



HEMATOPOYESIS

El término hematopoyesis significa producción de células hemáticas o sanguíneas: eritrocitos, leucocitos y plaquetas; es un proceso que en el adulto se lleva a cabo en la médula ósea e implica la diferenciación de una célula madre hematopoyética (CMH) hacia el tipo de célula requerido.

El proceso de diferenciación y maduración depende del nicho o microambiente hematopoyético en donde la CMH se encuentra. Hoy en día se sabe que las CMH tienen dos nichos uno es el nicho osteoblástico o endostal situado en el endostio trabecular y el otro nicho es el nicho vascular en la zona perivascular sinusoidal.¹ En el nicho endostal, la relación de las CMH con los osteoblastos es esencial para que estas se mantengan en estado quiescente, en este nicho las CMH son denominadas LT-HSC ó LTR del inglés long term repopulation; son las que tienen la mayor capacidad de autorrenovación por lo tanto son las encargadas de mantener un número estable de CMH asegurando su reserva a lo largo de la vida del individuo. En una médula ósea normal por lo menos el 75% de las CMH se encuentran en estado quiescente.² La interacción entre las CMH que se encuentran en estado quiescente y los osteoblastos se da a través de moléculas de adhesión, en especial el complejo B-catenina-N-cadherina, la expresión del receptor tirosina quinasa Tie2 y su unión al ligando en el osteoblasto la angiopoyetina-1 (Ang-1)³ y el reclutamiento realizado en la unión ligando receptor entre las moléculas CXCL12 y CXCR4,⁴ estas interacciones y otras más son las que mantienen el balance de las CMH entre división, proliferación, quiescencia, migración y apoptosis, el destino de la CMH depende de las condiciones del microambiente.^{5,6,7,8}

¹ Xie Y, Yin T, Wiegraeb W, et al. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging. *Nature* 2009;457(7225):97-101.

² Hirao A, Arai F, Suda T Regulation of cell cycle in hematopoietic stem cells by the niche. *Cell Cycle*. 2004; 3(12):1481-3.

³ Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, Ito K, Koh GY, Suda T. Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell*. 2004;118(2):149-61.

⁴ Sugiyama T, Kohara H, Noda M, Nagasawa T. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity* 2006 25: 977-988

⁵ Arai F, Suda T. Maintenance of quiescent hematopoietic stem cells in the osteoblastic niche. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1106:41-53.

⁶ Escobedo-Cousin MH, Alejandro Madrigal J. Las células madre y el nicho *Revista de Hematología Mexicana* 2011; 12(2)82-85

⁷ Gomei Y, Nakamura Y, Yoshihara H, Hosokawa K, Iwasaki H, Suda T, Arai F. Functional differences between two Tie2 ligands, angiopoietin-1 and -2, in regulation of adult bone marrow hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* 2010 Feb; 38(2):82-9

⁸ Arai F, Hirao A, Suda T. Regulation of hematopoiesis and its interaction with stem cell niches. *Int J Hematol* 2005; 82(5):371-6.



Por su parte, el nicho vascular de CMH se encuentra situado en cercanía de los vasos sanguíneos sinusoidales asociados con diversos elementos estromales y neuronales, que regulan la diferenciación de la CMH y en última instancia la movilización a la circulación periférica. Es a partir de esta CMH que se lleva a cabo la diferenciación hacia las tres líneas celulares hemáticas, es por esto que reciben el nombre de CMH corto plazo o en inglés short term stem cells (ST-HSC).⁹

