

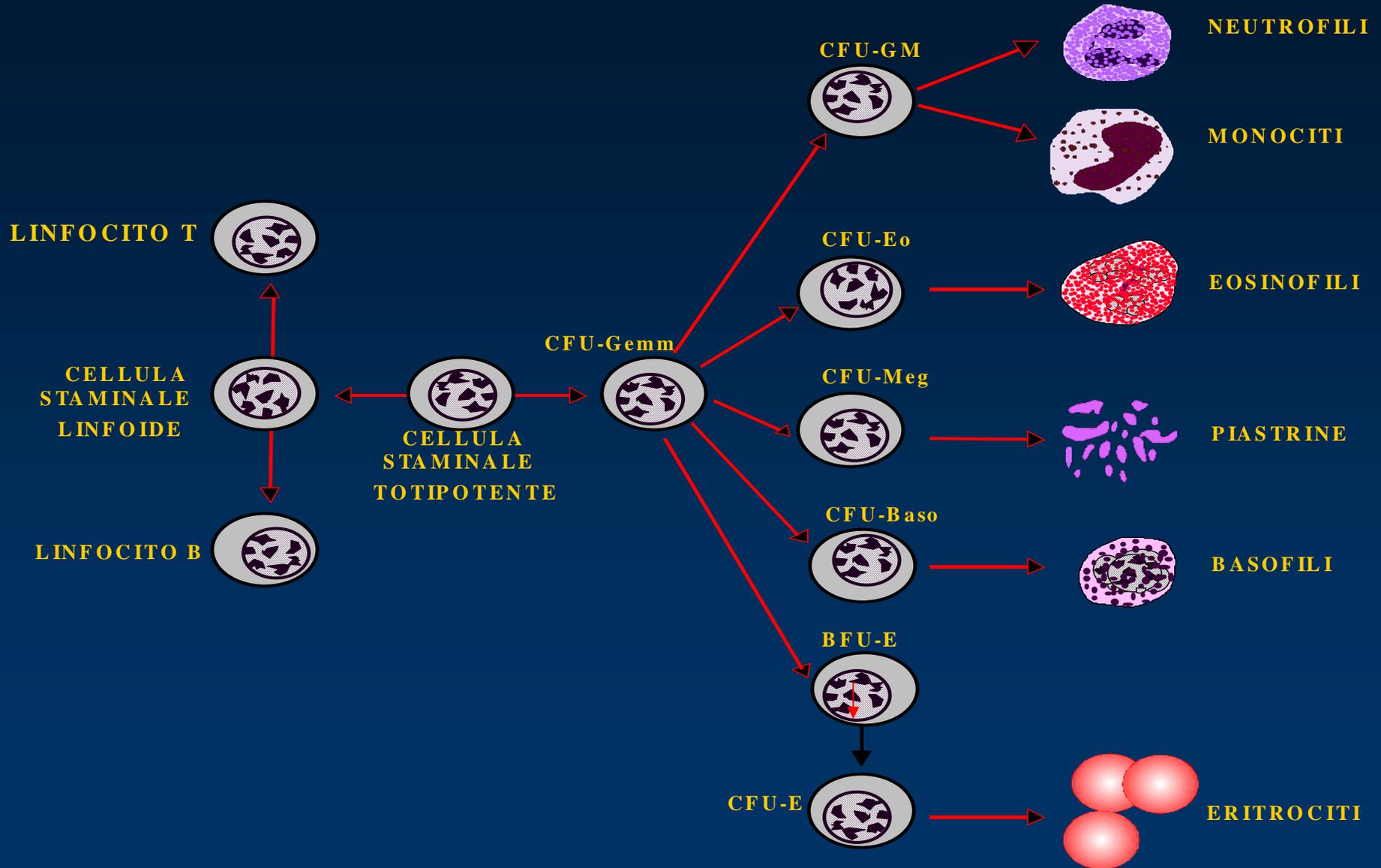
fisiokinesiterapia-news.it

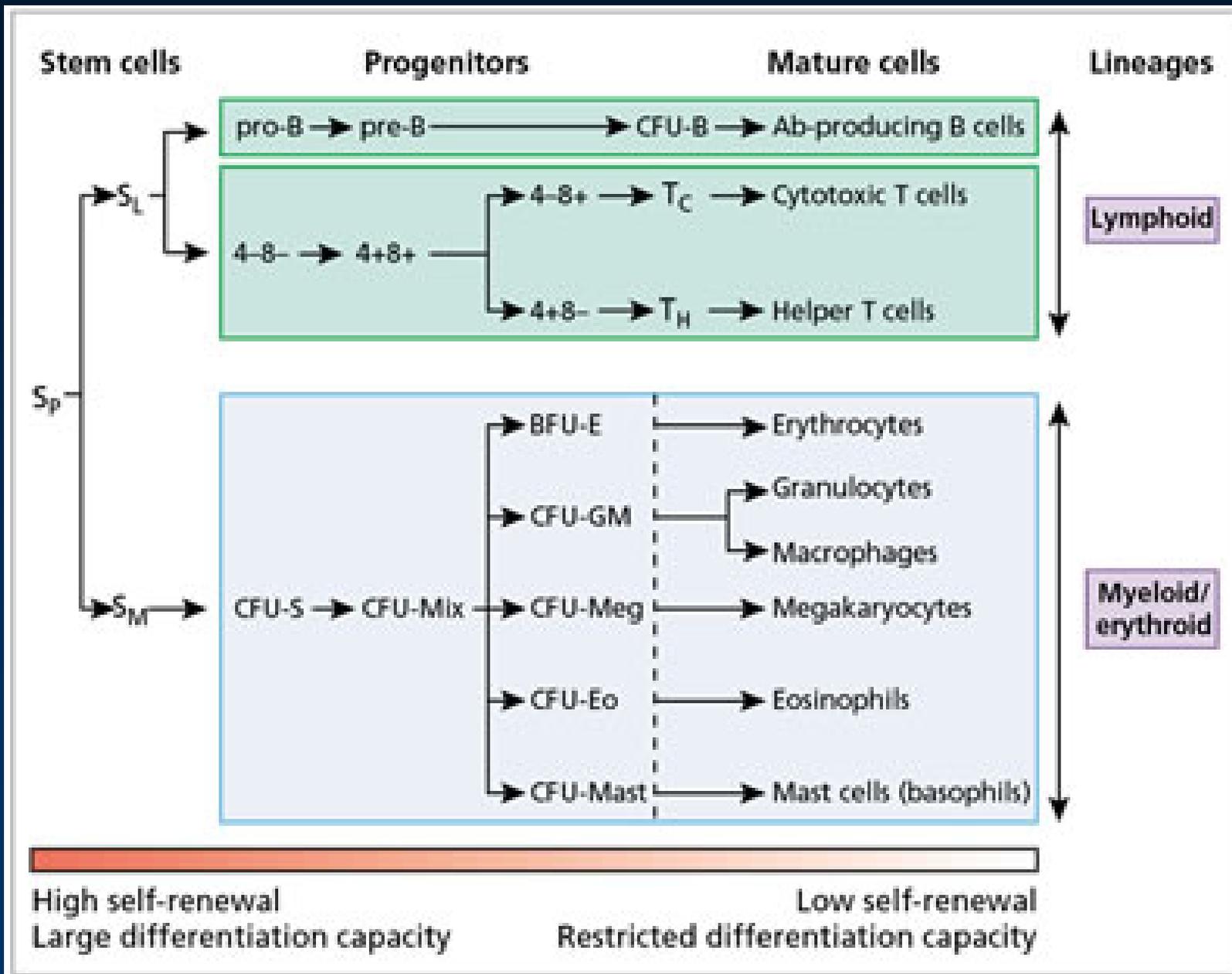
EMATOPOIESI

Definizione

L'ematopoesi è la (1) proliferazione delle cellule progenitrici, che sono mantenute dalle cellule staminali, e (2) la loro differenziazione nelle componenti cellulari del sangue

L'emopoiesi





Siti dell'ematopoiesi

Feto

0-2 mesi: sacco vitellino

0-8 mesi: FEGATO, MILZA

5-9 mesi: MIDOLLO OSSEO (tutto)

Bambini

MIDOLLO OSSEO

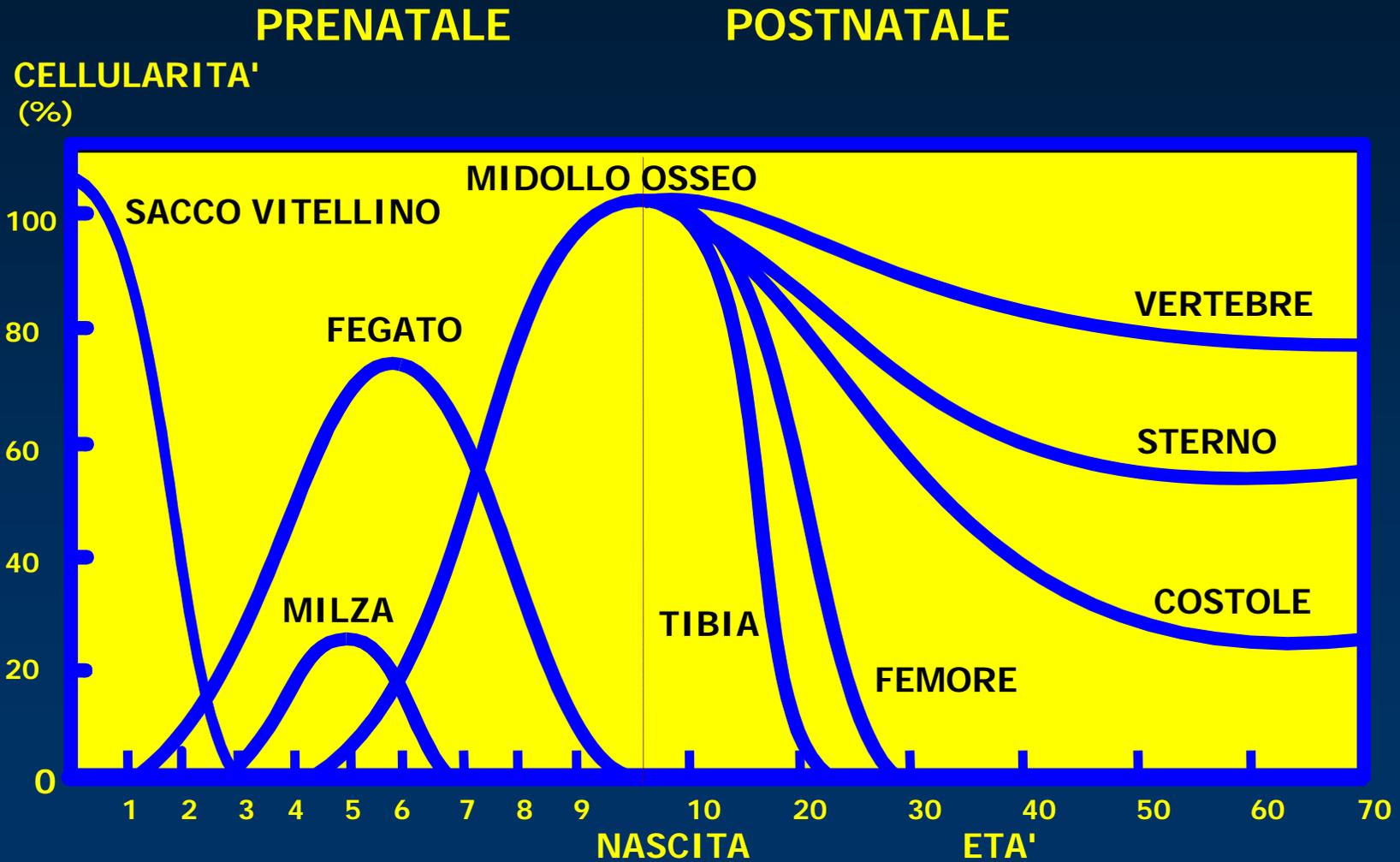
(Tutte le ossa; poi progressiva sostituzione con midollo giallo)

Adulti

MIDOLLO OSSEO

(Vertebre, costole, sterno, sacro e pelvi, estremità prossimali dei femori e degli omeri)

Timing dell'ematopoiesi



Ematopoiesi patologica

In presenza di patologie, i siti extramidollari possono servire come siti primari per lo sviluppo delle cellule ematiche

- a. **Siti ematopoietici fetali** (milza e fegato) possono diventare siti primari nell'adulto in alcune malattie (mieloproliferative)
- b. **Siti midollari adulti**, che sono normalmente non ematopoietici, possono trasformarsi in siti ematopoietici per aumentare la produzione di cellule de sangue

Vita media delle cellule ematiche

Processo di rinnovamento costante delle cellule ematiche

vita media cellule mature

MIELOPOIESI

- 1) granulo-(mono)-poiesi: 10 ore
- 2) eritropoiesi: 120 gg.
- 3) piastrinopoiesi: 10 gg.

LINFOPOIESI

- 1) cellule B ?
- 2) cellule T ?

L'entità del fenomeno emopoiesi

- In condizioni normali, ogni ora sono prodotti:
 10^{10} globuli rossi,
 10^9 globuli bianchi

24/24 ore per tutta la vita.

