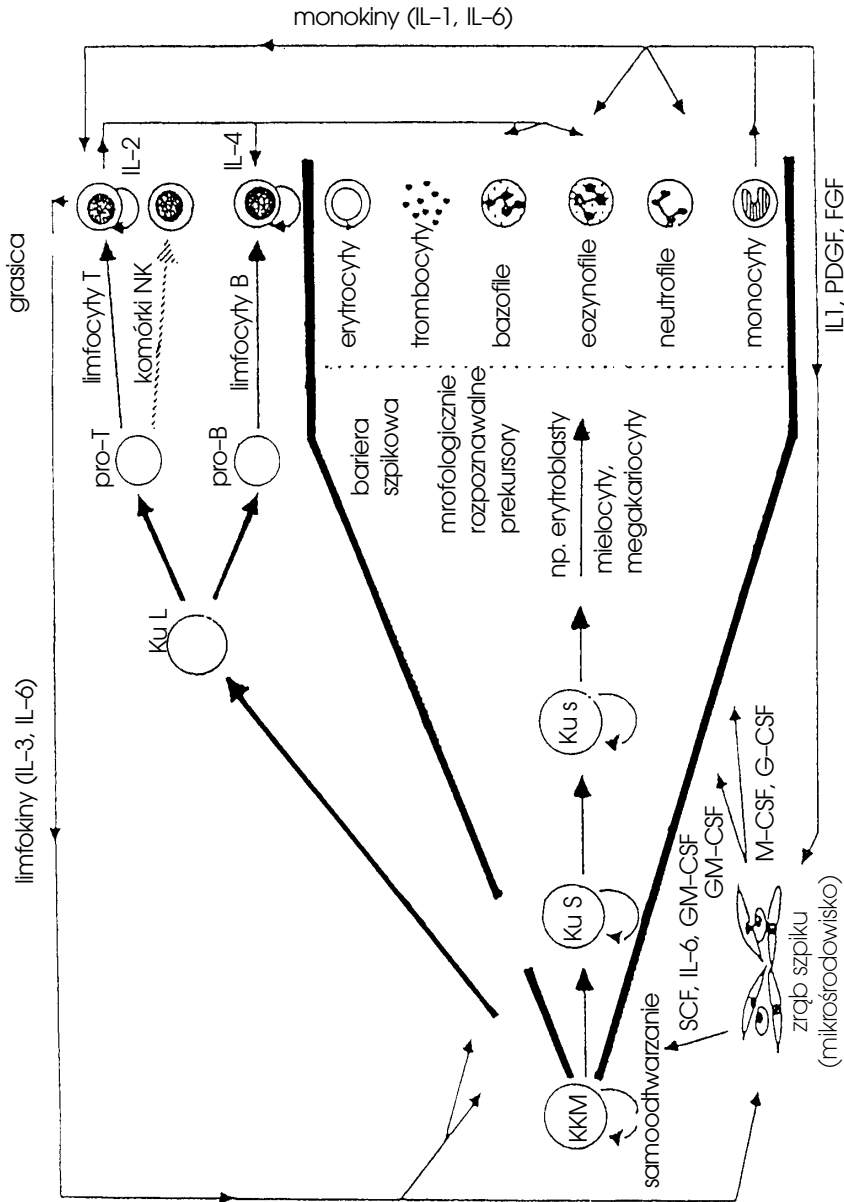


Szpik kostny jest głównym podłożem tkankowym tworzenia i rozwoju komórek krwi, przy czym jego postać aktywna krwiotwórczo to **szpik czerwony**, który może się przekształcać w **szpik żółty**. Szpik czerwony zawdzięcza swą nazwę dużej ilości erytrocytów i ich prekursorów, natomiast szpik żółty dużej ilości komórek tłuszczowych. W stanach dużego zapotrzebowania organizmu na tworzenie komórek krwi np. po wykrwawieniu szpik żółty może przekształcić się w szpik czerwony. U noworodków cały szpik kostny jest w postaci szpiku czerwonego, jednak już w dzieciństwie jego część zaczyna przekształcać się w szpik żółty, a w okresie dojrzałości szpik czerwony występuje głównie w kościach płaskich (kości miednicy, czaszki, mostek, żebra, obojczyki).

