

Neutropenia da mielocatessi

Un errore genetico istruttivo

RAFFAELE BADOLATO

Clinica Pediatrica, Università di Brescia

Il caso presentato, il primo di una serie, è un caso "difficile". In realtà non servirà a "esercitare la mente", né a prepararsi ad affrontare, in qualche improbabile occasione, un altro caso simile, quanto per aiutare a capire (come sarà per gli altri casi di questa serie) qualcosa che sta dietro gli eventi clinici. Nel caso particolare, ci spiega come mai, in una rara sindrome dal nome ignoto ai più (WHIM), si ha una neutropenia con ipercellularità mieloide, e una ipogammaglobulinemia associata: è perché sia le cellule mieloidi sia le plasmacellule restano appiccicate al midollo e vi muoiono dentro (mielocatessi). Serve tutto questo? Forse solo a capire la complessità dei meccanismi biologici che regolano la vita e la risposta alle infezioni, e a mettere in guardia da ogni semplicizzazione; ma anche a capire il significato e il meccanismo d'azione dei farmaci da utilizzare nelle neutropenie.

L. è una bambina nata a termine che, già dall'età di 4 mesi, presentava ripetuti episodi di flogosi delle alte vie respiratorie. All'età di 9 mesi la bambina veniva ricoverata per una meningite batterica, trattata con successo con terapia antibiotica. In occasione di tale ricovero si riscontrava una marcata leucopenia (GB 1400/mm³). In particolare, l'emocromo evidenziava una marcata neutropenia (140 neutrofil/mm³) oltre a linfopenia (900 linfociti/mm³). Di fronte a un quadro di infezioni respiratorie ricorrenti associate a leucopenia si procedeva a un inquadramento delle cause di linfopenia. Veniva quindi effettuato il dosaggio delle immunoglobuline sieriche. Questo consentiva di evidenziare una condizione di ipogammaglobulinemia (IgG 174 mg/dl, IgM 125 mg/dl, IgA 15 mg/dl), fortemente suggestiva dell'ipotesi di immunodeficienza. A seguito di questo riscontro la bambina era posta in trattamento con immunoglobuline endovena (400 mg/kg ogni 3 setti-

NEUTROPENIA DUE TO MYELOKATHEXIS

(Medico e Bambino 2009;28:35-38)

Key words

Myelokathexis, Neutropenia, WHIM, Hypogammaglobulinemia, Lymphocytes B

Summary

The work describes a case of WHIM (Warts, Hypogammaglobulinemia, Immunodeficit, Myelokathexis) characterized by neutropenia, hypogammaglobulinemia, reduced number of lymphocytes B (C19) in blood stream, and bone marrow rich in element of the myeloid series. The syndrome is due to a mutation of the receptor CXCR4 present both in the myeloid cells and in the lymphocytes B for the ligand SDF1 placed on the stromal cells of the bone marrow and in the lymphatic tissue. The expression of the mutant receptor in neutrophils and in the plasma cells does not stop with cell maturation, thus causing a protracted adhesion of the mature cells to the marrow stroma and lymphatic organs, with consequent myelokathexis, neutropenia and hypogammaglobulinemia.

mane). Si procedeva quindi all'analisi delle sottopopolazioni linfocitarie (CD3 = 90%; CD4 = 45%; CD8 = 38%; CD16 = 5%; CD19 = 1,8%) e della risposta linfoproliferativa ai mitogeni, risultati nella norma. Il basso numero di linfociti B (cellule CD19+) associato alla ipogammaglobulinemia sembrereb-

bero suggerire un difetto di tipo anticorpale. Poiché un deficit anticorpale non chiarirebbe le cause della neutropenia, si procedeva all'esecuzione del puntato midollare.

L'esecuzione del puntato midollare dava informazioni aggiuntive: la cellularità era nella norma, con normale eri-

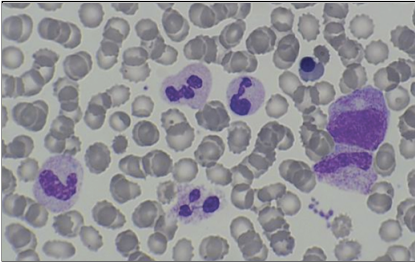


Figura 1. Mielocatexi. Riscontro di un midollo osseo ricco di granulociti maturi a fronte di uno stato di neutropenia nel circolo periferico.