- In condizioni di stress (perdita acuta di sangue, infezione) i fabbisogni aumentano di 10 volte e oltre
- Inoltre le cellule prodotte dal midollo sono in grado di funzionare in tutti i distretti dell'organismo in modo autonomo

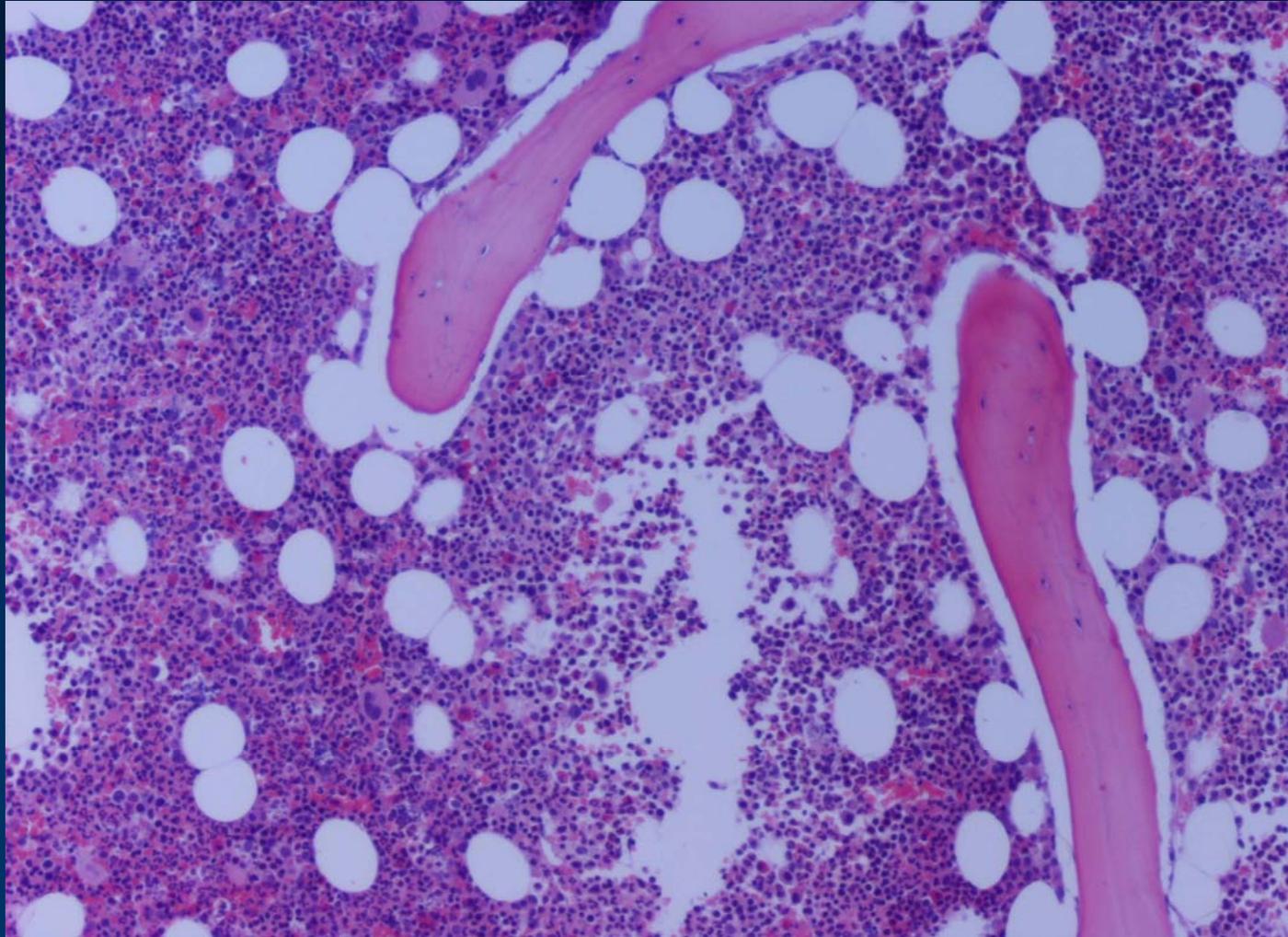
Struttura del midollo emopoietico

STROMA E PARENCHIMA

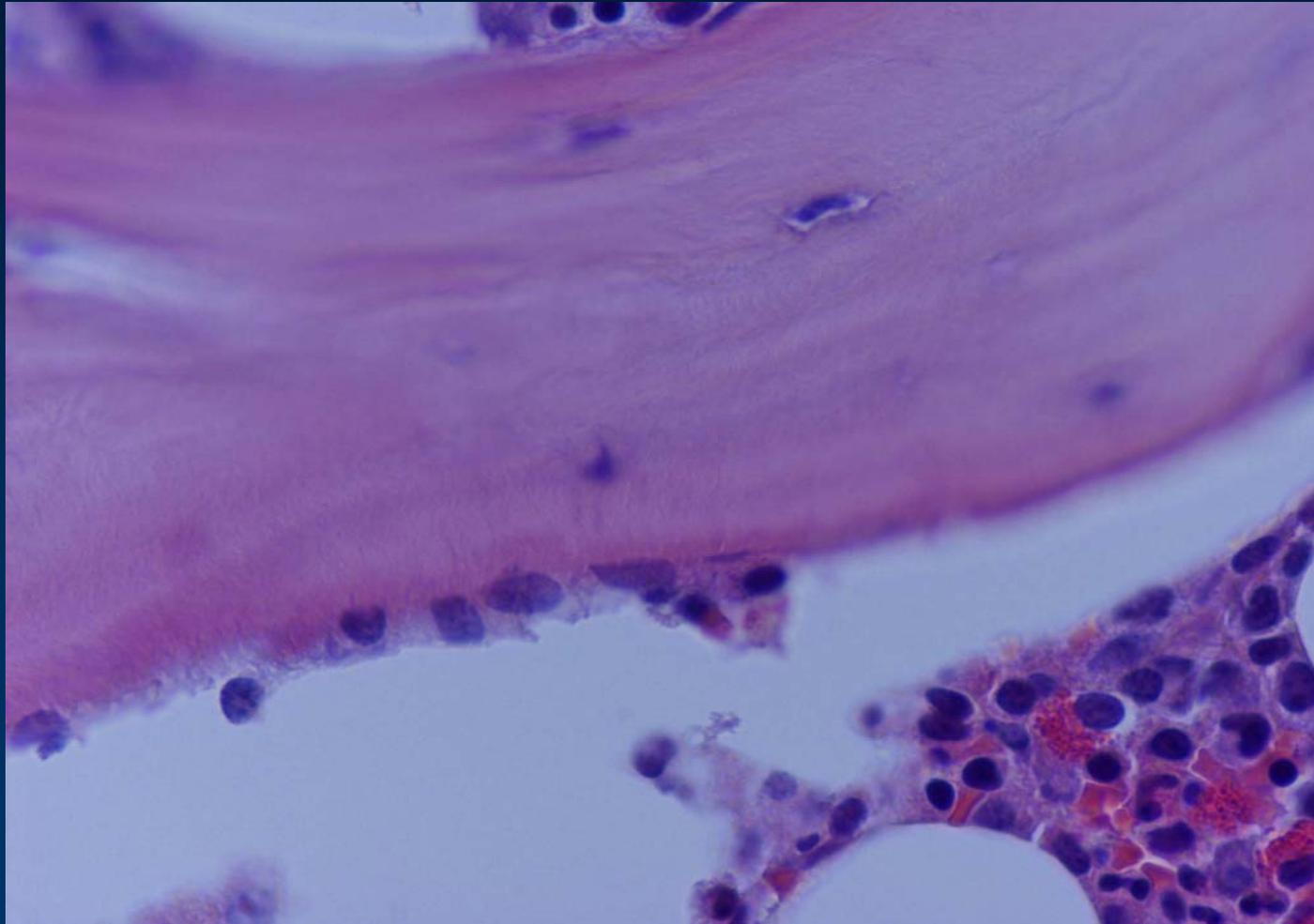
Cavità compartimentalizzate da trabecole ossee, contenenti cellule adipose e parenchima (eritroblasti, granuloblasti, megacariociti, cellule stromali), con un complesso sistema vascolare (arteriole midollari e corticali, rete sinusale, seno centrale)

Tale sistema vascolare è permeabile alle cellule ematiche mature per la presenza di pori di migrazione beanti sulla parete sinusale (passaggio per processo "attivo").

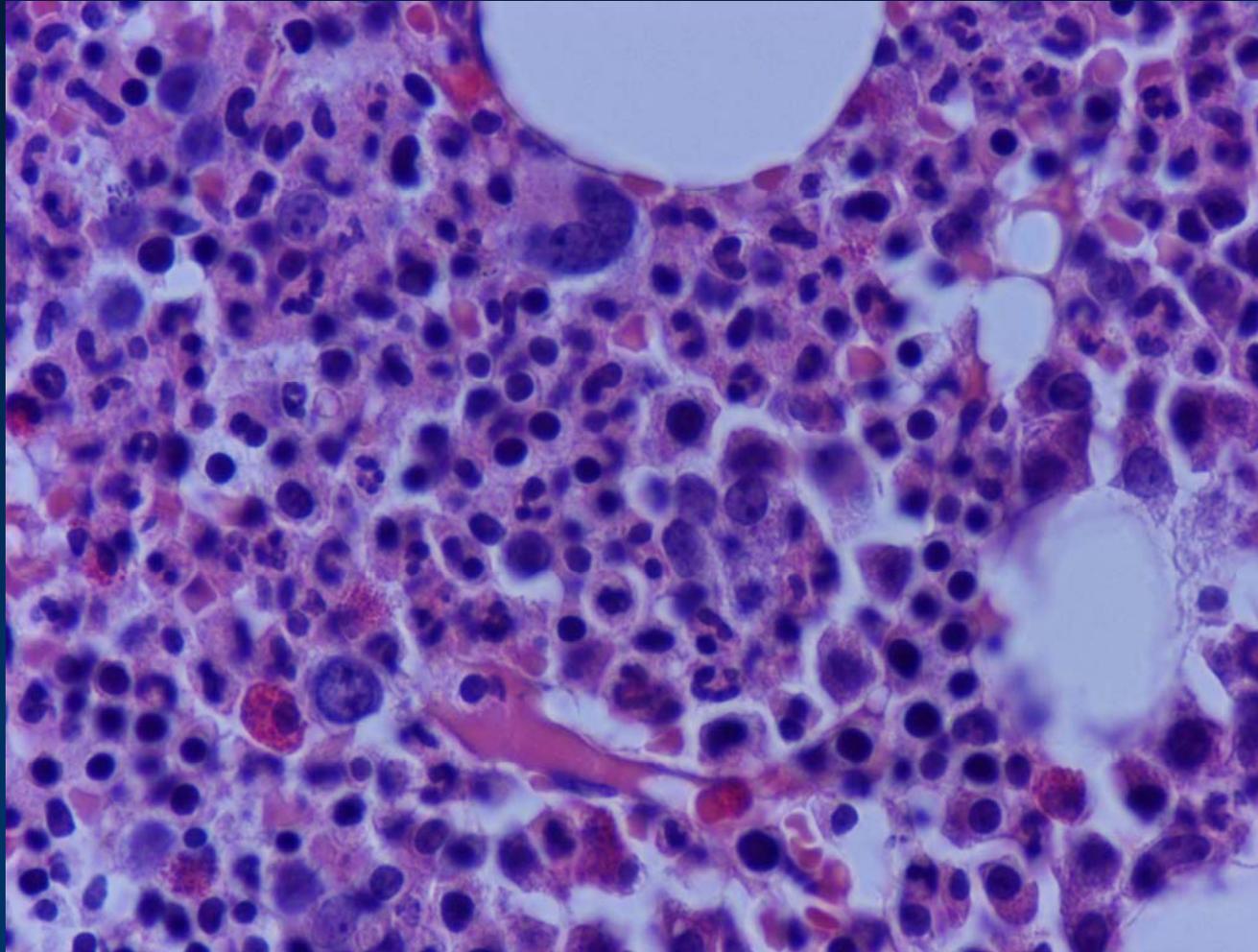
Istologia del midollo osseo



Osteoblasti e osteoclasti



Vasi midollari



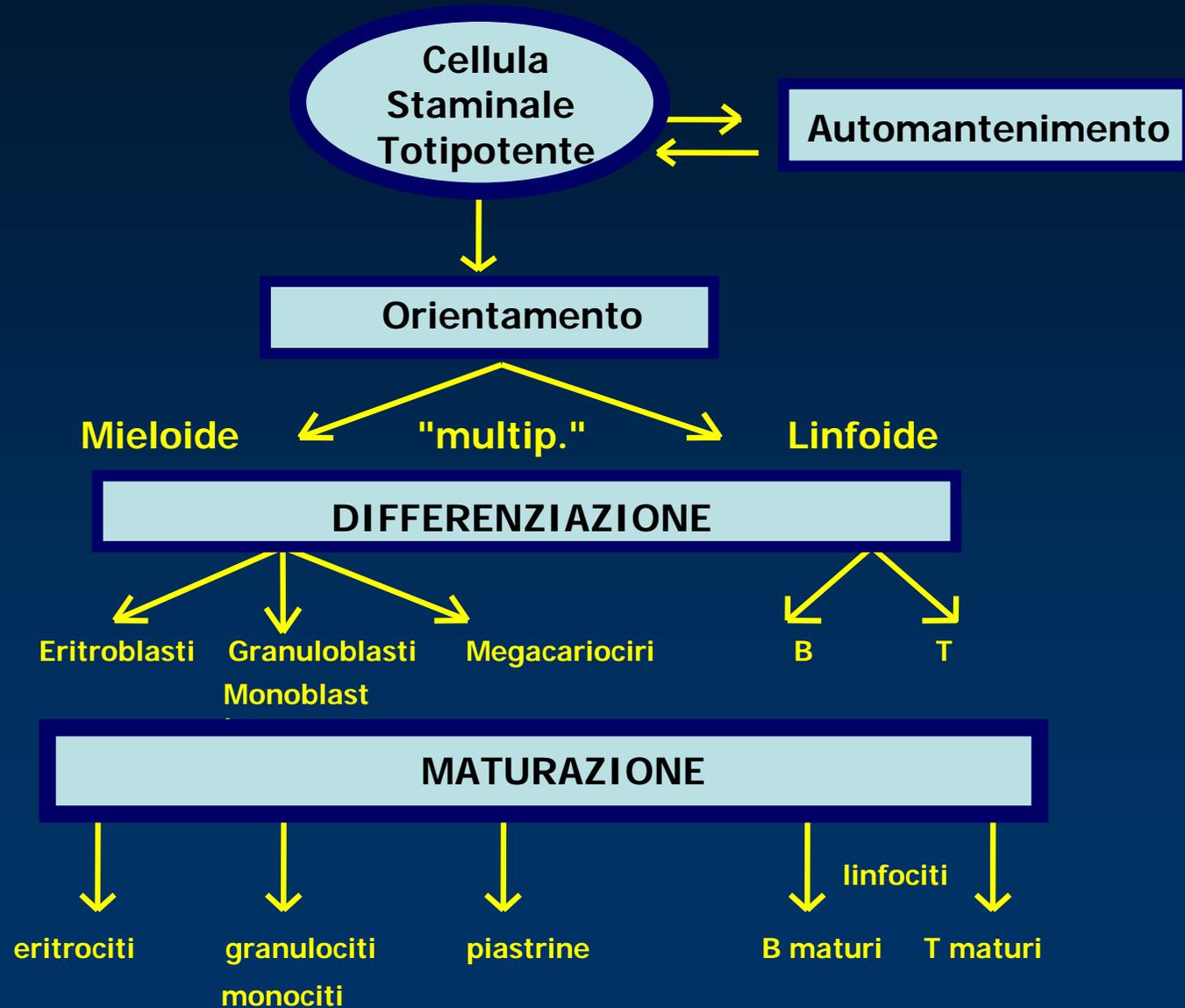
Il microambiente emopoietico

- Il microambiente è composto da una moltitudine di cellule, mesenchimali ed emopoietiche che forniscono:
 - Superfici
 - Matrice extracellulare
 - Fattori solubili che in concerto sono responsabili della regolazione e proliferazione, quiescenza, differenziazione, reclutamento ed accumulo dei progenitori emopoietici e delle cellule staminali

