

Marcadores moleculares de los síndromes mieloproliferativos

Morelis Navarro Vázquez*

RESUMEN

Las neoplasias mieloproliferativas son un conjunto de enfermedades caracterizadas por la presencia de re-arreglos genéticos o mutaciones somáticas en los genes que codifican para proteínas o receptores que están en relación con la actividad proteica cinasa en la tirosina, como el BCR/ABL, JAK 2 y RFCDP 1, confiriéndole ventaja proliferativa y supervivencia al clon neoclásico mieloide de cualquiera de sus tipos granulocítico, eritroide o megacariocítico. La leucemia mieloide crónica se caracterizada por la coexistencia de t(9;22) o cromosoma Filadelfia, cuyo marcador molecular es suficiente para que se inicie esta enfermedad y el cual puede utilizarse para la investigación de enfermedad mínima residual posterior a la terapia con blanco en la proteína químérica resultante.

Palabras clave: marcadores moleculares, síndromes mieloproliferativos, neoplasias mieloproliferativas, BCR/ABL, JAK 2, RFCDP 1.

ABSTRACT

Myeloproliferative neoplasms are a group of diseases characterized by the presence of genetic re-arrangements or somatic mutations in the genes coding for proteins or receptors that are related to the activity protein tyrosine kinase such as BCR / ABL, JAK 2 and RFCDP 1, conferring proliferative and survival advantage to myeloid neoclassical clone whatever type granulocytic, erythroid or megacariocytic. Chronic myeloid leukemia is characterized by the coexistence of t (9; 22) or Philadelphia chromosome, which marker is sufficient to start the disease and which can be used for the investigation of minimal residual disease after therapy with white the resulting chimeric protein.

Key words: molecular markers of myeloproliferative syndromes, myeloproliferative neoplasms, BCR / ABL, JAK 2 RFCDP 1.

Los síndromes mieloproliferativos fueron descritos inicialmente, desde el punto de vista clínico e histológico, por William Dameshek en 1951, como síndromes caracterizados por la presencia de panmielosis.¹ Más tarde, en 2008, la Organización Mundial de la Salud los caracterizó como neoplasias mieloproliferativas y los definió como un conjunto de padecimientos con proliferación de un clon hematopoyético (al menos una línea: granulocítica, eritroide o megacariocítica), con alteraciones mínimas en la maduración.²

En los últimos años, el empleo de técnicas citogenéticas y moleculares ha permitido explicar la patogénesis de estos trastornos por la detección de re-arreglos moleculares y mutaciones que promueven constitutivamente la actividad cinasa en la tirosina de las proteínas de las vías de señalización intracelular, confiriéndole una ventaja proliferativa y de supervivencia al clon neoplásico.³

La leucemia mieloide crónica fue la primera de estas enfermedades en la que se observó una correlación directa entre la existencia de un oncogen químérico y la aparición de la enfermedad.⁴ Posteriormente, el descubrimiento en 2008 de nuevas alteraciones moleculares, como las mutaciones somáticas del JAK2 (mutación V617F y del exón 12), permitió aclarar el papel preponderante que juega dicha alteración en la patogénesis del resto de las neoplasias mieloproliferativas: policitemia vera, trombocitemia escencial y mielofibrosis, aun cuando no pueda considerarse como marcador específico de ninguna de ellas.

El conocimiento de estas mutaciones ha permitido su empleo con fines diagnósticos, en la clasificación, como blanco y monitoreo terapéutico.^{5,6}

* Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Caracas. Universitaria de Caracas, Los Chaguaramos, Caracas, Venezuela.

Correspondencia: Dr. Morelis Navarro Vázquez. Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Caracas. Universitaria de Caracas, Los Chaguaramos, Caracas Venezuela.

Recibido: febrero, 2010. Aceptado: marzo, 2010.

Este artículo debe citarse como: Navarro-Vázquez M. Marcadores moleculares de los síndromes mieloproliferativos. Rev Hematol Mex 2010;11(3):152-155.

