

## **ACTIVACION PLAQUETARIA EN NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS PHILADELPHIA NEGATIVOS**

Felisa C. Molinas, Sección Hematología Investigación, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires; UE IDIM Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina

Las neoplasias mieloproliferativas Philadelphia negativos son enfermedades clonales de evolución crónica y comprenden la trombocitemia esencial, la policitemia vera, la mielofibrosis primaria, la leucemia eosinofílica, la leucemia neutrofilica crónica, los síndromes hipereosinofílicos, las enfermedades de los mastocitos (Tefferi y Vardiman, 2008).

El hallazgo de la mutación del JAK2 en el exón 14 en muchos de los pacientes con SMP crónicos, cambió el enfoque del diagnóstico y está cambiando el tratamiento de estas enfermedades (Baxter, 2005; James, 2005; Levine, 2005; Kraloviks, 2005). La posibilidad de lograr en el futuro nuevos tratamientos enfocados en esta tirosina quinasa es de particular interés, y de hecho ya existen grupos de trabajo que han ensayado la capacidad de inhibir en líneas celulares, en ratones y en pacientes la efectividad de algunas moléculas dirigidas contra la tirosina quinasa del JAK2 V617F (Pardanani, 2008).

La mutación del JAK2 se halló en el 95-97% de los pacientes con policitemia vera (PV) y se encuentra en alrededor del 50% de los pacientes con trombocitemia esencial (TE) y con mielofibrosis primaria (MP). Así mismo, dado que la mutación del JAK2 también se halló en los pacientes con SMP familiar, pero no en todos los pacientes con el fenotipo de PV, dio lugar a afirmar que la mutación del JAK2 no es la causa, sino una alteración en el curso de la enfermedad. Esto no invalida que esta tirosina quinasa no sea un *target* para la búsqueda de nuevos tratamiento de estos SMP crónicos. Sucede lo mismo en familias con SMP crónicos, en las que no todos los pacientes tienen la mutación, corroborando que la mutación es un fenómeno adquirido en la evolución de la enfermedad y no la causa.

La mutación del JAK2 es habitualmente heterocigota. La homocigocidad se produce, no por mutación del otro alelo, sino por recombinación genética en el cromosoma 9 (Skodal).

En un estudio (Kraloviks, 2005) los pacientes con PV y TE con la mutación del JAK2 tuvieron mayor duración de la enfermedad y mayores complicaciones trombóticas. Baxter y col (2005) hallaron resultados similares, pero además los pacientes con TE con la mutación tenían los niveles más elevados de hemoglobina y

de leucocitos. Empleando ARNm de plaquetas para la detección del JAK2 también hallamos en pacientes con TE una diferencia significativa en los niveles de hemoglobina y de incidencia de trombosis en pacientes que tenían la mutación (Heller y col, 2006).

Las plaquetas se unen a los granulocitos y monocitos mediados por la P-selectina que se une a la glicoproteína ligando-1 de la P-selectina (PSPG) en los leucocitos, lo que lleva a la activación de la tirosina quinasa de la integrina  $\beta_2$  CD11b/CD18. Se produce así la liberación de anión superóxido y de citoquinas inflamatorias, que a su vez aumentan la activación plaquetaria y activan la coagulación. Jensen y col (2001) hallaron, en sangre entera, aumento de agregados de plaquetas-monocitos y plaquetas-granulocitos-monocitos en pacientes con síndromes mieloproliferativos crónicos. Estos agregados se correlacionaron significativamente con el número de plaquetas, la expresión de P-selectina, de trombospondina y la expresión de GPIV. Además, la estimulación por ADP o trombina, acentuó significativamente la formación de estos agregados. El porcentaje de los agregados era mayor en los pacientes que tenían historia de trombosis o de obstrucción de la microcirculación.

Arellano-Rodrigo y col (2006), demostraron que los pacientes con TE con trombosis tenían significativamente mayor porcentaje de expresión de P-selectina en las plaquetas, comparados con los pacientes sin trombosis y con los controles normales. Los pacientes con trombosis tenían también un porcentaje mayor de complejos granulocito-plaquetarios y monocitos-plaquetarios. La expresión en monocitos del marcador de activación CD11b estaba también aumentada, así como la expresión del factor tisular (FT). Por otra parte, los niveles basales de expresión de P-selectina en plaquetas fueron significativamente más elevados en aquellos con la mutación del JAK2. Sin embargo, no hallaron relación entre la mutación del JAK2 y la incidencia de trombosis en estos pacientes.