Figura 2. Verruche recidivanti in paziente affetto da sindrome WHIM.

tropoiesi. Per quanto concerne la granulocitopoiesi si poteva riscontrare come fossero rappresentate tutte le figure maturative, pur con note di disgranulopoiesi, particolarmente evidenti nelle fasi più avanzate di maturazione. Infatti, le cellule mature presentavano severe alterazioni sia citoplasmatiche (vacuolizzazione, ipogranulosità) sia nucleari. In conclusione, il quadro midollare era suggestivo di una condizione di mielocatexi (Figura 1). Ad alcuni anni di distanza, alla bambina compariva una grave verrucosi alle mani (Figura 2), che tendeva a recidivare nonostante venissero applicati i comuni trattamenti dermatologici.

**SINDROME WHIM
(Warts, Hypogammaglobulinemia,
Immunodeficiency, Myelokathexis)**

Di cosa si tratta

Mielocatexi è una parola di etimologia greca, che descrive un paradosso biologico alla base di una situazione clinica piuttosto insolita tra i difetti dell'ematopoiesi: il riscontro di un midollo osseo ricco di granulociti maturi a fronte di uno stato di neutropenia nel cir-

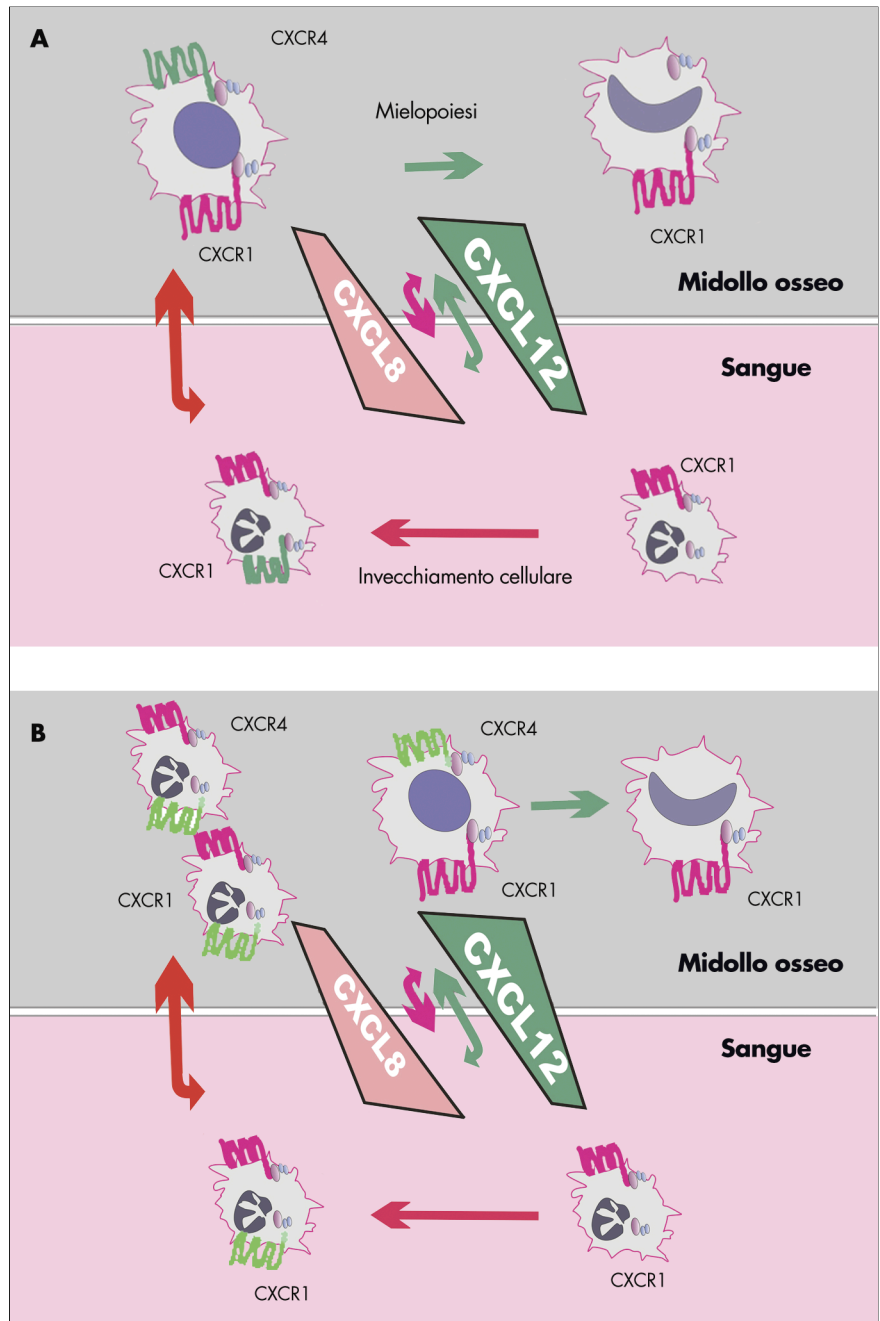


Figura 3. Omeostasi granulocitaria. Il pannello A mette in evidenza come le cellule staminali, diventando cellule mature, perdano l'espressione di CXCR4 e quindi della loro interazione con la chemochina SDF-1 espressa dallo stroma midollare. Il venire meno di questa interazione favorisce il loro passaggio nel sangue periferico, da dove possono raggiungere le diverse sedi di infiammazione. Tuttavia, la senescenza dei granulociti neutrofilici è molto rapida, per cui riacquistano l'espressione di CXCR4 che li guiderà nuovamente a raggiungere il midollo osseo, dove verranno eliminati dai macrofagi. Invece, il pannello B mette in evidenza come l'alterazione molecolare del recettore CXCR4 favorisca la permanenza dei neutrofilici maturi nel midollo osseo, creando così le condizioni per uno stato di neutropenia (da: *Lymphocyte trafficking in Health and Diseases*, Birkhauser, Basilea, modificata).

colo periferico. Questo paradosso biologico, che è tipico di alcune forme

piuttosto rare di neutropenia, è rimasto a lungo un problema clinico irrisolto

