

**L Reunión Nacional de la AEHH y XXIV Congreso Nacional de la SETH.**  
**Simposios** (haematologica/edición española | 2008; 93 (Extra 1) | 405-6 )

## **PARADOJA ENTRE ACTIVACIÓN Y FALLO DE LA FUNCIÓN PLAQUETARIA EN SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS**

E. Bermejo, M.F. Alberto, S.S. Meschengieser, A. Sánchez Luceros, M.A. Lazzari. Departamento de Hemostasia y Trombosis. Instituto de Investigaciones Hematológicas Mariano R. Castex. Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires (Argentina).

Los síndromes mieloproliferativos (SMP) pertenecen a un grupo diverso de enfermedades clonales que se originan en la célula madre pluripotencial y están caracterizadas por la excesiva proliferación de células de una o más líneas mieloides (1).

Esta proliferación se relaciona con una maduración normal y efectiva cuyo resultado es el aumento del número de granulocitos, plaquetas y/o hematíes.

Dentro de todos los grupos pertenecientes a los SMP, la policitemia vera (PV) y la trombocitemia esencial (TE) son, desde el punto de vista del laboratorio, los más estudiados en la búsqueda de una explicación a los eventos trombohemorrágicos (2).

La trombosis es más frecuente en la PV y en la TE, y la hemorragia se presenta sobre todo en mielofibrosis primaria (MF) y en TE, siendo muy bajo el riesgo tanto de trombosis como de hemorragias en la LMC.

Tefferi y Elliot reportaron un análisis de varios trabajos sobre los eventos trombóticos y hemorrágicos al momento del diagnóstico con porcentajes que varían del 9,7 al 29,4% para TE y del 34 al 38,6% para PV en el caso de trombosis, y del 3,6 al 37% en TE y del 1,7 al 20% en PV para los eventos hemorrágicos (3).

Los síntomas trombóticos incluyen trombosis tanto arteriales como venosas, de grandes vasos o de microcirculación (eritromelalgia, trastornos visuales y neurológicos) y, de forma característica, trombosis en sitios inusuales (mesentérica, suprahepática, porta, esplénica). Los síntomas hemorrágicos incluyen equimosis, epistaxis, menorragia, gingivorragia y, con menor frecuencia, hemorragias gastrointestinales (4).

Si bien las manifestaciones trombóticas han sido atribuidas a alteraciones de la función plaquetaria, la activación leucocitaria en PV y TE se ha descrito en asociación a marcadores trombofílicos plasmáticos (5). La leucocitosis ha sido identificada como factor de riesgo trombótico en PV (6) y también la formación de agregados mixtos circulantes (plaquetas-leucocitos) como marcadores de posible recurrencia de eventos trombóticos (7).

Las plaquetas cumplen un papel importante en ambos eventos. Las anomalías más frecuentes se expresan a nivel morfológico, con presencia de macroplaquetas, heterogeneidad en forma y tamaño, dilatación y desorganización del sistema canalicular abierto y tubular denso, reducción en el número de gránulos  $\alpha$  y densos, y reducción en las mitocondrias.

Con respecto a su funcionalidad, en la agregación plaquetaria, la respuesta puede estar disminuida (con ADP, colágeno o epinefrina), aumentada o bien puede observarse agregación espontánea en plasma rico en plaquetas sin diluir. La agregación plaquetaria inducida por epinefrina puede estar ausente o disminuida. Esta alteración no es patognomónica pero puede definir el diagnóstico como cuadro primario o secundario.

También se han descrito anomalías en los receptores plaquetarios como disminución en las GP IIb-IIIa, GP Ib, GP Ia-IIa, en la fijación del fibrinógeno y en el receptor de la prostaglandina D2 (8).

A nivel del metabolismo de las prostaglandinas, puede haber aumento en la producción de tromboxano A2 (TXA2), reducción en los productos de lipooxigenasa y déficit de lipooxigenasa leucocitaria. Otras alteraciones de la función plaquetaria incluyen anomalías en la movilización del calcio, una señalización defectuosa a partir del receptor de TXA2 y una fosforilación Deficiente (9).