W rozwoju osobniczym szpik nie jest jedynym miejscem tworzenia komórek krwi. Pierwszym miejscem tworzenia są **wyspy krwi**, w okolicy pęcherzyka żółtkowego, zbudowane z komórek pochodzenia mezenchymalnego. Dzieje się to w 3 tygodniu życia płodowego. Początkowo tworzone są tylko pierwotne krwinki czerwone, duże komórki jednojądrzaste. Jest to okres **erytopoezy megaloblastycznej**. W drugim miesiącu życia płodowego tworzenie krwi (hemopoeza) rozpoczyna się w wątrobie i śledzionie, nieco później dołącza się grasica, która jednak głównie produkuje limfocyty. W tym okresie, nazywanym **okresem hemopoezy wątrobowej** tworzone są także leukocyty i komórki układu płytkowego, a erytrocyty nie posiadają jąder. Okres ten trwa prawie do końca ciąży, jednak hemopoeza wątrobowa znacznie się zmniejsza od piątego miesiąca, wtedy to rozpoczyna się tworzenie krwi w szpiku kostnym, co daje początek okresowi **hemopoezy szpikowej**, trwającemu całe życie. Równoległe powstają obwodowe narządy limfatyczne, które stają się miejscami proliferacji limfocytów. Szpik kostny, którego otoczenie i ochronę stanowi tkanka kostna, jest bogato unaczyniony, dlatego też wyróżnia się w nim tzw. **przedział śródnaczyniowy i zewnątrznaczyniowy**. Zasadniczy składnik przedziału śródnaczyniowego to **naczynia zatokowe szpiku**. Ścianę zatok tworzy śródbłonek, którego błona podstawna jeśli występuje to jest bardzo cienka i niekompletna, natomiast na śródbłonku spoczywają komórki przydankowe, zwane również **przydankowo-siateczkowymi**, gdyż wypustkami mogą się łączyć z komórkami siateczki zrębu szpiku. Komórki przydankowe pokrywają śródbłonek na 60% jego powierzchni. Śródbłonek wraz z komórkami przydankowymi rozdziela przedział śródnaczyniowy od zewnątrznaczyniowego, a przez to przestrzeń zawierającą tkankę krwiotwórczą od krwi krążącej, jest więc barierą, którą muszą przejść nowopowstałe komórki krwi aby trafić do krążenia. Nazywa się ją **barierą szpikową** i ma ona właściwości selektywne, gdyż jest nieprzepuszczalna dla krwinek niedojrzałych. Bardzo bogata sieć naczyń zatokowych szpiku zasilana jest przez dwa rodzaje tętnic: **tętnice odżywcze**, które wnikają do jamy szpikowej przez otwory odżywcze, oraz **tętnice z okostnej**, które do jamy szpikowej wnikają poprzez kanały osteonów.



Ryc. 10.1. Różnicowanie krwiotwórczej komórki macierzystej (KKM). Ku L – komórka ukierunkowana, linia limfocytarna, Ku S – komórka ukierunkowana, linia szpikowa, Ku s – komórki ukierunkowane dla erytropoezy, trombo-poezy, granulopoezy, mono-poezy. SCF, GM-CSF, M-CSF, G-CSF – objaśnienia skrótów w tabeli 10.1.

Krew z zatok szpikowych zbierana jest przez **zatokę centralną**, która przechodzi w żyłę odprowadzającą opuszczającą jamę szpikową przez otwór odżywczy.

