

# Rol del sistema inmune y del microambiente en SMD

## Role of the immune system and microenvironment in SMD

Filippini SE

*Bioquímica y Farmacéutica. PhD. Especialista Biología Molecular y Genética Humana,  
Servicio Endocrinología, Hospital C. G. Durand, Buenos Aires, Argentina.  
Diplomatura Inmunología Clínica, Cátedras Genética y Medicina Genómica, Facultad  
de Medicina, Universidad Cs Empresariales y Sociales UCES*

sandraefilip@yahoo.com.ar



SÍNDROMES  
MIELODISPLÁSICOS

HEMATOLOGÍA  
Volumen 21 N° Extraordinario: 71-76  
XXIII Congreso Argentino  
de Hematología  
Noviembre 2017

**Palabras claves:** síndrome mielodisplásico,  
sistema inmune,  
citoquinas,  
inflamación.

**Keywords:** myelodysplastic syndrome,  
immune system,  
cytokines,  
inflammation.

El síndrome mielodisplásico (SMD) se caracteriza por citopenias en sangre periférica, displasia en linajes mieloides y evidencia de hematopoyesis ineficaz, que generalmente se manifiesta en una médula ósea (MO) hipercelular o normocelular y que eventualmente conduce a falla medular. Son desórdenes clonales en los que las células madre y progenitoras hematopoyéticas (CSPHs) adquieren alteraciones genéticas que resultan en desregulación de su auto-renovación, diferenciación y proliferación. Este grupo heterogéneo de enfermedades presenta un predominio masculino y una mediana de edad de 70 años<sup>(1,2)</sup>. Algunos factores de riesgo conocidos que contribuyen al desarrollo de SMD incluyen: ante-

cedentes familiares de cáncer hematopoyético; tabaquismo; exposición a benceno, insecticidas y/o pesticidas; y presencia de un trastorno autoinmune<sup>(3,4)</sup>. Se ha hecho cada vez más evidente que la desregulación del microambiente en MO contribuye a la etiología de la enfermedad. Se encuentra en MO una diversidad de tipos celulares, incluyendo a células endoteliales vasculares, osteoblastos, osteoclastos, células madre mesenquimales (CSMs), monocitos y macrófagos, células dendríticas, que sostienen la producción continua de las células sanguíneas. Tempranamente en el desarrollo del SMD, las CSPHs adquieren alteraciones genéticas somáticas que podrían mediar los cambios que se producen en las

distintas poblaciones de células hematopoyéticas, incluyendo displasia celular, diferenciación sesgada, liberación de citoquinas mielotóxicas, apoptosis de progenitores mieloides e inestabilidad genómica en la progenie del clon celular mutado. El SMD surge en un ambiente inmunológico anormal en la MO; recientemente se ha establecido la asociación entre las alteraciones inmunológicas y las mutaciones recurrentes. Entender cómo los clones se alteran genéticamente y prosperan en el microambiente de MO, generando disregulación del sistema inmune a costa de una hematopoyesis anormal, abre la puerta a nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a restablecer el equilibrio hematopoyético y la salud en los pacientes con SMD.

Los procesos inflamatorios y la activación de la inmunidad innata se han descrito como parte de la patogénesis de los SMD. El clon mielodisplásico surge como producto de los cambios genéticos y epigenéticos que se producen durante el envejecimiento en individuos susceptibles: los pacientes con SMD han sido sometidos a diversos tipos de estrés o a exposición sostenida a moléculas inflamatorias derivadas de una condición existente o pasada. La pre-exposición a moléculas inflamatorias, o cambios en la expresión génica que pueden desencadenar la activación de las vías de señalización de la inmunidad innata, producen la secreción de citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento que crean un microambiente inflamatorio en MO. Como consecuencia de esto, las CSPHs de MO aumentan su tasa de recambio. Las citoquinas liberadas producen la expresión de receptores en la superficie de las CSPHs que reclutan a células de la respuesta inmune, como células NK, linfocitos T CD8+ citotóxicos y linfocitos T CD4+. La señalización por moléculas inflamatorias y la citotoxicidad mediada por las células T en MO conducen a la expresión de receptores de muerte que inducen la apoptosis de las CSPHs. La apoptosis intramedular disminuye el número de progenitores funcionales en MO, lo que resulta además en la reducción de células completamente diferenciadas. La señalización inflamatoria sostenida y los defectos intrínsecos en el potencial de diferenciación del clon mielodisplásico producen una diferenciación disregulada y sesgada hacia el linaje mieloides. Con el transcurso de la enfermedad, las citoquinas y quimioquinas liberadas, y probablemente también ciertas proteínas de contacto célula

