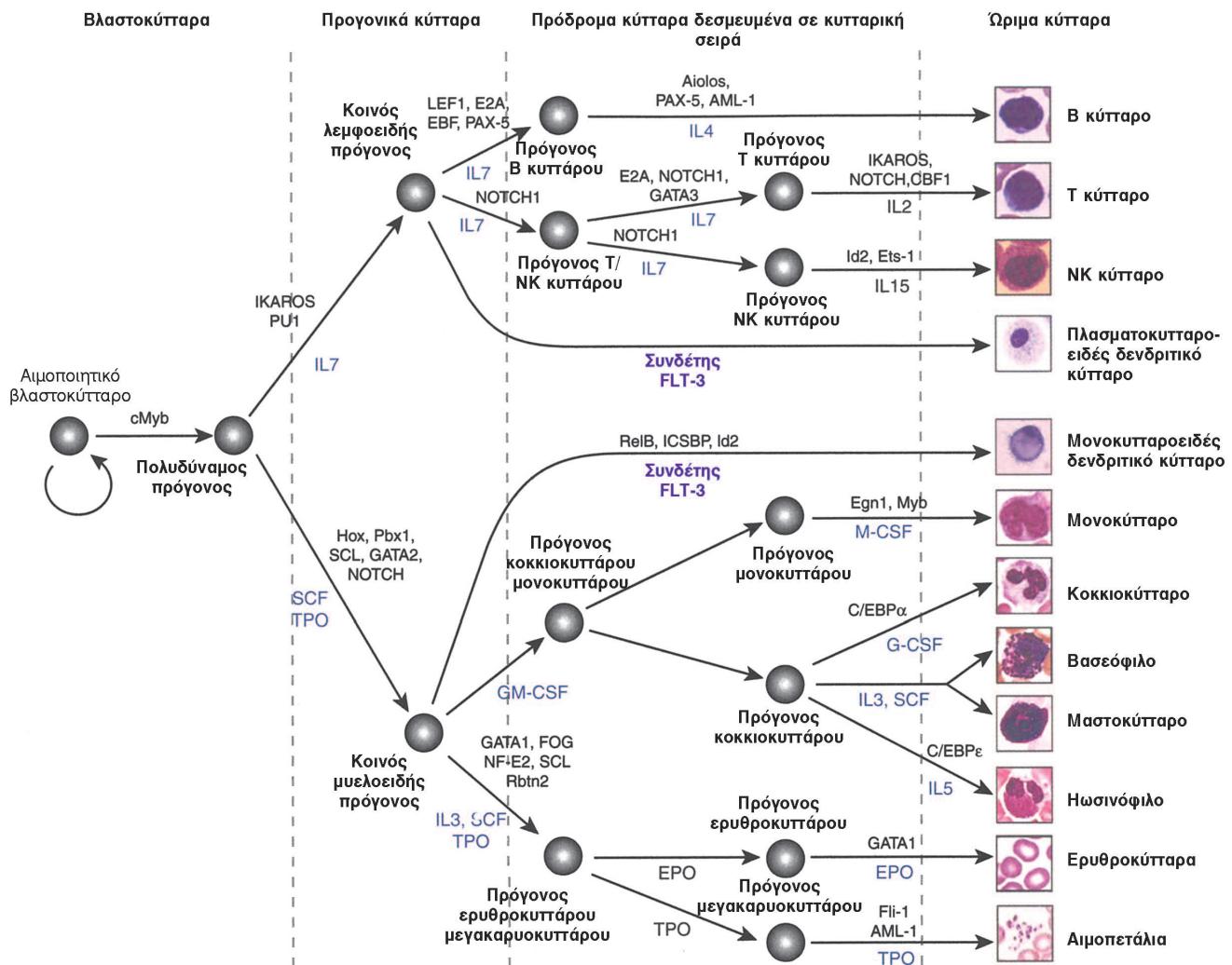
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα βρίσκονται στη βάση μιας διακλαδισμένης ιεραρχίας κυττάρων που απολήγει στους πολλούς ωρίμους τύπους κυττάρων που απαρτίζουν το αίμα και το ανοσοποιητικό σύστημα (Εικ. 1-2). Η σταδιακή ωρίμανση