Algunos SMP se asocian a enfermedad de von Willebrand (VWD) de tipo adquirido. En estados de trombocitosis, las plaquetas están comprometidas en el incremento de la proteólisis de las formas multiméricas grandes e intermedias del factor von Willebrand (VWF). Es probable que el incremento en el número de plaquetas facilite la interacción entre el receptor GPIb y el VWF, favorezca el cambio conformacional del VWF, permita una mejor exposición del sitio de clivaje para la proteasa ADAMTS-13 y contribuya al incremento de los fragmentos proteolíticos (10,11).

Distintos estudios fueron realizados en pacientes con SMP en el Departamento de Hemostasia y Trombosis de nuestro instituto, el primero, de Meschengieser et al., con 94 pacientes (12). Los hallazgos más relevantes fueron:

1. La ausencia de agregación con adrenalina se observó en el 53% de los casos, siendo más frecuente en TE (71%) y más rara en LMC (19%).
2. La depleción de los gránulos densos, estimada por el patrón de liberación de ATP, se presentó en el 67% de los casos, siendo más común en MF (70%).
3. La depleción de los gránulos  $\alpha$ , diagnosticada por el contenido intraplaquetario de fibrinógeno y VWF, se observó en el 58% de los casos, oscilando entre el 95% en TE y el 33% en LMC.
4. Las evidencias de activación plaquetaria expresadas como microagregados plaquetarios circulantes fueron más frecuentes en TE (22%), seguidas por 9,5% en LMC y 4,7% en PV.
5. La agregación espontánea se presentó en el 28,5% de los pacientes con TE, en el 16,6% de LMC y en el 14% de PV. Los pacientes con MF no mostraron ninguna manifestación de hiperrespuesta plaquetaria.

En el segundo de los trabajos, Sánchez Luceros *et al.* estudiaron la incidencia en los eventos trombohemorrágicos en VWD adquirida en 75 pacientes SMP13. Los resultados más relevantes fueron:

1. El patrón de VWD fue frecuente en TE (55%), en todos los casos fue de tipo 2 (VWF:RCo/VWF:Ag < 0,6); en PV fue del 55%, pero sólo la mitad tuvo patrón de tipo 2, y en las LMC fue del 15%, siendo del tipo 2 el 86%.
2. En los pacientes con VWD adquirida se detectó activación plaquetaria con más frecuencia (34%) que en aquéllos sin evidencias de VWD (19%).
3. Los pacientes con patrón de VWD fueron más sintomáticos en cuanto a fenómenos isquémicos y hemorrágicos que aquéllos sin evidencias de VWD. Esta observación permite suponer que tanto la depleción de gránulos  $\alpha$  como la aparición de VWD adquirida, especialmente en TE y PV, podrían resultar de una activación plaquetaria con degranulación y liberación de proteasas responsables de la proteólisis del VWF.

En el último de los trabajos pertenecientes a nuestro grupo, Bermejo *et al.* aplicaron las técnicas de citometría de flujo al estudio de un pequeño grupo de pacientes con SMP(14). Se evaluó la presencia de déficit de *pool* de depósito adquirido por marcación de gránulos densos con mepacrina y la activación

plaquetaria mediante la marcación con CD62 (P-selectina del gránulo  $\alpha$  expuesto), CD63 (membrana del lisosoma) y fijación del fibrinógeno. Los resultados hallados en 28 pacientes (TE: 7; PV: 13; LMC: 8) fueron:

1. La marcación con mepacrina estaba disminuida en el 39% de los SMP, lo que sugiere que menos de la mitad tenía realmente déficit del contenido de los gránulos densos.
2. La marcación con CD62 y CD63 se hallaba aumentada en TE y PV; la fijación del fibrinógeno estuvo aumentada, sobre todo en TE y en menor grado en PV.
3. En comparación con las técnicas tradicionales, la citometría de flujo permitió detectar grados menores o más tempranos de activación plaquetaria.
4. No se encontró correlación entre los eventos trombóticos o hemorrágicos.