La activación de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) por la unión de la P-selectina plaquetaria a su ligando en el neutrófilo (PSGL), lleva a la expresión del factor tisular (FT). Maugeri y col (2006), demostraron que la expresión del FT y el PSGL en los PNM están significativamente aumentados en los pacientes con SMP. La expresión de P-selectina plaquetaria y los agregados plaquetarios-leucocitos fue mayor en los pacientes que en los normales. Por otra parte, la evidencia de activación plaquetaria se corroboró por la disminución del contenido intraplaquetario de factor von Willebrand y fibrinógeno. La expresión del FT y los agregados PMN-plaquetas se previnieron *in vitro* de manera significativa por la hidroxiurea.

Como ya se mencionó, las plaquetas se unen a los neutrófilos y monocitos mediados por una serie de receptores y contrareceptores. Al activarse las plaquetas

expresan P-selectina, que se une a su receptor en monocitos y neutrófilos, la glicoproteína-1 ligando de la P-selectina (PSGL-1). La estabilización del agregado de plaquetas-leucocitos se produce por vía de la integrina Mac-1 (CD11b-CD18). A su vez, Mac-1 se une a la GP  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 de la plaqueta. Además, el agregado plaqueta-neutrófilo potencia la activación del neutrófilo por la interacción TREM-1 y el TREM-1 ligando (triggering receptor express on myeloid cells-1). SE produce así el estallido respiratorio y la liberación de IL-8 (Michelsen y Newburger, 2007; Hasselburger y col, 2007).

Desde otro enfoque, Niittyvuopio y col (2004), no hallaron ninguna asociación entre la activación plaquetaria y el riesgo tromboembólico y hemorrágico con la formación de colonias megacariocíticas y eritrocíticas espontáneas, en pacientes con trombocitemia esencial.

En búsqueda de otros factores de riesgo trombótico, Bidot y col (2005) encontraron anticuerpos antifosfolípidicos (APLA) en el 66% de los pacientes con trombocitemia esencial, fundamentalmente del tipo IgG. La positividad de estos anticuerpos era mayor en los pacientes con trombosis ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, los APLA eran tanto de tipo IgG como IgM. Las trombosis arteriales fueron más frecuentes que las venosas en esta población. Los activación plaquetaria evaluada por el CD62P y las micropartículas de origen endotelial fueron significativamente más elevados en los pacientes que tuvieron trombosis ( $p < 0.01$ ).

Por otra parte, no se hallaron alteraciones de la coagulación que explicara las complicaciones tromboembólicas (Kornblihtt y col, 2003). La frecuencia del factor V Leiden, el polimorfismo de la protrombina y de la MTHFR fue similar al de los controles normales. Tampoco hubo diferencia en los niveles de homocisteinemia.

Los niveles de las citoquinas hematopoyéticas en los pacientes con TE, salvo la IL-3, son normales. Es interesante que los niveles de TPO ligeramente aumentados, se hallaron en pacientes que tuvieron agregación plaquetaria espontánea. Sin embargo, la agregación espontánea se relacionó más con el número de plaquetas, pues al normalizarse por el tratamiento desapareció este fenómeno (Marta y col, 2006). El receptor soluble de IL-6 se halló significativamente aumentado en estos pacientes, pero los valores no se correlacionaron con las trombosis ni la agregación espontánea Marta y col (2004).

Las incidencia de trombosis en PV oscila entre 12% y 39% y en TE entre 11% y 25% (Elliott y Tefferi, 2005). Estas trombosis son con mayor frecuencia arteriales, pero las trombosis venosas incluyen sitios inusuales como la porta, esplénica y mesentérica. No se halló relación entre las trombosis y la severidad de la

trombocitosis, aunque se postula que el riesgo aumenta con cifras de plaquetas superiores a 1.500.000/ $\mu$ l.