Przestrzeń określaną jako przedział zewnątrznaczyniowy szpiku wypełnia **zrąb** (*stroma*) szpiku oraz krew szpikowa. Zrąb szpiku to rusztowanie zbudowane z komórek i substancji międzykomórkowej, które stanowi fizyczną podporę dla komórek krwiotwórczych i wpływa na ich różnicowanie. Zrąb szpiku tworzą: od strony ściany kostnej komórki śródkostnej, komórki kościotwórcze i kostne, ale właściwe „rusztowanie” tworzą komórki siateczki wzmocnione włóknami siateczkowymi oraz komórki tłuszczowe. Komórkom zrębu zwykle towarzyszą makrofagi. Wszystkie rodzaje komórek zrębu wywodzą się ze wspólnej komórki macierzystej. Obecność tych komórek w szpiku umożliwia przekształcanie się szpiku żółtego w czerwony oraz tworzenie zrębu szpikowego wraz z tkanką kostną, po doświadczalnym przeszczepieniu szpiku np. pod torebkę nerki. Zrąb szpiku spełnia rolę strukturalną, odżywczą i regulacyjną w stosunku do komórek, z których wywodzą się wszystkie rodzaje komórek krwi tzw. **krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM)** oraz ich „potomstwa”. KKM, zwane także komórkami pnia tkanki krwiotwórczej, wywodzą się z komórek „wysp krwi” i mimo zmiany lokalizacji zachowują zdolność do samoodtwarzania, a jednocześnie zdolność zapoczątkowywania rozwoju wszystkich linii rozwojowych komórek krwi. Cechę tą nazywamy **pluri- lub wielopotencjalnością**. Istnienie takich komórek do niedawna przyjmowane było hipotetycznie. Dopiero badania oparte na przeszczepianiu szpiku zwierzętom doświadczalnym, a później hodowle in vitro udowodniły istnienie tych komórek. Stwierdzono, że wyglądem przypominają limfocyty oraz, że są także obecne we krwi krążącej, chociaż w niewielkiej ilości ($1/10^6$ leukocytów). Podobieństwo z limfocytom oraz niewielka ilość spowodowały, że dopiero niedawno stwierdzono ten fakt o dużym znaczeniu dla medycyny praktycznej – możliwość odtworzenia szpiku w oparciu o krew obwodową. Uważa się, że zachowanie przez KKM wyjątkowych właściwości tzn. samoodtwarzania i wielopotencjalności przez całe życie osobnika, uwarunkowane jest oddziaływaniem mikrośrodowiska, jakie tworzy zrąb szpiku. Oddziaływanie komórek mikrośrodowiska krwiotwórczego jest wysoce swoiste i najprawdopodobniej polega na wytwarzaniu i ekspozycji na swej powierzchni czynników wzrostowych dla komórek macierzystych. Połączenie receptora komórki macierzystej z powierzchniowym czynnikiem wzrostowym powoduje jej aktywację i proliferację. Obok powierzchniowych czynników wzrostowych istnieją liczne czynniki, które sterują procesem hemopoezy. Należą do nich czynniki produkowane przez same komórki krwi (tabela 10.1). Czynniki oddziałującymi na KKM są: interleukina 1 (IL-1) produkowana przez makrofagi, oraz interleukina 3 (IL-3) i 6 (IL-6), produkowane przez limfocyty T.

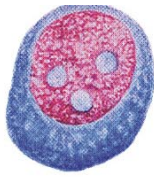
Jak wykazano, pierwszy etap różnicowania KKM to powstanie komórek określanych jako **ukierunkowane na linię limfocytarną i szpikową** (ryc. 10.1). Linia limfocytarna następnie dzieli się na linię pre-limfocytów T, które po przejściu do krwi krążącej dalszy rozwój odbywają w grasicy oraz linię pre-limfocytów B, które znaczną część rozwoju u ssaków, w tym i człowieka, odbywają w szpiku.

Natomiast linia szpikowa dzieli się na linie reprezentowane przez komórki ukierunkowane dla erytrocytów, granulocytów i monocytów (wspólna) oraz megakariocytów. Dotychczas nie wiadomo dokładnie co powoduje, że z KKM powstaje określona komórka ukierunkowana. Przypuszcza się, że może o tym decydować oddziaływanie komórek zrę-

Tabela 10.1. Czynniki bezpośrednio i pośrednio regulujące wytwarzanie krwi.

