

Leucemia aguda promielocítica: Un modelo inagotable

Elsa M. Nucifora

Secretaría Académica. Instituto Universitario
Hospital Italiano - Sección Hematología

Correo electrónico: elsa.nucifora@hospitalitaliano.org.ar



CONFERENCIA

HEMATOLOGIA, Vol. 13 N° 3: 93-95
Septiembre-Diciembre 2009

En los cincuenta años transcurridos desde que la Leucemia Aguda Promielocítica (LAP) fue identificada en el conjunto de las leucemias mieloides hemos sido testigos de exitosas investigaciones sobre el conocimiento de la génesis y la perpetuación de la enfermedad y las posibilidades de terapéuticas novedosas, como la inducción de maduración de los blastos. Esto permite hoy poder considerar a esta leucemia como la primera con posibilidades de curación dentro de las leucemias del adulto.

De este modelo inagotable se espera obtener la respuesta para otras enfermedades que aún están lejos de tener una solución terapéutica similar.

La Leucemia Aguda Promielocítica, M3 de la clasificación FAB, es una entidad perfectamente definida, desde la morfología, la genética, su perfil molecular, su particular respuesta a los retinoides y las posibilidades de curación combinando derivados del ácido retinoico, arsénico y quimioterapia.

La morfología es la clave diagnóstica. Sus dos formas, la granular o clásica y la variante o micro-granular, tienen el mismo significado diagnóstico. El fenotipo es también peculiar, con ausencia o expresión débil de CD34, HLA-DR, CD 117, con fenotipo mieloides, CD 33 y CD 13 siempre presentes, con autofluorescencia característica, ausencia de CD133 y antígenos linfoides (salvo CD2). Se han descrito pacientes CD34 positivo, en particular APL recaídos¹.

El estudio citogenético muestra una translocación balanceada entre el cromosoma 15 y el 17. Se yuxtaponen así dos genes de suma importancia: el RAR α (cromosoma 17) y el PML en el cromosoma 15 (q22; q12). Los puntos de ruptura del PML varían; tres formas son más frecuentes, con tres transcritos: largo, corto y variable, a los que se atribuye diferente potencial oncogénico, pero hay descripciones de otras variantes.

El RAR α pertenece a la superfamilia de receptores nucleares con estrecha relación con la maduración granulocítica. En las células normales en respuesta a retinoides estos receptores se unen al ADN, reúnen un complejo de cofactores, modifican la cromatina local y activan la transcripción. La magnitud y la duración de la respuesta están controladas por la actividad de los

proteasomas. (Bastien J, Rochette-Egly). La administración de G-CSF induce un aumento de expresión de RAR α . La administración de ATRA modifica la expresión de muchos genes².

EL gen PML se conoció en relación con la leucemia promielocítica. Ha cobrado una importancia trascendental, considerado como un gen supresor de tumores hematológicos y sólidos, relacionado con la inmunidad y respuesta a infecciones. Su activación es un evento temprano en relación con efectos inducidos por infecciones virales (HIV).

Su proteína PML integra los Cuerpos Nucleares (Nuclear Bodies), elementos proteicos de estructura compleja que habitan el núcleo celular y cumplen funciones no bien definidas aún, pero, sin duda alguna, importantes en la célula normal.

Hay múltiples publicaciones que dan cuenta de la participación de la proteína PML y de los Cuerpos Nucleares en muchas funciones celulares y de la posibilidad de utilizarlos como blancos terapéuticos^{2, 3, 4}.

En la proteína quimérica PML-RAR α , producto de la translocación, el componente PML no cumple las funciones normales de la proteína, probablemente por una alteración en su conformación. Es ésta una forma particular de silenciamiento génico funcional, por alteración estructural de la proteína, que la hace no-funcionante. Los blastos promielocíticos han descolocado los Cuerpos Nucleares. El tratamiento con retinoides o con arsénico induce la reaparición de ellos en el núcleo, lo cual demuestra la re-expresión del gen PML y la restauración de la proteína funcionante⁵.