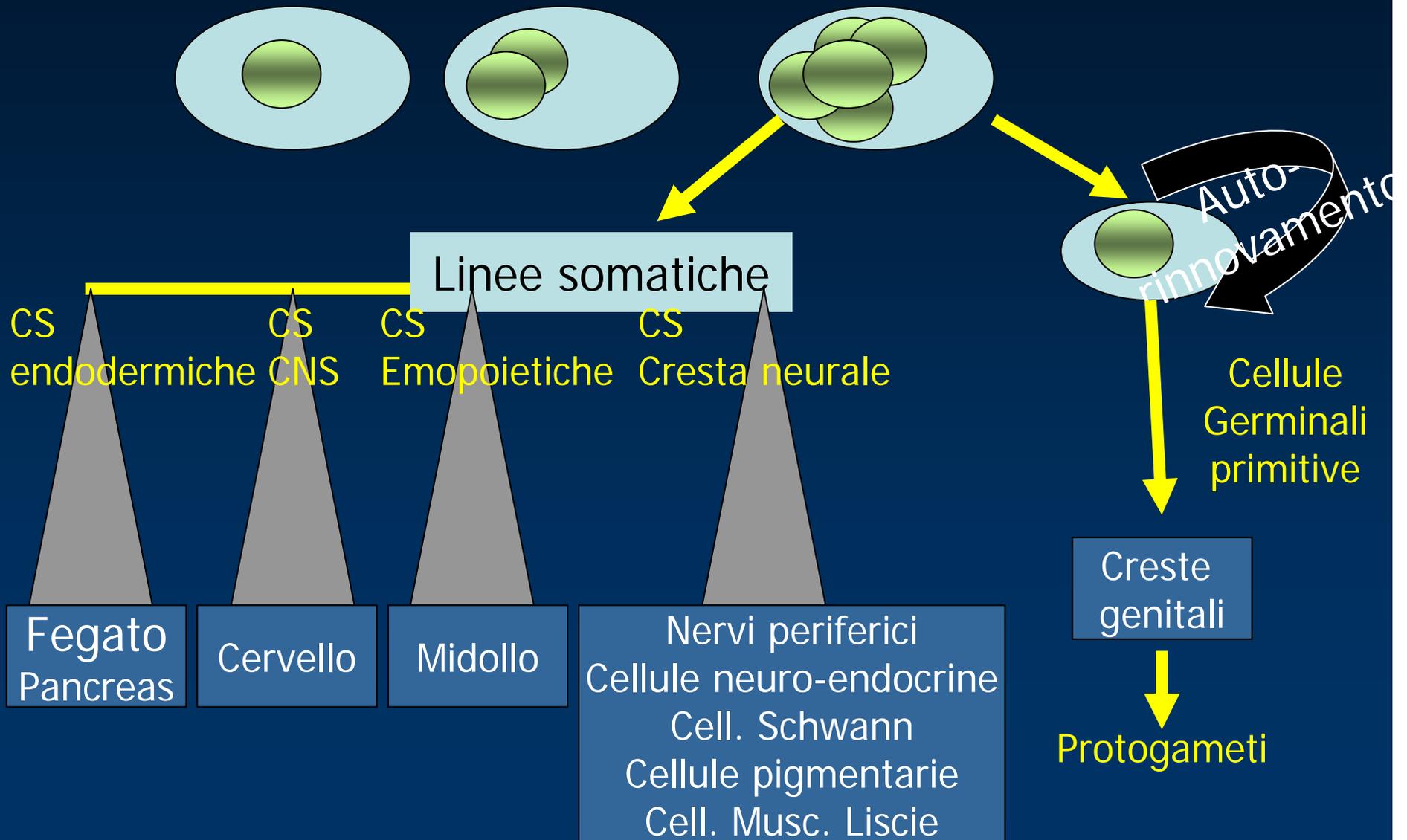
La normale funzione del midollo dipende da:

1. Normalità del microambiente midollare specifico
2. Normale funzione delle "cellule staminali"
3. Vit. B 12, acido folico, ferro+ormoni, proteine+lipidi +zuccheri

