

Capítulo

3

LEUCOPOYESIS

Marcelo Alarcón, Carolina Espinoza, Eduardo Fuentes, Ulises Vergara, Iván Palomo

Resumen

1. Introducción

2. Granulomonopoyesis

- 2.1. Estadios madurativos
- 2.2. Factores de maduración

3. Linfopoyesis

- 3.1. Células B
- 3.2. Células T
- 3.3. Células ILC

4. Lecturas sugeridas

RESUMEN

Las células sanguíneas (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) se forman en la médula ósea a partir de células pluripotentes, a través de un proceso finamente regulado. Una característica distintiva del sistema hematopoyético es que las células maduras poseen una vida media corta, de modo que la hematopoyesis es necesariamente un proceso continuo durante la vida. En mamíferos, el sistema hematopoyético comprende una jerarquía de células en donde la célula troncal hematopoyética o “stem cell”, es la base. En este contexto, la leucopoyesis se refiere al proceso de generación de leucocitos a partir de las células madres hematopoyéticas pluripotentes de la médula ósea. En este capítulo se revisan los aspectos más importantes de la granulopoyesis y linfopoyesis.

1. INTRODUCCIÓN

Las células sanguíneas (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) se originan en la médula ósea mediante un complejo proceso de diferenciación y maduración celular. En este proceso denominado hematopoyesis participan varios factores de maduración. También es fundamental la participación de las moléculas de adhesión celular, presentes en las células hematopoyéticas, en las células del estroma y en la matriz extracelular. Este capítulo describirá los aspectos fisiológicos fundamentales de la leucopoyesis.

2. GRANULOMONOPOYESIS

La granulomonopoyesis es el proceso por el cual se forman, diferencian y maduran los granulocitos (eosinófilos, basófilos y neutrófilos) y las células del sistema fagocítico mononuclear (monocitos y macrófagos).

Tanto los granulocitos como los monocitos y macrófagos, derivan de células llamadas Unidad Formadora de Colonias de Granulocitos-Macrófagos (GM-CFU).

Los granulocitos siguen un patrón similar en su desarrollo en la médula ósea y en su liberación a la circulación.

2.1. Estadios madurativos

Durante el proceso de maduración y diferenciación de los granulocitos se observan las siguientes características citológicas: (i) reducción del tamaño celular, (ii) adquisición de granulación específica y (iii) segmentación nuclear.

En la médula ósea el compartimiento mitótico está formado por células que tienen la capacidad de división, compuesto por mieloblastos, promielocitos y mielocitos. El compartimiento de maduración comprende metamielocitos, ba-

ciliformes y segmentados, siendo esta la célula más madura correspondiente a eosinófilos, neutrófilos o basófilos (Figura 3-1).

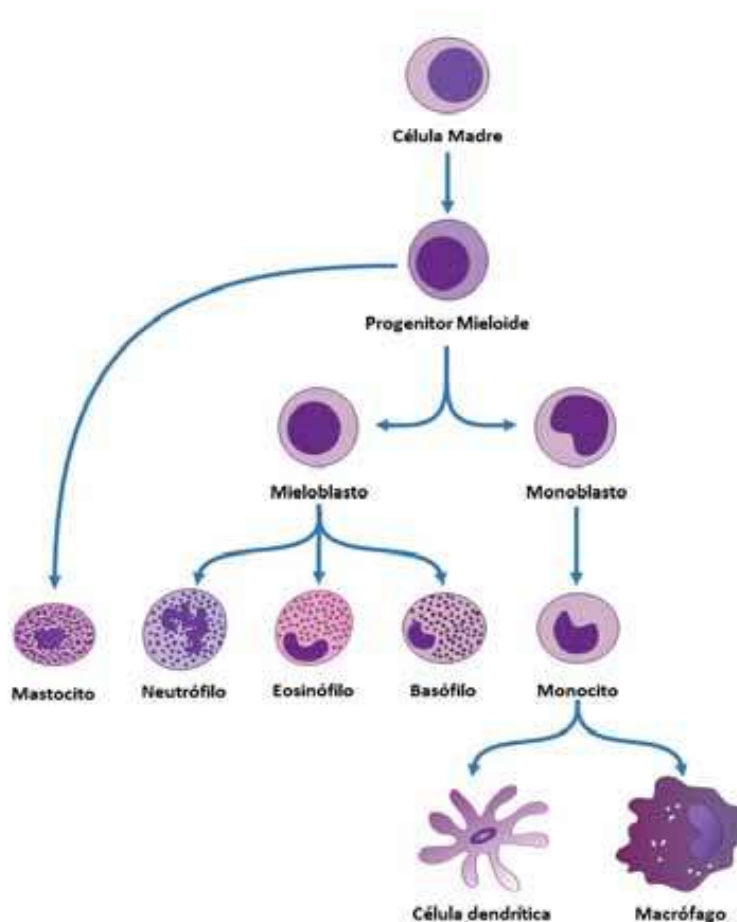


Figura 3-1. Estadios madurativos de la granulomonopoyesis.