Estudios con nuevas técnicas moleculares (hibridación genómica comparativa, SNP-chip) han demostrado que hay otras alteraciones genéticas en la LAP a las que se suman las modificaciones epigenéticas; de hecho los trabajos con ratones mostraron que la t (15;17) no es suficiente para desarrollar leucemia. Un gen candidato es el Flt3, que se encuentra alterado en 35-40% de las LAP. Considerando la posible importancia en la expresión génica en relación a Flt3-ITDs (Duplicación Intra Tandem), se estudiaron los genes sobre expresados y los de expresión disminuida. La conclusión: se pudo establecer que la presencia de Flt3-ITDs se rela-

cionaba con hiperleuco-citosis, capacidad invasiva, organización del citoes-queleto, inflamación, activación de la coagulación. Si bien la LAP tiene un patrón particular de expresión génica identificable, se destacan dos conjuntos bien definidos que correlacionan con la clínica: uno que se relaciona con la forma variante, con alto número de blastos, bcr3 PML-RAR α (isoforma corta) y presencia de Flt3-ITDs, el segundo grupo, morfología clásica, transcripto largo, leucopenia sin alteraciones del Flt3, y un tercer grupo, muy poco frecuente, con alteraciones del Flt3 similares a las otras leucemias mieloblásticas agudas. Esto abona la hipótesis, apoyada desde la experiencia clínica, de la participación del Flt3 en el comportamiento de la LAP, otorgando una mayor capacidad proliferativa y mayor resistencia a la apoptosis^{6,7}. Es posible encontrar más alteraciones cuanto más sensible es el método empleado en el estudio.

Las manifestaciones clínicas de la LAP son características: en general, pacientes jóvenes, corto período de evolución, con marcadas manifestaciones de sangrado que van más allá de lo esperado por la plaquetopenia, y tendencia a las citopenias.

La coagulopatía es propia de la LPA: es un cuadro grave, complejo, donde participan el mecanismo de consumo, un intenso estímulo a la fibrinólisis, y la lisis por las proteasas de derivadas de los promielocitos, sumados a la plaquetopenia central por infiltración medular. En las células leucémicas se observa una elevada expresión de Annexina II, al igual que en los endotelios de la micro circulación del Sistema Nervioso. La Annexina II tiene una alta afinidad por el plasminógeno y el tPA y actúa como receptor de la Plasmina, produciendo una deficiencia adquirida de alfa 2 antiplasmina. Intervienen también las micro partículas, porciones de membrana celular derivadas de endotelio y de blastos, que son altamente activas en la coagulación⁸. Esta coagulopatía, combinación de trombosis y hemorragia, es responsable de las muertes precoces de la enfermedad, (40% de hemorragias en el Sistema Nervioso Central); no es controlable por tratamientos que pretendan regular la hemostasia: es discutido el rol del ácido Tranexámico, y hay escasos reportes del F VII recombinante. La respuesta al ácido retinoico es rápida; en un plazo de 7 a 10 días hay corrección de las alteraciones de la hemostasia con fibrinógeno en valores de seguridad. Esto es paralelo a una disminución de la expresión de la síntesis de Annexina II inducida por el ATRA, como una evidencia más de respuesta al tratamiento.

El logro de la remisión de la leucemia por el camino de la maduración había sido descrito excepcionalmente como una de las formas de respuesta a la quimioterapia convencional de leucemia aguda, (inducido por AraC en bajas dosis). Los primeros reportes de empleo de ácido retinoico en LAP vinieron de China, inicialmente con otro derivado, el 13 cis-retinoico. Casi en forma simultánea se conocieron los trabajos de maduración in vitro de líneas celulares como HL-60 y NB4 con el empleo de varios fármacos (entre ellos los retinoides) como su aplicación clínica (1986. Daenen) construyendo las bases de los protocolos de tratamien-

to que hoy usamos⁹. El objetivo es eliminar el clon llevándolo por el camino de la maduración a la muerte.

En estos primeros tratamientos se observó una complicación no conocida hasta el momento: el llamado Síndrome Retinoico, ahora mejor identificado como síndrome de maduración o de diferenciación celular. Sus manifestaciones clínicas más relevantes: infiltrados pulmonares, cuya progresión lleva a la hipoxia, edema, derrame pleural y o pericárdico, fiebre. Siendo expresión de maduración de los blastos, representa respuesta a la medicación. Hay asociación entre el número de leucocitos circulantes y la presencia del síndrome, pero no necesariamente. Las células en vías de maduración tendrían receptores de membrana que las hace adherentes a ciertos endotelios, con participación de citoquinas. El Síndrome retinoico fue causa de muerte en algunos pacientes. La administración de corticoides, ahora en forma profiláctica, mejora o evita el cuadro.

Los blastos de la LPA responden a las Antraciclina, debido a que no expresan la proteína de multiresistencia a drogas (P-gp), como había quedado demostrado por el profesor Jean Bernard.

La incorporación de ATRA a los tratamientos quimioterápicos de leucemias mieloblásticas agudas, y las modificaciones sugeridas de las experiencias, han llevado a la optimización del tratamiento que hoy se emplea. No hay un único esquema sino varios con la misma base de combinación; todos tienen una remisión completa alta, pues no existe en teoría la resistencia primaria, y llegan a un 70% de curación.

