

CELLULE STAMINALI DELLA PELLE

La *pele* è formata:

1. **EPIDERMIDE**, di origine ectodermica
2. Al di sotto e collegato attraverso la lamina basale → **DERMA**, di origine mesodermica, dove si trovano cellule mesenchimali, fibroblasti e stroma - è invaso da strutture come bulbi piliferi, ghiandole sebacee, ghiandole sudoripare, muscoli e vasi sanguigni, oltre che dalla rete nervosa
3. Sotto → strato di grasso formato da adipociti → **IPODERMA**

Le **staminali** nella pelle si trovano in **3 zone**:

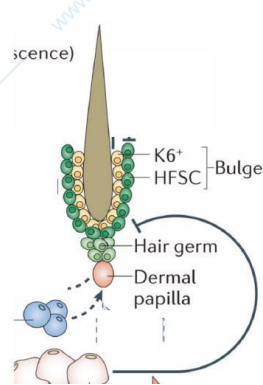
- 1 **CELLULE STAMINALI DEL BULBO PILIFERO (HFC)**
- 2 **CELLULE STAMINALI DELL'EPIDERMIDE** (*inter follicular epidermis* o **IFE**)
- 3 **CELLULE STAMINALI DELLE GHIANDOLE SEBACEE**

1. CELLULE STAMINALI DEL BULBO PILIFERO (HFC)

Struttura del bulbo pilifero

<p>PELO, formato in basso dagli elementi più indifferenziati e in alto da una zona altamente cheratinizzata</p>	<p>La struttura è avvolta dalla lamina basale, al di fuori si trovano cellule del derma (principalmente fibroblasti e adipociti - cellule che servono a regolare l'attivazione o la non attivazione delle staminali).</p> <p>Le staminali si trovano circa a metà del pelo (ma in realtà la posizione varia in base allo stato di crescita del pelo) → il BULGE, gruppo di cellule staminali che si trova al di sotto della ghiandola sebacea e al di sopra del muscolo pilo-erettore, è la struttura più complessa in cui si riescono a vedere tutti i "players" che contribuiscono a questo tessuto.</p>
<p>BULBO, alla base</p>	<p>Si trovano:</p> <ul style="list-style-type: none"> - cellule della dermal-papilla (DP), di tipo mesenchimale - cellule che formano la matrix (progenitori di transito, residuo dell'attività ciclica delle cellule staminali del bulbo pilifero). Quando le cellule staminali del bulge cominciano a proliferare creano questa matrice che rimane come progenitori di transito che continuano a supportare la formazione di elementi differenziati e maturi (cheratina) che vanno a far allungare il pelo.

BULGE



Nella fase di pre-attivazione, il bulge è composto da:

- un cuore formato da cheratinociti maturi con attorno i **cheratinociti K6+** che fanno da cuscinetto tra il pelo e le staminali
- le staminali sono le **hair follicle stem cells (HFSC)**: per identificarle ci sono marcatori specifici (le *integrine* $\alpha 6-\beta 4$ e $\alpha 3-\beta 1$, poi esprimono *cheratina 5, 14 e 15* e anche il *CD34*).
- al di sotto del bulge, c'è la **hair germ**: gruppo di cellule che si avvicina molto alle staminali, i primi progenitori ad attivarsi (non esprimono *CD34* ma una *cadeina di tipo P*).

BULGE VERO E PROPRIO: le **K6+**, le **HFSC** e le **hair germ cells** (le **K6+** sono già differenziate).

Al di sotto, c'è la **dermal-papilla** attaccata al bulge, composta da cellule mesenchimali con funzione regolatoria che secernono fattori per attivare le staminali.

Tutto intorno, ci sono adipociti più o meno maturi, fibroblasti e la matrice extra-cellulare.

In condizioni di omeostasi, ciascuna di queste staminali si occupa di rigenerare la struttura dell'epidermide di competenza.

Questa condizione può essere riadattata nel momento in cui ci sono dei danni o una situazione anomala della pelle, ad es. dove c'è una ferita occorrono sia le staminali IFE sia le HFSC.