Resumiendo, la activación plaquetaria y consecuentemente la leucocitaria, contribuirían en la aparición de complicaciones tromboembólicas en los pacientes con síndromes mieloproliferativos crónicos.

## Referencias

- 1.- Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasmas: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. **Leukemia**: 2008;22:14-22
- 2.- Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. **Lancet** 2005;365:1054-61
- 3.- James C, Ugo V, Le Couedic M, Courtoy PJ, Contastinescu SN. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythemia vera. **Nature** 2005;434:1144-48
- 4.- Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Werning , Huntly BJ et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. **Cancer Cell** 2005;7:387-97
- 5.- Kraloviks R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg IR et al. A gain of mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. **N Engl J Med** 2005;352:1779-90
- 6.- Pardanani A. JAK2 inhibitor therapy in myeloproliferative disorders: rationale, preclinical studies and ongoing clinical trials. **Leukemia** 2008;22:23-30
- 7.- Heller PG, Lev PR, Salim JP, Kornblihtt LI, Goette NP, Chazarreta CD, Glebostky AC, Vassallu PS, Marta RF, Molinas FC. Jak2 mutation in platelets from essential thrombocythemia patients: correlation with clinical features and analysis of STAT5 phosphorylation. **Eur J Haematol** 2006;77:210-16
- 8.- Jensen MK, de Nully Brown P, Lund BV, Nielsen OJ, Haselbach HC. Increased circulating platelet-leukocyte aggregates in myeloproliferative disorders is correlated to previous thrombosis, platelet activation and platelet count. **Eur J Haematol** 2001;66:143-151
- 9.- Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, Villamor N, Colomer D, Cervantes F. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. **Haematologica** 2006;91:199-175
- 10.- Maugeri N, Giordano G, Petrilli MP, Fraticelli V, De Gaetano G, Cerletti C, Storti S, Donati B. Inhibition of tissue factor expression by hydroxiurea in polymorphonuclear

leukocytes from patients with myeloproliferative disorders: a new effect of an old drug? **J Thrombosis and Haemostasis** 2006;4:2593-98

11.- Michelson AD, Newburger PE. Platelets and leukocytes: aggregate knowledge. **Blood** 2007;110:794-5

12.- Hasselmeier P, Grosse-Hovest L, von Landerberg P, Schild H, Radsak MP. TREM-1 ligand expression on platelets enhances neutrophil activation. **Blood** 2007; 110:1029-1035

13.- Kornblihtt LI, Heller PG, Correa G, Castañón M, Genoud V, Vassallu P, Sarano J, Kordich L, Molinas FC. Associated thrombophilic defects in essential thrombocythemia: their relationship with clinical manifestations. **Thrombosis Research** 2003;112:131-135

14.- Marta R, Goette N, Lev P, Heller P, Kornblihtt L, Vassallú P, Glembotsky A, Pirola C, Molinas F. Increased levels of plasma interleukin-6 soluble receptor in patients with essential thrombocythemia. **Haematologica** 2004;89:657-63

15.- Marta RF, Goette NP, Molinas FC. Niveles de citoquinas megacariocitopoyéticas en pacientes con trombocitemia esencial y su relación con características clínicas y bioquímicas. **Medicina** 2006;66:540-6

16.- Bidot CJ, Wenche JY, Horstman LL, Ahn ER, Bidot L, Fontana V, Ahn YS. Phospholipid antibodies and platelet activation as risk factors for thrombosis in thrombocythaemia. **Hematology** 2005;10:451-6

17.- Niittyvuopio R, Juvonen E, Kakomaki R, Okansen K, Anttila P, Ruutu T. The predictive value of megakaryocytic and erythroid colony formation and platelet function tests on the risk of thromboembolic and bleeding complications in essential thrombocythemia. **Eur J Haematol** 2004;72:245-51

18.- Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythemia vera and essential thrombocythemia. **Br J Haematol** 2005;128:275-290

19.- Moliterno AR, Williams DM, Rogers O, Spivak JL. Molecular mimicry in the chronic myeloproliferative disorders: reciprocity between quantitative JAK2V617F and MPL expression. **Blood** 2006;108:3013-15