Nazwa czynnika	Komórki wytwarzające	Komórki reagujące
Interleukina 1 (IL-1)	makrofagi i szereg innych	limfocyty T, fibroblasty, chondrocyty, osteoklasty, wielopotencjalne komórki krwiotwórcze (KKM)
Interleukina 2 (IL-2)	limfocyty T	naturalne komórki zabijające (NK), limfocyty T i makrofagi
Interleukina 3 (IL-3)	limfocyty T	wielopotencjalne komórki krwiotwórcze (KKM)
Interleukina 4 (IL-4)	limfocyty T	limfocyty B, T, NK i różne komórki krwiotwórcze
Interleukina 5 (IL-5)	limfocyty T	limfocyt B i komórki eozynofilo-poetyczne
Interleukina 6 (IL-6) fibroblasty	limfocyty T, monocyty, limfocyty T	wielopotencjalne komórki krwiotwórcze (KKM)
GM-CSF (czynnik pobudzający tworzenie kolonii granulocytarno-makrofagalnych)	limfocyty T, fibroblasty, komórki endotelialne, makrofagi	wielopotencjalne komórki krwiotwórcze (KKM), komórki ukierunkowane granulo- i makrofagopoezy
G-CSF (czynnik pobudzający tworzenie kolonii granulocytarnych)	monocyty i fibroblasty	komórki ukierunkowane granulo- i makrofagopoezy
M-CSF (czynnik pobudzający tworzenie kolonii makrofagalnych)	fibroblasty i komórki endotelialne	komórki ukierunkowane makrofagopoezy
PDGF (czynnik wzrostowy pochodzenia płytkowego)	makrofagi, fibroblasty, płytki krwi	komórki mięśni gładkich
FGF (czynnik wzrostowy fibroblastów)	makrofagi	komórki endotelialne, fibroblasty
Erytropoetyna (Epo)	nerki, wątroba makrofagi	komórki erytropoetyczne, wielopotencjalne komórki krwiotwórcze (KKM)
SCF (czynnik stymulujący komórki macierzyste)	komórki zrębu szpiku	wielopotencjalne komórki krwiotwórcze

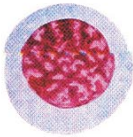
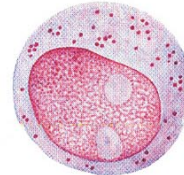
bu. Zauważono mianowicie, że zgrupowaniu komórek linii erytrocytarnej w szpiku towarzyszą makrofagi, a linii granulocytarnej komórki tłuszczowe „olbrzymie”. Wiadomo natomiast z pewnością, że dalsze różnicowanie i proliferacja komórek ukierunkowanych wymagają działania odpowiednich czynników stymulujących. W odniesieniu do szeregu rozwojowego erytrocytów takim czynnikiem jest **erytropoetyna**, która jest hormonem glikoproteidowym, zawierającym stosunkowo dużo kwasu sialowego (ok. 10,5%). Ery-



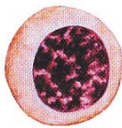
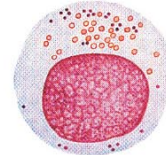
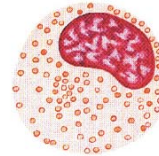
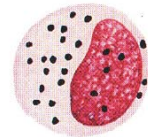
Proerytroblast



Mieloblast

Erytroblast
zasadochłonnyWczesny mielocyt
obojętnochłonny

Promielocyt

Wczesny mielocyt
zasadochłonnyErytroblast
wielobarwnliwyPóźny mielocyt
obojętnochłonnyWczesny mielocyt
kwasochłonnyErytroblast
kwasochłonnyMetamielocyt
obojętnochłonnyPóźny mielocyt
kwasochłonnyPóźny mielocyt
zasadochłonny

Retikulocyt

Granulocyt obojętnochłonny
pateczkowatyMetamielocyt
kwasochłonny

Erytocyt

Dojrzały granulocyt
obojętnochłonnyDojrzały granulocyt
kwasochłonnyDojrzały granulocyt
zasadochłonny

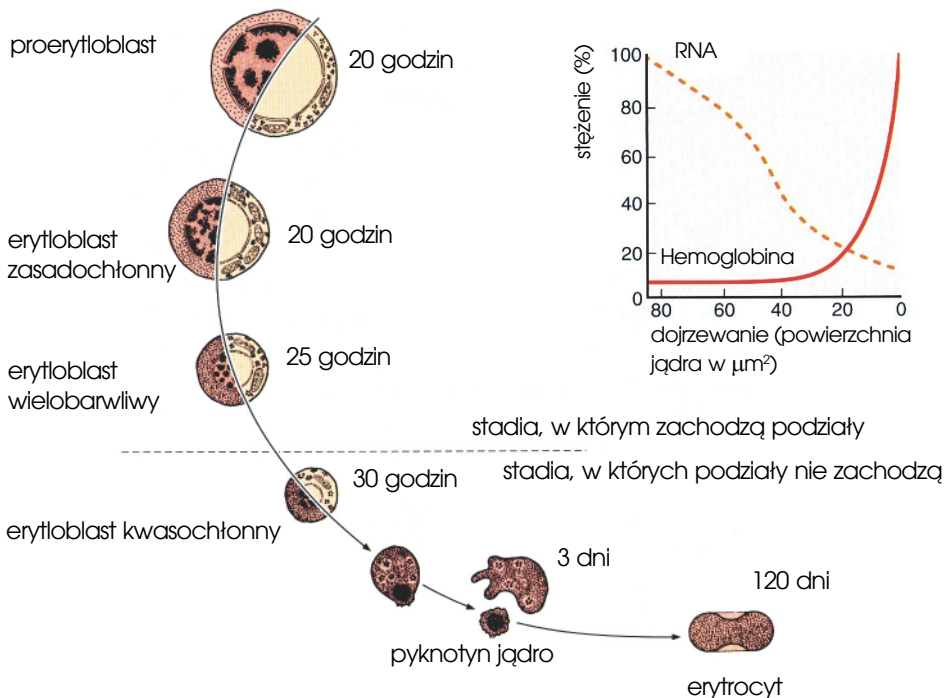
Ryc. 10.2. Stadia rozwojowe erytropoezy i granulopoezy.

tropoetyna powstaje głównie w nerkach, a czynnikiem warunkującym natężenie jej produkcji jest prężność tlenu we krwi dopływającej do nerek. Ponieważ prężność tlenu zależy od ilości erytrocytów, w ten sposób istnieje sprzężenie zwrotne regulujące natężenie produkcji erytrocytów w szpiku. Jednak o natężeniu tej produkcji decyduje nie tylko stężenie erytropoetyny. Konieczne jest żelazo, witamina B₁₂ i kwas foliowy. Żelazo magazynowane jest w szpiku, jak również poza szpikiem w postaci **ferrytyny** i **hemosyderyny**.

Komórka ukierunkowana erytrocytarna, szczególnie we wczesnych okresach różnicowania podobna jest do KKM, a więc zbliżona jest wyglądem do limfocyta i nie można jej zidentyfikować prostym barwieniem cytologicznym.

10.1. ERYTROPOEZA

Pierwszym etapem różnicowania, który ujawnia się określonymi cechami cytologicznymi jest etap prezentowany przez komórki nazywane **proerytoblastami**. Są to komórki duże ok. 20 μm , okrągłe z dużym jądrem stanowiącym 80% komórki, z rozproszoną chromatyną i 1–2 jąderkami. Cytoplazma zawiera mitochondria i AG, liczne polirybosomy oraz niewielkie ilości hemoglobiny. Przekształcają się one w **erytoblasty zasadochłonne**. Komórki nieco mniejsze, różniące się od proerytoblastów tym, że jądro jest



Ryc. 10.3. Przebieg dojrzewania krwinki czerwonej – erytrocytu.

