

Clasificación molecular de las neoplasias mieloproliferativas en México

Guillermo J. Ruiz-Argüelles* y Guillermo J. Ruiz-Delgado

Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla, Puebla, México

RESUMEN

Introducción: por medio del uso de marcadores moleculares, es posible adquirir más información sobre la etiología y el tratamiento de las neoplasias mieloproliferativas.

Objetivo: Analizar las características moleculares con los siguientes marcadores: El gen de fusión BCR/ABL, la mutación V617F del gen JAK2, las mutaciones del exón 12 del gen JAK2 y las mutaciones del gen MPL: MPLW515L y MPLW515K, en pacientes con neoplasias mieloproliferativas estudiados en la Clínica Ruiz de Puebla.

Métodos: se estudió un grupo de 36 pacientes mestizos mexicanos; 17 con trombocitosis primaria (TP), nueve con policitemia vera (PV), cuatro con mielofibrosis primaria (MF), cinco con neoplasia mieloproliferativa indiferenciada, uno con eritrocitosis primaria y uno con trombocitosis familiar. Se excluyeron los pacientes con BCR/ABL.

Resultados: se encontraron 12 sujetos con la mutación JAK2 V617F, 11 se habían clasificado como PV y uno como MF. Se encontró un paciente con la mutación MPLW515L, con cuadro clínico de TP. No se encontraron individuos con las mutaciones MPLW515K ni las del exón 12 de JAK2. De los 17 sujetos con TP, 6 (35%) tuvieron la mutación JAK2 V617F y uno (6%) la mutación MPLW515L. De los ocho pacientes con PV, cinco (62%) tuvieron la mutación JAK2 V617F, en tanto que de los cuatro pacientes con MF, uno (25%) tuvo la mutación JAK2 V617F. La única asociación estadística significativa fue entre PV y la mutación JAK2 V617F ($p = 0.08$).

Conclusiones: para el diagnóstico y clasificación de las neoplasias mieloproliferativas, además de los marcadores moleculares recientemente descritos, los datos clínicos y de laboratorio siguen siendo muy importantes.

Palabras clave:

Neoplasias mieloproliferativas, mutación JAK2, trombocitosis, policitemia vera, mielofibrosis

SUMMARY

Using molecular markers, it is possible to acquire additional information on the etiology and treatment of myeloproliferative neoplasms (MPN). In patients with MPN studied in the Ruiz Clinic of Puebla, the molecular characteristics using the following markers were analyzed: The fusion gene BCR/ABL, V617F mutation of JAK2 gene, mutations of exon 12 and JAK2 gene mutation MPL genes MPLW515L and MPLW515K. We studied a group of 36 Mexican mestizo patients, 17 with primary thrombocytosis (PT), 9 with polycythemia vera (PV), 4 with primary myelofibrosis (MF), 5 with undifferentiated myeloproliferative neoplasms, one with primary erythrocytosis and one with familial thrombocytosis. We excluded patients with BCR/ABL. There were 12 subjects with the JAK2 V617F mutation, 11 were classified as PV and one as MF. We found one patient with the mutation MPLW515L with the clinical picture of PT. There were no individuals found with MPLW515K mutations or of exon 12 of JAK2. Of the 17 patients with PT, 6 (35%) had the JAK2 V617F mutation and one (6%) had the MPLW515L mutation. Of the eight patients with PV, 5 (62%) had the JAK2 V617F mutation, whereas out of the four patients with MF, one (25%) had the JAK2 V617F mutation. The only statistically significant association was between PV and the JAK2 V617F mutation ($p = 0.08$). Diagnosis and classification of myeloproliferative neoplasms, in addition to the recently described molecular markers and clinical and laboratory data are still very important.