Nel modello murino → nei primi 8 giorni dalla ferita, entrambi i compartimenti contribuiscono a riparare il danno, circa il 20-50% delle nuove cellule provengono dalle staminali del bulbo pilifero, man mano che passano i giorni le HFSC spariscono e la pelle ricostruita deriva dalle staminali dell'epidermide. Gli animali senza bulbi piliferi fanno più fatica a guarire le ferite, infatti ci mettono più tempo.

2. CELLULE STAMINALI DELL'EPIDERMIDE (*inter follicular epidermis* o **IFE**)

- Cellule presenti nell'epidermide nella zona chiamata *inter follicular epidermis*, che si trova tra un pelo e l'altro.
- La nicchia si trova nello strato basale.
- Uno dei primi aspetti che hanno cercato di chiarire i ricercatori è com'è composto lo strato basale della pelle: cioè se fosse composto da una popolazione completa di staminali oppure da una popolazione mista di staminali, progenitori di transito e cellule differenziate (sono stati proposti 2 tipi di modelli e alla fine è venuto fuori un 3° modello che mette insieme entrambe le teorie, il *Mixed Model*)
- La tecnica che ha permesso di effettuare analisi più precise rispetto all'omeostasi dell'epidermide e, che è stato sfruttato per lo studio del *Mixed Model*, è la tecnica della **cre-riombinasi** o **Cre Lox**.
Questo sistema presenta diversi vantaggi:
 - *permette di marcare con un gene reporter una singola cellula in modo permanente* (una volta che il gene è nel genoma della cellula continua a essere espresso nel tempo e questo permette di fare studi di popolazione, comportamento di cellule e della loro progenie)
 - *la marcatura avviene senza perturbare il tessuto*, cioè senza introdurre sostanze come virus o basi radioattive.

Terzo modello (*Mixed Model*)

K14	Inv
<p>Sono <u>cellule staminali</u> che si trovano SOLO nello <u>strato basale</u> della pelle:</p> <ul style="list-style-type: none"> - principalmente quiescenti, si dividono secondo lo schema 80-10-10 - sono in grado di creare cloni che si allargano rapidamente all'inizio e poi la crescita diventa più lenta (i cloni sopravvivono nel tempo) 	<p>Sono <u>progenitori di transito</u> molto indifferenziati, si trovano sia nello <u>strato basale</u> sia nello <u>strato superiore</u>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - esprimono cheratine tipiche di cellule immature (K5) e anche tipiche di cellule differenziate (K10) - i cloni si allargano nel tempo ma a distanza di 1 anno si riducono (scarsa sopravvivenza).

Lo strato basale è composto dalla staminale e da un progenitore altamente indifferenziato, tutto quello che è più differenziato va negli strati superiori.

Quindi: dal primo modello, detto *EPU*, si conferma che lo strato basale è eterogeneo; dal secondo modello, detto *CP*, si conferma che non c'è una struttura geometrica ma la progenie si espande nella popolazione.

Caratteristica interessante è il contributo delle **cellule K14** e **Inv** nel momento in cui si genera una ferita:

- nelle fasi iniziali ma anche dopo la guarigione → il maggior contributo è dato dalla **K14** (creano cloni molto larghi mantenuti fino a 35 giorni)
- mentre le **Inv** si trovano all'inizio ma non a lungo termine.

Ciclo rigenerativo del pelo

Le cellule del bulbo pilifero (**HFSC**) si attivano e si disattivano in modo ciclico:

dalla fase di riposo, il pelo segue un ciclo fatto dalle **staminali**: si allunga e muore, si allunga e muore, ecc.