Los monocitos y macrófagos derivan de la maduración de las CFU a monoblastos, promonocitos y monocitos, los cuales son liberados a circulación donde permanecen alrededor de 12 horas, para luego migrar a los tejidos, donde reciben el nombre de macrófagos.

2.2. Factores de maduración

Las CFU tienen la capacidad de formar y desarrollar colonias in vitro en medios de cultivos semisólidos, para lo cual requieren la presencia de moléculas regulatorias específicas, entre las que destacan citoquinas que actúan sobre distintas células, dependiendo de la presencia de receptores en la superficie celular.

Las principales acciones de estas citoquinas son: (a) mejorar la supervivencia y proliferación celular, (b) inducir la diferenciación celular y (c) activar las células maduras. El proceso de proliferación sería estimulado por la participación de estos factores en el paso de G₀ a G₁ en el ciclo celular. En cultivos celulares, en los cuales se suprime la adición exógena de estos factores y se bloquea la síntesis

endógena de estos, se acelera el proceso de apoptosis, y sería de esta manera como influyen en la sobrevivencia celular.

Entre los CSF involucrados en la granulomonopoyesis se encuentran:

Factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF). Es secretado por linfocitos T, macrófagos, células endoteliales, fibroblastos y una variedad de células neoplásicas. Es un factor estimulador de colonias multilinaje, que promueve el crecimiento de células progenitoras pertenecientes a los linajes de neutrófilos, basófilos, eosinófilos y monocitos.

Factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF). Es secretado por células endoteliales, fibroblastos, macrófagos, y células neoplásicas. Es un estimulador primario de la proliferación y diferenciación de las CFU comprometidas en el linaje de neutrófilos. Además, es un potente activador de neutrófilos maduros, favoreciendo la fagocitosis y quimiotaxis.

Factor estimulador de colonias de monocitos-macrófagos (M-CSF). Es un factor de linaje específico para células progenitoras y células maduras pertenecientes al linaje monocitos-macrófagos. Tiene efectos sobre la función de monocitos maduros. Mejora la actividad antitumoral de los monocitos. Existe una forma soluble y una forma biológicamente activa unida a la membrana.

IL-3. Es producida por linfocitos T activados, pero también por mastocitos. Estimula el crecimiento y diferenciación de múltiples linajes, incluyendo granulocitos, macrófagos, megacariocitos, eritrocitos y mastocitos. Promueve el crecimiento de células relativamente primitivas. También potencia la actividad funcional de eosinófilos, basófilos y monocitos.

"Stem cell factor". Es una citoquina altamente pleiotrópica con múltiples actividades sobre células mieloides y linfoides; también sobre células no hematopoyéticas. Se expresa en una variedad de órganos (hígado, pulmón, riñón) y especialmente en cerebelo. Sobre las células hematopoyéticas, preferencialmente promueve el crecimiento de progenitores celulares relativamente primitivos. Este factor es producido en una forma unida a la membrana y en una forma soluble. Como factor soluble, tiene actividad limitada sobre la formación de colonias mieloides.

"Flt-3 ligand". La identificación de este factor deriva del reconocimiento de su receptor Flt-3 en humanos. El Flt-3 se expresa en monocitos, pero no en granulocitos. Como factor aislado tiene un modesto efecto proliferativo. El papel Flt-3 es ser un factor sinérgico para las células hematopoyéticas progenitoras primitivas.

Los factores de crecimiento, en forma individual, actúan sobre múltiples linajes hematopoyéticos y cada linaje puede ser regulado por varios factores. Otra propiedad de muchos factores de crecimiento, es su interacción sinérgica. Por

ejemplo, la máxima producción de eosinófilos in vitro, requiere la presencia combinada de IL-3 y GM-CSF e IL-5.

