

## **BORTEZOMIB TIENE ACTIVIDAD ANTILEUCÉMICA IN VITRO Y PUEDE VENCER LA RESISTENCIA ASOCIADA A UN FENOTIPO INMADURO (CD34+)**

E. Colado<sup>1,2</sup>, S. Álvarez-Fernández<sup>2</sup>, P. Maiso<sup>2</sup>, J. Martín-Sánchez<sup>1,2</sup>, M. Belén Vidriales<sup>1,2</sup>, J.J. Pérez<sup>1</sup>, M. Garayoa<sup>2</sup>, E.M. Ocio<sup>1,2</sup>, J.C. Montero<sup>2</sup>, A. Pandiella<sup>2</sup>, Jesús F. San Miguel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, España. <sup>2</sup> Centro de Investigación del Cáncer, CSIC-Universidad de Salamanca, Salamanca, España.

**Descripción:** Las leucemias mieloides agudas (LMA) son un conjunto heterogéneo de enfermedades, en el cual, la expresión de CD34, un marcador de inmadurez, se ha asociado con resistencia a tratamiento y peor pronóstico. El inhibidor del proteasoma Bortezomib, ha demostrado tener notable eficacia como agente único o en combinación en el tratamiento de otras neoplasias hematológicas como Mieloma y Linfoma No Hodgkin. Hemos estudiado la actividad y mecanismo de acción de Bortezomib en 4 líneas celulares de LMA (HEL, KG-1, MV4-11 y HL60). Bortezomib mostró una potente actividad antileucémica ( $IC < 10nM$ ) en todas las líneas celulares, superior a la de los fármacos utilizados habitualmente en el tratamiento de LMA (Doxorubicina, Citarabina y Fludarabina). Además, la combinación de Bortezomib con Doxorubicina y Citarabina potenció significativamente la acción de los fármacos utilizados individualmente. El mecanismo de acción de Bortezomib incluía parada de ciclo celular con acumulación de células en fase G2/M a través del aumento de los niveles de p27; e inducción de muerte celular a través del aumento de la permeabilidad de la membrana externa mitocondrial que desencadenaba apoptosis mediante mecanismos dependientes e independientes de caspasas. Basándonos en los resultados en líneas celulares, estudiamos la actividad de Bortezomib en blastos aislados de 28 pacientes con LMA de nuevo diagnóstico, que incluían casos CD34+ y CD34-. El porcentaje de blastos tras la separación fue  $88 \pm 9\%$  (Media  $\pm$  DS). La muerte celular se analizó mediante citometría de flujo con cuadruple marcaje con Anexina V FITC/CD33 PE/CD34 PerCP/CD45 APC. Las células Anexina V positivas (células en apoptosis) fueron cuantificadas sobre la población total de blastos así como las poblaciones CD34+ y CD34-, además de los linfocitos residuales de la muestra. La actividad pro-apoptótica de Bortezomib sobre subpoblaciones de blastos CD34+ fue similar a la observada en blastos CD34- ( $48 \pm 22\%$  vs  $57 \pm 27\%$ ,  $p = 0.86$ ). Es relevante destacar que Bortezomib es claramente más activo que Doxorubicina sobre la población más inmadura, CD34+ ( $48 \pm 22\%$  versus  $31 \pm 26\%$ ,  $p = 0.002$ ), mientras que sobre la población más madura CD34-, ambos fármacos tienen un efecto similar ( $57 \pm 27\%$  versus  $47 \pm 35\%$ ,  $p = 0.17$ ). La toxicidad sobre linfocitos residuales en la muestra es menor con Bortezomib que con Doxorubicina ( $18 \pm 12\%$  vs  $27 \pm 22\%$ ,  $p = 0.05$ ).

**Conclusión:** Todos estos datos indican que Bortezomib puede convertirse en un fármaco útil en el tratamiento de pacientes con LMA, particularmente en combinación con fármacos clásicos como Doxorubicina y Citarabina.