Sus características: ATRA como inicio de tratamiento, incorporación de agentes quimioterápicos: antraciclina con o sin Arabinósido de Citosina, consolidaciones con presencia de antraciclina y tratamiento de mantenimiento.

Son factores de mal pronóstico en inducción, la edad superior a 60 años, fiebre a la presentación, leucocitos en número mayor a $10 \times 10^9/l$ y $30 \times 10^9/l$, bajos niveles de albúmina, creatinina elevada, la variante microgranular y la presencia de coagulopatía. El número de leucocitos al diagnóstico es también factor de mal pronóstico para recaídas. Se considera paciente de bajo riesgo al que se presenta con menos de $10 \times 10^9/l$ leucocitos y más de $40 \times 10^9/l$, plaquetas riesgo intermedio a leucocitos y plaquetas bajas, y riesgo alto a leucocitos más de $10 \times 10^9/l$ y plaquetas bajas.

En base a estos factores se sugiere adaptar la intensidad del tratamiento^{11,14}. La combinación ATRA - quimioterapia logra un 90% de remisiones completas hematológicas en pacientes de reciente diagnóstico. El mantenimiento con 6-Mercapto. purina, Metotrexate y ATRA, reduciría las recaídas en un 10 a 15%. Los pacientes de riesgo bajo e intermedio tienen una sobrevida a 3 años cercana al 90% habiendo completado cualquiera de los protocolos establecidos. En los pacientes de alto riesgo es posible que el agregado de AraC podría disminuir el riesgo de recaídas^{10,14}.

El tratamiento de los paciente pediátricos portadores de LPA se ha adecuado a las características de la población infantil, pero manteniendo las bases del tratamiento general de esta enfermedad¹².

El diagnóstico de LPA en el transcurso del embarazo es un problema serio: la LPA es una emergencia, la coagulopatía de por sí expone a la pérdida del feto, la medicación no puede postergarse. Se ha visto que es posible la administración de ATRA, con la salvedad del riesgo de teratogénesis en el primer trimestre. Hay menos experiencia con el empleo de Arsénico, que es igualmente teratogénico¹³.

El Arsénico surgió como otra posibilidad terapéutica en el tratamiento de la LPA, compartiendo el mecanismo madurativo con una fuerte inducción de apoptosis de los blastos. Si bien el Arsénico inicialmente quedó reservado al tratamiento de las recaídas de LPA, en este momento se piensa en la utilidad de asociarlo al ATRA en primera línea. (North American Intergroup C9710, pacientes adultos y pediátricos). El Arsénico es poco tóxico para la Médula ósea, de donde la posibilidad de emplearlo en pacientes con mala reserva medular, añosos, con cardiopatías.

La LPA secundaria (más frecuente en paciente con cáncer de mama) tiene buena respuesta a los tratamientos convencionales. Como se piensa que el uso de inhibidores de la Topoisomerasa podría ser responsable de su génesis, sería preferible el empleo de Arsénico en lugar de quimioterapia. Los pocos casos reportados no habilitan a sacar conclusiones generales.

Como otros recursos terapéuticos cabe mencionar los anticuerpos monoclonales¹⁶. El trasplante de médula ósea queda reservado a un pequeño número de pacientes, resistentes a los tratamientos previos.

El empleo de la proteína quimérica como marcador de la evolución de la enfermedad se ha generalizado y estandarizado, empleando la técnica de RT-PCR. La determinación de enfermedad residual mínima ha permitido atender al diagnóstico de recaída molecular y el tratamiento precoz de la enfermedad¹⁵.

Conclusión: hemos asistido al desarrollo del conocimiento de una leucemia, y comprobado que los aportes de las ciencias básicas aplicadas a la asistencia han permitido la curación de una leucemia previamente reconocida por sus malos resultados terapéuticos. Se espera que éste sea el camino para logros similares en otras entidades.