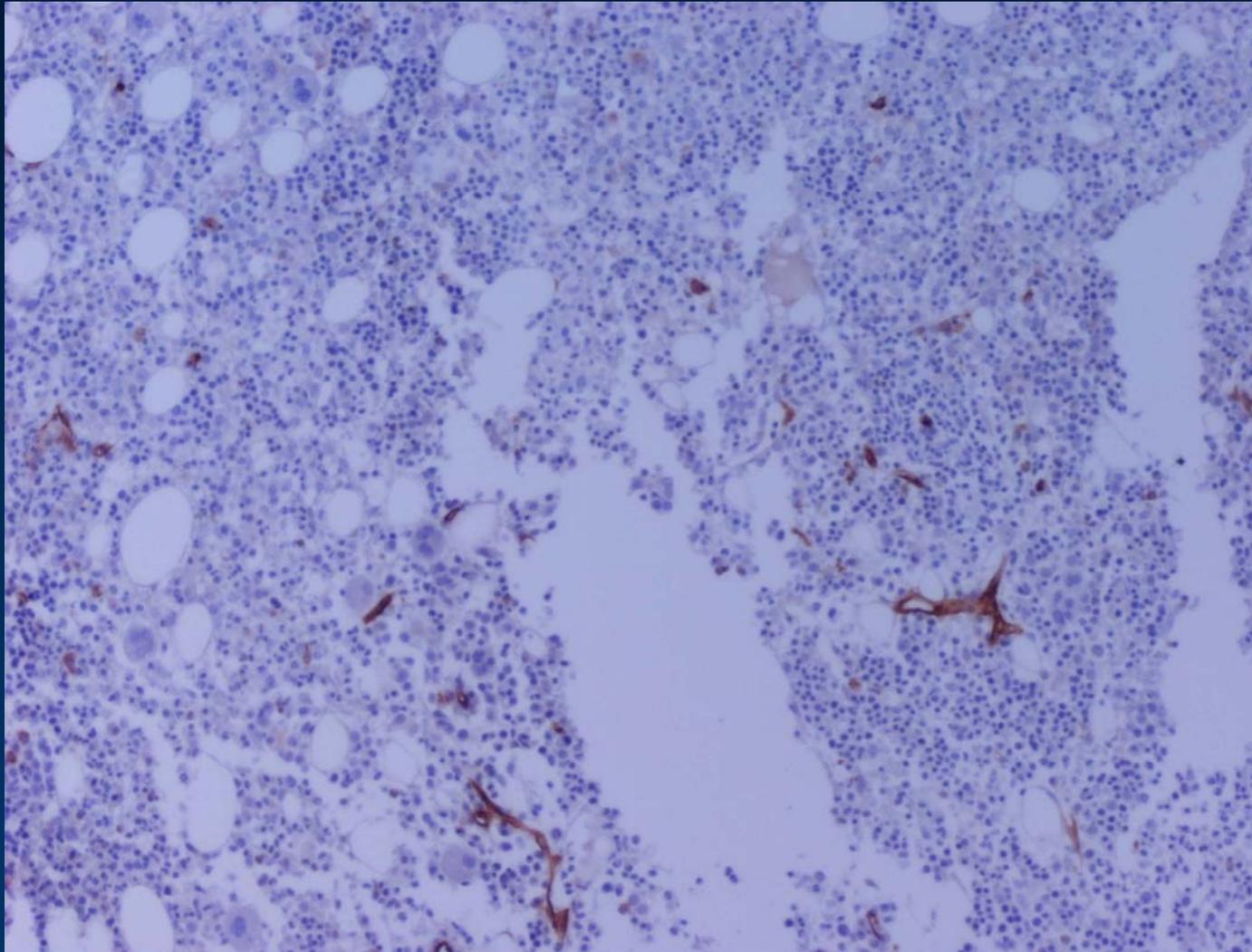
Fasi dell'emopoiesi



Il midollo delle CS pluripotenti



Vasi e CS CD 34+



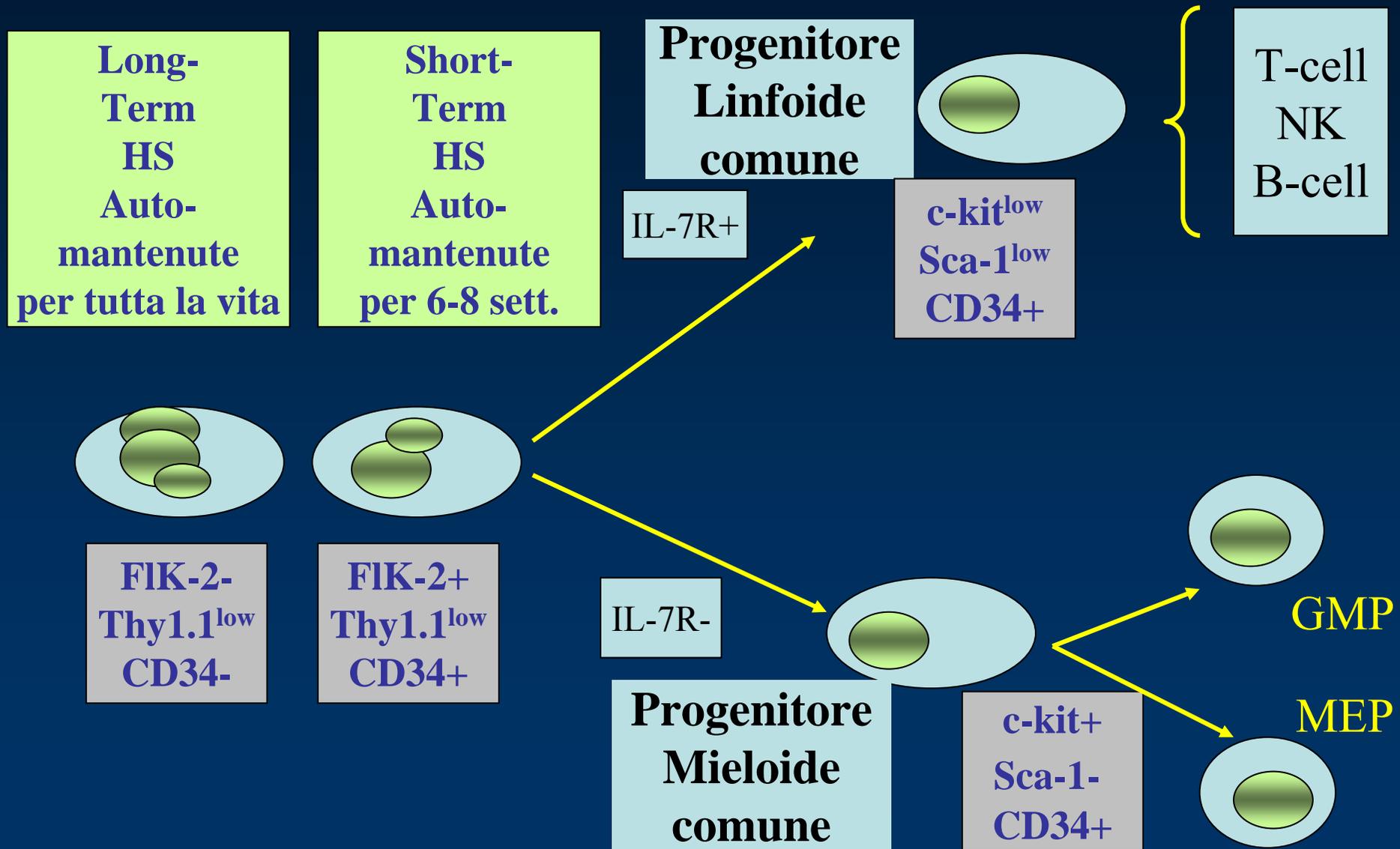
La gerarchia delle cellule emopoietiche

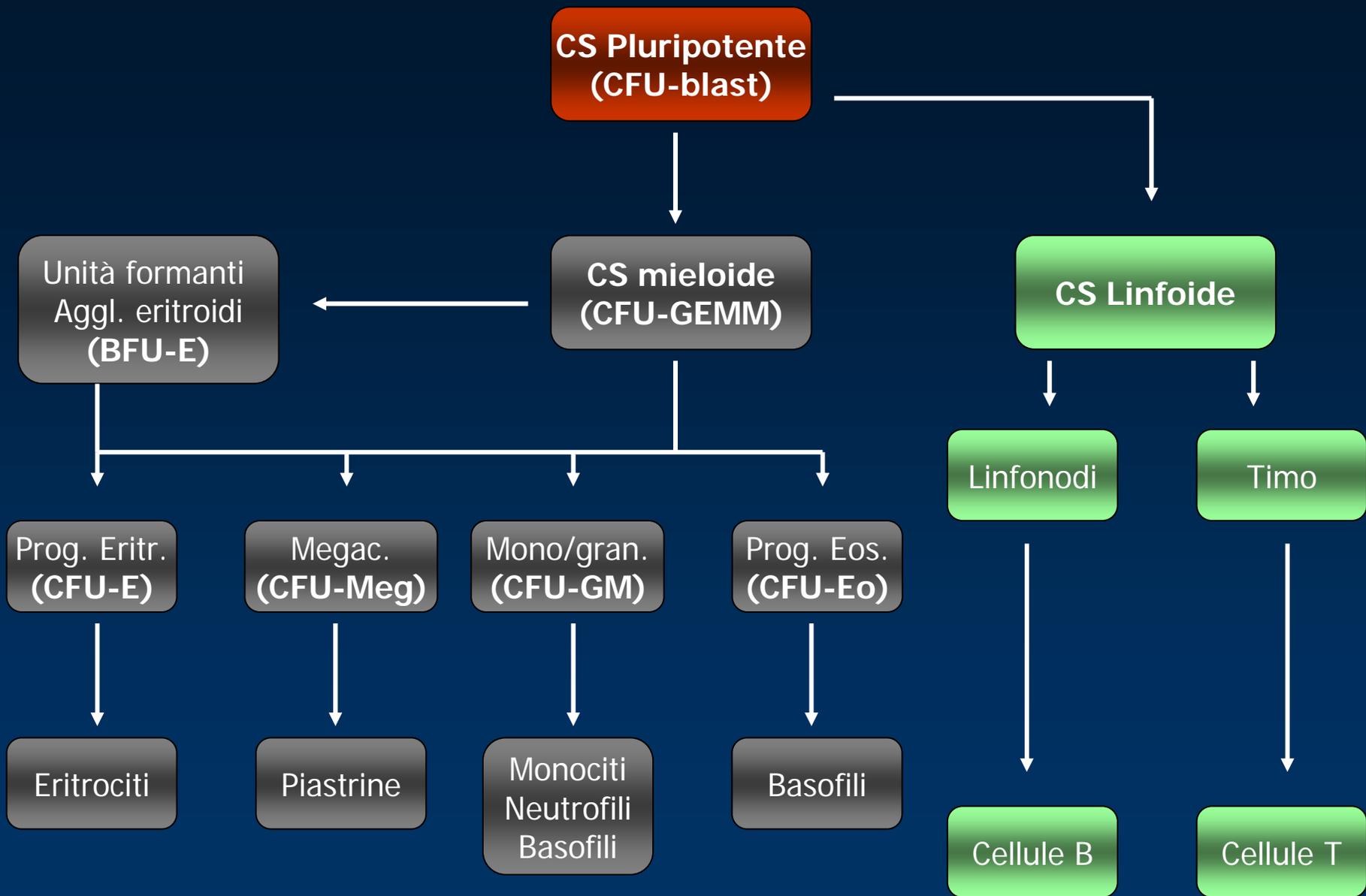
- Il compartimento delle cellule staminali è costituito da rare cellule multipotenti (che sono in grado di trasformarsi in tutte le cellule del sangue) e che possono automantenersi (generare cellule identiche). [Capacità mitotiche limitate]
- Il processo denominato orientamento comporta la transizione verso cellule denominate progenitori emopoietici che hanno la capacità di differenziarsi verso una linea emopoietica. [Capacità mitotica elevata].
- Le cellule riconoscibili nel midollo sono i precursori; essi hanno scarsa capacità di automantenersi ma elevatissima capacità mitotica

Le CS: automantenimento

- Se la capacità di automantenimento del clone di CS è illimitata e le CS sono immortali, esse possono funzionare per tutta la vita
- Se così fosse la emopoiesi sarebbe un fenomeno stabile nella vita
- Vi sono evidenze, invece, che indicano che solo una parte delle cellule staminali è attiva in un certo periodo e che per assicurare una emopoiesi continua è necessaria la produzione di nuove SC

L'evoluzione delle CS ematopoietiche





I progenitori ematopoietici: proprietà

- **AUTOMANTENIMENTO:** capacità di generare cellule non orientate che mantengono le stesse caratteristiche di staminalità e che assicurano il rinnovamento costante dell' emopoiesi
- **RICOSTITUZIONE:** capacità di rigenerare il pool cellulare di alcuni tessuti (nervoso, muscolare, epatico, vascolare etc.) oltre a quello immune ed emopoietico
- **ORIENTAMENTO E MATURAZIONE:** capacità di generare cellule di varie filiere differenziative

Le cellule staminali emopoietiche

Cellule capaci di ricostituire l'emopoesi linfoide e mieloide quando trapiantate.

Caratteristiche fenotipiche:

1. assenza degli antigeni presenti nei progenitori commissionati (lin⁻) e dell' HLA-DR
2. positività dell'antigene CD34 (anche se vi sono SC CD34⁻)

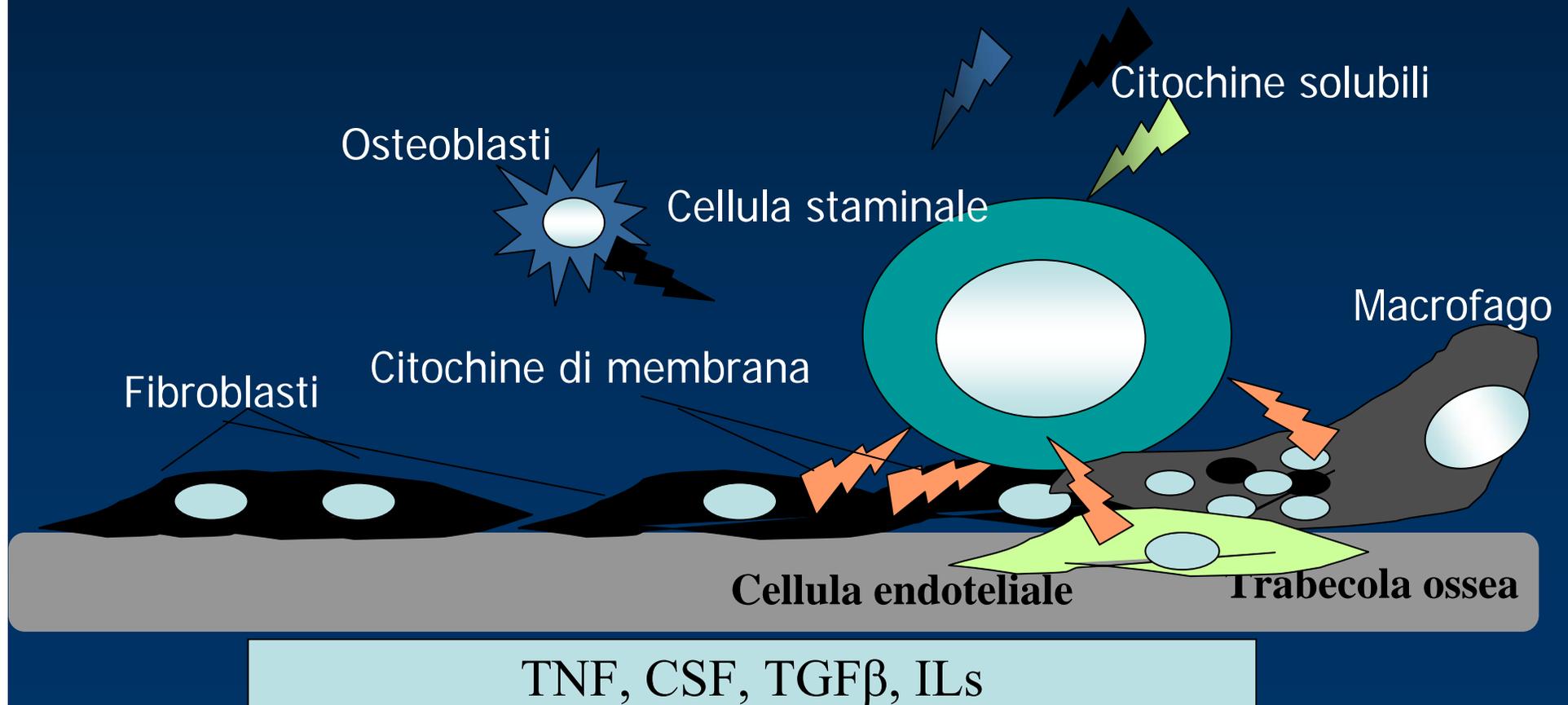
Le cellule staminali: orientamento

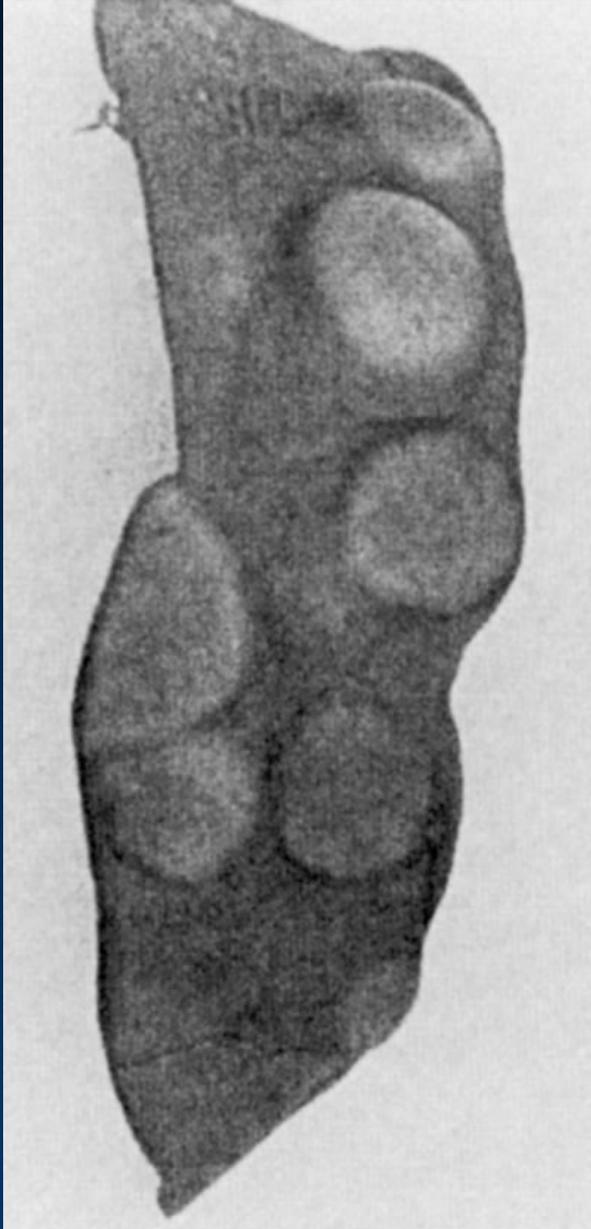
Il pool delle CS si automantiene e cloni di CS vanno incontro a differenziazione. Vi sono due modelli teorici per spiegare il comportamento delle CS:

1. il modello stocastico (l'indirizzo verso l'automantenimento o la differenziazione è basato sulla probabilità)
2. la teoria della "induzione emopoietica indotta dal microambiente"

Le cellule mesenchimali

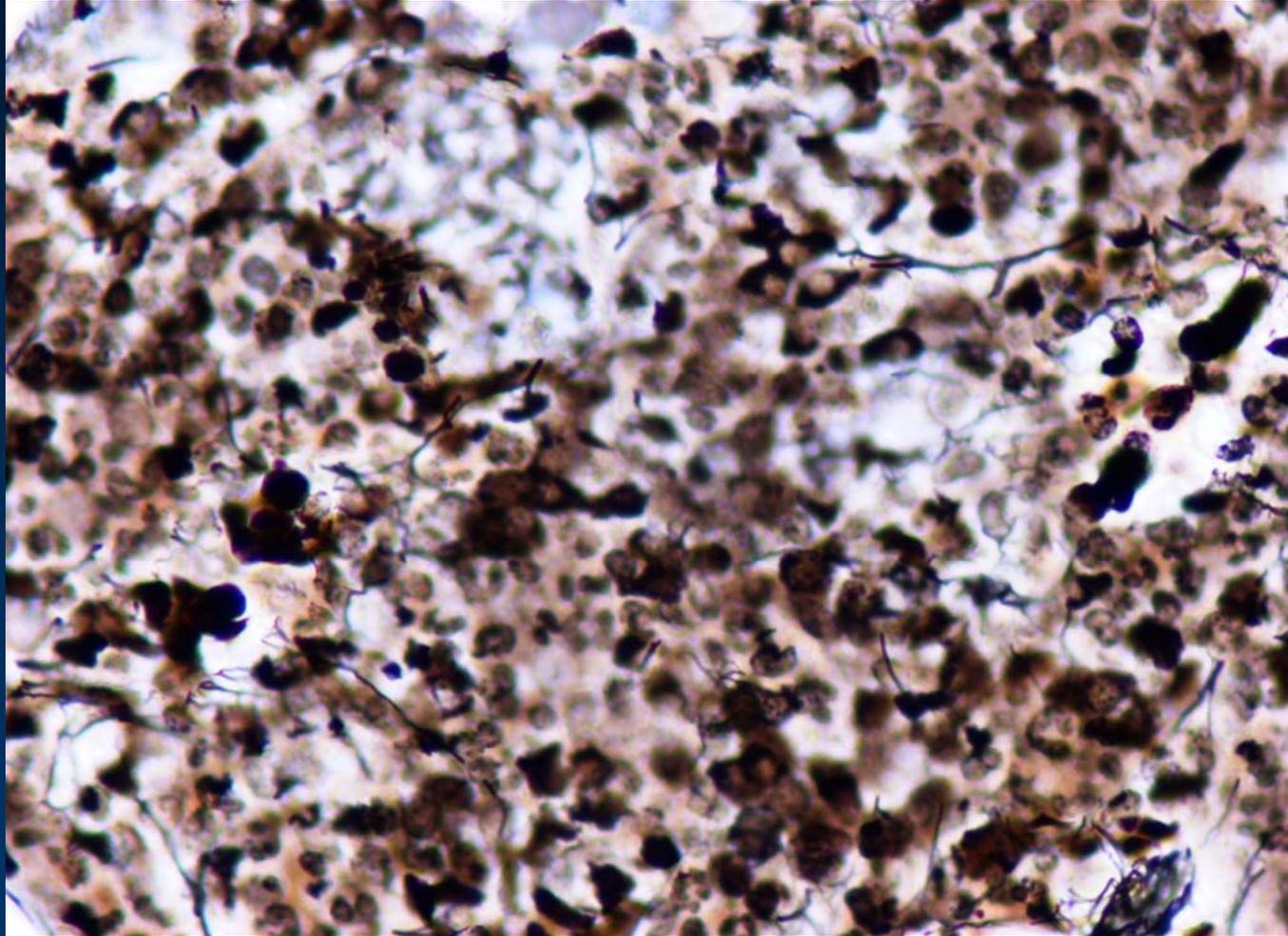
- Fibroblasti, mio-fibroblasti, adipociti, osteoblasti, cellule endoteliali e macrofagi