3. LINFOPOYESIS

3.1. Células B

Las células B y células T presentan un proceso de diferenciación y maduración diferente, en el caso de los LB estos maduran en la médula ósea y en el caso de los LT el proceso ocurre en el Timo, ambos llamados órganos linfoides primarios. El proceso de maduración de los linfocitos B involucra dos etapas, una antígeno-independiente, que ocurre en la médula ósea y otra antígeno-dependiente que ocurre, fundamentalmente, en los órganos linfoides secundarios (ganglios linfáticos, bazo y otros tejidos linfoides), lugar en el cual los linfocitos B específicos para un determinado antígeno, toman contacto con este. En este capítulo nos referiremos a la primera etapa.

Se ha identificado una célula progenitora (linfoide) capaz de diferenciarse específicamente hacia el linaje de las células linfoides (células B, T y NK). Esta célula progenitora linfoide correspondería al estado más temprano de diferenciación linfocitaria, que se caracteriza por una alta actividad mitótica. Se requiere en esta etapa de alta proliferación. Posteriormente, y debido a la activación de un programa genético específico las células progenitoras linfoides son conducidas hacia la diferenciación del linaje B. La clasificación de los siguientes estados de diferenciación de las células B está definido, principalmente, por el rearrreglo de los genes de cadena liviana y pesada de las inmunoglobulinas y por la ausencia o presencia de marcadores de superficie celular.

Estadio pro-B. No producen inmunoglobulinas y se distinguen por la expresión de los marcadores CD19, CD43 y B220.

Estadio pre-B. Ocurre la recombinación de los genes V-D-J de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas y la síntesis y expresión citoplasmática de la cadena pesada μ . Estas células no expresan inmunoglobulinas en su membrana, ya que aún no sintetizan la cadena liviana (L), y por lo tanto son incapaces de reconocer o responder a antígeno. Posteriormente, algunas de las cadenas H se asocian a una "cadena L de reemplazo", molécula estructuralmente similar a la cadena L normal pero que no posee la región variable de esta. La combinación de la cadena H con la cadena L de reemplazo constituyen el receptor de células pre-B (pre-BCR), el que regularía la síntesis ulterior de las cadenas L y la consiguiente maduración de los linfocitos B.

Linfocitos B inmaduros. Ocurre la recombinación de los genes VJ de las cadenas livianas y por tanto la síntesis de las cadenas livianas (κ ó λ) las cuales se asocian con la cadena pesada μ para generar una molécula de IgM en el citoplasma. Estos linfocitos B no pueden generar nuevas regiones variables (de cadenas L o H) en la médula ósea y se les considera funcionalmente inmaduros.

De hecho, su encuentro con antígenos propios puede llevarlos a un estado anérgico (inactivación funcional) o de muerte celular más que a una activación. Sin embargo, esta es una importante etapa de selección negativa de linfocitos B autorreactivos que eventualmente podrían ocasionar enfermedades autoinmunes.

Linfocitos B maduros. Los linfocitos B son capaces de co-expresar moléculas de IgM y de IgD en la membrana celular, las cuales pueden actuar como receptores específicos para antígeno. En esta etapa los linfocitos adquieren competencia funcional (Figura 3-2). Además de la regulación génica mediada por diversos factores de transcripción y de IL-7, se conoce que proteínas tirosina quinasa de la familia Src y ciertos procesos adhesivos entre los linfocitos B en desarrollo y los elementos del estroma de la médula ósea actúan como factores inductores de la diferenciación de células B.

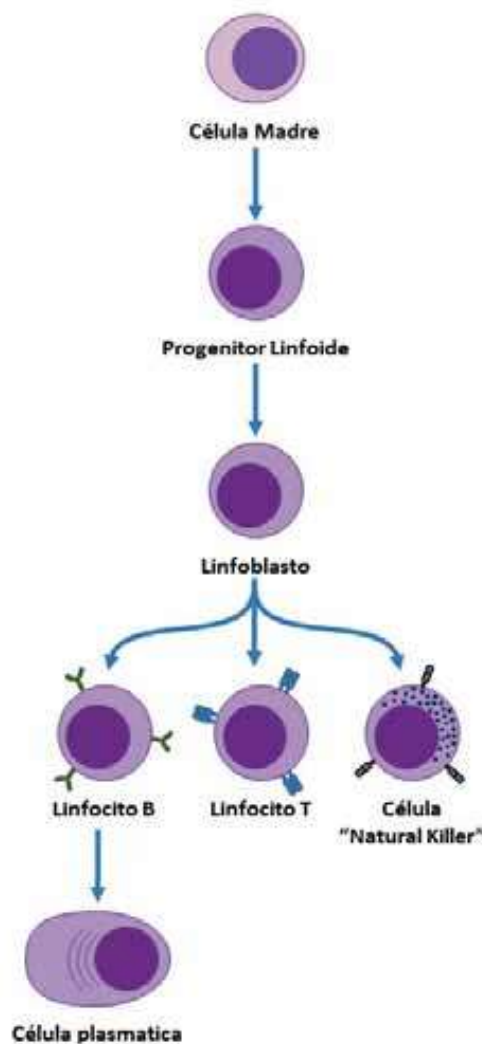


Figura 3-2. Etapas en la maduración de los linfocitos B.

