

# Regulación de la eritropoyesis

---

Magister en fisiología

Camila Gho Brito

## Introducción

La eritropoyesis es el proceso de formación de eritrocitos. Comienza en la médula ósea y está regulada por la hormona eritropoyetina (EPO).

A partir de una célula madre se forman los proeritroblastos. De ellos derivan los eritroblastos, que en divisiones sucesivas llegarán a formar reticulocitos que en su fase madura serán vertidos a la sangre para formar el glóbulo rojo (Fig.1)

La eritropoyetina, es una hormona que se sintetiza en las células peritubulares del riñón y, estadios más tempranos, en el hígado. Actúa a nivel de la médula ósea, en los precursores de la unidad formadora de la colonia eritróide.

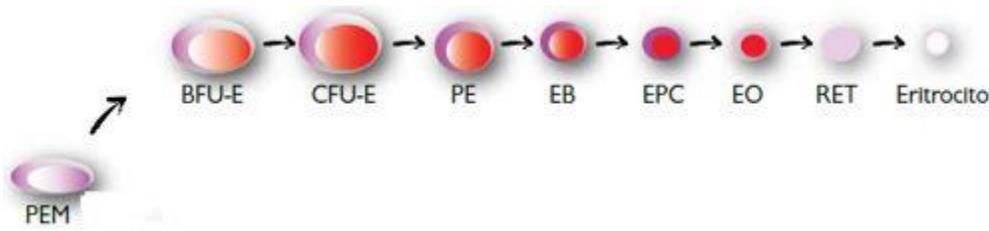
El eritrocito empieza a dispersar receptores en la superficie de membrana para la eritropoyetina la que activa una serie de cascadas de transducción de señales intercelulares que inicialmente producen la síntesis de hemoglobina y hace que los reticulocitos actúen de manera más rápida y sean liberados a la circulación.

El factor de transcripción Hif-1, presenta en su secuencia un aminoácido que se llama prolina cuyo radical es un grupo hidroxilo, el que se mantiene así en presencia de oxígeno. Ante condiciones normales de oxígeno, esta prolina siempre estará en estado hidroxilado, lo que permite que sea reconocido por otra proteína que unirá al Hif *alfa* para que luego, una serie de moléculas con señales de destrucción, la lleve a la destrucción en el sistema proteosoma.

Un factor de transcripción se une al genoma y en este caso, el Hif-1 cuando está hidroxilado no lo hará, por lo que va a ir directamente a proteólisis. Entonces, si estamos en un proceso de hipoxemia, donde la hidroxilación no es posible por la falta de O<sub>2</sub>, el Hif-1 no se hidroxila, por lo que quedará susceptible a unirse a otra subunidad que es el Hif-1 beta y solamente cuando alfa y beta están unidos, se encontrará el factor de transcripción óptimo para que pueda unirse a regiones promotoras y funcione como factor de transcripción para finalmente llevar a la formación de eritropoyetina. De esta forma, la hipoxia, se transforma en un precursor importantísimo en la síntesis de eritropoyetina lo que llevará al aumento en la producción de eritrocitos por la médula ósea.

Dentro de los factores que afectan las concentraciones de eritropoyetina en la sangre están la anemia, cambios en las curvas de saturación de hemoglobina, flujos renales lentos y una serie de hormonas. Procesos que se describirán detalladamente.

Durante la vida fetal, el hepatocito, es la principal célula productora de eritropoyetina, luego del nacimiento se produce fundamentalmente en el riñón y en menor medida en hígado y otros tejidos.