a célula, provocan el reclutamiento de las células supresoras derivadas mieloides (CSDMs) que exacerban los defectos en la diferenciación CSPHs con inducción al sesgo mieloides, aniquilan a los precursores eritroides y suprimen la respuesta inmune por linfocitos T CD8+. Probablemente las CSDMs participan en el cambio a un microambiente inmunotolerante, provocado por los cambios en el perfil de citoquinas/quimioquinas, que produce también el reclutamiento de otras células inmunomoduladoras. Estas células son linfocitos T regulatorios TREGs, que confieren resistencia a la respuesta inmune del clon SMD. Se incrementa la tasa de proliferación de las CSPHs, siendo más propensas a mayor número de aberraciones epigenéticas/genéticas, y mientras que otros mecanismos conducen a cambios que confieren a las células malignas resistencia a la apoptosis. En conjunto, todas estas alteraciones confieren al clon mielodisplásico ventaja para la supervivencia, contribuyendo a su proliferación aberrante y aumento del riesgo de progresión a leucemia mieloides aguda (LMA). Se cree que la progresión del SMD a LMA es causada por supresión de la señalización proapoptótica y la inducción concomitante de vías proliferativas<sup>(5)</sup>. En SMD de bajo riesgo, la proporción de proteínas proapoptóticas, como BAX/BAD, está aumentada en relación a las proteínas antiapoptóticas, tales como BCL-2/BCL-X. Cuando los pacientes progresan a una enfermedad más agresiva, esta proporción disminuye, con mayor expresión de proteínas antiapoptóticas<sup>(6)</sup>.

La muerte de las CSPHs es una característica del SMD de bajo riesgo. Evidencia reciente sugiere la participación de un fenómeno relacionado con la inflamación denominado piroptosis, que contribuye a la muerte celular observada en el nicho de MO. La piroptosis es un mecanismo de muerte celular programada dependiente de caspasa-1 que puede ser iniciada por una amplia gama de factores derivados del huésped y patógenos<sup>(7)</sup>. Este proceso está mediado por complejos oligoméricos de proteínas llamados inflamasomas. Los inflamasomas se activan cuando los receptores tipo NOD (*NOD Like Receptors* NLRs) reconocen patrones moleculares asociados a daño (DAMPs). En SMD la activación del inflamasoma NLRP3 se produce como resultado del reconocimiento de DAMPs que incluyen a la familia de alarminas S100A, como S100A9. En los SMD de bajo riesgo, las señales DAMPs y las

alteraciones genéticas a nivel celular promueven la activación del inflammasoma NLRP3 que conduce a la muerte piróptica. Estrategias dirigidas a la neutralización de S100A9 o a la inhibición de la piroptosis podrían promover la supervivencia de las CSPHs y restaurar la hematopoyesis funcional, ofreciendo una promesa terapéutica en SMD de bajo riesgo<sup>(8)</sup>. La progresión a LMA es impulsada por la alteración genética *FLT3-ITD*, que se asocia con falla en la activación del inflammasoma y disminución de la muerte celular piróptica<sup>(9,10)</sup>. Alteraciones genéticas específicas del control de la piroptosis podrían explicar cómo pacientes con ciertos perfiles mutacionales podrían desarrollar un fenotipo SMD similar. La posibilidad de reactivación de la piroptosis en la enfermedad avanzada podría tener potencial terapéutico importante en SMD.

La expresión anómala de citoquinas es una característica del microambiente medular en SMD; MCSF, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ , IL1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, y VEGF se han encontrado elevados en MO<sup>(11)</sup>. El aumento en los niveles de TNF $\alpha$  junto con incremento en la expresión de FAS y del receptor de muerte TRAIL se han relacionado con tasa elevada de apoptosis observada en el nicho inflamatorio en SMD<sup>(12)</sup>. El incremento en la secreción de estos factores proinflamatorios se observa en los SMD de bajo riesgo, mientras que la elevación de otras citoquinas como la IL-10, se presenta en los pacientes con SMD de alto riesgo<sup>(13)</sup>. Estos cambios también influyen en la expansión de células inmunosupresoras, como las células supresoras derivadas mieloides CSDMs y las células TREGs, que conducen al deterioro de la función de células NK y al aumento del número de linfocitos T citotóxicos CD8+. Los desequilibrios en los perfiles de citoquinas desencadenan la supresión de la hematopoyesis normal, aumento de la inestabilidad genómica, modificación de la estructura de la matriz extracelular y alteraciones de la angiogénesis, procesos que son importantes para mantener el nicho de MO propicio para la hematopoyesis<sup>(14-17)</sup>.