Key words:

Myeloproliferative neoplasms, JAK2 mutation, thrombocytosis, polycythemia vera, myelofibrosis

En 1951, William DAMESHEK clasificó a la policitemia vera (PV), a la trombocitosis primaria (TP) y a la mielofibrosis primaria con metaplasia mieloide agnogénica (MF/MMA), como síndromes mieloproliferativos crónicos,¹ para distinguirlos de aquellos de presentación y curso agudos;

reconoció también que la leucemia granulocítica crónica (LGC), con muchas similitudes con estos padecimientos, tenía un comportamiento distinto. Sin embargo, la etiología molecular de estos padecimientos no había sido aclarada.² En 1960 se describió la ocurrencia del cromosoma Philadelphia

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Guillermo J. Ruiz-Argüelles. Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla, Laboratorios Clínicos de Puebla, Díaz Ordaz 808, Col. Anzures, 72530 Puebla, Puebla, México. Tel. (01-22) 2 243 8100, Fax. (01-22) 2 243 84 28. Correo electrónico gruz1@clinicaruz.com

(Ph1) en LGC y en 1973 se demostró que el Ph1 resulta de la translocación balanceada de material genético entre los cromosomas 9 y 22. Diez años después se identificó el primer marcador molecular de un padecimiento hematológico maligno, el BCR/ABL. A partir de entonces se han identificado otros marcadores moleculares de los antaño llamados síndromes mieloproliferativos, que ahora deben llamarse neoplasias mieloproliferativas (NMP).³

BCR/ABL

El marcador molecular de la LGC es el Ph1, un cromosoma acortado que resulta de la translocación recíproca t(9;22)(q34;q11), entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22, lo que crea un gen híbrido o quimérico denominado BCR/ABL, que se transcribe en un RNA mensajero quimérico. Se ha demostrado que el sitio de fractura en el cromosoma 22 se encuentra en una región limitada de 5.8 kilobases, que se denomina región principal de los puntos de fractura (*major breakpoint cluster region, M-BCR*).⁴ Las localizaciones de los sitios de fractura en el gen BCR se localizan entre los exones b2 y b3 o entre los exones b3 y b4. De acuerdo a la localización del sitio de fractura, se pueden originar dos tipos de RNA mensajero: El b2a2 o el b3a2. La mayoría de los pacientes con LGC tienen uno u otro transcrito (b2a2 ó b3a2), pero una proporción pequeña tiene ambos productos de la fusión; el transcrito b3a2 es más largo que el b2a2, por 75 pares de bases. El RNA mensajero de fusión (b2a2 o b3a2), se traduce en una proteína quimérica de 210 kilodaltones llamada p210^{BCR/ABL}.⁴ Por razones probablemente genéticas, las NMP, exceptuando la LGC, son menos frecuentes en la población mestiza mexicana que en poblaciones caucásicas, aun cuando el curso clínico de estos padecimientos es similar;⁵ sin embargo, la distribución de las variedades de los transcritos b2a2 o b3a2 del BCR/ABL en mestizos mexicanos con LGC son similares a las descritas en caucásicos.⁴ Del conocimiento detallado de estos marcadores moleculares es que se han derivado los tratamientos modernos y altamente eficientes de la LGC con moléculas inhibidoras específicas de estos transcritos como el imatinib (Glivec®), el dasatinib (Sprycell®), el nilotinib (Tasigna®), el bosutinib y otros.

JAK2

Las cinasas de proteínas (PK) son enzimas que catalizan la fosforilación de las proteínas, en tanto que las fosfatasa de proteínas hacen lo contrario: regulan la actividad de las PK mediante defosforilación de las proteínas. Las cinasas de tirosinas de proteínas (PTK) son PK que catalizan la transferencia de los grupos g-fosfato del trifosfato de adenosina (ATP) a los grupos hidroxilo de residuos específicos de tirosina en las moléculas de traducción de señales. En los humanos, la familia *Janus* de PTK (JAK), tiene dos módulos similares orientados en direcciones opuestas. El nombre *Janus* deriva del dios con ese nombre, también llamado *Bifrons*, que tiene dos caras mirando en direcciones opuestas. La familia JAK en humanos tiene cuatro miembros: JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2.