BIBLIOGRAFÍA

- Orfao A, Chillón MC, Bortoluci AM, López-Berges MC, García-Sanz R, Gonzalez M, Tabernero MD, García-Marcos MA, Rasillo AI, Hernández-Rivas J, San Miguel JF. The flow cytometric pattern of CD34, CD15 and CD13 expression in acute myeloblastic leukemia is highly characteristic of the presence of PML-RARalpha gene rearrangements. *Haematologica*. 1999 May; 84 (5): 405-12.
- Ari Melnick and Jonathan D. Licht Deconstructing a Disease: RAR{alpha}, Its Fusion Partners, and Their Roles in the Pathogenesis of Acute Promyelocytic Leukemia. *Blood*, 1999 93: 3167-215.
- Reineke EL, Kao HY PML: An emerging tumor suppressor and a target with therapeutic potential. *Cancer Ther*. 2009 Sep 1; 7(A): 219-26.
- Herzer K, Weyer S, Krammer PH, Galle PR, Hofmann TG. Hepatitis C virus core protein inhibits tumor suppressor protein promyelocytic leukemia function in human hepatoma cells *Cancer Res*. 2005 Dec 1; 65 (23): 10830-7.
- Reineke EL, Kao HY. Targeting Promyelocytic Leukemia Protein: A Mean PML nuclear Bodies *Int J Biol Sci*. 2009 May 22; 5 (4): 366-76.
- Marasca R, Maffei R, Zucchini P, Castelli I, Saviola A, Martinelli S, Ferrari A, Fontana M, Ravanetti S, Torelli G. Gene expression profiling of acute promyelocytic leukaemia identifies two subtypes mainly associated with flt3 mutational status. *Leukemia*. 2006 Jan; 20 (1): 103-14.
- Akagi T, Shih LY, Kato M, Kawamata N, Yamamoto G, Sanada M, Okamoto R, Miller CW, Liang DC, Ogawa S, Koeffler HP. Hidden abnormalities and novel classification of t(15;17) acute promyelocytic leukemia (APL) based on genomic alterations. *Blood*. 2009 Feb 19; 113 (8): 1741-8.
- Falanga A, Barbui T. Coagulopathy of acute promyelocytic leukemia *Acta Haematol*. 2001; 106 (1-2): 43-51.
- Zhen Yo Wang Zhu Chen Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Blood*. 1 March 2008. vol 111 number: 2506-15.
- Adès L, Sanz MA, Chevret S, Montesinos P, Chevallier P, Raffoux E, Vellenga E, Guerci A, Pigneux A, Huguet F, Rayon C, Stoppa AM, de la Serna J, Cahn JY, Meyer-Monard S, Pabst T, Thomas X, de Botton S, Parody R, Bergua J, Lamy T, Vekhoff A, Negri S, Ifrah N, Dombret H, Ferrant A, Bron D, Degos L, Fenaux P. Treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL): a comparison of French-Belgian-Swiss and PETHEMA results. *Blood*. 2008 Feb 1; 111 (3): 1078-84.
- Javier de la Serna, I Pau Montesinos, Edo Vellenga, Chelo Rayo'n, Ricardo Parody, Angel Leo'n, Jordi Esteve, Juan M. Bergua, Gustavo Milone, Guillermo Debe'n, Concha Rivas, Marcos González, Mar Tormo, Joaquín Díaz-Mediavilla, Jose D. Gonzalez, Silvia Negri, Elena Amutio, Salut Brunet, Bob Lowenberg, and Miguel A. Sanz Causes and prognostic factors of remission induction failure in patients with acute promyelocytic leukemia treated with *all-trans* retinoic acid and idarubicin *Blood*. 1 April 2008 vol 111, number 7: 3395.
- Sanz MA, Grimwade D, Tallman MS, Lowenberg B, Fenaux P, Estey EH, Naoe T, Lengfelder E, Büchner T, Döhner H, Burnett AK, Lo-Coco F Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemia Net *Blood*. 2009 Feb 26; 113 (9): 1875-91.
- Yang D, Hladnik L. Treatment of acute promyelocytic leukemia during pregnancy *Pharmacotherapy*. 2009 Jun; 29 (6): 709-24.
- Anna Maria Testi, Andrea Biondi, Francesco Lo Coco, Maria Luisa Moleti, Fiorina Giona, Marco Vignetti, Giuseppe Menna, Franco Locatelli, Andrea Pession, Elena Barisone, Giulio De Rossi, Daniela Diverio, Concetta Micalizzi, Maurizio Aricò, Giuseppe Basso, Robert Foa, and Franco Mandelli GIMEMA-AIEOPAIDA protocol for the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL) in children. *Blood*, Jul 2005; 106: 447-53.
- Lo-Coco F, Ammatuna E, Montesinos P, Sanz MA. Acute promyelocytic leukemia: recent advances in diagnosis and management. *Semin Oncol*. 2008 Aug; 35 (4): 401-9.
- Ravandi F, Estey E, Jones D, Faderl S, O'Brien S, Fiorentino J, Pierce S, Blamble D, Estrov Z, Wierda W, Ferrajoli A, Verstovsek S, Garcia-Manero G, Cortes J, Kantarjian H. Effective treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans-retinoic acid, arsenic trioxide, and gemtuzumab ozogamicin. *J Clin Oncol*. 2009 Feb 1; 27(4): 504-10.