Spleen colony-forming unit (CFU-S) assay. Macroscopic splenic hematopoietic colonies arising from the CFU-S stem/progenitor cell 14 days after injection of murine bone marrow into lethally irradiated mice

Reticolo normale: argirofilo



Proteine adesive (ligandi) e loro recettori

- Ligandi

proteine della superficie cellulare con la funzione di trattenere le cellule nel midollo:

- VCAM-1 ligando la cui espressione è ridotta da: chemioterapia, G-CSF (Granulocyte Colony-Stimulating Factor)

- ICAM-1

- Recettori adesivi

- Integrine

- Selettine

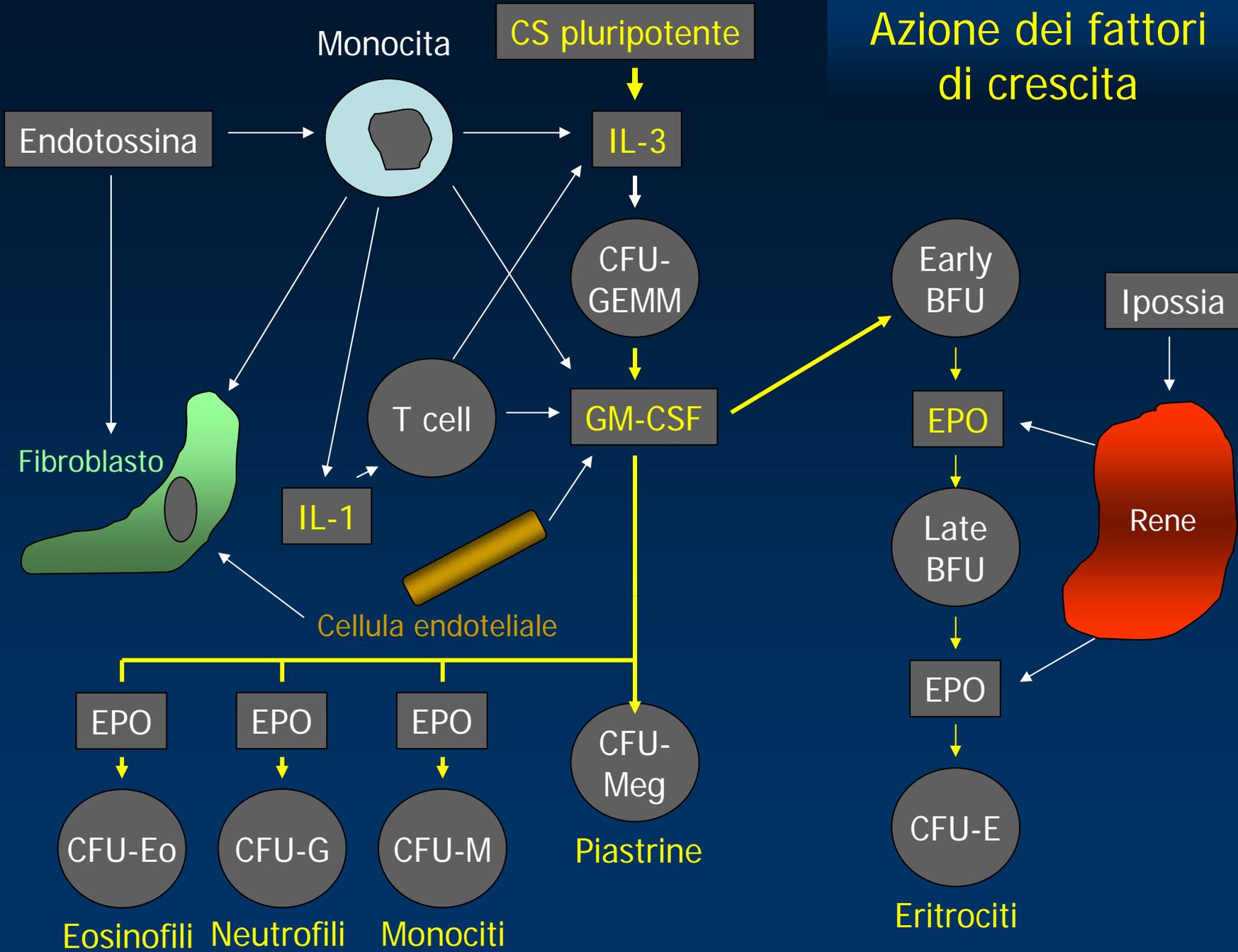
- CD34, CD43, CD45RA, CD164: importanti per il processo di homing e di ritenzione delle CS al midollo

I fattori di crescita emopoietici (I)

L'ematopoiesi è regolata a diversi livelli:

- le cellule emopoietiche hanno capacità maturativa intrinseca
- la matrice extracellulare svolge un ruolo importante
- Gli ormoni di natura glicoproteica denominati Fattori di Crescita Emopoietica (HGF, Hematopoietic Growth Factor) regolano l'emopoiesi

Azione dei fattori di crescita



I fattori di crescita emopoietici (II)

1. Controllano la differenziazione e moltiplicazione giornaliera delle CS in cellule mature
2. Agiscono sulle cellule mature (leucociti) in risposta alle infezioni
3. Vengono chiamati CSF (Colony-stimulating factors) perché essi necessari allo sviluppo delle colonie progenitrici dalle cellule multipotenti
4. Sono prodotti da: linfociti, monociti, macrofagi, cellule endoteliali e fibroblasti

I fattori di crescita emopoietici: classificazione

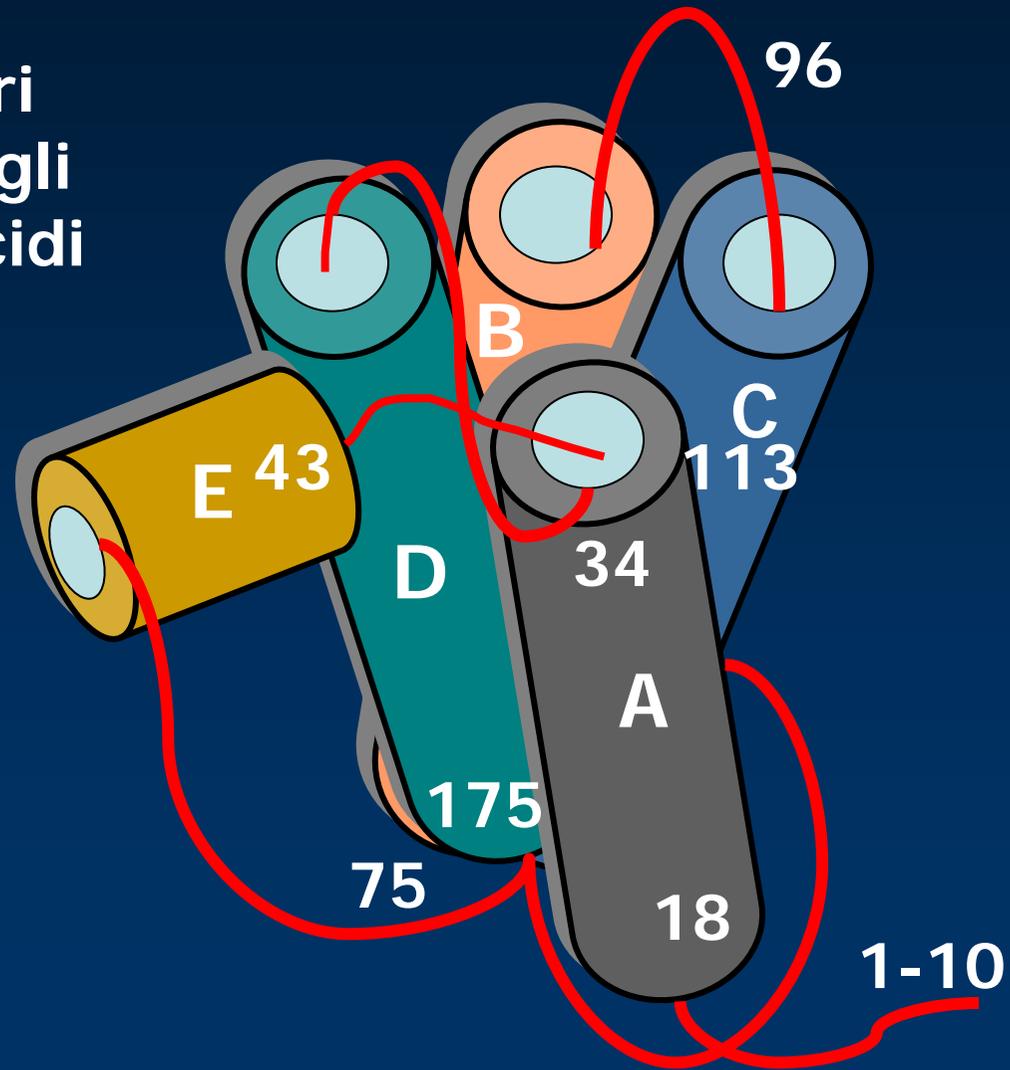
FC "non linea-specifici"	FC "linea-specifici"
Agiscono sulle cellule multi o totipotenti per l'automantenimento e differenziazione	Agiscono sulle cellule "committed" per la loro differenziazione e differenziazione (stadi più avanzati)
Multi-CSF o IL-3 Per la formazione e differenziazione di colonie di granulociti, macrofagi, eosinofili, mast-cell, cellule eritroidi, megacariociti	G (granulocyte)-CSF M (monocyte)-CSF Eo (Eosinophil)-CSF
GM-CSF Formazione delle colonie di granulociti e monociti	Linfociti e monochine, rispondono all'infezione e risposta immune (IL-1)

CSF, HGF e IL

- Il termine Colony Stimulating Factor (CSF) è un termine generico utilizzato per significare sostanze ormonali capaci di stimolare la crescita di colonie ematopoietiche *in vitro*.
- Il termine Hematopoietic Growth Factor (HGF) indica specifici ormoni capaci di agire *in vivo* a diversi livelli.
- Il termine Interleukina (IL), originariamente indicava molecole che erano necessarie per le interazioni fra cellule immuni. Oggi con questo termine si indica una classe di molecole attive nella cascata emopoietica, multi- o mono-lineari appartenenti alla famiglia degli HGF (citochine).

G-CSF come esempio della struttura di una citochina

I numeri
indicano gli
amino-acidi



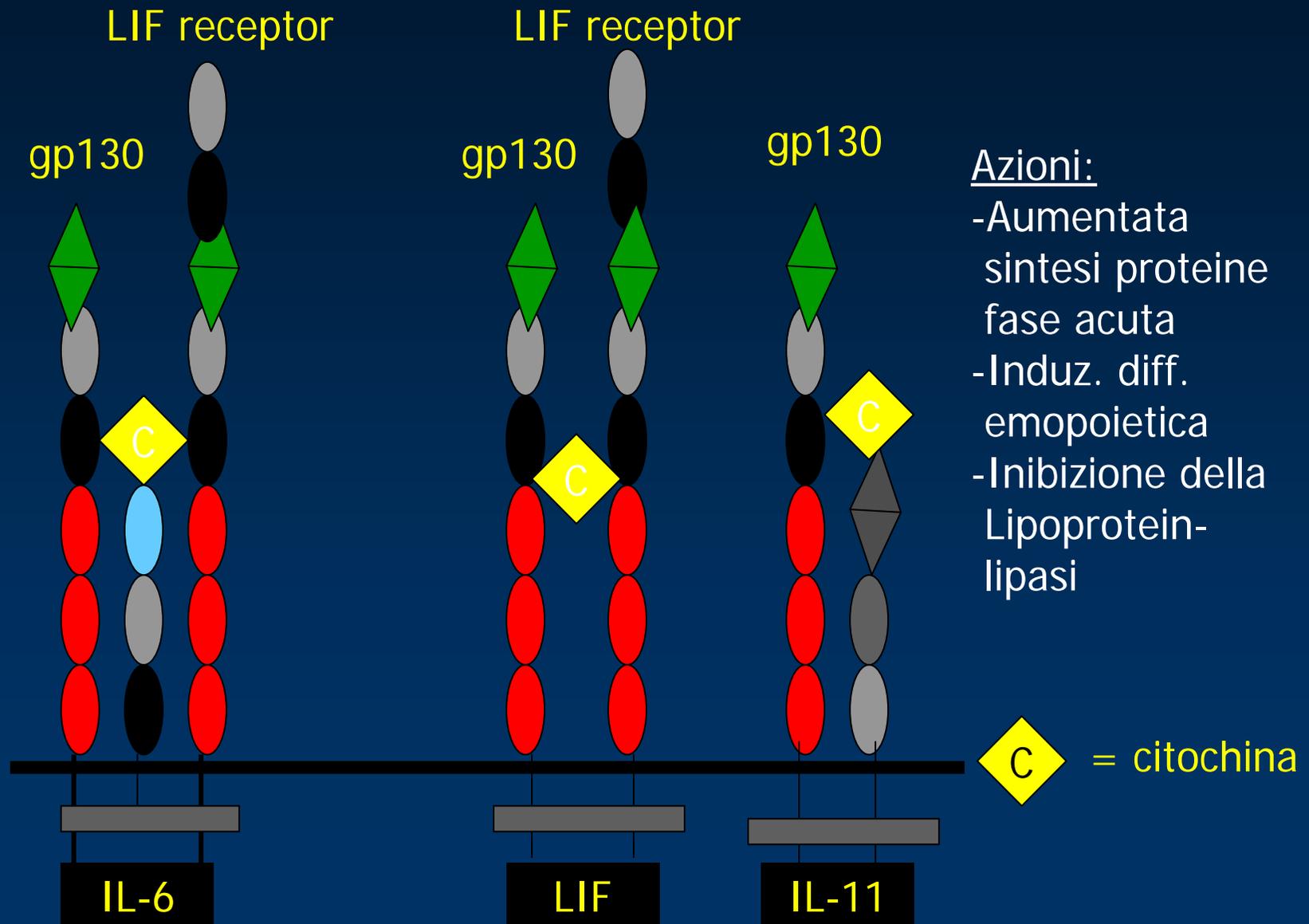
Sintesi ed effetti

- Molte citochine sono prodotte dalle cellule stromali del midollo e agiscono a livello midollare e spesso agiscono in siti ben precisi e specifici.
- I fattori di crescita agiscono:
 - inducendo la proliferazione dei progenitori emopoietici
 - attivando le cellule mature
 - stimolando le funzioni delle cellule mature
 - stimolando la produzione di altri HGF

Espressione

- Non vi sono dati sperimentali certi sulla produzione degli HGF in vivo. Unica eccezione è la trombopoietina (TPO) che è prodotta costitutivamente ed il livelli regolati dal consumo.
- La trascrizione dei geni del GM-CSF (Granulocyte/Macrophage CSF), G-CSF ed M-CSF (Macrophage CSF) è presente nella grande maggioranza delle cellule analizzate, anche in assenza di stimoli, ma i trascritti sono degradati rapidamente nel traffico intra-citoplasmatico.
- In vitro, i fibroblasti e le cellule endoteliali producono spontaneamente M-CSF.
- Gli effetti biologici delle citochine sono mediati dal legame a rari (sulla superficie cellulare) ma specifici recettori ad alta affinità.

Esempi di recettori di citochine



Legame recettoriale (I)

- I recettori per le citochine consistono in un porzione extracellulare deputata al legame ed in una porzione intracellulare che serve ad attivare chinasi citoplasmatiche che inducono la differenziazione e la proliferazione.
- Le alterazioni dei domini intracitoplasmatici alterano l'omeostasi cellulare favorendo la proliferazione senza maturazione: il risultato può essere in una neutropenia grave o in una LAM

Legame recettoriale (II)

- Il G-CSF esercita la propria azione tramite un recettore di membrana che appartiene alla "superfamiglia " dei *Recettori di citochine di Classe I* ovv. *Recettori ematopoietinici*.
- Dal punto di vista strutturale tali recettori sono caratterizzati da residui cisteinici altamente conservati e da una sequenza
triptofano-serina - x – triptofano-serina
circa 200 a.a. all'esterno della membrana cellulare (Cytokine-Receptor-Homology, CRH) che è essenziale per il ligando.
- Vi sono meccanismi comuni ma anche meccanismi specifici per trasmettere i segnali caratteristici di ogni citochina

Produzione endogena di citochine (I)

- La EPO fornisce l'esempio più chiaro per quanto riguarda la produzione endogena di citochine, in quanto si conosce il sito esclusivo di produzione (apparato iuxtaglomerulare)
- La TPO fornisce un altro esempio riguardante il rapporto fra livelli sierici e produzione di piastrine (unico agonista del suo recettore (c-MPL) ed è la citochina regolatrice della produzione piastrinica.

Produzione endogena di citochine (II)

- Nel caso della mielopoiesi la situazione non è chiara: il GM-CSF difficilmente si trova in circolo; si ritiene che agisca a livello locale.
- Al contrario i livelli sierici di G-CSF aumentano in svariate situazioni (infezioni, esposizione ad endotossina): i livelli più elevati si riscontrano nelle gravi neutropenie febbrili.
- Nei pazienti con neutropenia ciclica i livelli di G-CSF fluttuano in modo concorde ed inverso alla conta dei neutrofili.

Produzione endogena di citochine (III)

- L'ipotesi più accreditata per spiegare il comportamento differente tra GM-CSF (az. locale) e del G-CSF (az. sistemica) consiste nel fatto che il G-CSF circola nel sangue e stimola la neutropoiesi, mentre il GM-CSF agisce attivando le cellule a livello locale
- Il controllo dei livelli è sulla base del consumo/rimozione della citochina in seguito al legame recettoriale

Ruolo fisiologico delle citochine (I)

- Gli studi sugli animali “knock-out” hanno contribuito notevolmente a comprendere questo aspetto:
 - Il topo carente in IL-7 ha una immuno-deficienza molto più grave di quello carente in IL-2 o IL-4
 - Il topo carente in GM-CSF ha una emopoiesi relativamente normale, mentre quello carente in G-CSF è gravemente neutropenico, con alterata funzione dei neutrofili. *Ciò significherebbe che il G-CSF è la citochina di primaria importanza per la regolazione dei livelli dei neutrofili in condizioni di emergenza (infezioni, neutropenie)*

Ruolo fisiologico delle citochine (II)

- Nel topo knock-out omozigote per la TPO (TPO-/-) il numero delle piastrine e megacariociti è <20% della norma (normale crescita, normale riproduzione, normale emostasi), mentre nel topo eterozigote (TPO-/+) i livelli delle piastrine sono del 60% della norma.
- Poiché in assenza di TPO i megacariociti sono presenti, si ritiene che il ruolo della TPO sia quello di amplificare il sistema di produzione delle piastrine.

Fattori di crescita e differenziazione emopoietica

(Azione primaria sulla proliferazione e differenziazione e su attività funzionali delle cellule emopoietici)

CLASSE

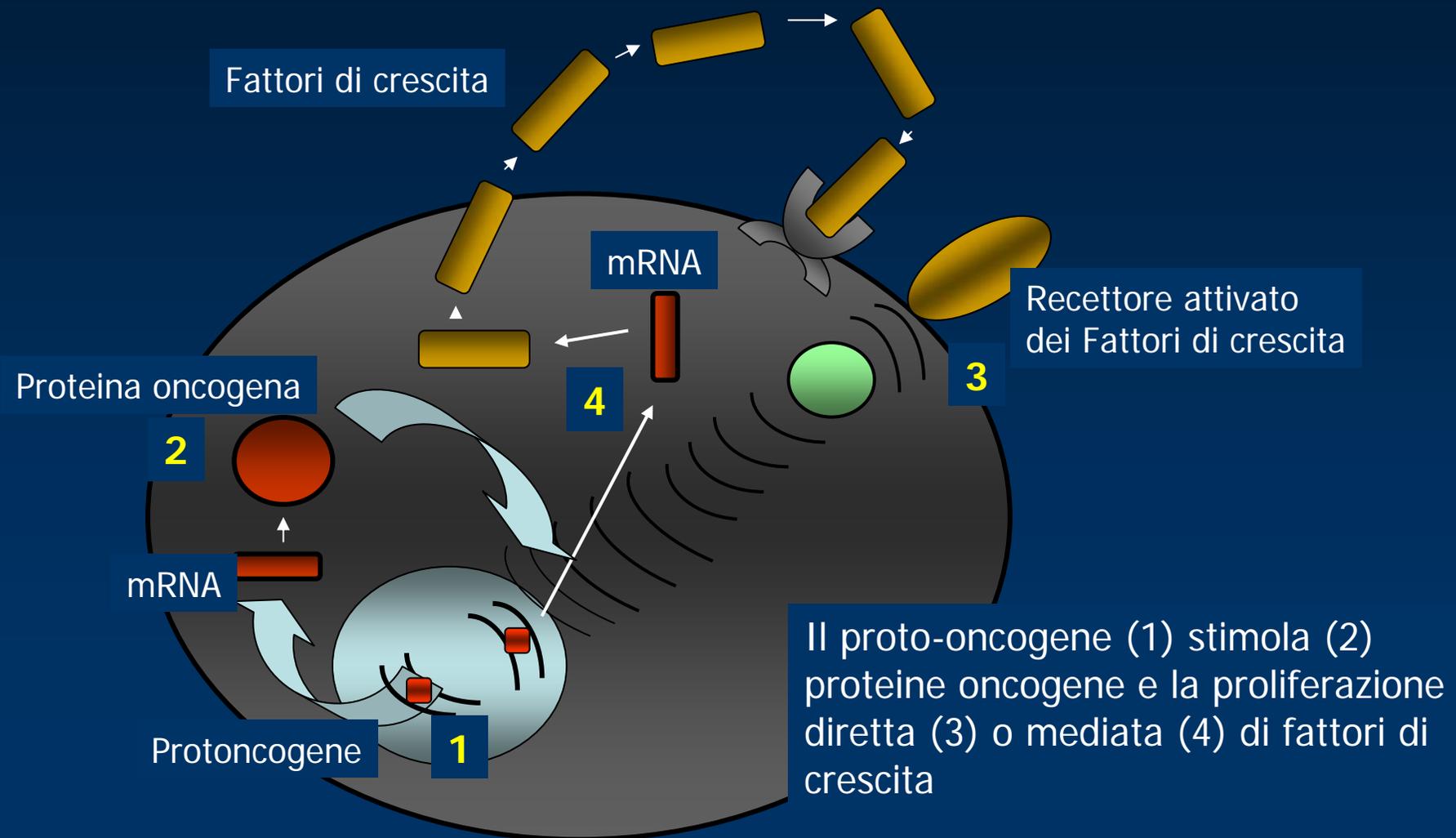
AZIONE
MULTILINEARE

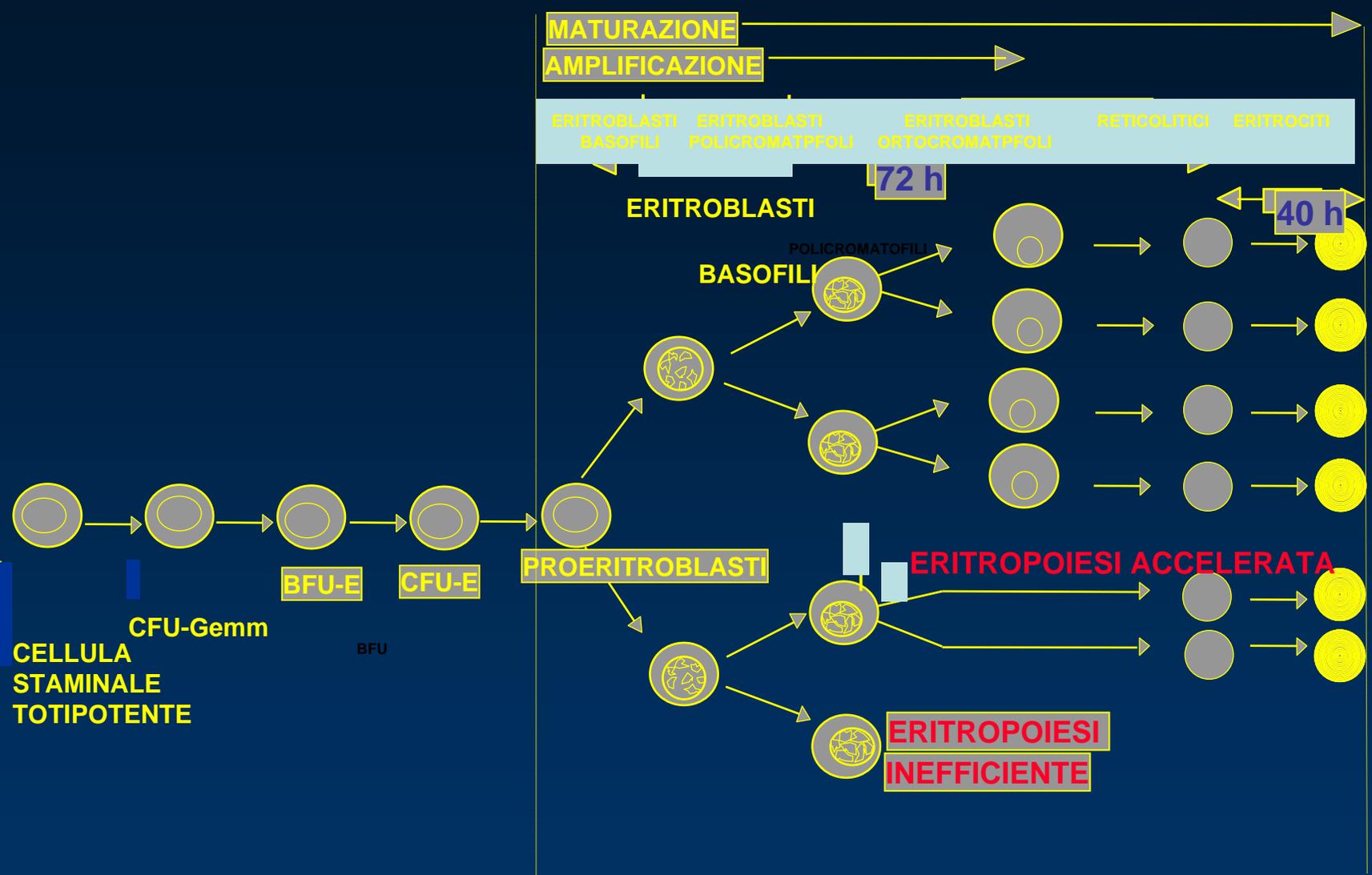
FATTORE

IL3
(Interleuchina 3)