### **Conclusiones**

Podemos concluir que en los SMP estudiados por nuestro grupo el papel que cumplen las plaquetas en los eventos de sangrado podría estar basado en:

- 1) deficiencia del *pool* de depósito, y 2) VWD adquirida, mientras que la predisposición a la trombosis podría depender de la hiperactividad plaquetaria. El comportamiento paradójico de la plaqueta (activación con hiperreactividad o degranulación con hipofuncionalidad), sumado a otras anomalías plasmáticas y/o genéticas que ocurren en los SMP (15-17), podría ser una de las explicaciones de los eventos trombohemorrágicos que ocurren en estas patologías.

### **Bibliografía**

1. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008; 22: 14-22.
2. Tefferi A. Essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis: current management and the prospect of targeted therapy. *Am J Hematol* 2008; 83: 491-7.
3. Tefferi A, Elliot M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Haemost* 2007; 33: 313-20.

4. Wehmeier A, Sidhoff T, Meierkord T. Relation of platelet abnormalities to thrombosis and hemorrhage in chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Haemost* 1997; 23: 391-402.
5. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, Vignoli A, Licini M, Balicco M, et al. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 2000; 96: 4261-6.
6. Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, De Stefano V, Finazzi G, Marfisi R, et al.; European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP). Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 2007; 109: 2446-52.
7. Maugeri N, Giordano G, Petrilli MP, Fraticelli V, de Gaetano G, Cerletti C, et al. Inhibition of tissue factor expression by hydroxyurea in polymorphonuclear leukocytes from patients with myeloproliferative disorders: a new effect for an old drug? *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2593-8.
8. Mazzucato M, De Marco L, De Angelis V, De Roca D, Bizzaro N, Casonato A. Platelet membrane abnormalities in myeloproliferative disorders: decrease in glycoproteins Ib and IIb/IIIa complex is associated with deficient receptor function. *Br J Haematol* 1989; 733: 369-74.
9. Landolfi R, Marchioli R, Patrono C. Mechanisms of bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. *Thromb Haemost* 1997; 78: 617-21.
10. López-Fernández MF, López-Berges C, Martín R, Pardo A, Ramos FJ, Batlle J. Abnormal structure of von Willebrand factor in myeloproliferative syndrome is associated to either thrombotic or bleeding diathesis. *Thromb Haemost* 1987; 58: 753-7.
11. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413: 488-94.
12. Meschengieser S, Blanco A, Woods A, Maugeri N, Fernandez J, Dupont J, Lazzari MA. Intraplatelet levels of vWF:Ag and fibrinogen in myeloproliferative disorders. *Thromb Res* 1987; 48: 311-9.
13. Sánchez-Luceros A, Meschengieser SS, Woods AI, Blanco AN, Kempfer AC, Casais P, et al. Acquired von Willebrand factor abnormalities in

myeloproliferative disorders and other hematologic diseases: a retrospective analysis by a single institution. *Haematologica* 2002; 87: 264-70.

14. Bermejo E, Alberto MF, Meschengieser SS, Lazzari MA. Assessment of platelet activation in myeloproliferative disorders with complementary techniques. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15: 235-40.

15. Kornblihtt LI, Heller PG, Correa G, et al. Associated thrombophilic defects in essential thrombocythaemia: their relationship with clinical manifestations. *Thromb Res* 2003; 112:131-5.

16. De Stefano V, Za T, Rossi E, Vannucchi AM, Ruggeri M, Elli E, et al.; GIMEMA CMD-Working Party. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica* 2008; 93: 372-80.

17. Michiels JJ, Berneman Z, Schroyens W, Finazzi G, Budde U, van Vliet HH. The paradox of platelet activation and impaired function: platelet-von Willebrand factor interactions, and the etiology of thrombotic and hemorrhagic manifestations in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32: 589-604.