*Diferenciación eritróide. El progenitor eritróide-megacariocítico (PEM), da lugar a unidades formadoras de brote eritróide (BFU-E), quienes a su vez originan unidades formadoras de colonias eritróides (CFU-E), para posteriormente dar lugar a proeritroblastos (PE), eritroblastos basofílicos (EB), eritroblastos policromatófilicos (EPC), eritroblastos ortocromáticos (EO), reticulocitos (RET) y células eritróides maduras.*

Ya en el año 2002 se identificó a una célula intersticial peritubular localizada en el riñón como sitio de la síntesis de eritropoyetina. Esta última, cuando se estimula por la hipoxia tisular, es capaz de aumentar la masa de glóbulos rojos mediante varios mecanismos. Al unirse con los receptores de superficie de membrana de los precursores eritroides, la eritropoyetina estimula la síntesis de RNA. Una vez que la eritropoyetina se une a receptores de membrana específicos, estimula a las colonias eritróides maduras (CFU-E) y controla la producción de eritrocitos mediante:

1. La regulación de las tres fases de división-reducción de la producción normoblástica.
2. El control de la tasa de producción por acortamiento del tiempo del proceso de división o maduración, o ambos.
3. El aumento de la velocidad del ciclo de la pentosa fosfato.
4. Su acción en las paredes de los senos de la medula ósea, donde favorece la salida de eritrocitos maduros mediante brechas pequeñas del endotelio hacia los sinusoides.
5. El estímulo de la liberación temprana de reticulocitos.

6. Aumentos de la velocidad de síntesis de la hemoglobina mediante la transferencia de hierro desde la transferrina a los precursores eritróides en desarrollo por la unidad formadora de brotes eritróides (BFU-E), que no son más que células en estadios más tempranos.

Además de la hipoxia tisular, se identificaron otros factores que podrían influir en la estimulación de la producción de eritropoyetina. Se sabe con certeza que la testosterona estimula la eritropoyesis, lo cual explica en parte la diferencia que se observa en los valores de referencia de concentración de hemoglobina según sexo y edad.

### Regulación Eritropoyética

La eritropoyetina, estimula la eritropoyesis para promover la viabilidad de las células eritroides precursoras, proliferación y diferenciación, mejorando así la capacidad transportadora de oxígeno de la sangre. Su producción está firmemente regulada por señales fisiológicas, del desarrollo y tejidos específicos.

Es aquí donde nos preguntamos, ¿bajo qué mecanismos se regula la eritropoyesis?

Se describirán 4 mecanismos claves en este proceso.

1. Regulación por presión de oxígeno:

Principalmente en caso de hipoxemia, cuando hay anémia, cuando la hemoglobina tiene mucha afinidad por el O<sub>2</sub> o en una isquemia renal. En este último caso debe haber una baja muy importante en el flujo sanguíneo renal porque la corteza recibe un aporte elevado de sangre y la filtración de O<sub>2</sub> es pequeña.

La tensión de oxígeno tisular depende de las velocidades relativas de la oferta y la demanda de oxígeno. El suministro de oxígeno es una función compleja de esta interacción, pero las variables son semi-independientes, incluyendo el flujo de sangre, la concentración de hemoglobina en la sangre, la saturación de oxígeno de la hemoglobina, y afinidad por el oxígeno de la hemoglobina. Cada una de estas funciones se pueden alterar para compensar una deficiencia.

Por ejemplo, en la anemia severa, el gasto cardíaco y la frecuencia respiratoria puede aumentar, y la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina puede reducirse a través del efecto de 2,3-difosfoglicerato. Por el contrario, en la insuficiencia respiratoria, se produce policitemia secundaria.

A pesar de los ajustes cardiovasculares y respiratorios, la tensión de oxígeno del tejido disminuye más o menos en proporción al grado de anemia. Por el contrario, la policitemia inducida de grado moderado, conduce a la tensión de oxígeno del tejido normal o aumentado y una mayor tolerancia a la hipoxia. Estos cambios se producen a pesar del aumento en la viscosidad de la sangre que acompaña a la policitemia, lo que sugiere que la resistencia vascular periférica disminuye para compensar el aumento de la viscosidad. Sin embargo, con grados avanzados de policitemia, el aumento de la viscosidad puede ser suficiente para anular las ventajas del aumento de la capacidad de transporte de oxígeno.