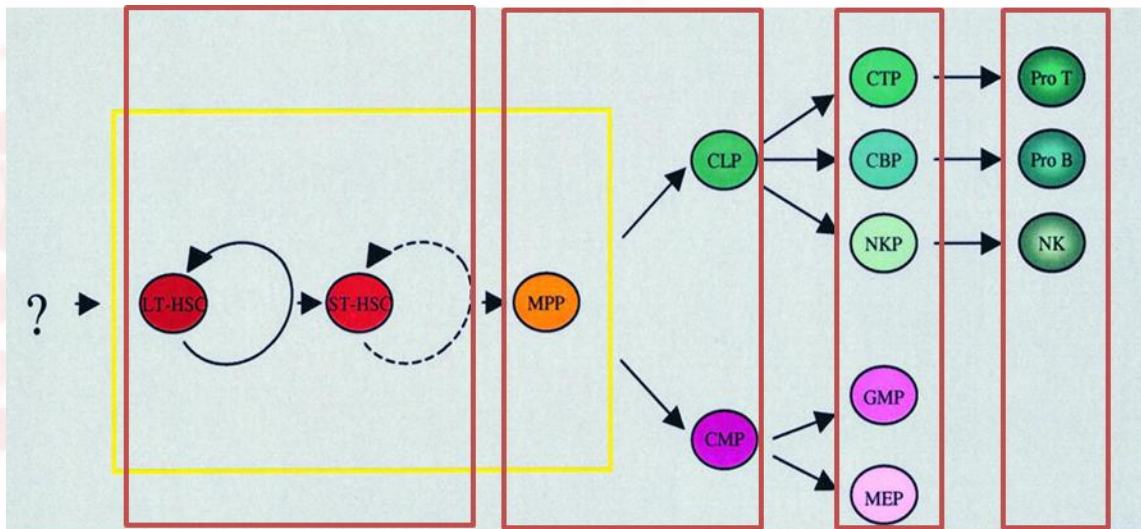


Figura 1. Tomado de: Weissman L. Stem Cells : Units of Development, Units of Regeneration, and Units in Evolution. *Cell* 2000,100;(1)

En la figura 1 se observa el orden jerárquico de las células precursoras y progenitoras de las células sanguíneas. Dependiendo el grado de madurez de las células se identifican en la médula ósea cuatro compartimentos celulares: el de células madre, células progenitoras, células precursoras y el de células maduras. Las CMH se autorrenuevan, son multipotentes, constituyen el 0.01% de las células nucleadas de la médula ósea; en su inmunofenotipo expresan CD34, CD117, CD90 y CD133 y no expresan antígenos de linaje. Las células progenitoras provienen de la CMH, no tienen capacidad de autorrenovarse, conservan el potencial proliferativo, pueden tener capacidad multipotente, bipotente o unipotente dependiendo el compromiso de diferenciación que posean, constituyen el 0.5% de las células nucleadas de la médula ósea, en su inmunofenotipo expresan CD34 y los marcadores de linaje propios de la línea hacia donde estén comprometidas, ya sea mieloide o linfoide, es así como se pueden diferenciar estos dos compartimentos acorde con el linaje el mieloide y linfoide.

⁹ Gattazzo F, Urciuolo A, Bonaldo P. Extracellular matrix: A dynamic microenvironment for stem cell niche *Biochimica et Biophysica Acta* 2014; 1840:2506–2519



Si es el progenitor es mieloide se le conoce como el progenitor mieloide común (PMC) llamado también unidad formadora de colonias grano-mono-mega-eritroide (UFC-GMME), el proceso que inicia esta célula se conoce como mielopoyesis y da origen a alguna de las células sanguíneas de origen mieloide como los eritrocitos, plaquetas, monocitos y los granulocitos neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Eritrocitos y plaquetas provienen de un progenitor bipotente, la unidad formadora de colonias mega-eritroide UFC-ME, de igual forma los granulocitos y monocitos comparten el mismo progenitor bipotente la unidad formadora de colonias grano-monocítica (UFC-GM). (Figura 2)

Si el progenitor es linfoide se conoce como progenitor linfoide común (PLC) o unidad formadora de colonias linfoide (UFC-L) esta célula mediante el proceso de linfopoyesis da origen a alguna de las células linfoides como son los linfocitos B (LB), linfocitos T (LT) y linfocitos NK (LNK).