to finché l'identificazione della causa genetica di una di queste condizioni ha permesso di comprendere questo strano fenomeno di fisiopatologia. Difatti, la sindrome WHIM (*Warts, Hypogammaglobulinemia, Immunodeficiency, Myelokathexis*) si caratterizza per una condizione di neutropenia moderata/severa che insorge generalmente nel primo anno di vita insieme a infezioni ricorrenti e ipogammaglobulinemia. Per via di questa particolare combinazione di sintomi e per il carattere non propriamente costante della neutropenia, essa può essere talora scambiata per una forma di ipogammaglobulinemia di altra natura. Salvo che, allorché lo stato di neutropenia venisse analizzato più in dettaglio, l'esecuzione di un puntato midollare metterebbe in evidenza questa strana situazione di midollo osseo con una prevalente componente mielopoietica ed elementi granulocitari polisegmentati, talora a nucleo picnotico e con segni di degenerazioni in senso apoptotico, nota come mielocatessi. Gli aspetti di apoptosi granulocitaria hanno spinto a ricercare difetti di regolazione dei meccanismi di morte cellulare, ma senza successo. Solo attraverso lo studio genetico di famiglie con numerosi membri af-

fetti si è giunti a identificare la mutazione in eterozigosi del gene CXCR4 in quanto codificante per un recettore per chemiochine espresso su cellule ematopoietiche come la causa della forma autosomica dominante di questa rara neutropenia ereditaria.

Perché è importante

Il recettore CXCR4 e il suo ligando SDF-1 (ora noto come CXCL12) erano noti per avere un ruolo cruciale nell'ematopoiesi e nella formazione degli organi linfoidi, ma il loro significato funzionale è stato chiarito solo dopo l'identificazione delle mutazioni di CXCR4 come causa della sindrome WHIM. Era ben noto che la chemiochina SDF1/CXCL12 venisse espressa dalle cellule stromali del midollo osseo e che il suo recettore venisse espresso dalle cellule ematopoietiche staminali, ma non era ancora chiaro come questa interazione ligando-recettore governasse sia la granulocitopoiesi che la granulocitocateresi. È allora divenuto chiaro che il midollo osseo costituisce non solo il luogo di nascita ma anche quello di morte dei granulociti divenuti senescenti dopo la loro breve vita, durata appena alcune ore. Durante questo breve periodo di tempo i gra-