Los linfocitos B virgen que expresan en su membrana receptores específicos para un determinado antígeno, salen de la médula ósea y entran en la circulación periférica. A partir del estado de células B inmaduras los linfocitos experi-

mentarían una disminución en su respuesta a la quimioquina CXCL12 lo que les permitiría escapar a la acción reclutadora de este factor y abandonar la médula ósea. En la periferia, los linfocitos B vírgenes migran a los órganos linfoides secundarios donde completarán su proceso de diferenciación.

3.2. Células T

Los linfocitos T se originan en la médula ósea a partir de un precursor capaz de migrar al timo, el principal órgano donde se lleva a cabo la diferenciación de los linfocitos T. Este proceso de maduración de los linfocitos T en el timo (denominados timocitos en oposición a los linfocitos T maduros que se encuentran en circulación), y la generación del repertorio de receptores de LT puede dividirse en tres etapas: (a) la migración de los progenitores de la médula ósea al timo, (b) la diferenciación de estas células progenitoras y (c) un proceso de selección.

Migración de los precursores de linfocitos T

Se postula, que los precursores de células T originados en la médula ósea expresarían en su superficie receptores de adhesión que se ligarían selectivamente al endotelio tímico permitiendo su entrada al interior del órgano. Uno de estos receptores podría ser la molécula CD34 la que interactuaría con la molécula L-Selectina presente en el estroma del Timo.

Una vez en el timo los precursores de los linfocitos T mantienen una alta capacidad proliferativa.

Diferenciación. Los precursores T ingresan al Timo ubicándose en la zona cortical de este. A medida que los timocitos migran hacia zonas más internas de la corteza estos van avanzando en su proceso de diferenciación. En estados finales de maduración los linfocitos T pasan desde la corteza hacia la médula y finalmente salen del timo a la periferia a través de las vías linfáticas o venas. El ambiente tímico representado por las interacciones físicas que se establecen entre los timocitos y los diferentes tipos celulares que allí se encuentran (células epiteliales, dendríticas y macrófagos) y los factores solubles que son liberados al medio externo son claves en los procesos de maduración y selección. El patrón diferencial de expresión de ciertas quimioquinas y de sus receptores, en particular CXCL12, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22 y CCL25, estaría relacionado con la migración de los timocitos a través de los diferentes subcompartimentos tímicos. Entre las diferentes citoquinas que las células estromales tímicas secretan, se ha identificado a IL-7 como un modulador directo de la supervivencia, diferenciación, transcripción y rearreglo génico del receptor de células (TCR). Además, la diferenciación de linfocitos T está sometida a un estricto control de expresión génica mediada por factores transcripcionales tales como GATA-3, E12, E47, HEB, NF- κ B, Ikaros y Notch.

En base a la expresión de CD4 y/o CD8, la población de linfocitos T en un individuo adulto puede ser dividida en cuatro grupos: los linfocitos T dobles negativos

(CD4⁻ CD8⁻), los dobles positivos (CD4⁺ CD8⁺) que representan poblaciones más o menos inmaduras de linfocitos T y los simples positivos (CD4⁺ CD8⁻, LT "helper" y CD4⁻ CD8⁺, LT citotóxicos) que corresponden a las poblaciones más maduras de linfocitos T.

Selección tímica. En el timo ocurren dos importantes eventos de selección que son centrales en la generación del repertorio de linfocitos T maduros circulantes. Uno de estos procesos permite la generación de autotolerancia eliminando o silenciando aquellos linfocitos T que poseen una alta afinidad por antígenos propios (Selección negativa). El otro proceso de selección deriva en la generación de linfocitos T maduros con un TCR capaz de reconocer el MHC (Complejo Principal de Histocompatibilidad) propio asegurando que la respuesta inmune sea restringida por MHC (Selección positiva). Estos eventos de selección, que llevan a la producción de linfocitos T "efectivos" ocurren en el timo luego de la expresión del TCR, CD4 y CD8 y antes que estas células salgan a la periferia.