La hipoxia tisular es el estímulo fundamental para la modulación eritropoyética, como sugirió por primera vez Miescher en 1893. Este concepto ha sido ampliamente confirmado. Sin embargo, la hipoxia no ejerce sus efectos por una acción directa sobre la médula ósea, como Miescher planteaba. En vez de esto, induce a la hormona eritropoyetina. La naturaleza de los receptores de oxígeno tisular (o sensor de oxígeno) sólo recientemente se ha entendido. Estos sensores se encuentran dentro del riñón y la producción de EPO puede ser inducida por la constricción de la arteria renal o por perfusión hipóxica del riñón aislado.

El mecanismo a través del cual la hipoxia produce el aumento de expresión de eritropoyetina, actúa a nivel de transcripción de genes. El promotor del gen de la eritropoyetina en el riñón, es inhibido por el factor GATA-2 en condiciones de normóxia.

En hipoxia, el principal mecanismo que activa la transcripción del gen es un “potenciador” de esta, activado por los factores de transcripción inducibles por hipoxia (HIFs). El factor HIF-2 es el principal factor de transcripción implicado en la expresión de la eritropoyetina. Este factor es activado por la sirtuina-1, un factor implicado en la supervivencia celular y la longevidad.

Después de una hemorragia, el aumento de la producción de eritrocitos está mediado por el eje renina-angiotensina. La hipovolemia producida por la hemorragia, disminuye la presión arterial y en consecuencia, se activa el eje renina-angiotensina. La angiotensina II aumenta la producción de

eritropoyetina en el riñón y además es un factor de crecimiento de las células progenitoras hematopoyéticas. El resultado es un aumento de la eritropoyesis.

Las células especializadas que producen EPO se han identificado en el parénquima renal y hepático por técnicas de hibridación in situ, usando sondas radiactivas específicas para el mRNA de la EPO. Estas células productoras de EPO se encuentran en el intersticio del parénquima renal (fuera de la membrana tubular basal), predominantemente en la corteza interior y médula externa. La mayor parte de la evidencia experimental indica que estos son similares a los fibroblastos de tipo I del intersticio. En el hígado, el mRNA de la EPO se detecta en el hepatocito. El número de células renales del intersticio productoras de EPO aumenta (aproximadamente de manera exponencial) en respuesta a la anemia. El aumento de la producción de EPO se produce por un aumento en el número de células productoras de la hormona, presumiblemente con el empeoramiento de la anemia, el aumento del número de estas células se convierte en un medio lo suficientemente hipóxico para desencadenar la síntesis de EPO. EPO y EPOR también se expresan en niveles bajos en otros tejidos como el bazo, la médula ósea, los pulmones, los testículos, los ojos y el cerebro.

El mecanismo por el cual la hipoxia conduce a la síntesis de EPO se ha determinado por una secuencia localizada en una región que flanquea el extremo 3' del gen de la EPO, la cual, es oxígeno sensible y está implicada en la regulación de su expresión. El ligando para este potenciador sensible al oxígeno se identificó como 120kDa, proteína denominada factor inducible por hipoxia 1 (HIF - 1). Esta proteína de unión del ADN está estrechamente regulada por la tensión de oxígeno intracelular y sirve como regulador fisiológico de la transcripción de EPO.

