

MEGACARIOCITOS NEONATALES NO MADURAN *IN VIVO* NORMALMENTE EN AUSENCIA DE TROMBOPOYETINA: PAPEL POTENCIAL DE LAS DIFERENCIAS EN LA EXPRESIÓN DE CXCR4 DURANTE EL DESARROLLO

F. Ferrer-Marin^{1,2}, R. Gutti², Z.J. Liu², J. Italiano³, Z. Hu⁴, W. Slayton⁴, M. Bailey², M. Sola-Visner²

¹Unidad de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia. ²Division of Newborn Medicine. Children's Hospital Boston and Harvard Medical School. Boston. MA (EE UU). ³Division of Translational Medicine. Brigham and Women's Hospital. Harvard Medical School. Boston. MA (EE UU). ⁴Department of Pediatrics. University of Florida. Gainesville. FL (EE UU)

Introducción: Tpo y su receptor (c-mpl) son el principal eje regulador de la megacariopoesis (MCP) y trombopoiesis. Ratones adultos Tpo y c-mpl *knockout* (KO) exhiben un 85% menos de MK, aunque el 15% restante son ultraestructuralmente normales sugiriendo que *in vivo* factores adicionales soportan la MCP. De entre todos estos factores, el eje SDF-1/CXCR-4 es el principal responsable de la MCP Tpo-independientes (ID). Nosotros hemos comunicado diferencias sustanciales entre la MCP neonatal y la del adulto. El fenotipo de ratones c-mpl KO neonatos no está caracterizado y su estudio podría mejorar el conocimiento de ciertos desórdenes de la MCP asociados al eje Tpo/c-mpl exclusivos del periodo neonatal (como las Trombopenias con ausencia de radio y amegacariocítica congénita) o el retraso del injerto plaquetario posttransplante de CU.

Objetivo: estudiar el fenotipo de los MK neonatales en ratones c-mpl KO y si éste es diferente, los mecanismos moleculares subyacentes.

Métodos y resultados: Evaluamos la concentración de MK en hígado (H), el principal órgano de MCP neonatal, en ratones c-mpl KO y WT con Ac anti-vWF (día 1-3), confirmando una reducción del 70% de MK en el KO. La ultraestructura de estos MK neonatales (c-mpl KO: n=28; WT n=32), mostró una disminución significativa en el % de MK maduros en los c-mpl KO (22%) frente a los WT (50%). Además, hasta el 70% de los MK neonatales KO mostraban anomalías en el sistema de demarcación de membranas. Dado que los MKs en ratones adultos maduran normalmente sin Tpo, investigamos si durante la vida neonatal existiría una disregulación de las vías Tpo-ID. Encontramos que la expresión de miR9 es 10-14 veces mayor en MK fetales/neonatales que en adultos y dado que CXCR4 (SDF1- receptor), es una diana "*in silico*" de miR9, evaluamos la expresión proteica de CXCR4 en MK cultivados desde H fetal, H neonatal o MO de ratones adultos. Los niveles de CXCR4 eran más bajos en MKs de H fetal y neonatal que en MO de ratones adultos (p=0.003). Evaluamos el significado de estos hallazgos en humanos cuantificando los niveles de hsa-miR9 y CXCR4 (mRNA/proteínas) en MK derivados de CU o sangre periférica de adulto (n=3/grupo). Igual que en ratones, los niveles de miR-9 fueron 20 veces más altos y los de CXCR4 más bajos en MK neonatales que en adultos (p < 0,05). Además, la transfección de células Meg-01 con pre-miR-9 provoca una reducción significativa de los niveles proteicos de CXCR4 (p = 0,02).

Conclusión: MK neonatales no maduran normalmente en ausencia de Tpo. La disregulación de CXCR4 por miR9 en MK en el periodo fetal/neonatal podría explicar el fenotipo encontrado justificando desórdenes de la MCP exclusivos de este periodo del desarrollo.