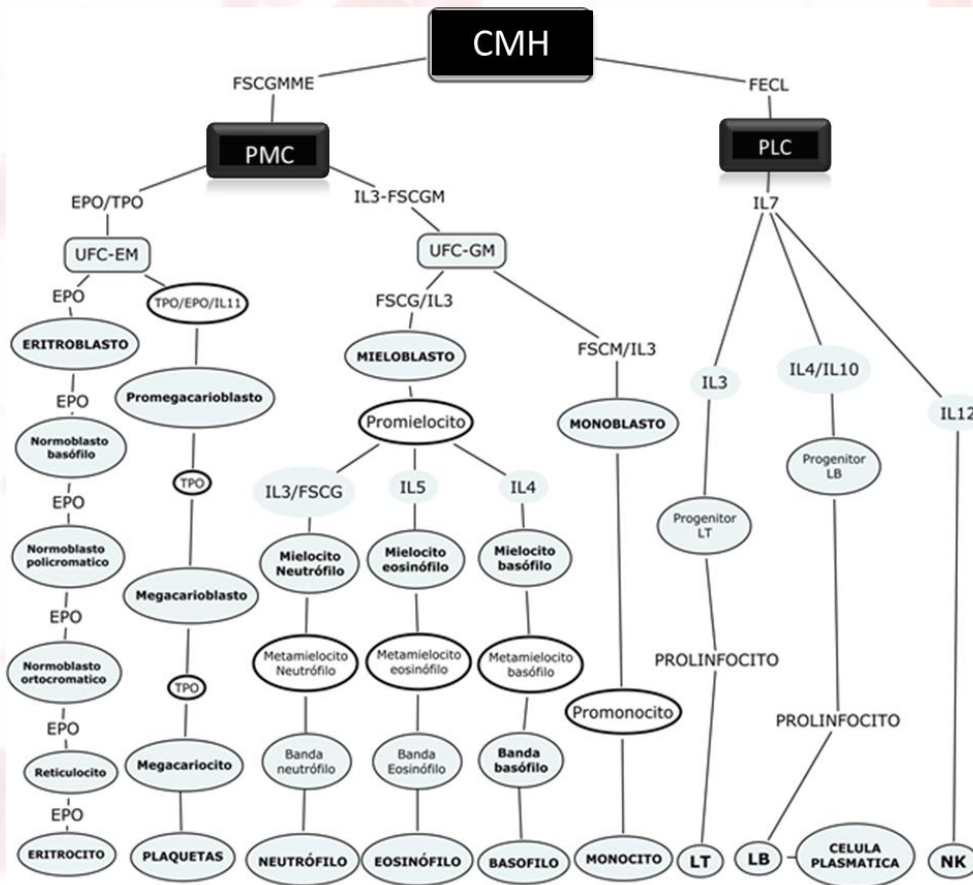


Figura 2. Tomado de: Altas de hematología. Aura Rosa Manascero. 2013 Editorial Pontificia Universidad Javeriana



La hematopoyesis eficiente requiere de dos procesos simultáneos, mitosis y maduración. La mitosis en este punto es simétrica, en la que, acorde con la programación genética, se producen dos células con características de mayor grado de madurez que la célula que las originó.

En la maduración suceden dos eventos fundamentales, uno es la pérdida definitiva del potencial de autorrenovación y la otra la adquisición de una identidad específica, los dos son procesos controlados genéticamente, se inactivan los genes que le dan a la célula la capacidad de autorrenovación y se activan los genes que regulan la diferenciación celular. Este proceso está regulado por un grupo de factores de transcripción entre los que se encuentra el PU.1 el cual se expresa en forma exclusiva en las células hematopoyéticas. PU.1 ha sido caracterizado como regulador del linaje mieloide y del desarrollo de los LB, se ha observado como niveles de este factor en progenitores multipotentes altera la elección de destino celular.^{10,11,12,13}

La diferenciación mieloide se da en presencia de un incremento de la expresión de PU.1^{14,15} alta expresión de PU.1 se asocia con diferenciación granulocítica, baja expresión se asocia con diferenciación eritroide.¹⁶ Se sabe que en la diferenciación mieloide este factor de transcripción no actúa solo sino en co-expresión con otros factores como: GATA-1, GATA-2, FOG, HOX, RUNX1 y CSL.¹⁷ De igual forma un proceso regulado implica la existencia de factores que inhiban la mielopoyesis entre otros han sido descritos: TNF- α , TGF- β , proteína inflamatoria de macrófagos-1A MIP-1A.¹⁸

¹⁰ DeKoter RP, Singh H. Regulation of B lymphocyte and macrophage development by graded expression of PU.1. *Science* 2000;288:1439–1441.

¹¹ Dahl R, Walsh JC, Lancki D, et al. Regulation of macrophage and neutrophil cell fates by the PU.1:C/EBP α ratio and granulocyte colony stimulating factor. *Nat Immunol* 2003; 4:1029–1036.

¹² Anderson KL, Perkin H, Surh CD, Venturini S, Maki RA, Torbett BE. Transcription factor PU.1 is necessary for development of thymic and myeloid progenitor-derived dendritic cells. *J Immunol* 2000;164: 1855–1861.