La leucemia mieloide crónica

Ha sido clásicamente descrita como una enfermedad trifásica por presentar en su evolución: una fase crónica inicial, caracterizada por esplenomegalia, proliferación mieloide con varios grados de maduración de los neutrófilos, menos de 20% de basófilos y menos de 10% de blastos; una fase intermedia o fase acelerada que cursa con un incremento de los blastos (10-19%), trombocitosis o trombocitopenia resistentes al tratamiento y, finalmente, una fase blástica o crisis blástica, caracterizada por más de 20% de blastos linfoides o mieloídes.⁷ Al diagnóstico 95% de los casos tiene la t(9;22)(q34;q11.2) que da origen a un cromosoma nuevo, el cromosoma Philadelphia, descrito por Nowell y Hungerford en 1960. Este cromosoma es el producto de la traslocación balanceada y recíproca entre el gen *ABL1* (cromosoma 9) y el gen *BCR* (cromosoma 22).⁸ El gen *ABL1* pertenece a la familia de los receptores con actividad cinasa en la tirosina y el *BCR* presenta múltiples dominios funcionales, involucrados en la oligomerización y en la actividad cinasa en serina o treonina y otras. Los re-arreglos de fusión más frecuentes son el b2a2 o el b3a2, cuyos transcriptos proteicos tienen un peso molecular de 210 KDal y un transcripto alternativo que ocurre en una región menor y que produce uno de 190 KDal⁹. El producto de estas fusiones es capaz de producir la transformación maligna, ya que dicha alteración localiza al BCR/ABL en el citoesqueleto lo que hace que aumente la actividad cinasa en la tirosina por el ABL a través de las vías de señalización (RAS, RAF, STAT y otras).^{4,10}

El conocimiento de estos mecanismos permitió el desarrollo de potentes inhibidores de la actividad cinasa en la tirosina por el BCR/ABL y, con ello, frenar el proceso de leucemogénesis, manteniendo al paciente en una fase crónica controlada.^{11,12}

Los transcriptos de ARN pueden determinarse por la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) y cuantificarse por PCR en tiempo real (Q-PCR). Esto permite su utilización en el diagnóstico y en el monitoreo de la terapéutica inhibidora de la actividad cinasa de la tirosina (TKI) del BCR/ABL.¹³

Policitemia vera

Vázquez fue quien la describió inicialmente, en 1892, como una panmielosis con esplenomegalia, predisposición a trombosis arterial-venosa, mielofibrosis y evolución a leucemia aguda. En 1903 Osler la diferenció del resto

de enfermedades mieloproliferativas por la presencia de eritrocitosis.^{5,6} Desde el año 2005 se ha atribuido su desarrollo, en 95% de los casos, a mutaciones somáticas en el gen de las proteínas Janus (*JAK*), las cuales desencadenan auto-fosforilación constitutiva de las vías mediadas por las proteínas JAK-STAT.^{2,14} La mutación somática resulta en un cambio de nucleótido G-C por T-A en el exón 14 del *JAK2* en la posición 1.849, lo cual produce la sustitución de una valina por una fenilanina en el codón 617, ocurriendo en el dominio pseudocinasa JH2 y produciendo auto-fosforilación, por liberación de la auto-inhibición, relacionada con el dominio JH1. La mutación clonal en estado heterocigoto u homocigoto confiere ventajas proliferativas, con independencia de factores de crecimiento, como la eritropoyetina.^{15,16} El estado heterocigoto se correlaciona con concentraciones elevadas de hemoglobina y prurito acufero; y el estado homocigoto favorece el perfil hiperproliferativo, leucocitosis, esplenomegalia y requerimiento de terapia cito-reductora. Las mutaciones en el exón 12 del *JAK2*: N542-E543 del, F537-K539delinsL, K539L y la H538Q-K539L, descritas en el año 2007, se asocian específicamente con policitemia vera o con eritrocitosis aisladas asociadas con concentraciones séricas bajas de eritropoyetina, especialmente en jóvenes.¹⁷

