

EVALUACIÓN PRECLÍNICA DE MLN9708, UN NUEVO INHIBIDOR DEL PROTEASOMA, EN LA LESIÓN ÓSEA ASOCIADA A MIELOMA MÚLTIPLE

A. García-Gómez^{1,2}, E.M. Ocio^{1,3}, D. Fernández¹, T. Paño¹, L. San-Segundo¹, J.F. Blanco³, F.M. Sánchez-Guijo^{2,3}, A. Pandiella¹, J. F. San-Miguel¹⁻³, M. Garayoa^{1,2}

¹Centro de Investigación del Cáncer. IBMCC/CSIC-Universidad de Salamanca.

²Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. Salamanca.

³Hospital Universitario de Salamanca

Fundamentos y objetivos: El mieloma múltiple (MM) es una hemopatía de células plasmáticas frecuentemente asociada a lesiones osteolíticas, que son debidas a un aumento de la actividad y diferenciación de osteoclastos así como a un descenso en el número y función de los osteoblastos. En la terapia actual anti-MM destaca bortezomib (VELCADE, PS-341), un inhibidor del proteasoma (IP) con gran eficacia anti-mieloma y además con un efecto clínico beneficioso sobre las lesiones óseas. MLN9708 (o su forma activa hidrolizada MLN2238) es un IP de segunda generación con actividad antitumoral en modelos hematológicos preclínicos, con mejor distribución tisular respecto a bortezomib y posibilidad de administración oral e intravenosa. En este estudio pretendemos evaluar comparativamente los efectos *in vitro* de MLN9708 y bortezomib sobre la diferenciación y actividad de los progenitores de osteoblastos (OB) y osteoclastos (OC).

Pacientes, materiales y métodos: Se han empleado células madre mesenquimales (CMMs) de médula ósea de donantes sanos y pacientes con MM, así como la línea celular mesenquimal hMSC-TERT y de mieloma múltiple MM.1S. La actividad de MLN9708 en la diferenciación osteogénica a partir de CMMs se evaluó mediante ensayos de actividad fosfatasa alcalina (FA), cuantificación de la mineralización tras tinción con rojo de alizarina y RT-PCR cuantitativa de marcadores de formación ósea. Se generaron OCs por cultivo de la fracción mononuclear de sangre periférica de donantes sanos con M-CSF y RANKL. El efecto de MLN9708 en la formación y actividad de los OCs se comprobó por marcaje para fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP), resorción en sustratos recubiertos de calcio, inmunofluorescencia (p65), tinción con faloidina, citometría de flujo (α V β 3), y co-cultivos de OCs y la línea MM.1S.

Resultados: MLN2238 es capaz de promover la diferenciación ósea a partir de CMMs tanto de donantes como de pacientes con mieloma, ya que aumenta su actividad FA, incrementa la expresión de varios marcadores de formación ósea (osteocalcina, osteopontina y osterix), e induce la formación de nódulos de mineralización hasta niveles similares a los alcanzados con bortezomib, si bien con rangos concentración mayores. Por otro lado, MLN2238 es capaz de inhibir la formación de OCs y de reducir significativamente su actividad de resorción, aunque también de forma menos potente que bortezomib. El efecto de estos IPs sobre la actividad de los OCs se debe en parte a la inhibición de la activación de NF- κ B inducida por RANKL; asimismo, el tratamiento de ambos IPs conlleva la disgregación del anillo de actina y reduce la expresión de la integrina α V β 3, esenciales en el mantenimiento de la zona de sellado para la resorción ósea. Por último, MLN2238 también fue capaz de superar la ventaja proliferativa que confieren los OCs a la célula mielomatosa.

Conclusiones: MLN9708 favorece la formación y actividad de los OB, e inhibe la osteoclastogénesis y actividad resorptiva de los OC *in vitro*, si bien requiriendo concentraciones mayores a bortezomib. Estos datos apoyarían su uso para el tratamiento de lesiones óseas en pacientes con MM y otras patologías óseas.

Financiado en parte por el Instituto de Salud Carlos III-FIS (PI081825), Fundación Mutua Madrileña (convocatoria 2008) y Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León 07-09.