

Megacariocitopoyesis y trombopoyesis



Megacariocitopoyesis

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Heller PG

*Hematología Investigación. Instituto de Investigaciones Médicas "Dr. Alfredo Lanari".
Universidad de Buenos Aires. UE IDIM-CONICET.*

paulaheller@hotmail.com

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 7-9
Fisiología de la hemostasia normal
Agosto 2017

Palabras claves: megacariocitos,
trombopoyetina,
proplaquetas,
plaquetas.

Keywords: megakaryocytes.
thrombopoietin.
proplatelets.
platelets.

Diariamente se producen 10^{11} plaquetas a través de un proceso complejo y estrictamente regulado. Los megacariocitos son células de gran tamaño, poliploides, presentes en muy baja proporción en la médula ósea. Derivan de células progenitoras hematopoyéticas que progresivamente pierden su capacidad de autorrenovación y se diferencian hacia los distintos linajes: mieloides y linfoides. El progenitor común mielóide origina, a su vez, el progenitor bipotencial megacariocítico-eritroide (MEP), capaz de dar origen a los linajes eritroide y megacariocítico, los cuales comparten diversas características comunes, incluido el perfil de factores de transcripción. Se ha propuesto la existencia de una vía alternativa, en la cual el MEP puede derivar directamente de la célula madre hematopoyética. El precursor megacariocítico más primitivo es el *burst-forming unit* (BFU-MK), con capacidad de formar grandes colonias de

megacariocitos en cultivo, seguido por el CFU-MK, que presenta capacidad proliferativa más restringida y origina colonias más pequeñas. Estos precursores se diferencian, maduran y atraviesan un proceso de poliploidización hasta convertirse en megacariocitos maduros, adecuados para una óptima producción de plaquetas. De acuerdo al tamaño, la lobulación nuclear y las características del citoplasma, los megacariocitos se clasifican en tres estadios. El estadio I, también denominado megacarioblasto, está representado por células relativamente pequeñas con núcleo no lobulado o bilobulado y citoplasma escaso y basófilo. El estadio II posee mayor tamaño, núcleo polilobulado y citoplasma policromático, más abundante. Las células en estadio III presentan gran tamaño (40-60 μm), citoplasma muy abundante y eosinófilo.

A medida que el megacariocito madura desarrolla

características específicas de linaje, incluyendo la adquisición de gránulos específicos plaquetarios alfa y densos y un sistema de demarcación de membranas (DMS) que constituirá el reservorio de la membrana de las futuras plaquetas. El DMS se desarrolla a partir de invaginaciones de la membrana plasmática que se ramifican para formar un sistema interconectado de membranas que ocupan todo el citoplasma. Paralelamente, existe una activa síntesis de componentes del citoesqueleto, que comprenden actina, filamina, miosina, tubulina y α 1-actinina, el cual será fundamental para la etapa de trombopoyesis. La diferenciación a lo largo del linaje megacariocítico se acompaña de la expresión de diversos marcadores de superficie. Uno de los primeros en expresarse es la integrina α Ib β 3 (también denominada glicoproteína IbIIIa), receptor de fibrinógeno, reconocida por citometría de flujo mediante el marcador CD41 o CD61. Más tardíamente en el desarrollo, aparece el complejo glicoproteico Ib/V/IX, receptor del factor von Willebrand, reconocido con el marcador CD42.

A medida que maduran, los megacariocitos experimentan un cese de su capacidad proliferativa y comienza el proceso de endomitosis, que ocurre simultáneamente al proceso de maduración. La endomitosis consiste en la duplicación del contenido de ADN sin acompañarse de división nuclear ni celular, como resultado de una mitosis abortiva. Luego del inicio de la anafase y la formación del surco mitótico, éste regresa, el huso mitótico se disocia y el megacariocito entra nuevamente en la fase G₁ para iniciar un nuevo ciclo endomitótico. Ciclos sucesivos de endomitosis culminan en una célula con contenido de ADN entre 2N hasta 128N en un solo núcleo poliploide. La endomitosis se traduce en una síntesis activa de ARN y proteínas, lo que le permite al megacariocito alcanzar gran tamaño y producir gran cantidad de plaquetas, siendo la producción plaquetaria directamente proporcional a la ploidía y tamaño del megacariocito. El proceso global de megacariocitopoyesis transcurre a lo largo de varios días, lo cual explica que los agonistas del receptor de TPO tarden varios días en comenzar actuar y alcancen su pico de acción a los 12-14 días.