Recientemente se ha descrito el papel de la inmunidad innata en la señalización inflamatoria anormal en SMD, con la participación de los receptores tipo Toll (*Toll Like Receptors* TLRs). Los TLRs son una familia de receptores celulares de reconocimiento de patrones moleculares unidos a la membrana de diversos patógenos que actúan desencadenando cascadas de señalización complejas en la respuesta in-

mune innata. La unión del TLR al patrón molecular asociado al patógeno (PAMP) induce la expresión de citoquinas inflamatorias y quimioquinas por las células de la inmunidad innata, dando lugar a una respuesta inflamatoria contra las infecciones virales, bacterianas y fúngicas<sup>(18)</sup>. En células de MO de pacientes con SMD se ha encontrado expresión desregulada de diversos TLRs. Los receptores TLR2, TLR4, TLR6 y TLR9, así como los mediadores de señalización TRAF6, TIRAP, MyD88 y IRAK1, están sobreexpresados en pacientes con SMD. El aumento de TNF $\alpha$ , que comúnmente se observa en MO y sangre periférica de pacientes con SMD, es el resultado de la señalización anormal del TLR4<sup>(19-25)</sup>. Los SMD asociados a deleciones del brazo largo del cromosoma 5 [del (5q)], conducen a la pérdida de expresión de dos microARNs, miR-145 (5q33.1) y miR-146a (5q22.2). La pérdida de miR-145 y miR-146a conducen a activación anormal de la señalización de la inmunidad innata. El mecanismo de estos cambios parece estar relacionado con la señalización de TLR4, ya que las moléculas TIRAP y TRAF6 son blancos de miR-145 y miR-146a, respectivamente. Los niveles de TIRAP/TRAF6 y la expresión de IL-6 se encuentran elevados en pacientes con SMD del (5q)<sup>(26)</sup>. Existiría un vínculo directo entre la pérdida cromosómica y los cambios en la señalización de TLR4. La pérdida de miR-145 y miR-146a en del (5q), la inflamación descontrolada (con sobreexpresión de IL-6) y la activación de los mecanismos antiapoptóticos precipitan el desarrollo y la progresión del SMD. La expresión de genes proinflamatorios y la selección clonal son claves para el inicio y desarrollo de la enfermedad. Además de la aberración cromosómica del 5q en SMD, otras alteraciones genéticas se han relacionado con la inmunidad innata, como mutaciones en los genes de reguladores epigenéticos, *TET2* y *DNMT3A*. Los macrófagos y células dendríticas, actores celulares de la inmunidad innata, podrían producir respuestas inadecuadas en el nicho de MO como resultado de las mutaciones en *TET2* y *DNMT3A*. Es posible que esto pueda tener un efecto sobre el compartimiento de las CSPHs; sin embargo falta conocer cómo interactúan las células mieloides con las células del nicho de MO normal y neoplásico. En una condición preclínica llamada "hematopoyesis clonal de potencial indeterminado" (CHIP), los genes *TET2* y *DNMT3A* están frecuentemente mutados<sup>(27,28)</sup>. La

inflamación dentro del nicho de MO es un proceso importante para el desarrollo de SMD, la detección de patologías inflamatorias en pacientes con CHIP puede ser crítica para predecir individuos en riesgo. Los cambios inmunológicos podrían ser la fuerza impulsora clave en el desarrollo del SMD. Patologías inflamatorias y autoinmunes crónicas probablemente se encuentran relacionadas y pueden contribuir al desarrollo de SMD. Diferentes trastornos autoinmunes, tales como la artritis reumatoide, vasculitis, enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad tiroidea, se presentan frecuentemente en pacientes con SMD<sup>(29-31)</sup>. Estudios epidemiológicos demostraron que pacientes con infecciones crónicas, en particular de vías respiratorias, presentaban mayor riesgo de desarrollar SMD<sup>(32,33)</sup>. Una conexión genética entre las patologías inflamatorias también es posible; por ejemplo, las mismas anomalías cromosómicas de las células de MO se han encontrado tanto en enfermedad inflamatoria intestinal como en SMD<sup>(34)</sup>. La expresión de genes que codifican citoquinas proinflamatorias, tales como IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$  e IL-6, relacionados con respuestas inmunes alteradas, y una mayor susceptibilidad a la apoptosis en el nicho de MO, establecen el escenario propicio tanto para el desarrollo de SMD como de las enfermedades autoinmunes.