## **Alteraciones hemostáticas en hemopatías**

**COORDINADOR: L.J. GARCÍA FRADE. *Valladolid***

### **Resumen del simposio**

Debido a la complejidad creciente de las diferentes áreas de la hematología se precisa una mayor especialización, lo que hace difícil un conocimiento en profundidad de otros campos hematológicos. El propósito del presente simposio es tratar de evitar en lo posible este vacío actualizando las alteraciones de la hemostasia que acontecen en las hemopatías. Abordamos el estado del conocimiento en procesos hematológicos en los que las alteraciones de la hemostasia son muy relevantes: leucemias agudas, síndromes mieloproliferativos crónicos y anemias hemolíticas.

La Dra. M<sup>a</sup>.J. Peñarrubia presenta el tema de las leucemias agudas y señala la importancia tanto de las complicaciones hemorrágicas como de las trombóticas. En el primer caso destaca la trombocitopenia, a veces asociada a trombocitopatía y coagulopatía. La leucemia promielocítica es el tipo más característico. En la misma, los blastos tienen una expresión aumentada de factor tisular y de *cancer procoagulant*, y la actividad fibrinolítica está también aumentada debido a una mayor expresión de uPA, tPA y anexina II en la superficie celular. La anexina II actúa como receptor de tPA y plasminógeno, favoreciendo la generación de gran cantidad de plasmina. El tratamiento con ATRA disminuye la expresión de factor tisular, *cancer procoagulant* y anexina II, y revierte la coagulopatía. Respecto a las complicaciones trombóticas, destaca: 1. Adhesión de las células leucémicas (fuerte expresión de CD11b) y producción, por parte de éstas, de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , con aumento de expresión endotelial de las moléculas de adhesión. 2. El mayor riesgo en niños con LLA, debido a la utilización de catéteres centrales asociada a L-asparaginasa y corticoides. 3. A los agentes con efecto protrombótico, como eritropoyetina, G-CSF, GM-CSF, ciclosporina y tacrolimus, debemos añadir ATRA, con un riesgo trombótico en torno al 9%, y nuevos fármacos, como gemtuzumab e inhibidores de VEGF.

La comunicación de M. Vega *et al.* incide en las complicaciones trombóticas que acontecen en los pacientes sometidos a trasplante alogénico de intensidad

reducida. Mediante un estudio retrospectivo de los 195 pacientes tratados entre 1999 y 2007, se observa un 7% de trombosis, que los autores relacionan con EICH crónico, cifras de plaquetas superiores a  $50 \times 10^9/L$ , utilización de catéteres y esteroides.

La Dra. E. Bermejo, al presentar la amplia experiencia de su grupo en SMPC, señala que la trombosis es más frecuente en PV y TE, y la hemorragia, en MF y TE. Destaca que tanto en los episodios hemorrágicos como en los trombóticos las plaquetas cumplen un papel esencial. Se produce un déficit del *pool* de depósito y una enfermedad de von Willebrand adquirida con predominio de tipo 2, que favorecen la hemorragia. Por otra parte, se observa una mayor expresión de CD62 (selectina P), lo que justifica la propensión a la trombosis. En este caso, la citometría de flujo permite detectar grados menores de activación plaquetaria.

La comunicación de A. Álvarez *et al.* analiza una serie de 140 pacientes con TE con una supervivencia libre de trombosis tras 5 años de seguimiento del 88%. Es llamativo el hecho de que en los pacientes con leucocitosis superior a  $15 \times 10^9/L$  la supervivencia libre de trombosis se reduce al 25%.

Las anemias hemolíticas presentan con frecuencia complicaciones trombóticas. La Dra. F. Ferrer analiza tanto anemias hemolíticas congénitas (talasemia, anemia de células falciformes) como adquiridas (HPN, microangiopatías trombóticas). En los diferentes tipos se detecta un estado de hipercoagulabilidad en el que se implican varios mecanismos fisiopatológicos comunes a todas ellas. La Hb libre en plasma presenta una gran afinidad por NO; su depleción produce activación plaquetaria y vasoconstricción.

Además, la Hb libre estimula en las células endoteliales la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1 y selectina E), y aumenta la interacción eritrocito/leucocito-endotelio. Por último, la fragmentación eritrocitaria produce micropartículas que expresan factor tisular y exponen fosfolípidos aniónicos, con la consiguiente generación de trombina.