

CD44 Y MMP14 JUEGAN UN IMPORTANTE ROL EN LA DIFERENCIACIÓN ERITROIDE EN LA POLICITEMIA VERA Y EN LA TROMBOCITEMIA ESENCIAL

M. Gallardo, S. Barrio, R. Ayala, E. Albizua, I. Rapado, A. Jiménez, M. Candelas, O. Toldos, R.M. García-Martín, S. Redondo, V. García, F.J. Fernández Débora, F. Gilsanz, J. Martínez-López

Servicio de Hematología. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. Servicio de Hematología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. Servicio de Hematología. Hospital Universitario Ramon y Cajal. Madrid

Fundamentos: Estudios previos de nuestro grupo por citometría de flujo (CF) y RT-PCR señalan a la metaloproteasa MMP14 y CD44 como candidatos a marcadores de divergencia fenotípica entre PV y TE y como posibles dianas terapéuticas o nuevos criterios diagnósticos. Nuestro objetivo es validar estos resultados a nivel proteómico y funcional y establecer su importancia fisiopatogénica.

Métodos y pacientes: Un total de 43 pacientes diagnosticados de NMPc bajo los criterios de la OMS 2008, 16 PV, 16 TE JAK2 positiva, 11 MFP y 15 sujetos sanos fueron estudiados. La validación se realizó por inmunohistoquímica (IHQ) de las proteínas MMP14 y CD44 de 11 biopsias de médula ósea de PV, 11 TE positivas, 11 MFP y 11 biopsias sin infiltración patológica como controles. Por último, se realizó validación funcional: se realizaron cultivos de colonias eritroides (CCE) de 5 muestras de PV, 5 TE y 5 donantes sanos. Se trataron con un inhibidor de MMP14, Marimastat, a las concentraciones de 10 μ M, 25 μ M y 50 μ M. Por otro lado, se utilizó un anticuerpo bloqueador anti-CD44 a las concentraciones de 0.1 μ g/ml, 1 μ g/ml y 10 μ g/ml. Los efectos de los fármacos sobre las colonias fueron analizados mediante conteo de colonias, test de viabilidad por trypan blue y citometría de flujo con los marcadores CD71-FITC, CD41a-FITC, CD45-PerCP, CD34-APC, CD44-PE y Anexina-APC.

Resultados: Se observó una diferencia de expresión de MMP14 en megacariocitos de ambas patologías, TE positiva (100% de casos positivos, 73% células positivas) y PV (100% casos positivos, 60% células positivas), cuando se comparaban respecto a controles (0% de casos positivos, 0% de células positivas) y MFP (20% casos positivos, 0.01% células positivas) por IHQ ($P=0.00$), estando sobre-expresada tanto en TE como en PV. Se observó una menor expresión de CD44 en TE positiva (1% células positivas) frente a las PV (3% células positivas) en granulocitos de médula ósea ($P=0.039$). Los resultados de CCE tanto por conteo de colonias como por test de viabilidad, reflejan una marcada disminución de colonias y células con los tratamientos en ambas patologías; en el caso del anticuerpo anti-CD44 con un Ic_{50} de 1 μ g/ml ($P=0.00$), y en el caso de Marimastat con un Ic_{80} de 25 μ M ($P=0.09$). Los resultados de citometría de flujo muestran una marcada disminución de serie eritroide (disminución de un 30%-90%) con ambos tratamientos ($P=0.035$), a la vez que se incrementan los precursores megacariocitos (incremento de 1-5 veces más) ($P=0.045$) y la serie pan-leucocitaria (incremento de 2-5 veces más).

Conclusiones: MMP14 podría ser utilizado como una prueba diagnóstica en PV y TE. CD44 y MMP14 pueden jugar un papel clave en la fisiopatogenia de TE y PV y ser una de las causas de la divergencia en la diferenciación eritroide entre ambas. Adicionalmente, podrían ser utilizadas como eficaces dianas terapéuticas.

Financiado por FIS 05/1665 FIS 08/402, FIS PI030345 y PI071009.