Los JAKs fosforilan traductores de señales y activadores de la transcripción (STATs), simultáneamente con otras fosforilaciones requeridas para la activación.⁶ Se ha descrito una mutación (V617F) que afecta al gen de la cinasa JAK2 en pacientes con padecimientos mieloproliferativos y otras neoplasias mieloides: ocurre en aproximadamente 90% de pacientes con PV, 50% de pacientes con TP y 50% de pacientes con MF/MMA.⁶ También es claro que la identificación de este marcador molecular ha permitido desarrollar fármacos específicos para hacer la inhibición molecular de las neoplasias como los fármacos TG101209, TG101348, KL019, INCB018424, CEP-701 (lestaurinib) y otros.⁷

MPLW515

Se han descrito también mutaciones en el gen del receptor de la trombopoyetina, una proteína de unión de la membrana-uxtamembrana denominada MPL.⁸ En este gen se han encontrado por lo menos dos mutaciones, la *MPLW515L* y la *MPLW515K*; ambas ocurren en aproximadamente 10% de los pacientes con MF/MMA *JAK2V617F* (-) y en una proporción similar de casos con TP *JAK2V617F* (-), pero aparentemente no se observan en PV ni en otras neoplasias hematológicas.

Mutaciones en el exón 12 del gen de JAK2

Se describieron recientemente por lo menos tres mutaciones en el exón 12 del gen de JAK2 en pacientes con NMP *JAK2V617F* (-), con cuadros clínicos de eritrocitosis, sin leucocitosis ni trombocitosis, con niveles muy bajos de eritropoyetina (EPO) e imagen en la médula ósea de hiperplasia eritroide grave con cambios dismielopoyéticos fundamentalmente en serie roja.⁹ En cultivos *in vitro* de células de esos pacientes, crecen colonias eritroides sin necesidad de agregar EPO; estas colonias son heterocigotas para la mutación del exón 12, en tanto que las colonias con mutaciones homocigotas ocurren en la mayoría de los pacientes con PV y *JAK2V617F* (+). Estas mutaciones, en ausencia de la *JAK2V617F* aparentemente definen a una nueva NMP hasta ahora no identificada: La

Cuadro I. Mutaciones de JAK2 y de MPL en pacientes mestizos mexicanos con neoplasias mieloproliferativas

	n	JAK2		MPL	
		V617F	Mutación exon 12	W515L	W515K
TP	17	6	0	1	0
PV	8	5	0	0	0
MF/MMA	4	1	0	0	0
EP	1	0	0	0	0
TF	1	0	0	0	0
NMPi	5	0	0	0	0
	36	12	0	1	0

TP = trombocitosis primaria, PV = policitemia vera, MF/MMA = mielofibrosis primaria, EP = eritrocitosis primaria, TF = trombocitosis familiar; NMPi = neoplasia mieloproliferativa indiferenciada.

eritrocitosis primaria,⁹ padecimiento que habrá de confirmarse y de definirse en el futuro con más detalle, pero cuya existencia era predecible desde las épocas en que el Dr. Dameshek¹ propuso la teoría de la génesis de las NMP.

