

RELEVANCIA DE LA MUTACIÓN FLT3/ITD EN LA ACTIVACIÓN DE DIVERSAS RUTAS INTRACELULARES REGULADORAS DE LA DIFERENCIACIÓN Y LA SUPERVIVENCIA CELULAR EN LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

L.A. Torres¹, N. Barbarroja¹, E. Siendones², V. Martín¹, P. Buendía¹, A. Torres¹, F. Velasco¹ y C.H. López-Pedrerá¹

¹Unidad de Investigación y Servicio de Hematología, Hospital Reina Sofía, Córdoba, ²Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD), Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

La resistencia de los mieloblastos leucémicos a la muerte celular programada está relacionada con la mutación y activación constitutiva de receptores de citoquinas asociadas a la diferenciación y la proliferación celular (Flt-3, IL-3R, GM-CSF-R). Además, las mutaciones del receptor Flt3 confieren un peor pronóstico a los pacientes LMA. Sin embargo, el tratamiento con inhibidores de la actividad tirosina-quinasa del receptor FLT3 (mutado en un 15-30% de LMA), ha demostrado que la remisión de los pacientes no es permanente, debido a la variable sensibilidad mostrada por el receptor a diferentes inhibidores. El objetivo del presente estudio es analizar la relevancia de la mutación ITD del receptor Flt3 en la activación constitutiva de diversas rutas intracelulares observada en la LMA, así como sus efectos sobre la supervivencia celular. Se analizaron muestras de 28 pacientes LMA y 10 donantes sanos. Los blastos se obtuvieron a partir de sangre periférica o de aspirados medulares al diagnóstico, purificados mediante centrifugación en gradiente de densidad. La presencia de mutaciones en el gen Flt3 se determinó mediante PCR. El estatus de activación de las vías MAPK/Akt/STAT se analizó por Western blot y EMSA. Nuestros estudios han mostrado la existencia de una activación constitutiva de las principales rutas de transducción de señales responsables de la proliferación, diferenciación y supervivencia celular en los pacientes LAM, aunque de forma heterogénea entre distintos pacientes y no siempre relacionada con la presencia de mutaciones o activaciones en Flt3. Diversos estudios de inhibición mostraron que en pacientes Flt3-ITD el inhibidor específico AG1296 no previene la activación constitutiva de las rutas MAPK, Akt, STAT5 y NFkB. Sin embargo, en los pacientes con el gen silvestre, el inhibidor de Flt3 regula la activación de las rutas ERK y Akt inducidas por el ligando FL, sugiriendo así que deben ser necesarias otras alteraciones moleculares o citogenéticas alternativas o complementarias a la mutación Flt3-ITD para promover la activación de dichas rutas en la LAM. A nivel funcional, la resistencia a la apoptosis espontánea se observó asociada a la activación simultánea de varias rutas intracelulares. Además, las vías antiapoptóticas reguladas por el receptor silvestre y el mutante también se mostraron divergentes en las muestras blásticas analizadas. Estudios paralelos realizados en líneas celulares portadoras (MV4) o no (NB4, THP-1, HL60) de la mutación Flt3/ITD y con patrones de activación intracelular igualmente heterogéneos, permitieron corroborar los resultados obtenidos en pacientes. Así pues, la diversidad observada en la activación de rutas intracelulares y la existencia de rutas antiapoptóticas divergentes entre Flt-3 y Flt-3/ITD podría permitir establecer una estrategia terapéutica específica, a través del uso de inductores selectivos de apoptosis en células LAM. Financiado por FIS050910, FIS041291, JA0024/05 y JA0060/05.