¹³ Guerriero A, Langmuir PB, Spain LM, Scott EW. PU.1 is required for myeloid-derived but not lymphoid-derived dendritic cells. *Blood* 2000;95:879–885.

¹⁴ Nerlov C, Graf T. PU.1 induces myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. *Genes Dev* 1998;12:2403–2412.

¹⁵ McIvor Z, Hein S, Fiegler H, et al. Transient expression of PU.1 commits multipotent progenitors to a myeloid fate whereas continued expression favors macrophage over granulocyte differentiation. *Exp Hematol* 2003;31:39–47.

¹⁶ Back J, Allman D, Chan S and Kastner P. Visualizing PU.1 activity during hematopoiesis. *Experimental Hematology* 2005; 33: 395–402

¹⁷ Arinobu Y, Mizuno S, Chong Y, Shigematsu H, Lino T, Iwasaki H, Graf T, Mayfield R, Chan S, Kastner P, Akashi K. Reciprocal Activation of GATA-1 and PU.1 Marks Initial Specification of Hematopoietic Stem Cells into Myeloerythroid and Myelolymphoid Lineages. *Cell Stem Cell* 2007; 1(4): 416–427.

¹⁸ Broxmeyer H. Suppressor Cytokines and regulation of myelopoiesis. *Am J Ped Hematol/Oncol* 1992; 14: 22-3



Una vez los factores de transcripción mencionados son activados para dar inicio al proceso de diferenciación, inducen en la célula la expresión de receptores de factores de crecimiento, hormonas, e interleuquinas que están involucrados en el proceso particular de diferenciación, por ejemplo, si la diferenciación es eritroide, la célula más indiferenciada empezará a expresar el receptor de la eritropoyetina (EPO) en mayor proporción que los receptores para otros factores de crecimiento.

La eritropoyesis es un proceso estrechamente regulado, cerca de 10^{11} eritrocitos deben ser reemplazadas diariamente. La principal citoquina encargada de controlar el número de eritrocitos es la EPO, es una hormona cuya secreción es producida en particular por células renales y en menor proporción por células hepáticas, su secreción aumenta cuando se detectan disminución de la presión parcial de O_2 tisular (pO_2). La eritropoyetina que llega a la médula ósea se une a su ligando EPO-R que se expresa en la membrana de los progenitores eritroides estimulando su proliferación y diferenciación y por consiguiente la producción de eritrocitos. En condiciones de hipoxia severa la EPO actúa en forma cooperativa con Stem Cell Factor (SCF) y glucocorticoides para aumentar la diferenciación eritroide. El receptor de la eritropoyetina EPO-R y el receptor del SCF c-Kit se asocian en la membrana y forman complejos que activan diferentes vías de señalización que estimulan la entrada a ciclo celular provocando hiperplasia eritroide aumentando el número de eritrocitos producidos. EPO induce la activación de Stat 5 la cual es requerida en la diferenciación eritroide, de esta manera se produce la activación de la proteína Jak2, que juega un papel primordial en la entrada a ciclo celular. Tanto EPO como SCF activan fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K), una quinasa esencial para la proliferación de los progenitores eritroides. Otras citoquinas con las cuales EPO hace sinergia para regular la proliferación, diferenciación y supervivencia de las células progenitoras y precursoras son la IL3, TPO, FLT-3L.¹⁹

En resumen se puede decir que EPO actúa sobre los BFC-E como agente mitogénico y sobre la UFC-E como agente de supervivencia ya que si la EPO disminuye la UFC-E entraría en apoptosis. De igual forma, a través de la activación del gen JAK2, EpoR induce múltiples vías de señalización, encargadas de prevenir la apoptosis y apoyar la diferenciación y proliferación eritroide. Algunos de estos factores son: el PI3K, la cinasa AKT y vías de señalización Ras que desempeñan un papel clave en la mediación de muchas acciones biológicas inducidas por EPO. Otra importante vía activada por EpoR es la vía Stat5, que actúan en la inducción y la modulación de mecanismos antiapoptóticos.

¹⁹ von Lindern M, Schmidt U, Beug H. Control of erythropoiesis by erythropoietin and stem cell factor: a novel role for Bruton's tyrosine kinase. *Cell Cycle* 2004; 3(7):876-9.



