

EL SILENCIAMIENTO GÉNICO DE RECEPTORES FLT3, EN COMBINACIÓN CON EL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES QUÍMICOS, PROMUEVE MAYOR EFECTIVIDAD EN LA INHIBICIÓN DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Luís Arístides Torres, Nuria Barbarroja, Vanessa Hernández, María José Luque, Antonio Torres, Francisco Velasco y Chary López-Pedreira.

Unidad de Investigación y Servicio de Hematología, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba.

Introducción: El gen FLT3 codifica un receptor de la familia tirosina quinasa (TK) involucrado en la proliferación y diferenciación de células pluripotentes hematopoyéticas. La mutación Flt3/ITD (presente en el 20-30% de las LMA) es indicativa de mal pronóstico, asociándose a menor supervivencia debido a recaída temprana o resistencia al tratamiento. La expresión y actividad de VEGF y sus receptores celulares (pertenecientes también a la familia de los RTKs), contribuyen al desarrollo adverso de la angiogénesis durante la LMA. Así, en los últimos años la inhibición de la actividad RTK anómala se ha convertido en una diana molecular susceptible de tratamiento dirigido en la LMA. El presente estudio describe la respuesta diferencial de varias líneas celulares leucémicas, representantes de diferentes genotipos del gen *FLT3* presentes en la LMA, a la inhibición del receptor Flt3.

Material y métodos: Se analizaron 5 líneas celulares: NB4, THP1 y HL60 (Flt3^{wt/wt}), MOLM13 (Flt3^{ITD/wt}) y MV411 (Flt3^{ITD/-}). La inhibición del receptor se llevó a cabo mediante: 1) tratamiento con el inhibidor químico AG1296, y 2) silenciamiento génico de Flt3. Los cambios promovidos en la actividad Flt3 se correlacionaron con las alteraciones producidas en la señalización intracelular inducida por el receptor, la inducción de apoptosis y la proliferación celular. Asimismo evaluamos los cambios operados en la secreción de VEGF.

El tratamiento con AG1296 inhibió de modo dosis-dependiente la fosforilación del receptor Flt3, primariamente en líneas celulares Flt3/ITD (MV411 y MOLM13), y a dosis más elevadas en THP1, única línea de genotipo Flt3 silvestre que muestra autofosforilación constitutiva de Flt3. La señalización intracelular inducida por Flt3, en términos de actividad ERK, Akt y STAT5 sólo se vio alterada en las líneas celulares MV411, MOLM13 y THP1. Se observó una rápida inducción de la respuesta apoptótica y una reducción de la proliferación a bajas dosis de AG1296 (5µM) en MV411 y MOLM13 y a dosis medias (20µM) en THP1. La secreción de VEGF, de forma paralela a la regulación de Flt3, se vio inhibida sólo en las líneas MV411, MOLM13 y THP1. El silenciamiento génico de Flt3 promovió la inducción de apoptosis y la inhibición de la proliferación celular. Además incrementó la sensibilidad de la línea MV411 al tratamiento con AG1296.

Conclusiones: 1) AG1296 muestra actividad fisiológica y molecular en la LMA. 2) La fosforilación constitutiva de Flt3, en ausencia de mutación, es también sensible a AG1296. Así, el empleo de inhibidores de FLT3 también podría ser útil en pacientes sin mutaciones del gen *FLT3*, ya que su sobre-expresión y fosforilación constitutiva son frecuentes en la LMA. 3) La combinación de diferentes modalidades de tratamiento, incluidos los agentes químicos y el silenciamiento génico, podrían ser relevantes en la obtención de resultados óptimos en el tratamiento de la LMA.

Financiado por FIS (041291 y 050910), FIJC-ESP/06 y JA (0024/05 y 0060/05).