nulociti modificano più volte l'espressione di CXCR4, che è massima nelle cellule mieloidi immature e in quelle senescenti per essere pressoché assente nei giovani granulociti appena rilasciati dal midollo osseo (Figura 3). A seguito di questa puntuale regolazione dell'espressione di CXCR4, le cellule mieloidi immature che esprimono alti livelli di CXCR4 sono trattenute nel midollo osseo dalla interazione con il ligando SDF-1 espresso dalle cellule stromali. Ma, quando le cellule mieloidi mature perdono l'espressione di CXCR4, emigrano verso il sangue a costituire il pool di granulociti maturi, pronti a essere impiegati nei tessuti periferici sede di eventuali infezioni. Ma se questo non dovesse avvenire, i granulociti senescenti riacquisterebbero nel volgere di alcune ore l'espressione di CXCR4 e verrebbero richiamati nel midollo osseo a seguito dell'interazione con il ligando SDF-1 espresso dalle cellule stromali. In realtà, il difetto non riguarda solo le cellule mieloidi, ma anche i linfociti B e in particolare le plasmacellule. Infatti, poiché SDF-1 è espresso anche negli organi linfoidi come linfonodi e milza, il rilascio di linfociti B di memoria e delle plasmacellule che si formano dopo la stimolazione antigene è rallentato. Questo fenomeno costituirebbe la causa della ipogammaglobulinemia.

Non tutti i processi molecolari di questo fenomeno sono stati chiariti, ma lo studio della sindrome WHIM ha chiarito come queste stesse tappe biologiche siano estremizzate in questa malattia genetica. Infatti, le mutazioni del gene CXCR4 non impediscono la sintesi del recettore, ma ne modificano il funzionamento rendendolo più sensibile alla chemiochina SDF-1. In conseguenza di questo, i granulociti senescenti sono attratti più precocemente nel midollo osseo a scapito del pool di cellule mature circolanti, determinando appunto neutropenia.

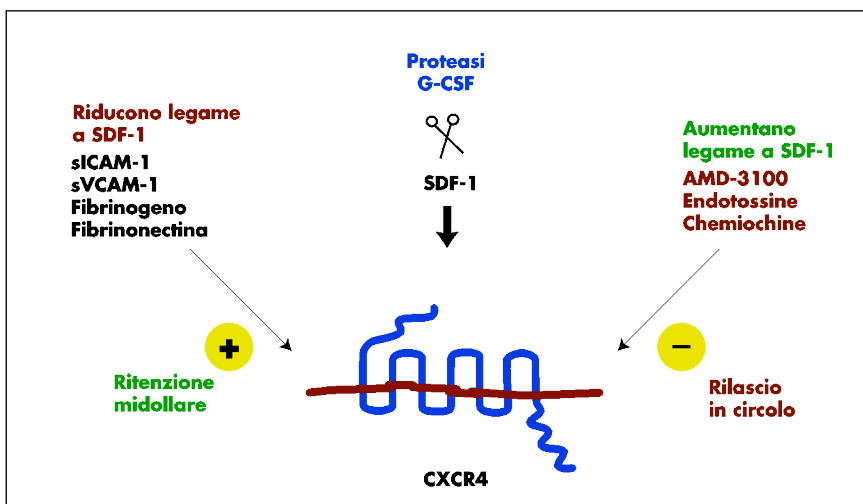


Figura 4. Meccanismi di mobilizzazione e ritenzione di cellule ematopoietiche nel midollo osseo. I farmaci, come AMD3100 che riducono l'interazione tra SDF-1 espresso dallo stroma midollare e il relativo recettore CXCR4 espresso dalle cellule ematopoietiche, favoriscono il rilascio delle cellule midollari in periferia. Quelli che, al contrario, agiscono aumentando il legame tra SDF-1 e CXCR4 ne favoriscono la ritenzione midollare. Quest'ultima condizione si riproduce nella sindrome WHIM in conseguenza di mutazioni del recettore CXCR4 che determinano una risposta aumentata delle cellule ematopoietiche alla chemiochina SDF-1, da cui deriva la condizione di mielocatessi.

CONCLUSIONI

È interessante notare come l'uso del fattore di crescita granulocitopoietico G-CSF nel trattamento delle varie for-

MESSAGGI CHIAVE

- Il riscontro di verruche in un soggetto con leucopenia è suggestivo di sindrome WHIM.
- Ipogammaglobulinemia associata a neutropenia e linfopenia fanno sospettare una sindrome WHIM.

me di neutropenia si basi sulla capacità del G-CSF di rompere il legame tra la chemioquina SDF-1 espressa dalle cellule stromali e il recettore CXCR4 espresso dai granulociti maturi, così favorendo il loro passaggio dal midollo osseo al torrente circolatorio. Infatti, il fattore G-CSF sembra stimolare i granulociti maturi a secernere enzimi proteolitici capaci di inattivare SDF-1 e lo stesso CXCR4. Questa scoperta ha portato alla sperimentazione di farmaci (tra cui il più noto è AMD3100) capaci di competere con SDF-1 impedendo il suo legame a CXCR4 (Figura 4). Questi farmaci, che sono attualmente in sperimentazione per migliorare la mobilitazione di precursori ematopoietici per il trapianto di cellule staminali, potrebbero essere impiegati per il trattamento della neutropenia nella sindrome WHIM. Si tratterebbe di una delle applicazioni della ricerca transazionale alla cura di pazienti affetti da malattie rare.