Il ciclo è:

- di riposo (**TELOGEN**)
- rinascita (**ANGEN**)
- morte (**CATAGEN**)

Si parte da una **fase di riposo** in cui c'è il bulge con sotto la hair germ e la DP al centro il pelo, pian piano la DP attiva le HFSC che da quiescenti diventano proliferanti e crescono allungando la base del pelo, in questo modo si allunga il pelo:

1. All'inizio vengono generati progenitori che proliferano verso il basso, si crea una massa cellulare al cui centro si trova la matrice e poi cellule più differenziate (quello che sarà il pelo).
2. Alcune cellule attivate più tardi non vanno verso il basso ma verso l'alto e vanno a riformare la hair germ, le staminali, le K6+ e qualche cellula differenziata (in sostanza vanno a formare un nuovo bulge). A questo punto la struttura è completa (fase di crescita).
3. Poi le cellule della matrice (progenitori) avranno un'attività proliferativa/differenziativa esplosiva: cioè allungano molto il pelo, poi si esauriscono e cominciano solo a differenziare. Quindi, pian piano si distruggeranno trascinando dietro la dermal-papilla che si riavvicinerà pericolosamente al bulge. Quando la DP sarà vicina al nuovo bulge riattiverà di nuovo il processo.

SEGNALI

Nella fase iniziale di **riposo**, le staminali del bulge ricevono una serie di segnali inibitori che appartengono tutti alla famiglia dei BMP (agiscono su recettori treonina-serina e attivano la migrazione delle SMAD, proteine che fanno da spoletta e dentro il nucleo fanno da attivatori/repressori):

- I BMP attivi nel bulbo sono BMP2, BMP4, BMP6 e vengono secreti rispettivamente da adipociti subcutanei, fibroblasti del derma e dalle cellule K6+. In questa situazione la nicchia tende a mantenere le staminali in uno stato di quiescenza.
- Un altro fattore importante è l'FGF18 (*fibroblast growth factor 18*) che agisce su recettori tirosin-chinasici con attività intrinseca, sempre inibendo le staminali.

Nella fase di **attivazione**, invece:

- La DP si avvicina e si attiva andando a stimolare l'attività proliferativa sia delle hair germ cells sia delle staminali HFSC. La DP dà un segnale di attivazione che si attiva in 2 ondate: prima sulle hair germ cells che vanno verso il basso e poi su quelle che formeranno il bulge. Questi segnali fanno da inibitori a BMP e poi scatenano dei segnali pro-proliferazione WNT.

I segnali cambiano il campo biochimico della nicchia, si passa da nicchia quiescente a nicchia attivatrice.

Tutto parte dalla dermal papilla (DP) che secreta l'inibitore del BMP, TGF β 2 e una serie di fattori pro-attivatori (WNT, FGF7 e FGF10). Oltre a questi segnali della DP si hanno anche fattori aggiuntivi come l'attività degli adipociti precursori che producono PDGF-alfa, che sembrano stimolare l'attività della DP ed inoltre il TGF β 2 stimola le hair germ cells a produrre TMEFF1, un fattore stimolante delle cellule.

Il risultato finale è che le cellule che migrano verso il basso vengono chiamate **ORS** (*outer root shift*, cellule dello strato esterno), che cominciano a differenziare e producono il pelo. Quelle che rimangono ferme invece vanno a formare il bulge.

Una caratteristica particolare delle cellule del bulbo è che, in caso di crescita normale, la DP dà lo stimolo verso il basso e si creerà il nuovo pelo... MA, nel caso di una ferita, queste staminali aiutano a ripararla → quindi anzi di andare verso il basso, vanno verso l'alto (meccanismi non ancora molto chiari).

MARCATORI

- **Notch** → principalmente interessato a indurre la cellula verso gli strati più differenziati e determina il distacco dalle integrine - spinge le cellule verso l'alto
- **p63** → proteina ambivalente → le cellule dell'epidermide sono in grado di fare 3 tipi di cloni con attività decrescente proliferativa e attività crescente differenziativa:
 - olocloni (più staminali, c'è una maggiore presenza di p63 non fosforilata)
 - merocloni
 - paracloni
 } cellule più differenziate, il contenuto di p63 non fosforilata cala }

È l'opposto invece con il contenuto di p63 fosforilata: ce n'è di meno nelle staminali e di più nelle differenziate.

Sembra che la fosforilazione della p63 sia lo switch molecolare per iniziare il differenziamento.