Trombopoyesis

Una vez maduro, el megacariocito, en contacto con la célula endotelial del sinusoides vascular de la mé-

dula ósea, emite largas prolongaciones citoplasmáticas, denominadas proplaquetas, que posteriormente se fragmentarán en plaquetas. Las proplaquetas se originan en un polo del megacariocito, se elongan y ramifican profusamente. A lo largo del eje de las proplaquetas “viaja” el contenido plaquetario hacia el extremo terminal, estacionándose en diferentes segmentos que reciben el nombre de engrosamientos o *swellings* y finalmente se acumula en el extremo o *tip*, donde ocurrirá la liberación de las plaquetas. El normal desarrollo de las proplaquetas requiere de la indemnidad de las estructuras del citoesqueleto. Los microtúbulos se alinean en el eje de las proplaquetas, deslizándose entre sí para lograr la elongación necesaria para el crecimiento longitudinal del proceso proplaquetario y constituyen los andamios para el transporte de organelas desde el cuerpo del megacariocito hacia los *tips*. La importancia del citoesqueleto para el desarrollo normal de la trombopoyesis es puesta de manifiesto por el hecho de que mutaciones en diversos genes que codifican para los componentes del mismo dan lugar a trombocitopenias de origen genético. Las proplaquetas atraviesan la barrera endotelial y la liberación plaquetaria ocurre en la luz vascular. La fragmentación final de proplaqueta en plaqueta puede ocurrir en la circulación, favorecido por la fuerza del flujo sanguíneo. Recientemente se ha descrito la presencia de estructuras intermediarias entre la proplaqueta y la plaqueta, denominadas preplaquetas, que son estructuras discoides de mayor tamaño que la plaqueta, pudiendo haber interconversión dinámica entre proplaqueta y preplaqueta. La trombopoyesis se completa en pocas horas, período en el cual prácticamente todo el citoplasma del megacariocito se transforma en plaquetas, estimándose que cada megacariocito da origen a alrededor de 1000-5000 plaquetas.

El microambiente medular cumple un rol clave en la organización témporo-espacial de la producción plaquetaria. A medida que el megacariocito madura, migra desde el nicho osteoblástico hacia el vascular, gracias a un gradiente de SDF (factor derivado del estroma)-1. La interacción con el colágeno tipo I en el primer compartimento inhibe la formación prematura de proplaquetas y la liberación plaquetaria al intersticio medular, mientras que la matriz extracelular del nicho vascular, rica en factor von Willebrand y fibrinógeno, resulta propicia para la trombopoyesis. En esta interacción, resulta clave la

GPIb/IX, cuyo defecto origina el síndrome de Bernard-Soulier. Además, en el nicho vascular, el contacto del megacariocito con el endotelio y la acción de factores de crecimiento locales, como el VEGF, favorecen la diferenciación terminal y la trombopoyesis.