Estos HIFs, son factores de transcripción heterodiméricos hélice-loop -hélice compuestos de dos subunidades, una proteína lábil al oxígeno, HIF -  $\alpha$ , y una subunidad  $\beta$  expresada constitutivamente, HIF -  $\beta$ . Importante es que tres genes, HIF1A, HIF2A o EPAS1, y HIF3A, codificando diferentes isoformas de HIF-  $\alpha$ , están presentes en el genoma humano; aquí HIF-  $\alpha$  se refiere a HIF- 1 $\alpha$  o HIF- 2 $\alpha$ . La concentración y actividad transcripcional de HIF -  $\alpha$ , aumenta en forma geométrica después de la exposición a la hipoxia. El mRNA de HIF-  $\alpha$  se expresa constitutivamente en condiciones de normoxia, pero la proteína se degrada rápidamente a través del complejo proteosoma-ubiquitina después de la unión de la proteína von Hippel -Lindau (pVHL). El reconocimiento de HIF-  $\alpha$  por pVHL requiere una previa hidroxilación de los residuos de prolina específicos de HIF-  $\alpha$  por el "dominio prolil -hidroxilasa (PHD)" que contiene proteínas. Estos PHD son enzimas dependientes de hierro y oxígeno. Bajo condiciones de hipoxia, poco o nada de la

hidroxilación de prolina se lleva a cabo; por lo tanto, pVHL no se une a HIF -  $\alpha$ , que se acumula en el núcleo, heterodimeriza con HIF -  $\beta$ , y recluta a los coactivadores transcripcionales p300 con todo el complejo y luego une al potenciador de EPO para influir positivamente en la actividad y la transcripción de genes para promover la síntesis de EPO. El reclutamiento de P300 en el complejo en sí puede ser inhibida por hidroxilación de asparagina - 803 en HIF-  $\alpha$ , que es catalizada por asparaginil -hidroxilasa, otra enzima sensible al oxígeno. Todo esto indicaría que estas dos hidroxilasas de aminoácidos, por su dependencia a la normóxia intracelular para su funcionamiento, actuaría en el riñón, como sensor de oxígeno en las células intersticiales productoras de EPO, y, mediante la regulación de la función de HIF -  $\alpha$  en dos puntos distintos, finalmente se controla la síntesis de EPO y su producción.

Además de la EPO, un gran número de genes diana de HIF (por ejemplo, transportadores de glucosa, enzimas glicolíticas, y factores vasculares de crecimiento endotelial) están regulados durante la hipoxia para ayudar a las células a adaptarse a esta condición. Además de los efectos indirectos de la hipoxia sobre la eritropoyesis a través de mediadores de HIF en la producción renal de EPO, células progenitoras eritroides también están sujetas a dirigir los efectos celulares de la hipoxia y la producción de HIF.

## 2. Regulación mediada por testosterona:

La testosterona inhibe directamente la señalización de BMP-Smad (bone morphogenetic protein-Smad, proteína citoplasmática) en los hepatocitos que conducen a la supresión de la transcripción de hepcidina.

La hepcidina actúa bloqueando el flujo de hierro celular hacia el plasma a partir de los macrófagos que reciclan el hierro, desde los depósitos hepáticos y de los enterocitos de absorción. Los precursores de los eritrocitos utilizan el hierro que, al estar limitado por un aumento en la producción de testosterona, lleva rápidamente a la hipoferremia.

La hepcidina se libera a la sangre en respuesta a niveles elevados de hierro sérico o como resultado de una inflamación. Al llegar a sus tejidos diana, se une a la ferroportina y posteriormente es responsable de su internalización y degradación. Reduce la disponibilidad de hierro a través de dos mecanismos: disminución de la absorción por el tracto intestinal y la

inhibición del flujo de hierro a través de la ferroportina, los macrófagos y hepatocitos con disminución de la liberación de hierro desde el sistema retículo endotelial.

Como los eritrocitos de la médula ósea continúan utilizando hierro en su proceso de maduración, el hierro plasmático se depleta en pocas horas, produciendo la hipoferremia. Por lo tanto habrá una inhibición de la producción de hepcidina y eventualmente un bloqueo de la respuesta eritropoyética.

La testosterona regula el alza de la expresión de GATA-1 y los genes GATA-dependientes, lo que podría aumentar la sensibilidad de EPO y estimular la eritropoyesis. Por otro lado, la testosterona produce un metabolito activo por la enzima aromatasa llamado estradiol (E2), que también puede regular la transcripción de hepcidina.