bardziej zbite, a jąderka niewidoczne. Cytoplazma zawiera wiele polirybosomów, dlatego barwi się zasadochłonnie. Zawiera więcej hemoglobiny. Następnym etapem różnicowania jest **erytroblast wielobarwny (polichromatofilny)**. Jądro jeszcze bardziej zbite, a cytoplazma zawiera zarówno polirybosomy, jak i już duże ilości hemoglobiny, przez co barwi się ona zarówno zasadowymi, jak i kwaśnymi barwnikami. Ma on jeszcze zdolność do dzielenia się. Erytroblast wielobarwny przekształca się w **erytroblast kwasochłonny (ortochromatofilny)**, który ma zdecydowanie kwasochłonną cytoplazmę ze względu na wysoką zawartość hemoglobiny. Jego jądro ulega ostatecznemu zagęszczeniu i otoczone cienką warstwą cytoplazmy zostaje usunięte z komórki. W ten sposób powstaje **retikulocyt**, który po 1–2 dobach opuszcza szpik i przechodzi przez barierę szpikową do krążenia. Różni się jednak od erytrocytu, gdyż jest nieco od niego większy (ok. 9 μm) oraz zawiera pewną ilość RNA, który uwidoczniony odpowiednim barwieniem widoczny jest w postaci jakby siateczki, stąd nazwa komórki (*reticulum* = siateczka). Stanowią one 1–2% erytrocytów i po około dobie stają się dojrzałymi erytrocytami.

Proces tworzenia erytrocytów → erytropoeza jest procesem ciągłym i wyróżnienie ww. stadiów dokonuje się dla celów dydaktycznych i diagnostycznych, zachodzi w nim: zmniejszenie się krwinek przy zachowaniu ich okrągłego kształtu, zagęszczenie jądra, które również kształtu okrągłego nie zmienia, oraz zmiany barwności cytoplazmy z zasadochłonnej w kwasochłonną (ryc. 10.2).

10.2. GRANULOPOEZA

Wspólna komórka **ukierunkowana dla granulocytów i monocytów**, najpierw różnicuje się w dwie linie: granulocytarną i monocytarną. Monocytarna daje w końcu monocyty, a następnie makrofagi tkankowe, a granulocytarna trzy rodzaje granulocytów, przy czym pierwsze stadia różnicowania są wspólne dla tych trzech rodzajów. Na komórki ukierunkowane dla granulocytów i monocytów oddziałują następujące czynniki: GM-CSF (ang. *granulocyte, monocyte – colony stimulating factor*) produkowany przez limfocyty T i fibroblasty, oraz M-CSF produkowany przez fibroblasty i komórki śródbłonna.

Pierwszym stadium, które identyfikuje się cytologicznie jest **mieloblast**. Duża (ok. 20 μm), okrągła lub prawie okrągła komórka o jądrze z rozproszoną chromatyną i 1–3 jąderkami, cytoplazma zawiera liczne mitochondria. Jest ona mniej zasadochłonna niż proerytroblasta, co pozwala ją od niego odróżnić. Mieloblast przekształca się w **promielocyt**. Jest on większy niż mieloblast (ok. 25 μm). Jądro owalne leży mimośrodkowo, cytoplazma zawiera ziarna azurofilne, które powstają w AG i zawierają enzymy lizosomalne. Promielocyt przekształca się w **mielocyt**, który zapoczątkowuje 3 linie granulocytarne, zawiera on bowiem obok licznych ziaren azurofilnych ziarna specyficzne, odpowiednio: obojętnochłonne, kwasochłonne i zasadochłonne. Mielocyt jest nieco mniejszy od promielocytu, jądro wyraźnie owalne lub lekko nerkowate, leżące przy błonie komórkowej. Komórki te mają zachowaną zdolność do dzielenia. Natomiast następne stadium – **metamielocyt** – nie dzieli się. Jądro jest wyraźnie nerkowate, a jego chromatyna zagęszczona. Liczba ziaren specyficznych wyraźnie wzrasta. Metamielocyt może już opuścić szpik i w przypadku metamielocytu zasadochłonnego niewiele się różni od postaci doj-

rzalej. Natomiast metamielocyt obojętnochłonny przyjmuje postać **granulocytu z jądrem pałeczkowatym**, który stanowi 3–5% leukocytów krwi obwodowej. Przekształca się on w **granulocyt z jądrem płatowatym** (ryc. 10.2).

Granulocyty obojętnochłonne, które stanowią największą populację leukocytów (60–70%) zajmują w organizmie **4 przedziały czynnościowe**:

1. przedział szpikowy komórek różnicujących się;
2. przedział rezerwy szpikowej;
3. przedział granulocytów krążących;
4. przedział granulocytów znajdujących się w układzie naczyniowym, ale nie krążących (pula marginalna).