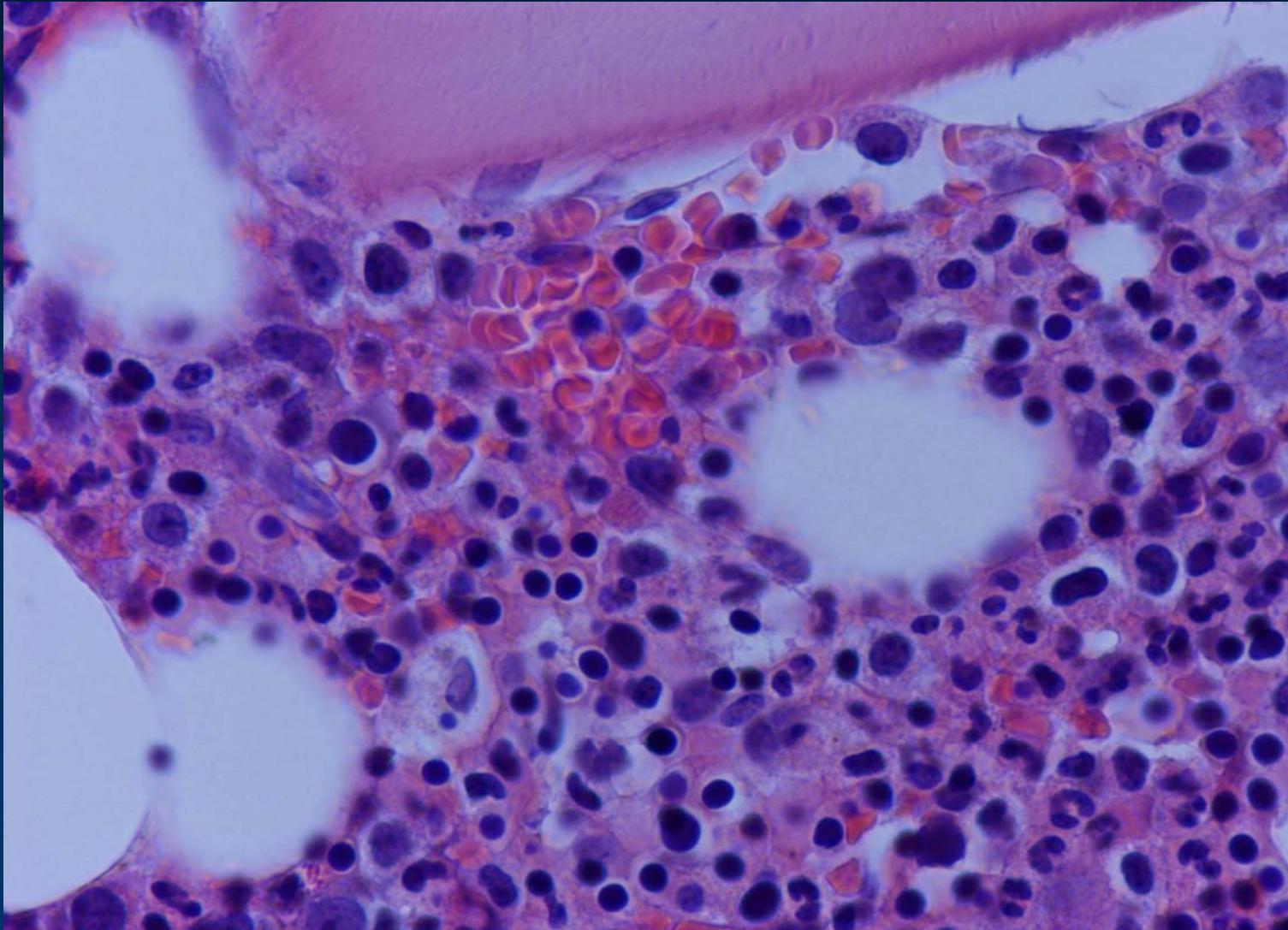
GM-CSF
(Granulocyte –
Monocyte Colony
Stimulating Factor)