που καταλήγει στα τελείως διαφοροποιημένα και λειτουργικά αιμοσφαιρία είναι αποτέλεσμα τόσο εγγενών αλλαγών της έκφρασης γονιδίων όσο και αλλαγών στα κύτταρα που κατευθύνονται από το μικροπεριβάλλον και από κυτταροκίνες. Οι λεπτομέρειες αυτών δεν είναι τελείως γνωστές (<http://stemcell.princeton.edu/> για πλήρη κατάλογο των γονιδίων που εκφράζονται στα βλαστοκύτταρα). Καθώς τα βλαστοκύτταρα ωριμάζουν και μετατρέπονται σε προγονικά, πρόδρομα και, τελικά, ωρίμα εκτελεστικά κύτταρα, υφίστανται σειρά λειτουργικών αλλαγών. Αυτές περιλαμβάνουν την προφανή απόκτηση λειτουργιών που χαρακτηρίζουν τα ωρίμων κύτταρα του αίματος, δημιούργηση αιμοσφαιρίνης, Περιλαμβάνουν επίσης την προσδευτική απώλεια της πλαστικότητας, δηλ. της ικανότητας να μετατρέπονται σε άλλους κυτταρικούς τύπους. Για παράδειγμα, τα μυελοειδή προγονικά κύτταρα μπορούν να δημιουργήσουν όλα τα κύτταρα της μυελοειδούς σειράς, αλλά κανένα της λεμφοειδούς σειράς. Καθώς οι κοινοί πρόγονοι της μυελοειδούς σειράς ωριμάζουν, γίνονται πρόδρομοι είτε για μονοκύτταρα και κοκκιοκύτταρα είτε για ερυθροκύτταρα και μεγακαρυοκύτταρα, ποτέ για αμφότερα. Στην αρχή του καταρράκτη της διαφοροποίησης μπορεί να διατηρηθεί κάποιος βαθμός αναστρεψιμότητας, αλλά κι αυτός χάνεται μετά από κάποιο στάδιο. Καθώς τα κύτταρα διαφοροποιούνται, μπορεί να χάσουν επίσης την ικανότητα πολλαπλασιασμού τους (Εικ. 1-3). Τα ωρίμα κοκκιοκύτταρα είναι ανίκανα να πολλαπλασιαστούν και ο αριθμός τους αυξάνεται μόνο με αύξηση της παραγωγής τους από πρόδρομα κύτταρα. Τα λεμφοειδή κύτταρα διατηρούν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται, αλλά ο πολλαπλασιασμός τους συνδέεται με την αναγνώριση συγκεκριμένων πρωτεΐνων ή πεπτιδίων από ειδικούς αντιγονικούς υποδοχείς στην επιφάνειά τους. Στους περισσότερους ιστούς τα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται είναι ανώριμα προγονικά κύτταρα. Γενικά, τα προγονικά κύτταρα που έχουν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται ζωηρά είναι σχετικά βραχύβια και η πορεία τους προς τη διαφοροποίηση καθορίζεται από μοριακό πρόγραμμα που περιλαμβάνει τη διαδοχική ενεργοποίηση συγκεκριμένων ομάδων γονιδίων. Για κάθε συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο, το πρόγραμμα της διαφοροποίησής του δύσκολα επιταχύνεται. Ο απαιτούμενος χρόνος, για να γίνουν τα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα ωρίμα κύτταρα είναι περίπου 10-14 ημέρες στον άνθρωπο και κλινικά φαίνεται από το χρονικό διάστημα μεταξύ κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας και αποκατάστασης του αριθμού των αιμοσφαιρίων στον ασθενή.

ΑΥΤΟΑΝΑΝΕΩΣΗ

Το αιμοποιητικό βλαστοκύτταρο πρέπει να ισορροπήσει μεταξύ τριών πιθανών εξελίξεων: απόπτωση, αυτοανανέωση και διαφοροποίηση. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων γενικά δεν σχετίζεται με την ικανότητα να υφίστανται αυτοανανεωτική διάρεση, πλην των περιπτώσεων των Β και Τ κυττάρων μνήμης και των βλαστοκυττάρων. Η ικανότητα αυτοανανέωσης υποχωρεί έναντι της διαφοροποίησης ως μοναδικής επιλογής μετά την κυτταρική διάρεση, όταν τα κύτταρα εγκαταλείπουν το διαμέρισμα των βλαστοκυττάρων, ώσπου να έχουν την ευκαιρία να γίνουν λεμφοκύτταρα μνήμης. Εκτός από την ικανότητα αυτοανανέωσης, τα βλαστοκύτταρα έχουν ένα επιπρόσθετο χαρακτηριστικό του πολλαπλασιασμού τους. Τα βλαστοκύτταρα των περισσότερων ωρίμων ιστών στους ενήλικες είναι σε πλήρη αδράνεια. Στο αιμοποιητικό σύστημα τα βλαστοκύτταρα είναι επίσης πολύ ανθεκτικά στις κυτταροκίνες και παραμένουν σε ύπνωση, ακόμη κι όταν οι κυτταροκίνες ερεθίζουν τα προγονικά κύτταρα του μυελού των οστών να πολλαπλασιαστούν πολύ πιο γρήγορα. Αντίθετα, τα βλαστοκύτταρα πιστεύεται ότι διαιρούνται με πολύ βραδύτερους ρυθμούς, τουλάχιστον όπως εκτιμήθηκε από μη ανθρώπινα πρωτεύοντα. Αυτή η βαθιά ύπνωση είναι δύσκολο να υπερνικηθεί *in vitro* κι έτσι περιορίζεται η δυνατότητα να πολλαπλασιαστούν αποτελεσματικά τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα του