Clasificación molecular de las NMP en México

En nuestro país, con un sistema de amplificación de mutaciones refractarias y reacción en cadena de la polimerasa, se investigó esta mutación en 70 pacientes mestizos mexicanos con neoplasias hematológicas malignas: 28 casos de leucemia aguda linfoblástica, 17 casos de leucemia granulocítica crónica BCR/ABL (+), ocho casos de leucemia aguda mieloblástica, seis casos de leucemia linfocítica crónica, seis casos de PV, dos casos de TP, un caso de síndrome hipereosinofílico primario y un caso de MF/MMA. La mutación se identificó en cuatro de seis pacientes con PV, en uno de dos pacientes con TP y en un paciente con MF/MMA.⁶ En el paciente con MF/MMA con esta mutación, se llevó a cabo un trasplante de células hematopoyéticas alogénicas con el que, luego de haberse logrado el quimerismo completo, se pudo documentar la desaparición del marcador molecular de la enfermedad.¹⁰ Esta observación sugiere que en el futuro, se podrá hablar de "remisiones moleculares" de las NMP, así como ahora se hace de las LGC. En otro estudio, se investigaron estos marcadores moleculares en un grupo de 36 pacientes mestizos mexicanos con NMP; 17 con TP, nueve con PV, cuatro con MF/MMA, cinco con neoplasia mieloproliferativa indiferenciada, uno con eritrocitosis primaria y uno con trombocitosis familiar y se encontraron 12 sujetos con la mutación JAK2 V617F, 11 se

habían clasificado como PV y uno como MF. Se encontró también un paciente con la mutación MPLW515L, con cuadro clínico de TP y no se encontraron individuos con las mutaciones MPLW515K ni las del exón 12 de JAK2. De los 17 sujetos con TP, seis (35%) tuvieron la mutación JAK2 V617F y uno (6%) la mutación MPLW515L. De los ocho pacientes con PV, cinco (62%) tuvieron la mutación JAK2 V617F, en tanto que de los cuatro pacientes con MF/MMA, uno (25%) tuvo la mutación JAK2 V617F. La única asociación estadística significativa fue entre PV y la mutación JAK2 V617F ($p = 0.08$); el cuadro I resume estos hallazgos en mestizos mexicanos.

Adicionalmente, se ha estudiado en México la utilidad de investigar la mutación JAK2 V617F en pacientes mestizos mexicanos con trombofilia: En 77 sujetos mestizos mexicanos con un marcador clínico de trombofilia se investigó esta mutación y no se encontró en ningún caso, lo que sugiere que en México, la ocurrencia de una NMP subclínica como causa de trombosis es muy poco frecuente.¹¹

Conclusiones

Se han hecho grandes avances en los conocimientos de los mecanismos moleculares involucrados en la génesis de las NMP.¹²⁻¹³ La biología molecular ha incluso permitido la identificación de una nueva enfermedad mieloproliferativa: la eritrocitosis primaria. Además de permitir una mejor comprensión de las NMP, estos conocimientos han dado como resultado el desarrollo de tratamientos moleculares específicos de estas enfermedades. La creación y uso exitoso de los fármacos como el imatinib, dasatinib, nilotinib y erlotinib son el resultado de la mejor comprensión del origen molecular de estas