Regulación de la megacariocitopoyesis

La megacariocitopoyesis está regulada por diversas citoquinas y factores de crecimiento, incluidas la trombopoyetina (TPO), que cumple un rol primordial, las interleuquinas (IL) 3, 6 y 11 y el *stem cell factor* (SCF), entre otras. Entre los reguladores negativos, se incluyen el *transforming growth factor* (TGF) β y el factor plaquetario 4. La TPO estimula todas las etapas de la megacariocitopoyesis, incluyendo la proliferación, diferenciación, sobrevivencia, endomitosis y maduración de los megacariocitos. Se une a su receptor Mpl, lo que genera la homodimerización del mismo y la activación de la tirosina quinasa JAK2 y diversas vías de señalización intracelular, incluyendo MAPK, PI3K/Akt y moléculas de la familia STAT. La importancia del eje TPO/Mpl se manifiesta en la trombocitopenia severa que presentan los pacientes con mutación del *MPL* en la trombocitopenia amegacariocítica congénita. La evolución de estos pacientes a aplasia medular evidencia el papel fundamental que tiene la TPO a nivel de la célula progenitora hematopoyética. Además la TPO potencia ciertos aspectos de la función plaquetaria. La regulación de los niveles de TPO es compleja. Se sintetiza fundamentalmente en el hígado y, en menor medida, en el riñón y en el estroma de la médula ósea. Hasta hace poco tiempo, se consideraba que la síntesis hepática de TPO era primordialmente constitutiva y que el principal mecanismo de regulación de los niveles plasmáticos de esta citoquina era mediado por su depuración del plasma luego de la unión al receptor Mpl y posterior internalización. Según este modelo, que se ha equiparado a un mecanismo “tipo esponja”, las concentraciones plasmáticas de TPO resultan inversamente proporcionales a la suma total de receptores Mpl presentes en la superficie del megacariocito y la plaqueta. Cuando las plaquetas aumentan, hay mayor captación y depuración de TPO por unión al Mpl, disminuyen los niveles plasmáticos de esta citoquina y hay menor estímulo para la megacariocitopoyesis. A la inversa cuando disminuyen las plaquetas, hay menor cap-

tación, aumenta la TPO plasmática y se estimula la megacariocitopoyesis. Dado que los niveles de TPO dependen no sólo del número de plaquetas, sino también del número de megacariocitos, los niveles se encuentran muy elevados cuando hay disminución de megacariocitos y plaquetas, mientras que en las trombocitopenias con megacariocitos conservados, los niveles son normales o moderadamente aumentados. En condiciones inflamatorias, la síntesis hepática de TPO puede aumentar a través del estímulo de la citoquina proinflamatoria IL-6. Además de lo expuesto, si bien la producción de TPO hepática no aumenta en casos de trombocitopenia, la síntesis a partir de las células del estroma de la médula ósea sí puede aumentar en respuesta a la misma.

Recientemente se ha demostrado que existe otro mecanismo de regulación de la TPO. Las plaquetas cuando envejecen sufren un proceso de apoptosis, expresando fosfatidilserina en la membrana, lo cual promueve su remoción por el sistema monocito-macrófago, fundamentalmente a nivel esplénico. El envejecimiento se asocia además a la desialinización de las glicoproteínas plaquetarias. Las plaquetas desialinizadas son reconocidas por el receptor Ashwell-Morell del hepatocito, representando éste un mecanismo adicional de remoción de las plaquetas de circulación. La interacción de la plaqueta con este receptor induce la síntesis de TPO a nivel hepático, demostrando que, al contrario de lo previamente aceptado, ésta es susceptible de ser regulada en condiciones fisiológicas. La contribución relativa de los distintos niveles de regulación a la TPO plasmática aún no es clara.

La regulación molecular de la megacariotrombopoyesis involucra diversos factores de transcripción, entre los que se incluyen GATA-1, FLI-1, RUNX1, GFI1B, SRF/MAL y NF-E2.

Bibliografía

1. Bluteau D y col. Regulation of megakaryocyte maturation and platelet formation. *J Thromb Haemost.* 2009, 7 (Suppl. 1): 227–234.
2. Machlus K y col. The incredible journey: from megakaryocyte development to platelet formation. *J Cell Biol.* 2013; 201: 785-96.
3. Grozovsky R y col. Regulating billions of blood platelets: glycans and beyond. *Blood.* 2015 september 1, DOI 10.1182/blood-2015-01-569129.