### 3. Regulación por la temperatura:

La exposición a temperaturas bajas, llevan al organismo a una carrera por producir calor en los tejidos lo que llevará a una elevación eritrocitaria para el suministro de oxígeno a los tejidos periféricos. Este aumento en el suministro de oxígeno se lleva a cabo por la disminución de la afinidad de la hemoglobina al O<sub>2</sub> y un aumento de la tensión de CO<sub>2</sub> por la alta tasa metabólica frente a esta exposición.

Esta regulación es controversial pues la evidencia se contrapone en sus resultados. Aun así, las investigaciones indican que la temperatura a la que se expone el organismo jugaría un rol importante en la regulación eritropoyética y de determinarse con certeza se encontraría cura a bajo costo para algunos tipos de anemia.

### 4. Regulación paracrina:

Una posible función paracrina, podría mantener bajos niveles de eritropoyesis, a las que se ha atribuido progenitores hematopoyéticos en la producción de EPO dentro de la médula ósea.

La producción de EPO en el SNC parece proteger del daño isquémico y apoptosis a las neuronas que llevan EPOR. Pero aquí hay una gran laguna investigativa en la que aún no se ha ahondado con exactitud.

¿Hacia dónde apuntan las investigaciones en esta área?

Múltiples enfermedades que conducen a inflamación convergen en una anemia. Cabe aquí preguntarse cómo funcionan estas cascadas de señales en presencia de macrófagos o agentes pro inflamatorios.

Las interacciones entre células y entre célula y la matriz extracelular, dan señales que identifican nichos eritroides y uno de los retos es determinar la función de las secuelas de estas diversas interacciones.

Aún falta desarrollar una mecánica detallada para entender los diversos factores reguladores positivos y negativos sobre el lugar de formación eritróide que modula un normal funcionamiento de la eritropoyesis. La resolución de estos problemas en las diversas líneas de investigación de las enfermedades hematológicas, podrá dar lugar a la aplicación de nuevas terapias, como la anti-TNF y Gas6, que puedan utilizarse por separado o en combinación con EPO para tratar eficazmente los trastornos como la anemia por inflamación crónica, talasemias y la anemia por malaria.

Otra línea de investigación apunta hacia la enfermedad crónica renal y la insuficiencia cardiaca, donde los hallazgos hacen responsable a FGF-23 (fibroblast growth factor-23), regulador de la homeostasis de fosfato y la mineralización ósea, donde su ausencia reporta un aumento hematopoyético de células madres asociado con un aumento en la eritropoyesis pero su cascada de señalización no se ha determinado con exactitud. Esto nos indica que un aumento de este factor contribuiría a la patogénesis de anemia en enfermos renales crónicos e insuficientes cardiacos.

## Bibliografía

1. Alberto Lazarowski (2010). Conferencia "Regulación de la eritropoyesis con aplicación clínica".
2. Avinash Deo (2011). "Etiology of polycythemia"
3. Bernadette F. Rodak (2002). Hematología, fundamentos y aplicaciones clínicas.
4. Coe LM, et col. (2014). "FGF-23 is a negative regulator of prenatal and postnatal erythropoiesis".
5. Eric Bachman, et col. (2013). "Testosterone induces erythrocytosis via increased erythropoietin and suppressed hepcidin"
6. Jelkmann W (2010). "Regulation of erythropoietin production"
7. Joel Anne Chasis and Narla Mohandas (2008). Erythroblastic islands: niches for erythropoiesis"
8. John P greer et col (2013). Wintrobe's clinical hematology.
9. Maekawa S, et col. (2013). "Enhanced erythropoiesis in mice exposed to low environmental temperature".
10. Nishimura R, et col. (2003). "The role of smads in BMP signaling"
11. Sebastian Ugarte, et col. (2010). "Anemia en el paciente crítico y el rol de la hepcidina"
12. Volker H. Haase. (2014). Blood rev. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors.