

Leucemia promielocítica: enfoques oncogénicos y moleculares en la era de la medicina de precisión

Promyelocytic leukemia: oncogenetic and molecular approaches in the precision's medicine era

Gustavo Barroso Sánchez^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-9571-2729>

Carlos Hernández Padrón¹ <https://orcid.org/0000-0002-7625-1864>

Heidys Garrote Santana¹ <https://orcid.org/0000-0002-8449-1278>

¹Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: rchematologia@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: El estudio de la patogenia molecular de la leucemia promielocítica revolucionó las bases de la medicina personalizada al identificar la oncoproteína PML/RAR α como diana de terapias dirigidas al mecanismo oncogénico fundador de la enfermedad. Sin embargo, en las últimas décadas, se realizaron otros descubrimientos que aportan mayor información acerca de su biogénesis y desarrollo y el impacto potencial de los mismos en la implementación de técnicas de diagnóstico y herramientas pronósticas como expresión del rápido perfeccionamiento de la medicina traslacional.

Objetivo: Exponer los principales descubrimientos en los mecanismos oncogénicos y moleculares de actualidad en la leucemia promielocítica.

Métodos: Se realizó una búsqueda exhaustiva en bases de datos como Scielo, Pubmed, ScienceDirect, Redalyc, Google académico. Se utilizaron como referencias los artículos actualizados publicados en los últimos 5 años en idioma inglés y español. Se efectuó un análisis y resumen de la bibliografía y se tomaron los aspectos más importantes referidos al tema.

Análisis y síntesis de la información: Se abordaron los principales aportes de la biología molecular al conocimiento del origen de ésta enfermedad, más allá del enfoque clásico basado en el gen PML/RAR α , así como sus variantes y otros aspectos de interés en su monitorización.

Conclusiones: Las características genéticas de esta enfermedad evidencian un paisaje mutacional diferente al de otras neoplasias mieloides malignas y señalan con especial énfasis la importancia de la integración clínico-biológica para facilitar, perfeccionar y desarrollar el proceso de atención integral a los pacientes con hemopatías malignas.

Palabras clave: leucemia promielocítica; biología molecular; genética.

ABSTRACT

Introduction: The study of the molecular pathogenesis of promyelocytic leukemia revolutionized the foundations of personalized medicine by identifying the PML/RAR α oncoprotein as a target for therapies directed at the founding oncogenetic mechanism of the disease. However, in recent decades, other discoveries that provide more information about their biogenesis and development, and their potential impact on the implementation of diagnostic techniques and prognostic tools as an expression of the rapid improvement of translational medicine.

Objective: To expose the main discoveries in the current oncogenetic and molecular mechanisms in promyelocytic leukemia.

Methods: An exhaustive search was carried out in databases such as Scielo, Pubmed, ScienceDirect, Redalyc, Google Scholar, and updated articles published in the last 5 years in English and Spanish were used as references. An analysis and summary of the bibliography was carried out and the most important aspects related to the subject were taken.

Analysis and synthesis of information: the main contributions of molecular biology to the knowledge of the origin of this entity were addressed, beyond the classical approach based on the PML/RAR α gene, as well as its variants and other aspects of interest in the monitoring of the illness.

Conclusions: The genetic characteristics of this disease show a mutational landscape different from that of other malignant myeloid neoplasms and point out with special emphasis the importance of clinical-biological integration to facilitate, improve and develop the comprehensive care process for patients with malignant blood diseases.

Keywords: promyelocytic leukemia; molecular biology; genetics.

Recibido: 05/03/2022

Aceptado: 11/05/2022

Introducción

La leucemia es la expresión fenotípica de la transformación neoplásica celular de células sanguíneas normales o sus precursores, mediante un proceso de acumulación de mutaciones sucesivas en los genes que dirigen y regulan las funciones celulares básicas: reproducción, diferenciación, supervivencia y muerte celular. Estas mutaciones ocasionan un defecto de maduración, una proliferación aumentada y un exceso de supervivencia que produce el acúmulo de células indiferenciadas y longevas en la médula ósea y en la sangre, con obliteración de la hematopoyesis normal.⁽¹⁾

En el caso de la leucemia promielocítica (LPM) se ha identificado su alteración citogenética característica en el 95 – 98 % de casos: la t (15; 17) (q22; q12). La translocación fusiona el gen PML, localizado en el brazo largo del cromosoma 15, con el gen RAR α , situado en el brazo largo del cromosoma 17, lo cual da origen a la enfermedad, fundamentalmente por un bloqueo en la maduración.^(2,3)

El estudio de la patogenia molecular de la LPM revolucionó las bases de la medicina personalizada al identificar la oncoproteína PML/RAR α como diana de terapias dirigidas al mecanismo oncogénico fundador de la enfermedad.⁽⁴⁾

Sin embargo, en las últimas décadas, se realizaron otros descubrimientos que aportan mayor información acerca de la biogénesis y desarrollo de la LPM, y el impacto potencial de los mismos en el desarrollo de técnicas de diagnóstico y herramientas pronósticas como expresión del rápido perfeccionamiento de la medicina traslacional.⁽⁵⁾

En este artículo se exponen los principales aportes de la biología molecular al conocimiento del origen de la LPM, más allá del enfoque clásico basado en el gen PML/RAR α , así como sus variantes y otros aspectos de interés en el monitoreo de la enfermedad que la convierten en uno de los modelos más relevantes de la medicina de precisión.