La trombocitemia escencial

Es la neoplasia mieloproliferativa que involucra principalmente la línea megacariocítica. Fue descrita por Epstein y Goedel en 1934 como un estado trombocítémico no reactivo, no asociado a otra neoplasia mieloproliferativa.¹⁸ En 40-50% de los casos se ha encontrado la mutación *JAK 2* V617F, o mutaciones funcionalmente similares, y su presencia se ha relacionado con concentraciones elevadas de hemoglobina, leucocitosis, edad avanzada al diagnóstico y transformación policitemática. No se asocia con mayor riesgo de trombosis ni de transformación leucémica.¹⁹ En 1-4% de los casos se ha encontrado mutaciones somáticas activadoras, que involucran al gen *MPL*, resultando de una cambio de nucleótido G>T, en la posición 1.544, que ocasiona una sustitución de un triptófano por una leucina en el codón 515.^{19,14} Ninguna de estas mutaciones se encuentra en las trombocitosis reactivas.²⁰

La mielofibrosis primaria

Es la neoplasia mieloproliferativa caracterizada por la proliferación granulocítica y megacariocítica. La evolu-

ción de la enfermedad se asocia con depósitos de tejido conectivo fibroso en la médula ósea y con hematopoyesis extramedular. En la etapa fibrótica de la enfermedad aparece en la sangre periférica una reacción leuco-eritroblástica con dacriocitos.²¹ Desde el punto de vista molecular, no se ha asociado con ningún marcador; sin embargo, se ha observado la mutación del JAK 2 V617F en 50% de los casos, y se ha encontrado correlación entre el estado mutacional al diagnóstico y la progresión de la enfermedad,^{22,23} incluida la aparición de leucemia aguda. Este marcador sirve como estratificador de riesgo.²² El 4% de los casos se ha asociado con mutaciones somáticas activadoras del MPL (*MPL* W515K/L).¹⁴

Leucemia eosinofílica crónica y otras no específicas

En ninguna de los padecimientos se ha encontrado un marcador molecular específico, pero en ambos hay mutaciones que involucran a los genes que codifican receptores celulares, como el receptor para el factor de crecimiento derivado de las plaquetas α y el β (*PDGFR- α* y β). Estas mutaciones producen hiperactividad de las proteínas cinasas de señalización intracelular que derivan en la proliferación celular. En la LEC y las NOS, el re-arreglo más frecuente es la fusión *FIP1L1-PDGFR- α* , el cual produce activación constitutiva de las proteínas cinasa en las tirosinas. La región de ruptura del *FIP1L1*, es muy promiscua, mientras que el punto de ruptura en el *PDGFR- α* , se encuentra en el exón 12, en la región que codifica una zona bien conservada JM dispuesta para la unión proteína-proteína, cuyo rol es de auto-inhibición, por lo que muy probablemente la disrupción en éste dominio es el mecanismo de activación del *FIP1L1-PDGFR- α* .^{14,24} El conocimiento de la función activadora de las cinasas las hace susceptibles al tratamiento con agentes inhibidores de estas proteínas. Este marcador molecular puede ser utilizado tanto en el diagnóstico como en el monitoreo terapéutico por FISH como por RCP-TR (RT-PCR).²⁵

Mastocitosis sistémica

Es la proliferación clonal de las células mastoides, las cuales se acumulan en uno o varios tejidos. En 1993, se describió una mutación somática, puntual y activadora en el gen *KIT*, (Andres C. García-Montero, María Jara-Acevedo), en líneas celulares de leucemia de células mastoides (HMC-1), tal mutación se ha encontrado en la región yuxtapuesta al gen *KIT* (V560G) y otra en el

dominio del gen para la cinasa de la tirosina dado por la sustitución del nucleótido adenina en la posición 717E por una timina, ocasionando un cambio de una valina por un aspartato en el codón 816 (D816V), encontrándose prácticamente en 95% de los casos de mastocitosis sistémicas.^{14,26} La mutación del *KIT* se ha observado en bajo porcentaje, sin embargo produce una activación de la cinasa de la tirosina por *KIT* independiente del ligando, lo cual la hace relativamente resistente al imatinib como inhibidor de las cinasas.²⁷