Meccanismo autocrino di trasformazione cancerogena

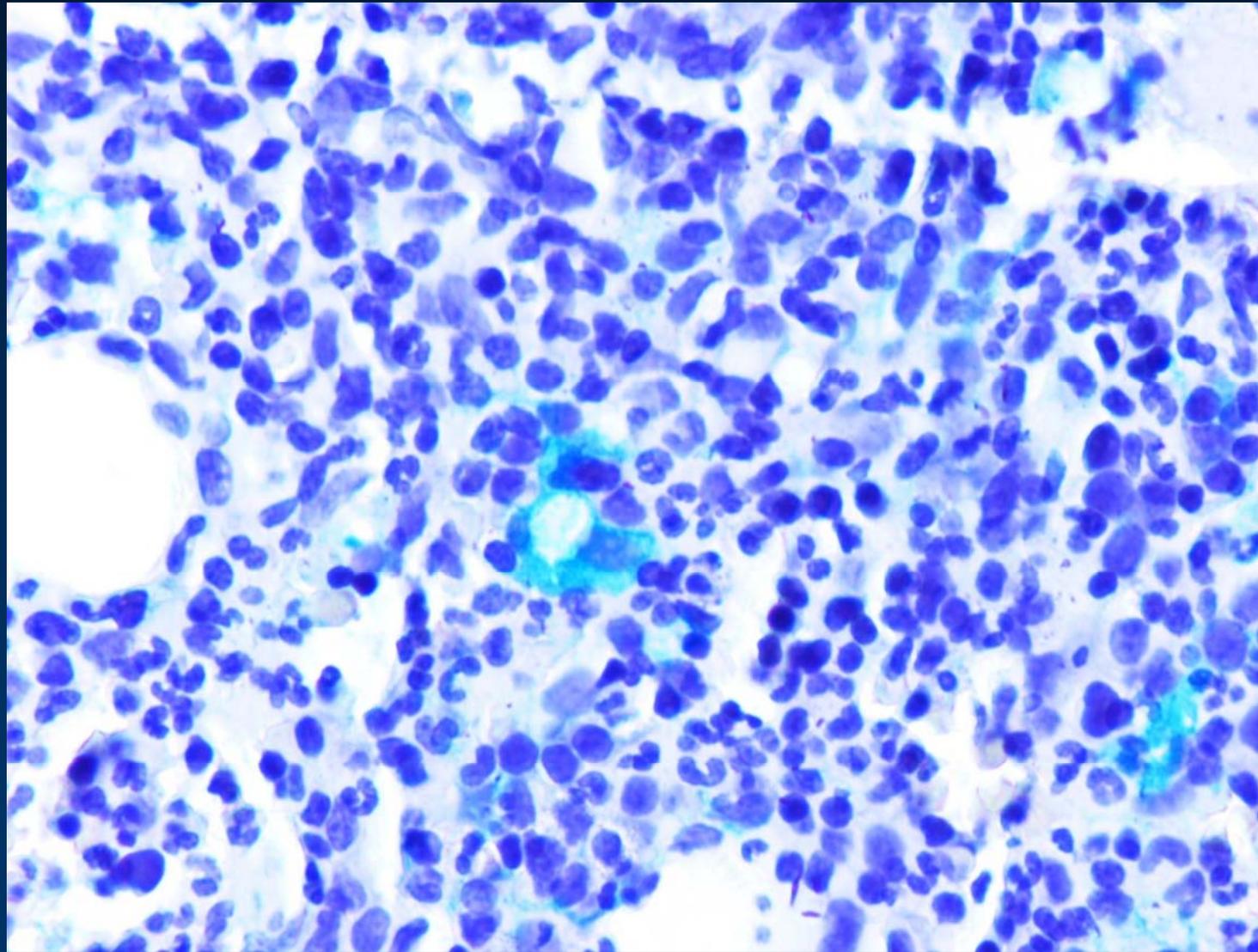




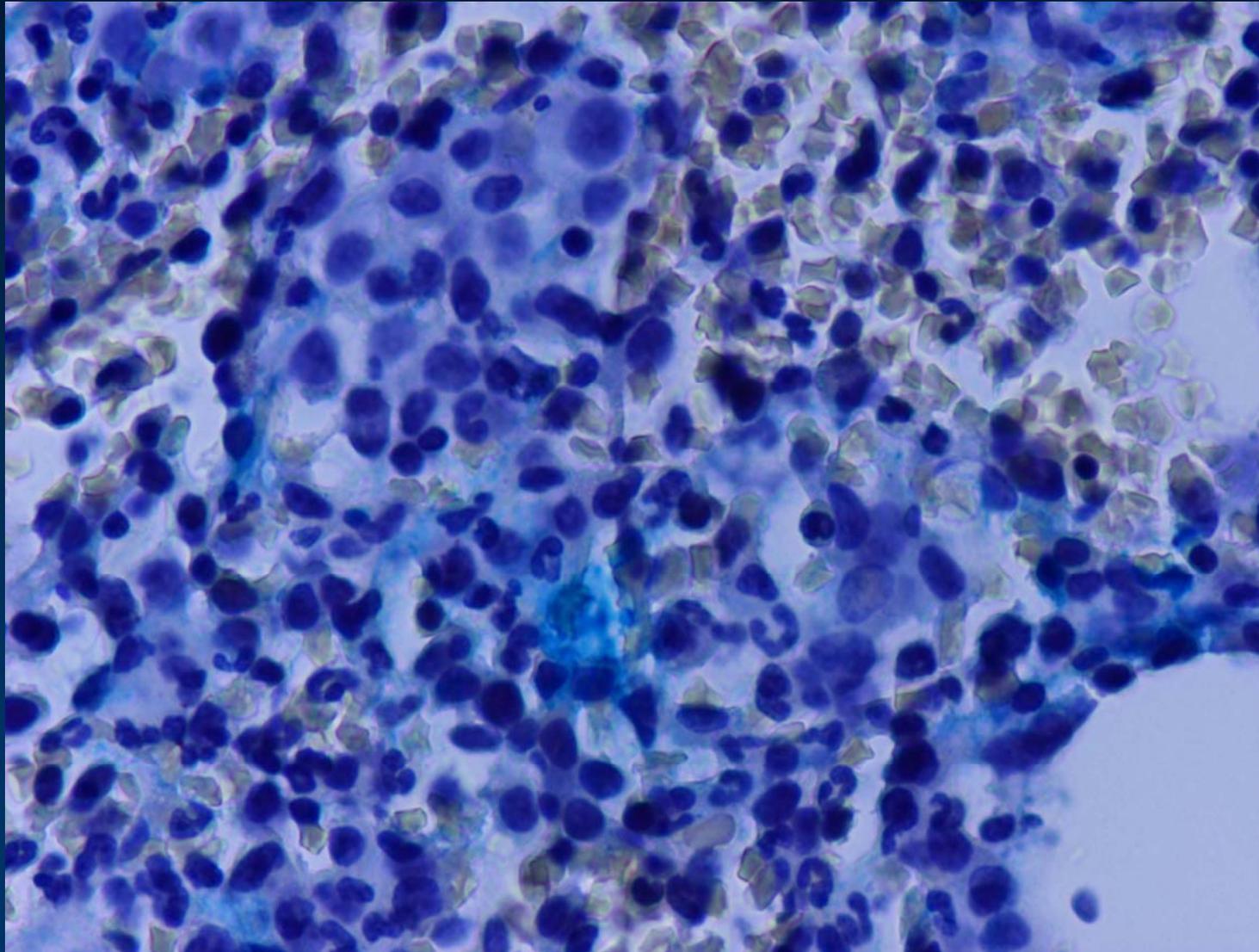
Lacuna vascolare paratrabecolare



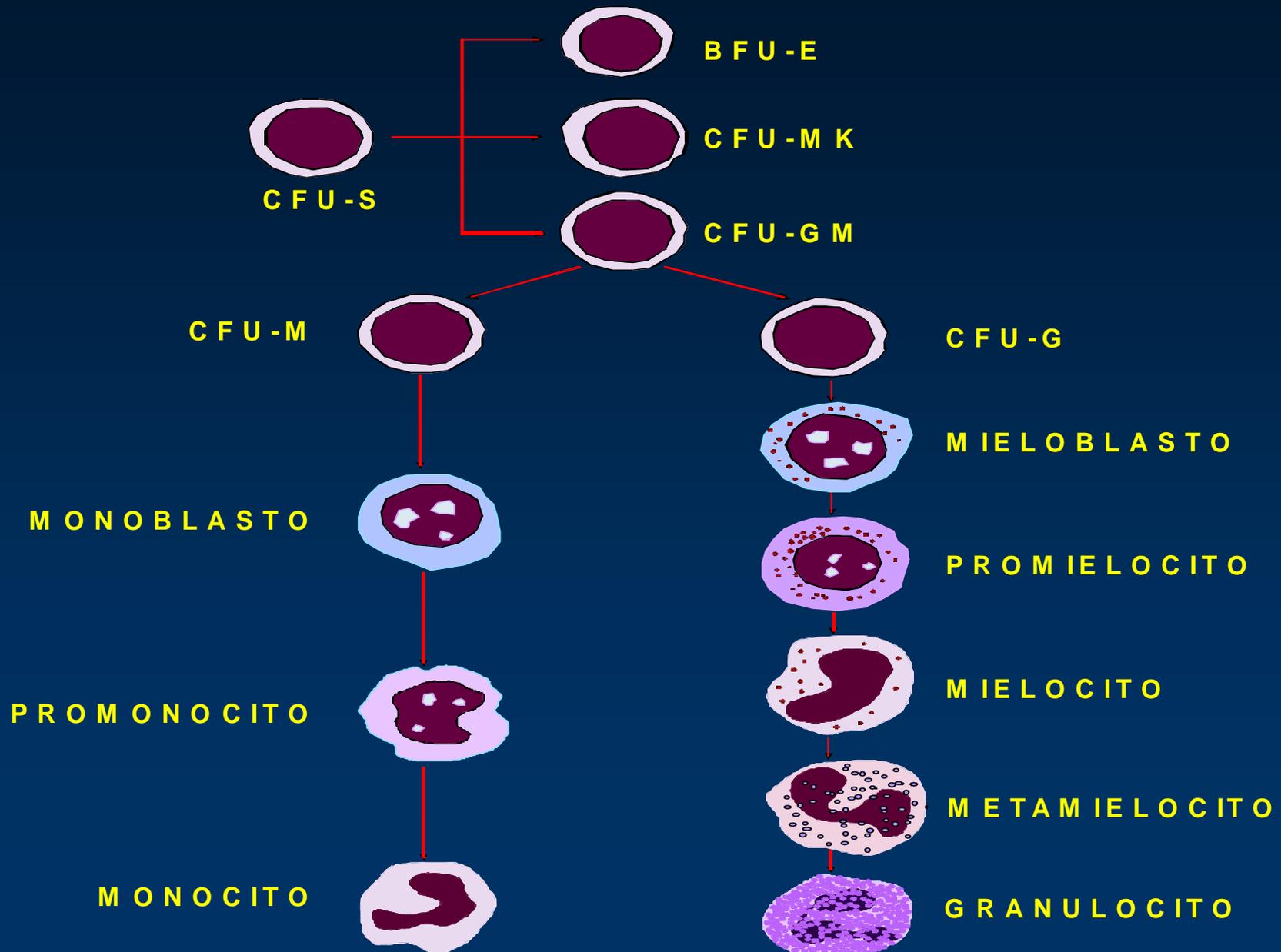
Eritrone



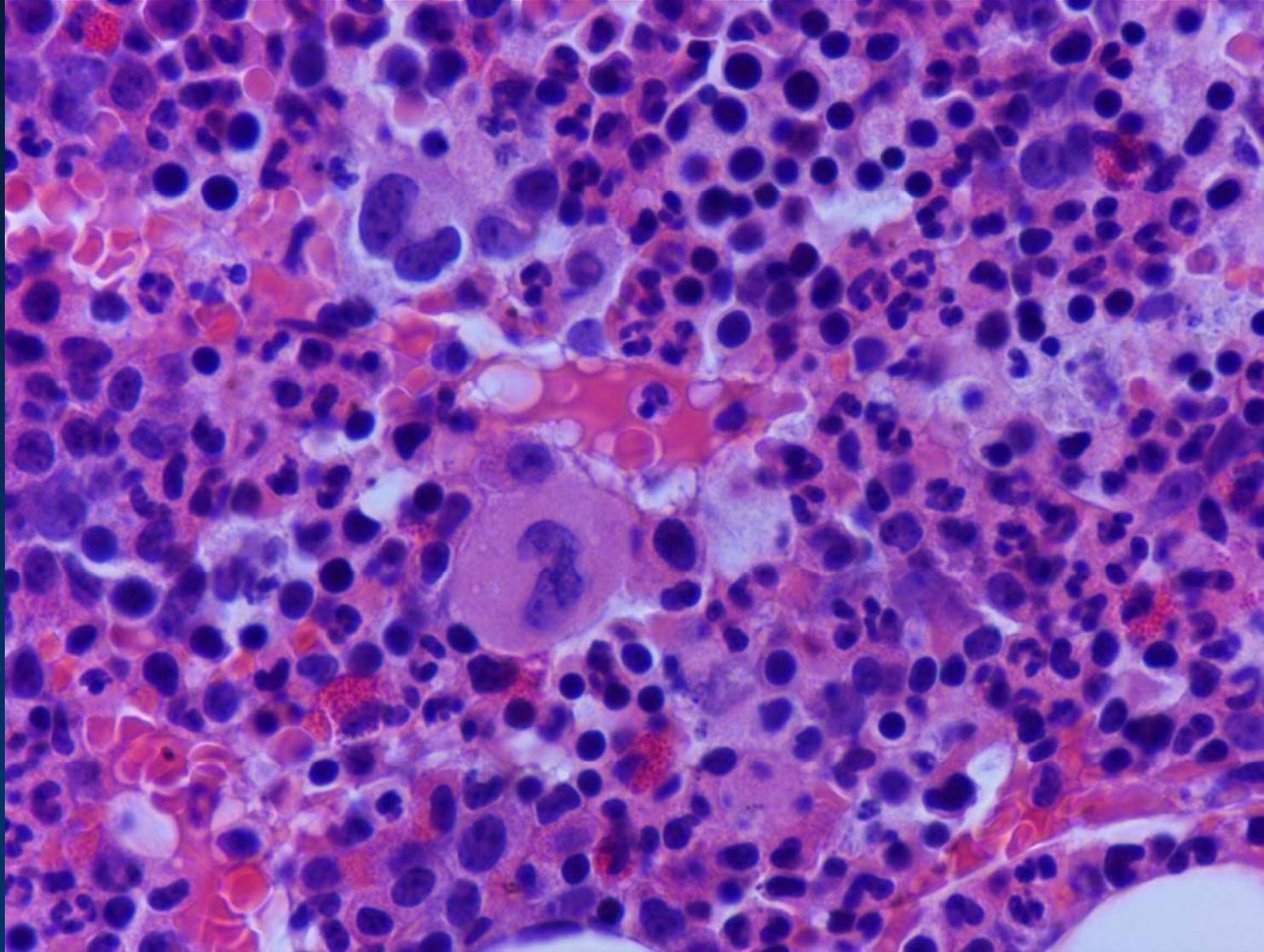
Eritrone



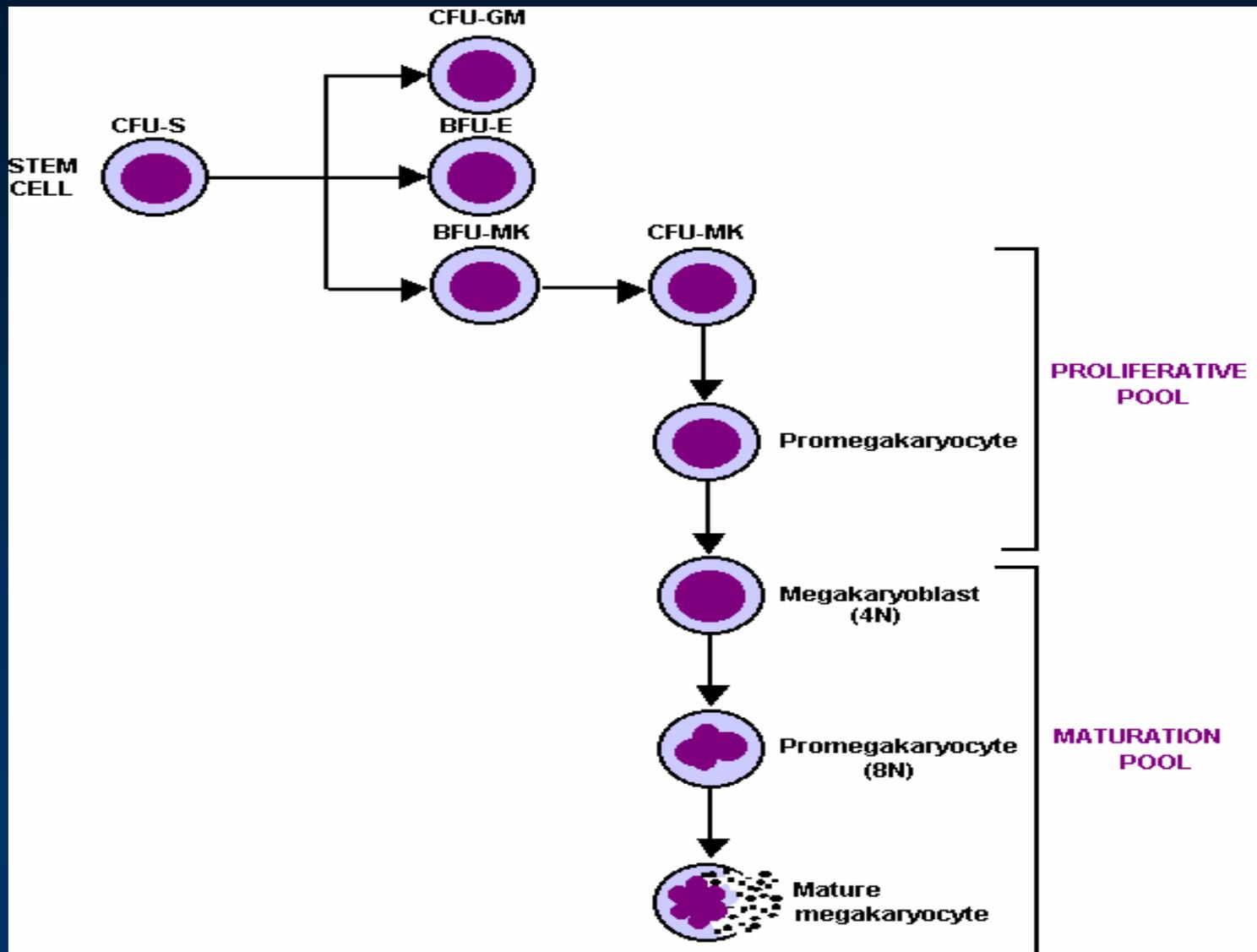
GRANULOCITOPOIESI E MONOCITOPOIESI



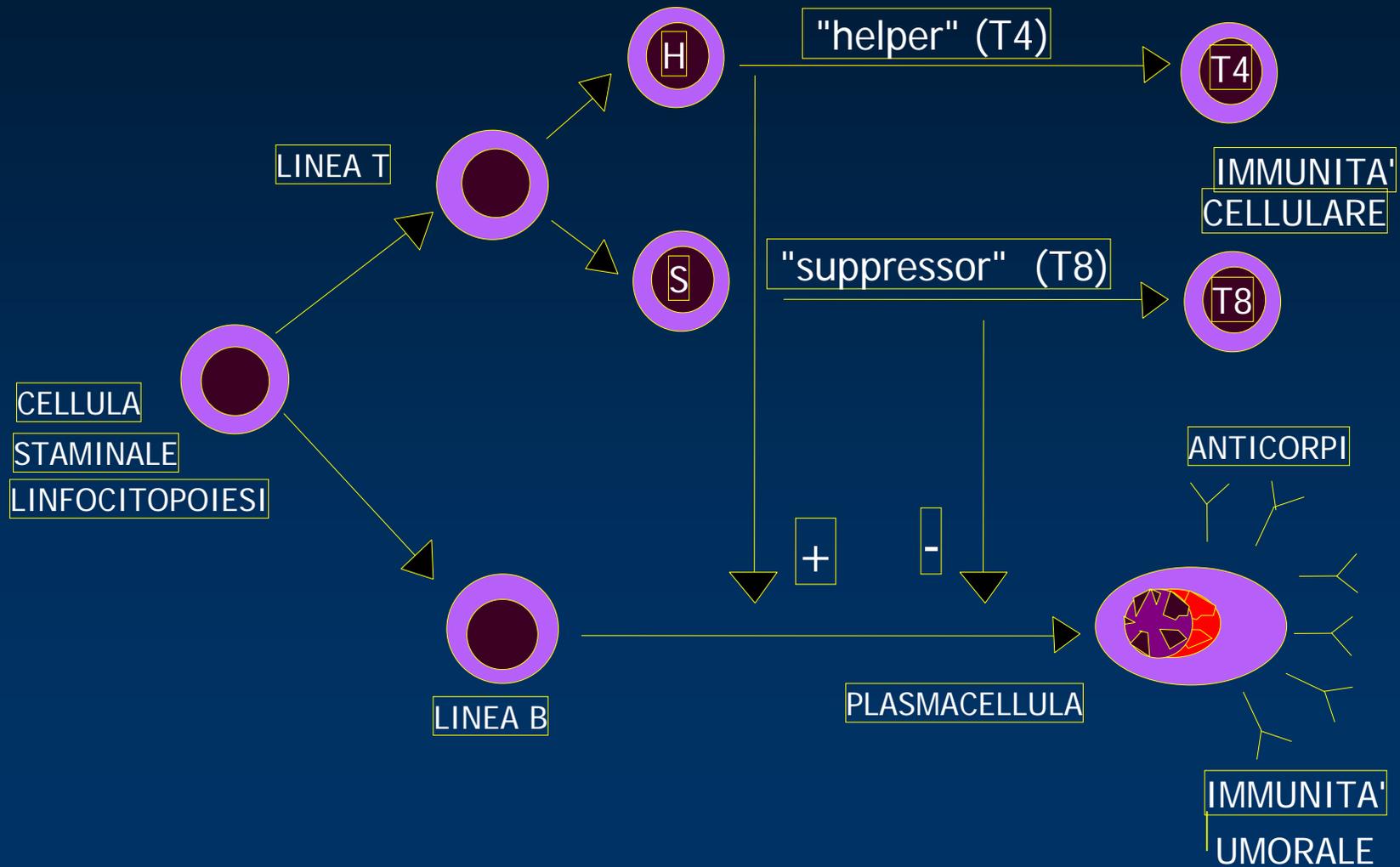
Megacariociti



Trombocitopoiesi



Organizzazione del sistema immunocompetente



FATTORI DI CRESCITA E DIFFERENZIAMENTO EMPOIETICA

(Azione su linfo-poiesi e altri sistemi cellulari con effetto "mediato " tramite cellule "accessorie")

CLASSE

FATTORE

AZIONE MISTA
E INDIRECTA

IL 1

IL 2

IL 3

IL 4

IL 5 (Eosinofili)

CLASSE

FATTORE

AZIONE MISTA E INDIRECTA	TNF	(Tumor Necrosis Factor)
	PDGF	(Plateled Der. Growth Factor)
	EGF	(Epidermal Growth Factor)
(Interferoni)		IFN α , β , δ

CLASSE

FATTORE

AZIONE
Colony)

G-CSF (Granulocyte

MONOLINEARE
Factor)

Stimulating

O RISTRETTA

M-CSF (Monocyte Colony
Stimulating Factor)

EPO (Eritropoietina)

TPO (Trombopoietina)

Azione dei vari FC sulle cellule emopoietiche

Pool
cellule staminali

LIF

IL-11

IL-12

IL-6

IL-1

SCF

G-CSF

Pool
proliferativo

IL-11

IL-9

IL-6

IL-3

SCF

GM-CSF

G-CSF

Azione dei fattori di crescita sulle popolazioni midollari in rapporto alla maturazione

Pool maturativo

EPO

G-CSF

GM-CSF

M-CSF

Cellule mature

G-CSF

GM-CSF

IL-8

IL-5