Es crucial una mayor comprensión de la etiología del SMD para lograr identificar nuevos biomarcadores y blancos terapéuticos clínicamente relevantes. Hasta la fecha muchas preguntas siguen sin respuesta en SMD, por ejemplo, cómo se establecen las poblaciones celulares mieloides y del estroma sospechosas de iniciar y mantener la señalización proinflamatoria en MO. Las células madre mesenquimales (MSCs), son células madre no hematopoyéticas que se diferencian en los diversos tipos celulares del estroma en MO: osteoblastos, adipocitos y condrocitos. En SMD las MSCs no presentan las mismas alteraciones genéticas observadas en las CSPHs; sin embargo, las MSCs poseen aberraciones citogenéticas que también se han observado en poblaciones clonales mielodisplásicas<sup>(35)</sup>. Las células del estroma expresan altos niveles de Fas-L, lo que resulta en inducción de la apoptosis de las células hematopoyéticas. Además, las MSCs sobreexpresan IL-6, pudiendo contribuir a la producción y mantenimiento del microambiente inflamatorio y alterar la función de las células inmunes en MO<sup>(36)</sup>. Comprender

cómo los macrófagos, las células dendríticas y las MSCs interactúan entre sí en el microambiente proinflamatorio en MO, y cómo los distintos tipos celulares influyen sobre las CSPHs normales y mutadas; es vital para el diseño de tratamientos eficaces en SMD.

#### **Declaración de conflictos de interés:**

La autora declara que no posee conflictos de interés.

#### **Bibliografía**

1. Murati A, Brecqueville M, Devillier R et al. Myeloid malignancies: mutations, models and management. *BMC Cancer*. 2012; 12, 304.
2. Swerdlow SH. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 2008.
3. Sekeres MA. The epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2010; 24, 287-294.
4. Wilson AB, Neogi T, Prout M, Jick S. Relative risk of myelodysplastic syndromes in patients with autoimmune disorders in the general practice research database. *Cancer Epidemiol*. 2014; 38, 544-549.
5. Raza A, Galili N. The genetic basis of phenotypic heterogeneity in myelodysplastic syndromes. *Nat Rev Cancer*. 2012; 12, 849-859.
6. Parker JE, Muft, GJ, Rasool F et al. The role of apoptosis, proliferation, and the Bcl-2-related proteins in the myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia secondary to MDS. *Blood*. 2000; 96, 3932-3938.
7. Bergsbaken T, Fink S, Cookson B. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7, 99-109.
8. Basiorka AA, McGraw KL, Eksioglu EA et al. The NLRP3 inflammasome functions as a driver of the myelodysplastic syndrome phenotype. *Blood*. 2016; 128, 2960-2975.