Los progenitores eritroides más primitivos son denominados unidades formadoras de brotes eritroides (UFB-E), poseen una alta tasa de proliferación y los progenitores más maduros son las unidades formadoras de colonias eritroides (UFC-E), tienen capacidad de proliferación limitada y de ellas se originan los precursores eritroides: proeritroblasto, eritroblasto basófilo, eritroblasto policromático, hasta esta célula se realiza mitosis, continúan en orden jerárquico el eritroblasto ortocromático, el reticulocito que al madurar da origen a los eritrocitos.²⁰ El proceso de maduración desde proeritroblasto hasta eritroblasto ortocromático dura 5 días, este es el último estadio como célula nucleada, la picnosis del núcleo es completada en este estadio y permite que el núcleo sea exocitado para convertirse en un reticulocito, el proceso de maduración del reticulocito dura 4 días de los cuales normalmente 3 lo hace en la médula ósea y el último en la periferia, durante este estadio se terminan de sintetizar las proteínas que quedaron transcritas de la etapa madurativa anterior, por lo tanto la síntesis de hemoglobina que comienza en el eritroblasto policromático termina en el reticulocito.

En el proceso de maduración intervienen varios factores de transcripción dentro de los que están GATA 2 que está activo hasta UFB-E, SCL/TAL1 activo desde UFB-E y hasta eritroblasto basófilo, GR-1 activo desde UFB-E y hasta eritroblasto policromático, FOG-1 activo desde UFB-E y hasta eritroblasto policromático, GATA-1 activo desde UFB-E y hasta eritroblasto policromático. De igual forma se empiezan a sintetizar progresivamente las diferentes proteínas específicas del eritrocito, su membrana, la hemoglobina, la batería enzimática; la primera proteína funcional que se empieza a expresar es el receptor de la transferrina, luego las proteínas de membrana como las cadenas α y β de la espectrina, la glicoforina C, A, B y como proeritroblasto expresa el resto de proteínas funcionales como la alanina sintetasa, la banda 3, banda 4.1, 4.2 las cadenas de la globina y el resto de proteínas funcionales propias del eritrocito.²¹

Los eritroblastos se maduran en una estructura denominada islote eritroblástico que está conformada por una célula reticular o célula nodriza y los eritroblastos en los diferentes estadios de maduración. La célula reticular está en una estrecha relación célula-célula con los eritroblastos, es la encargada de proporcionar todos los nutrientes necesarios en su proceso de maduración como el hierro, aminoácidos, vitaminas entre otros, adicionalmente es la encargada de fagocitar los núcleos exocitados por los eritroblastos ortocromáticos y los residuos de las células que han entrado en apoptosis.

²⁰ U Testa Apoptotic mechanisms in the control of erythropoiesis. *Leukemia* 2004;18:1176–1199

²¹ Idem pág 1177.



La megacariopoyesis es el proceso mediante el cual se diferencian y maduran los megacariocitos que son las células precursoras de las plaquetas. Han sido descritos cuatro factores de transcripción involucrados en el proceso de diferenciación megacariocítica, GATA-1, FOG-1, NF-E2 y Fli-1 los cuales están involucrados en las diferentes fases de desarrollo de este proceso. En particular GATA-1 es un regulador negativo de la proliferación celular en los primeros progenitores.²²

La activación de estos factores de transcripción inducen en la célula la expresión de receptores de factores de crecimiento específicos, en este caso se expresa la proteína Mpl el receptor de la trombopoyetina (TPO).

La primera célula precursora es el megarioblasto el cual sufre diversas endomitosis para convertirse en un megacariocito inmaduro que evoluciona hacia megacariocito maduro; estos últimos dan inicio al proceso de trombopoyesis generando una serie de protrusiones citoplasmáticas las cuales se fragmentan y dan origen a las plaquetas, en este momento el megacariocito maduro se adosa al endotelio del sinusoides y a través de este liberan las plaquetas hacia la circulación. Cada megacariocito produce alrededor de 1000 a 3000 plaquetas, se produce un promedio de 10^{11} plaquetas al día.²³ El proceso de maduración en la médula ósea dura 10 días, incluye la síntesis de organelos específicos, gránulos alfa, gránulos densos, con sus contenidos en factores procoagulantes y cicatrizantes, el complejo sistema de membranas ricas en actina. La vida media de las plaquetas una vez salen a periferia es de 10 días.²⁴

La granulopoyesis es el proceso mediante el cual se producen neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Como se comentó la diferenciación granulocítica requiere de una alta concentración del factor de transcripción PU.1; dentro de los factores de crecimiento involucrados en la diferenciación granulocítica están el FCS-GM, FCS-G, IL3, IL6, en particular la participación de la IL5 en la diferenciación de los eosinófilos.