Liczba granulocytów we krwi krążącej jest efektem przesunięć między tymi przedziałami i zasadniczo zależy od tempa produkcji granulocytów przez szpik, gdyż żyją one krótko (od kilku godzin do 2 dni np. w tkankach). Różnicowanie i proliferacja granulocytów wszystkich 3 rodzajów wymaga obecności czynników stymulujących. Jest to grupa różnych czynników produkowanych przez zrąb szpiku, makrofagi, śródbłonki i pobudzone limfocyty, co wskazuje na sprzężenie czynnościowe z układem immunologicznym (tabela 10.1).

Tabela 10.2. Antygeny różnicowania komórek krwi szpikowej i obwodowej.

Stadium rozwoju	Antygeny CD
Granulopoeza	
Komórka macierzysta szpikowa – CFU–GEMM	CD33, CD34
Hemocytoblast	
Mieloblast	CD13, CD33, CD38
Mielocyt obojętnochłonny	CD13, CD33,
Granulocyt obojętnochłonny	CD10, CD11b, CD43
Mielocyt kwasochłonny	CD13, CD32, CD35
Granulocyt kwasochłonny	CD11b, CD24, CD43
Mielocyt zasadochłonny	CD33
Granulocyt zasadochłonny	CD4, CD9, CD13, CD25
Erytropoeza	
Proerytroblast (BFU–E)	CD33, CD34
Erytroblast zasadochłonny (CFU–E)	CD36
Erytroblast kwasochłonny	CD36 (glikoforyna A)
Reticulocyt	(glikoforyna A)
Erytrocyty	CD35, CD44, (glikoforyna A)
Monocytopoeza	
Monoblast	CD13, CD14, CD15, CD33
Promonocyt	CD13, CD14, CD33
Monocyt	CD13, CD14, CD36, CD64
Komórka macierzysta limfoidalna	CD10, CD38, (TdT)

CD (ang. *cluster of differentiation*) – numer oznacza pozycję w katalogu antygenów. Swoiste przeciwciała monoklonalne dla tych antygenów oznaczane są: anti-CD-numer.

W trakcie różnicowania się, komórki układu krwiotwórczego wykazują ekspresję na swojej powierzchni cząsteczek określanych jako antygeny różnicowania gdyż mogą one być wykorzystywane jako markery stopnia zróżnicowania komórek. Mogą także służyć do identyfikowania linii rozwojowej do której należą (tabela 10.2).

10.3. TROMBOPOEZA

Komórki ukierunkowane linii płytkowej różnicują się w wielkie komórki nazwane **megakarioblastami** (15–50 μm). Mają one owalne lub nerkowate jądro, z licznymi jąderkami. Cytoplazma zawiera liczne rybosomy przez co jest silnie zasadochłonna. Komórka ta przekształca się w **megakariocyt** (niektórzy wyróżniają stadium promegakariocytu), który jest większy (35–150 μm) i zawiera wielopłatowe jądro. Megakariocyt jest komórką poliploidalną (16–64 n). Cytoplazma zawiera liczne ziarna azurofilne, tworzone w AG. Dojrzały megakariocyt zawiera obfitą siateczkę śródplazmatyczną, która tworzy tzw. **kanały demarkacyjne**. Kanały te łącząc się ze sobą wyodrębniają fragmenty cytoplazmy, które po oddzieleniu się tworzą płytki krwi. Ma to następować wewnątrz zatok szpikowych, gdyż leżące blisko ścian naczyń megakariocyty częścią cytoplazmy przechodzą do światła zatok. Istnieją dane wskazujące, że płytki krwi mogą powstawać również poza szpikiem, a mianowicie w naczyniach płucnych. Podobnie jak różnicowanie innych komórek ukierunkowanych, rozwój linii megakariocytów wymaga czynnika stymulującego. Jest nim limfokina: Mg-CSF . Natomiast dalszy rozwój w megakarioblast i przekształcenie się w megakariocyt zależny od obecności **trombopoetyny**, produkowanej głównie przez nerki.