REFERENCIAS

1. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6:372-375.
2. Tefferi A and Vardiman J. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22:14-22.
3. Hehlmann R, Hochhaus A and Baccarani M. European LeukemiaNet. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet* 2007;370:342-350.
4. Hasserjian R. Chronic Myelogenous Leukemia. Texas. *Dan Jones Houston* 2010 193-211.
5. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-1148.
6. Kralovics R, Passamonti F, Buser A, Teo S, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-1790.
7. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, et al. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341:164-172.
8. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960;132:1497.
9. Goldman J, Melo J. Chronic Myeloid Leukemia. Advances in Biology and New Approaches to Treatment. *N Engl J Med* 2003;349:1451-1464.
10. Vardiman J, Melo J, Baccarani M, Thiele J. Chronic myelogenous leukaemia, BCR-ABL 1 positive. Lyon. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H 2008;pp:32-37.
11. Roy L, Guilhot J, Krahne T, Guerci-Bresler A, et al. Survival advantage from imatinib compared with the combination interferon-plus cytarabine in chronic-phase chronic myelogenous leukemia: historical comparison between two phase 3 trials. *Blood* 2006;108:1478-1484.
12. Marcucci G, Perrotti D, Caligiuri M. Understanding the Molecular Basis of Imatinib Mesylate Therapy in Chronic Myelogenous Leukemia and the Related Mechanisms of Resistance. *Clin Cancer Res* 2003;9:1333-1337.
13. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, Branford S, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting *BCR-ABL* transcripts and

- kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006;108:28-37.
14. Thiele J, Kvasnicka H, Orazi A, Tefferi A, Birgegard G. Polycythaemia vera Lyon. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, et al. FALTAN DATOS 2008;pp:40-43.
 15. Tefferi A, Skoda R, Vardiman J. Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics. *Nat Rev Clin Oncol* 2009;6:627-637.
 16. Chen G, Prchal J. Polycythemia vera and its molecular basis: An update. *Best Pract & Res Clin Haematol* 2006;19:387-397.
 17. Streiff M, Smith B, Spivak J. The diagnosis and management of polycythemia vera in the era since the Polycythemia Vera Study Group: a survey of American Society of Hematology members' practice patterns. *Blood* 2002;99:1144-1149.
 18. Tefferi A. Essential thrombocythemia: scientific advances and current practice. *Curr Opin Hematol* 2006;13:93-98.
 19. Thiele J, Kvasnicka H, Orazi A, Tefferi A, Gisslinger H. Essential thrombocythaemia. Lyon. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. FALTA EL TÍTULO 2008;pp:48-50.
 20. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Verrucci M, et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005;19:1847-1849.
 21. Thiele J, Kvasnicka H, Tefferi A, Barosi G, et al. Primary myelofibrosis. Lyon. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, et al. FALTAN DATOS 2008;pp:44-47.
 22. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M, et al. Splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis JAK2 V617F mutational status predicts progression to large. *Blood* 2007;110:4030-4036.
 23. Tefferi A. Pathogenesis of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *J Clin Oncol* 2005;23:8520-8530.
 24. Bain B, Gilliland D, Vardiman J. and Horny H. Chronic eosinophilic leukaemia not otherwise specified. Lyon. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H 2008;pp:48-50.
 25. Tefferi A, Patnaik M and Pardanani A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. *Br J Haematol* 2006;133:468-492.
 26. Horny H, Metcalfe D, Bennett J. and Bain B. Mastocytosis. Lyon. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H 2008;pp:57-63.
 27. Garcia-Montero A, Jara-Acevedo A, Teodosio C, Sanchez M, Nunez R, Prados A, et al. *KIT* mutation in mast cells and other bone marrow hematopoietic cell lineages in systemic mast cell disorders: a prospective study of the Spanish Networkon Mastocytosis (REMA) in a series of 113 patients. *Blood*. 2006;108:2366-2372.