ΕΙΚΟΝΑ 1-2

Ιεραρχία της αιμοποιητικής διαφοροποίησης. Τα βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα κύτταρα, πηγή όλων των κατιόντων κυττάρων, και έχουν τη δυνατότητα είτε μακροπρόθεσμης (μετρούμενης σε έτη) είτε βραχυπρόθεσμης (μετρούμενης σε μήνες) παραγωγής κυττάρων. Τα προγονικά κύτταρα μπορούν να παράγουν μικρότερη ποικιλία κυττάρων και γενικά είναι ένας βραχύβιος και έντονα πολλαπλασιαζόμενος πληθυσμός γνωστός και ως πρόσκαιρα αυξανόμενα κύτταρα. Τα πρόδρομα κύτταρα είναι δεσμευμένα για μία μόνο κυτταρική σειρά του αίματος, αλλά διατηρούν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται· δεν έχουν όλα τα χαρακτηριστικά του τελείως ώριμου κυττάρου. Τα ώριμα κύτταρα είναι το τελικό προϊόν της διαδικασίας διαφοροποίησης και

είναι τα εκτελεστικά κύτταρα με συγκεκριμένες δραστηριότητες στο αίμα και στο ανοσοποιητικό σύστημα. Η πρόοδος μέσω των οδών επιτελείται μέσω αλλαγών της έκφρασης γονιδίων. Η ρύθμιση της διαφοροποίησης από διαλυτούς παράγοντες και από την αλληλεπίδραση μεταξύ κυττάρων εντός του μυελού των οστών είναι αντικείμενα μελετών. Οι μεταγραφικοί παράγοντες που χαρακτηρίζουν τις σταδιακές μεταβάσεις των κυττάρων εμφανίζονται επάνω στα βέλη· οι διαλυτοί παράγοντες που συμβάλλουν στη διαφοροποίηση έχουν χρώμα μπλε. SCF, παράγων βλαστοκυττάρων. EPO, ερυθροποιητίνη. TPO, θρομβοποιητίνη.

ανθρώπου. Η διαδικασία πιθανώς ελέγχεται από ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα των εξαρτώμενων από κυκλίνη αναστολέων κινάσης που εμποδίζουν τα βλαστοκύτταρα να εισέλθουν σε κυτταρικό κύκλο, αποκλείοντας το στάδιο G1-S. Μεταβάλλοντας στο εργαστήριο τα επίπεδα μορίων όπως τα p21Cip1 και p18INK4c επιτεύχθηκε η αύξηση του πολλαπλασιασμού και του αριθμού των βλαστοκυττάρων σε ποντικούς και σε μερικές περιορισμένες μελέτες με ανθρώπους. Η ύπνωση των βλαστοκυττάρων φαίνεται να ενισχύεται και από εξωγενή σήματα του μικροπεριβάλλοντος, όπως είναι η ενεργοποίηση του υποδοχέα τυροσινικής κινάσης Tie2 στα βλαστοκύτταρα από την αγγειοποιητίνη 2 των οστεοβλαστών.

Η ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των βλαστοκυττάρων φαίνεται να αλλάζει επίσης με την ηλικία. Στους ποντικούς ο εξαρτώμενος από κυκλίνη αναστολέας p16INK4a της κινάσης συσσωρεύεται στα βλαστοκύτταρα των γηραιότερων ζώων και επιφέρει αλλαγές σε πέντε διαφορετικές λειτουργίες των βλαστοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένου του κυτταρικού κύκλου. Η ελάττωση του

επιπέδου του p16INK4a στα γηραιότερα ζώα βελτιώνει τον κύκλο των βλαστοκυττάρων και την ικανότητά τους να αποκαθιστούν την αιμοποίηση σε συμβατούς ξενιστές, καθιστώντας τους όμοιους με νεότερα ζώα. Τα ώριμα κύτταρα δεν επηρεάζονται. Επομένως, τα μοριακά γεγονότα που ρυθμίζουν τις ειδικές λειτουργίες των βλαστοκυττάρων βαθμιαία διευκρινίζονται και προσφέρουν τη δυνατότητα νέων προσεγγίσεων στην αλλαγή της λειτουργίας των βλαστοκυττάρων για θεραπευτικούς σκοπούς. Μια σημαντική λειτουργία των βλαστοκυττάρων με πολλά ακόμη σκοτεινά σημεία είναι η μοριακή ρύθμιση της αυτοανανέωσης.

Για την ιατρική, η αυτοανανέωση είναι ίσως η πιο σημαντική λειτουργία των βλαστοκυττάρων, επειδή από αυτήν εξαρτάται ο αριθμός των βλαστοκυττάρων είναι ο κύριος καθοριστικός παράγων τόσο για την αυτόλογο όσο και για την αλλογενή μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων. Εάν είχαμε την ικανότητα να χρησιμοποιήσουμε λιγότερα βλαστοκυττάρα ή να αυξήσουμε τον περιορισμένο αριθμό βλαστοκυττάρων *ex vivo*, θα ήταν πι-