3.3. Células ILC

Las células ILC o células linfoides de la inmunidad innata (ILC: innate lymphoid cells), son morfológicamente similares a linfocitos B y linfocitos T y se desarrollan en la médula ósea, a partir de un progenitor linfoide común. Sin embargo, su desarrollo es independiente de la maquinaria de recombinación génica y, por lo tanto carece de un receptor capaz de reconocer epítopos antigénicos.

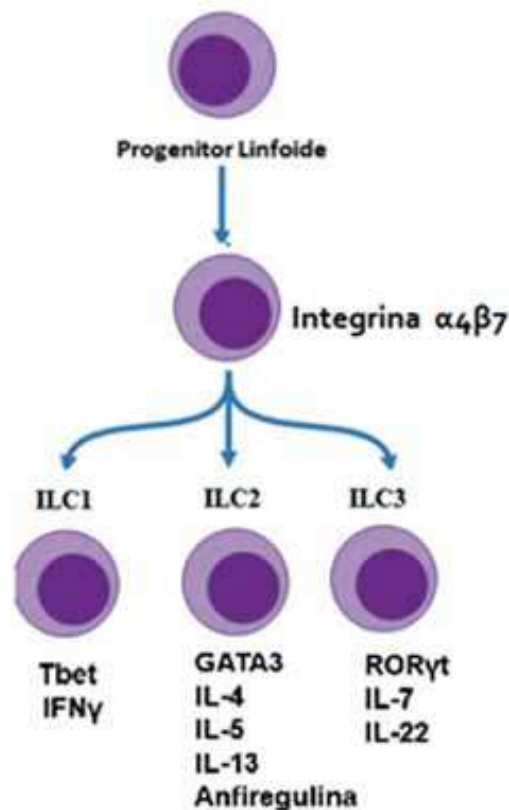


Figura 3-3. Etapas en la diferenciación de células ILC

4. LECTURAS SUGERIDAS

Bokoch, G., Chemoattractant signaling and leucocyte activation, *Blood* 86(5):1649-1660, 1995.

Bono, M.R. "Citoquinas" en Fundamentos de inmunología básica y clínica, Palomo I, Ferreira A, Roseblatt M, Sepúlveda C. y Vergara U. (Eds). Editorial Universidad de Talca. Capítulo 10, 1998.

Dzierzak, E. "Hematopoietic stem cells and their precursors: developmental diversity and lineage relationships". *Immunological Reviews* 187:126-138, 2002.

Gérard Eberl, M. Colonna, J.P. Di Santo, A.N.J. McKenzie. Innate Lymphoid Cells: A new paradigm in Immunology. *Science* 348(6237), 2015.

Graf, T. "Differentiation plasticity of hematopoietic cells", *Blood* 99(9): 3089-3101, 2002.

Herzog, E.L., Chai, L., and Krause, D.S. "Plasticity of marrow-derived stem cells". *Blood* 102(10): 3483-3493, 2003.

Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA, Lemischka IR. "A stem cell molecular signature". *Science* 298(5593):601-604, 2002

Lee, R.; Foerter, J.; Lukeng, J.; Pareskevas, F.; Greer, J.; Rodgers, G., Editors, Wintrobe's clinical hematology, Chapters 8, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, Lippincott Williams E. Wilkins, Philadelphia, 1998.

Pereira, J., "Producción, cinética y función de los granulocitos" en Fisiología de la sangre Mezzano, D. y Pereira, J., (Eds.), capítulo 7, Editorial Universitaria, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, 1993.

Pereira J. "Estructura, producción, cinética y función de las plaquetas" en Mezzano, D., Pereira, J. Fisiología de la sangre. Mezzano D., Pereira J., (Eds.) Cap. 9, Editorial Universitaria, P. Universidad Católica, 1993.

Ramesh, A., Shivdasani, Stuart H., Orkin. "The Transcriptional Control of Hematopoiesis". *Blood* 87 (10): 4025-4033, 1996.

Robert M. "The Megacariocyte-Platelet sistem" en Clinical Hematology. Stiene-Marrin Lotspeich- Steinger Ch. Koepke J. (Eds.) 2 ed. Vol 2 chapter 55 Editorial Lippincot, 1998.

Zon L., I. Ed., Hematopoiesis. A Developmental Approach. Oxford University Press. 2001