El orden jerárquico de este linaje empieza con la unidad formadora de colonias granulomonocítica UFC-GM que se diferencia o hacia monocitos o hacia granulocitos. Si la diferenciación es a granulocitos se produce una unidad formadora de colonias granulocítica, a partir de esta se diferencian los precursores, iniciando por el mieloblasto sus características de inmunofenotipo han sido bien estudiadas son positivas para

²² Ramesh A. Shivdasani. Molecular and Transcriptional Regulation of Megakaryocyte Differentiation. *Stem Cells* 2001; 19:397-407

²³ Machlus, K., Italiano, J. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *The Journal of cell biology* 2013; 201(6):785-796.

²⁴ García, C., Coma, C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Revista Cubana Angiología y Cirugía Vascul* 2000; 1(2):132-41.



CD34, CD33, CD117, HLA-DR. (Figura 3) Este mieloblasto hace división mitótica y produce una célula más evolucionada, el promielocito presenta características granulares aún inespecíficas; la siguiente célula es la última con actividad mitótica, el mielocito que ya presenta características granulares específicas, es aquí donde la célula toma el destino definitivo hacia neutrófilo, eosinófilo o basófilo, la siguiente célula con un mayor grado de diferenciación es el metamielocito, seguido de la banda para finalizar con la célula madura neutrófilo, eosinófilo o basófilo según se haya diferenciado desde mielocito. En la figura 3 se representan estas células siendo la más inmadura en estado I el blasto y en estado V el neutrófilo. El proceso de granulopoyesis dura 10 días, una vez salen a sangre no dura más de 10 horas en circulación, deben ir a tejido y allí duran entre 3 y 5 días. De los neutrófilos que llegan a sangre el 50% quedan adheridos al endotelio vascular conformando el pool marginal el 50% restante conforman el pool circulante que migran hacia los tejidos conectivos.

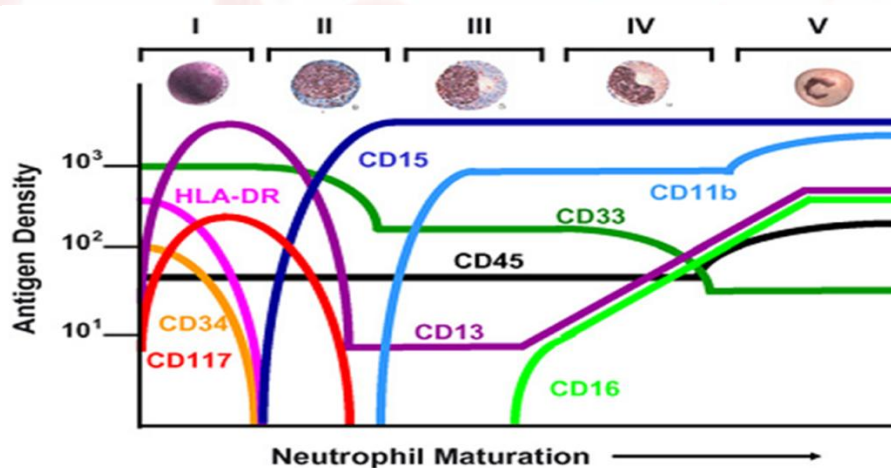


Figura 3. Tomado de Loken et al. Flow cytometri in myelodysplastic syndromes: Report from a working conference. Leukemia Research 2008

La monopoiesis es el proceso necesario para la producción de monocitos. A partir de la UFC-GM, se diferencia una UFC-M, el primer precursor es el monoblasto, muchos investigadores coinciden en decir que no hay diferencia en el inmunofenotipo de este y el del mieloblasto, el siguiente precursor es el promonocito para terminar con la producción del monocito. Los factores de crecimiento involucrados son el FSC-M y la IL3.