9. Höckendorf U, Yabal M, Jost P et al. RIPK3-dependent cell death and inflammasome activation in FLT3-ITD expressing LICs. *Oncotarget*. 2016;7, 57483-57484.
10. Höckendorf U, Yabal M, Herold T et al. RIPK3 restricts myeloid leukemogenesis by promoting cell and differentiation of leukemia initiating cells. *Cancer Cell*. 2016;30, 75-91.
11. Gañan-Gomez I, Wei Y, Starczynowski D et al. Dereglulation of innate immune and inflammatory signaling in myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2015;29, 1458-1469.
12. Corey SJ, Minden M, Barber D et al. Myelodysplastic syndromes: the complexity of stem-cell diseases. *Nat. Rev. Cancer*. 2007;7, 118-129.
13. Kordasti SY, Afzali B, Lim Z et al. IL-17-producing CD4+ T cells, pro-inflammatory cytokines and apoptosis are increased in low risk myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol*. 2009;145, 64-72.
14. Chen X, Eksioglu E, Zhou J et al. Induction of myelodysplasia by myeloid-derived suppressor cells. *J Clin Invest*. 2013;123, 4595-4611.
15. Kordasti S, Ingram W, Hayden J et al. CD4+CD25high Foxp3+ regulatory T cells in myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood*. 2007;110, 847-850.
16. Mailloux A, Sugimori C, Komrokji R et al. Expansion of effector memory regulatory T cells represents a novel prognostic factor in lower risk myelodysplastic syndrome. *J Immunol*. 2012;189, 3198-3208.
17. Epling-Burnette P, Bai F, Painter J et al. Reduced natural killer (NK) function associated with high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) and reduced expression of activating NK receptors. *Blood*. 2007;109, 4816 - 4824.
18. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140, 805-820.
19. Maratheftis C, Andreakos E, Moutsopoulos H, Voulgarelis M. Toll-like receptor-4 is up-regulated in hematopoietic progenitor cells and contributes to increased apoptosis in myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res*. 2007;13, 1154-1160.
20. Kuninaka N, Kurata M, Yamamoto K et al. Expression of Toll-like receptor 9 in bone marrow cells of myelodysplastic syndromes is down-regulated during transformation to overt leukemia. *Exp Mol Pathol*. 2010;88, 293-298.
21. Wei Y, Dimicoli S, Bueso-Ramos C et al. Toll-like receptor alterations in myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2013;27, 1832-1840.
22. Rhyasen GW, Bolanos L, Fang J et al. Targeting IRAK1 as a therapeutic approach for myelodysplastic syndrome. *Cancer Cell*. 2013;24, 90-104.
23. Dimicoli S, Wei Y, Bueso-Ramos C et al. Overexpression of the Toll-like receptor (TLR) signaling adaptor MYD88, but lack of genetic mutation, in myelodysplastic syndromes. *PLoS One*. 2013;8, e71120.
24. Varney ME, Niederkorn M, Konno H et al. Loss of Tifab, a del5q MDS gene, alters hematopoiesis through derepression of Toll-like receptor-TRAF6 signaling. *J Exp Med*. 2015;212, 1967-1985.
25. Velegraki M, Papakonstanti E, Mavroudi I et al. Impaired clearance of apoptotic cells leads to HMGB1 release in the bone marrow of patients with myelodysplastic syndromes and induces TLR4-mediated cytokine production. *Haematologica*. 2013;98, 1206-1215.
26. Starczynowski D, Kuchenbauer F, Argiropoulos B et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med*. 2010;16, 49-58.
27. Genovese G, Kähler A, Handsaker R. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med*. 2014;371, 2477-2487.
28. Xie M, Lu C, Wang J et al. Age related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med*. 2014;20, 1472-1478.
29. De Hollanda A, Beucher A, Henrion D et al. Systemic and immune manifestations in myelodysplasia: a multicenter retrospective study. *Arthritis Care Res. (Hoboken)*. 2011;63, 1188-1194.

30. Mekinian A, Braun T, Decaux O et al; Club Rhumatismes et Inflammation (CRI), Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM); Société Nationale Française de Médecine Interne (SNFMI). Inflammatory arthritis in patients with myelodysplastic syndromes: a multicenter retrospective study and literature review of 68 cases. *Medicine (Baltimore)*. 2014;93, 1-10.
31. Al Ustwani O, Ford L, Sait S et al. Myelodysplastic syndromes and autoimmune diseases - case series and review of literature. *Leuk Res*. 2013;37, 894-899.
32. Kristinsson S, Björkholm M, Hultcrantz M et al. Chronic immune stimulation might act as a trigger for the development of acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011;29, 2897-2903.
33. Titmarsh G, McMullin M, McShane C et al. Community-acquired infections and their association with myeloid malignancies. *Cancer Epidemiol*. 2014;38, 56-61.
34. Nakamura F, Watanabe T, Hor, K et al. Simultaneous occurrence of inflammatory bowel disease and myelodysplastic syndrome due to chromosomal abnormalities in bone marrow cells. *Digestion*. 2009;79, 215-219.
35. Blau O, Hofmann W, Baldus C et al. Chromosomal aberrations in bone marrow mesenchymal stroma cells from patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloblastic leukemia. *Exp Hematol*. 2007;35, 221-229.
36. Balderman S, Calvi L. Biology of Marrow Failure Syndromes: Role of Microenvironment and Niches *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2014;1: 71-76.
37. Zhao Z, Xu W, Yu H. Functional characteristics of mesenchymal stem cells derived from bone marrow of patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer Lett*. 2012;317, 136-143.