Anche nella sindrome WHIM, l'uso del G-CSF è efficace nel trattare la neutropenia associata a mielocatessi. Tuttavia, i soggetti affetti da WHIM sembrano avere un rischio di infezioni invasive ridotto rispetto ai soggetti affetti da neutropenia congenita severa. Ciò a causa della presenza di una cospicua riserva midollare (granulociti

ti maturi residenti nel midollo osseo) che viene mobilitata durante gli episodi flogistici.

Nell'ambito delle immunodeficienze, la sindrome WHIM entra in diagnosi differenziale con le numerose cause di ipogammaglobulinemia, come anche con le condizioni causa di neutropenia. Tuttavia, la presenza di linfopenia concomitante alla neutropenia, il quadro midollare di mielocatessi ed, eventualmente, il riscontro di verruche recidivanti sono fortemente suggestivi della sindrome WHIM. La conferma diagnostica si basa sulla genetica molecolare di CXCR4.

Indirizzo per corrispondenza:

Raffaele Badolato
e-mail: badolato@med.unibs.it

Bibliografia di riferimento

- Ara T, Tokoyoda K, Sugiyama T, Egawa T, Kawabata K, Nagasawa T. Long-term hematopoietic stem cells require stromal cell-derived factor-1 for colonizing bone marrow during ontogeny. *Immunity* 2003;19:257-67.
- Balabanian K, Lagane B, Pablos JL. WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitisation to CXCL12. *Blood* 2005;105:2449-57.
- Diaz GA. CXCR4 mutations in WHIM syndrome: a misguided immune system? *Immunol Rev* 2005;203:235-43.
- Futahashi Y, Komano J, Urano E. Separate elements are required for ligand-dependent and -independent internalisation of metastatic potentiator CXCR4. *Cancer Sci* 2007;98:373-9.
- Gorlin RJ, Gelb B, Diaz GA, Lofness KG, Pittelkow MR, Fenyk JR Jr. WHIM syndrome, an autosomal dominant disorder: clinical, hematological, and molecular studies. *Am J Med Genet* 2000;91:368-76.
- Gulino AV, Moratto D, Sozzani S, et al. Altered leukocyte response to CXCL12 in patients

with warts hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis (WHIM) syndrome. *Blood* 2004;104:444-52.

- Haribabu B, Richardson RM, Fisher I, et al. Regulation of human chemokine receptors CXCR4. Role of phosphorylation in desensitisation and internalisation. *J Biol Chem* 1997;272:28726-31.
- Hernandez PA, Gorlin RJ, Lukens JN, et al. Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nat Genet* 2003;34:70-4.
- Kawai T, Choi U, Whiting-Theobald NL, et al. Enhanced function with decreased internalisation of carboxy-terminus truncated CXCR4 responsible for WHIM syndrome. *Exp Hematol* 2005;33:460-8.
- Ma Q, Jones D, Borghesani PR. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:9448-53.
- Mentzer WC Jr, Johnston RB Jr, Baehner RL, Nathan DG. An unusual form of chronic neutropenia in a father and daughter with hypogammaglobulinemia. *Br J Haematol* 1977;36:313-22.
- Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature* 1996;382:635-8.
- Papayannopoulou T, Priestley GV, Bonig H, Nakamoto B. The role of G-protein signaling in hematopoietic stem/progenitor cell mobilization. *Blood* 2003;101:4739-47.
- Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* 2002;3:687-94.
- Sallusto F, Mackay CR, Lanzavecchia A. The role of chemokine receptors in primary, effector, and memory immune responses. *Annu Rev Immunol* 2000;18:593-620.
- Viola A, Contento RL, Molon B. T cells and their partners: The chemokine dating agency. *Trends Immunol* 2006;27:421-27.
- Zhang Y, Foudi A, Geay JF. Intracellular localization and constitutive endocytosis of CXCR4 in human CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Stem Cells* 2004;22:1015-29.
- Zuelzer WW. "Myelokathexis" - A new form of chronic granulocytopenia. Report of a Case. *N Engl J Med* 1964;270:699-704.