La linfopoyesis es el proceso mediante el cual se producen las células linfoides LT, LB, LNK y células dendríticas de origen linfoide (CD). Una vez se produce la diferenciación hacia los primeros progenitores linfoides inician la expresión de dos factores de



transcripción RAG1 y RAG2;²⁵ esta célula progenitora tiene potencial para desarrollar cuatro tipos de células diferenciadas: las células B, T, NK y CD. Si la diferenciación es hacia LB los principales factores de transcripción presentes son IKAROS y PU.1 que regulan la transición hacia los progenitores y E2A, EBF y PAX-5 que regulan el desarrollo de células B inmaduras, estas precursoras comienzan a sufrir re-arreglos de la cadena pesada de la inmunoglobulina DH-JH, seguida por la expresión de CD19 de la célula pro-B temprana también expresan CD19 expresa CD34 y TdT. En la célula pro-B tardía se produce la recombinación VH-DJH y se expresa en la superficie de la célula cadenas Ig μ como parte de los receptores de células pre-B (pre-BCR), que actúa como un importante punto de control para controlar la transición de la pro-B a la etapa de células pre-B. La señalización de la célula pre-BCR promueve la exclusión alélica en el locus IgH, estimula la expansión celular proliferativa e induce la diferenciación de las células pre-B pequeñas, que empiezan la recombinación de genes de cadenas ligeras de inmunoglobulinas. En el estado preB se expresa el receptor de la IL7 (IL7R), este estadio tiene tres momentos: pre-pre-B (Pre-B-I) aún expresa CD34 y aparece el CD10, preB (Pre-B-II) aparece CD20 y hay expresión de cadena Ig γ citoplasmática y el tercero es el de Pre-B inmadura en el que se expresan las cadenas de IgM. El siguiente estadio de maduración es el LB maduro caracterizado en su inmunofenotipo por expresar CD19, CD20, CD22, IgM.²⁶

Por su parte la célula progenitora de linaje T puede encontrarse tanto en la médula ósea como en el timo.²⁷ Las células que llegan al timo igual proceden de la médula ósea, migran y se ubican en el timo mediante un proceso de "homing" y producen la colonización tímica. Los precursores más tempranos expresan CD34, CD38, CD44, IL7R; evolucionan a una célula inmadura unipositiva CD4 pequeña y luego una grande, posteriormente evoluciona a una célula temprana doble positivo CD4 y CD8 para convertirse en timocito que expresa CD4, CD8 y TCR, de esta célula se originan los fenotipos de LT maduros sean CD4+ o CD8+.²⁸

En la producción de linfocitos asesinos naturales o LNK, están presentes los factores de transcripción Id2 e Id3, las interleuquinas que median la diferenciación son la IL3 y la

²⁵ Igarashi H, Gregory SC, Yokota T, Sakaguchi N, Kincade PW. Transcription from the RAG1 locus marks the earliest lymphocyte progenitors in bone marrow. *Immunity* 2002; 17:117–30

²⁶ Meffre E, Casellas R, Nussenzweig MC. Antibody regulation of B cell development. *Nat. Immunol* 2000; 1:379–85

²⁷ Allman D, Sambandam A, Kim S, Miller JP, Pagan A. Thymopoiesis independent of common lymphoid progenitors. *Nat. Immunol* 2003; 4:168–74

²⁸ Bhandoola A, Sambandam A, Allman D, Meraz A, Schwarz B. Early T lineage progenitors: new insights, but old questions remain. *J Immunol* 2003; 171: 5653-5658



IL15, se han identificado tres estadios de maduración en blasto, prolinfocito y LNK, que se caracteriza por expresar CD7, CD16 y CD56.²⁹

En cuanto a las células dendríticas (CD) se ha demostrado que pueden tener tanto origen mieloide como linfoide, por lo tanto se puede diferenciar tanto del PML como del PLC. Esto hace que las CD acorde con su origen tengan un fenotipo diferente, están las CD de origen tímico, las de origen plasmocitoide y las CD que se originan de la línea monocítica.^{30,31,32}

²⁹ Di Santo JP, Vosshenrich CA. Bone marrow versus thymic pathways of NK cell development. *Immunol Rev* 2006; 214: 35-46.

³⁰ Shortman K, Heath WR. The CD8⁺ dendritic cell subset. *Immunol Rev*. 2010;234:18–31

³¹ Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol*. 2004; 5:1219–26.

³² Langlet C, Tamoutounour S, Henri S, Luche H, Ardouin L, et al. CD64 expression distinguishes monocyte-derived and conventional dendritic cells and reveals their distinct role during intramuscular immunization. *J Immunol*. 2012;188:1751–60