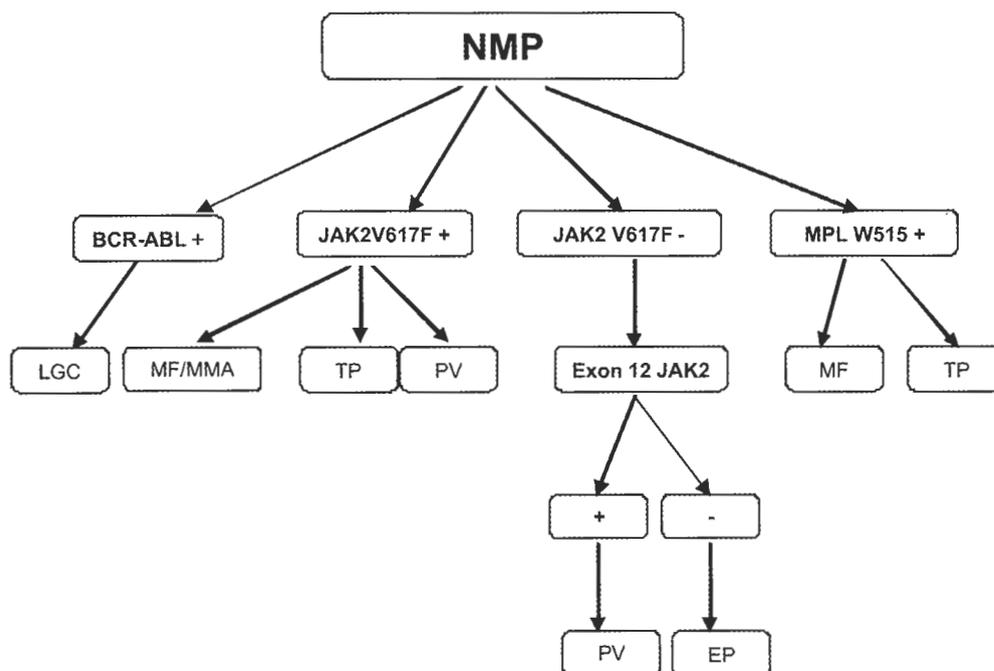


Figura 1. Propuesta de la clasificación "molecular" de las neoplasias mieloproliferativas (NMP).

LGC = leucemia granulocítica crónica; MF / MMA = mielofibrosis con metaplasia mieloide agnógena; PV = policitemia vera; TP = trombocitosis primaria, EP = eritrocitosis primaria, un NMP de reciente identificación.

enfermedades. La figura 1 intenta resumir algunos conceptos sobre la clasificación molecular de las neoplasias mieloproliferativas. Es claro que de la mejor comprensión de la etiopatogenia de estas enfermedades se derivarán tratamientos cada vez más específicos y útiles para los pacientes que sufren estos síndromes.

Referencias

1. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6:372-375.
2. Labardini-Méndez J. Síndromes mieloproliferativos. En Ruiz-Argüelles GJ (editor). *Fundamentos de Hematología*. México, Editorial Médica Panamericana. 2003 pp. 261-278.
3. Tefferi A, Thiele J, Orazi A et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytemia and primary myelofibrosis: Recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 2007;110:1092-1097.
4. Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Reyes-Núñez V, Ruiz-Delgado GJ. Frequencies of the breakpoint cluster region types of the BCR/ABL fusion gene in Mexican mestizo patients with chronic myelogenous leukemia. *Rev Invest Clin Méx* 2004;26:609-614.
5. Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Lobato-Mendizábal E, Ruiz-Delgado GJ. An addition to geographic hematology: Chronic myeloproliferative diseases are infrequent in Mexican Mestizos. *Int J Hematol* 2002;75:499-502.
6. Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Reyes-Núñez V, Ruiz-Delgado GJ, Navarro-Vázquez M, González-Carrillo M: The Janus kinase 2 (JAK2) V617F mutation in hematological malignancies in México. *Rev Invest Clin Méx* 2006;58:458-461.
7. Rambaldi A, Barbui T, Barosi G.: From palliation to epigenetic therapy in myelofibrosis. En Gewirtz AM, Muchmore EA, Burns LJ.: *Hematology*. American Society of Hematology Education Program Book. 2008 pp. 83-91.
8. Pikman Y, Lee BH, Mercher T. MPL515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006;3:e270.
9. Scott LM, Tong W, Levine RL.: JAK2 exon mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007;356:459-468.
10. Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Reyes-Núñez V, Ruiz-Delgado GJ, Rosillo C, Camoriano JK. Clearance of the Janus kinase 2 (JAK2) V617F mutation after allogeneic stem cell transplantation in a patient with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Am J Hematol* 2007;82:400-402.
11. Garcés-Eisele J, González-Carrillo ML, Reyes-Núñez V, Ruiz-Argüelles GJ. Primary thrombophilia in México VII: the V617F mutation of JAK2 is not a frequent cause of thrombosis. *Hematology* 2008;13:244-246.
12. Campbell PJ, Green T. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2006;355:2452-66.
13. Vannucchi A, Guglielmelli P. Molecular pathophysiology of Philadelphia negative myeloproliferative disorders: Beyond JAK2 and MPL mutations. *Haematologica* 2008;93:972-976.