Métodos

Se realizó una búsqueda exhaustiva en bases de datos como Scielo, Pubmed, ScienceDirect, Redalyc, Google académico. Se utilizaron como referencias los artículos actualizados publicados en los últimos 5 años en idioma inglés y español. Se utilizaron como términos de búsqueda las palabras: leucemia promielocítica, biología molecular, genética. Se efectuó un análisis y resumen de la bibliografía y se tomaron los aspectos más importantes referidos al tema.

Análisis y síntesis de la información

Bases moleculares de la leucemia promielocítica

La formación del gen de fusión PML/RAR α , es el evento más crítico en la fisiopatogenia de la LPM y es el responsable de la transformación celular maligna.

El gen PML se localiza en la banda cromosómica 15q24 y contiene 9 exones a partir de los cuales se producen varios transcritos alternativos.⁽³⁾ Todas estas isoformas comparten el mismo tipo de región N-terminal, que dan lugar al dominio RBCC/TRIM (caja B del anillo proteico en espiral/motivo tripartito) codificado por los exones 1 y 3, pero difieren en las regiones centrales o C-terminales en los exones 4, 5 y 6 debido al empalme alternativo.

La isoforma más larga (PML I), se distribuye tanto en el núcleo como en el citoplasma y es la única de todas que contiene el dominio para la señal de exportación nuclear (NES, siglas en inglés). Al producirse la mutación, PML coopera en la desregulación de la supresión tumoral y en la inestabilidad genómica a partir de interacciones constitutivas o transitorias con más de 170 proteínas. La mayor parte de estas interacciones se median a partir del dominio RBCC, que conduce a la multimerización y organización subnuclear de PML (definido como cuerpos nucleares) o por otros dominios específicos. Por tanto, a partir de la creación de diferentes superficies de unión, PML participa en diferentes vías de señalización que incluyen la apoptosis y senescencia dependiente e independiente de p53, la autorrenovación celular, la regulación epigenética y la transcripción.^(2,5)

Por otra parte, RAR α se localiza en la banda cromosómica 17q21, y comprende 10 exones que codifican 2 isoformas que difieren entre sí en el dominio 1 de activación funcional. La proteína RAR α es miembro de la superfamilia de receptores nucleares con gran homología con los receptores RAR β y RAR γ , y constituye un factor de transcripción nuclear activado por retinoides, que actúa como agente activador de la diferenciación mieloide.

En presencia de sus ligandos, RAR α forma heterodímeros con el receptor X de los retinoides (RXR) que representa un cofactor de unión a elementos de respuesta al ácido transretinoico (ATRA) (RARE, por sus siglas en inglés). En ausencia de estos ligandos, los dímeros RARA/RXR interaccionan con co-represores nucleares, dentro de los que se encuentra el receptor co-represor nuclear (N-COR, por sus siglas en inglés). El complejo proteico formado coopera con diferentes proteínas que participan en la regulación transcripcional y la deacetilación de histonas lo cual resulta en el ensamble nucleosómico y represión transcripcional.^(3,6)

El PML/RAR α altera la estructura nuclear, dando lugar a la disrupción de los cuerpos nucleares y su actividad oncogénica la ejerce a partir de sus efectos duales de dominancia negativa y

ganancia de función a partir de su capacidad de interacción multiproteica, que da lugar por una parte a la represión transcripcional de la diferenciación mieloide con insensibilidad a los niveles fisiológicos de ATRA y por la otra confiere una ventaja proliferativa a las células leucémicas que resulta en la progresiva acumulación de promielocitos patológicos.^(7,8)

Además, el proceso de síntesis transcripcional varía, y se producen transcritos de fusión patológicos a partir de los puntos de rotura cromosómica al producirse la t (15;17). Estos comprenden 3 grupos o clusters en 3 regiones genómicas del gen PML: en el intrón 6 (entre los exones 6 y 7), en el exón 6, y en el intrón 3 (entre exones 3 y 4), conocidas como bcr1, bcr2 y bcr3 respectivamente. Sin embargo, solo se ha identificado 1 punto de rotura en el intrón 2 en el gen RAR α . Al revisar la literatura publicada, se plantea que en dependencia del punto de rotura como resultado del proceso de empalme, se generan 3 transcritos de fusión diferentes del gen PML/RAR α , incluidas la isoforma larga o bcr1 (frecuencia de 58-75 %), la isoforma variable o bcr2 (frecuencia 5-10 %), y la isoforma corta o bcr3 (frecuencia 15-33 %). Varios autores agrupan los transcritos bcr1/2 en una misma categoría debido a su similar longitud, estructura y peso molecular, con un incremento de su frecuencia relativa al combinarlos.^(9,10)

Isoformas atípicas de PML/RAR α

Además de las isoformas típicas de PML/RAR α , casos esporádicos de pacientes con LPM t (15; 17) positivos con puntos de ruptura atípicos, que resultan en raras transcripciones de fusión, se han descrito. A pesar de que el significado biológico de muchas de estas variantes todavía se debate, el análisis de su secuencia es fundamental para comprender los mecanismos moleculares causales y la monitorización de la Enfermedad Residual mínima (ERM).⁽¹⁰⁾

Los puntos atípicos en el transcrito bcr2, también definido como formas V, son las variantes más frecuentes. También se han detectado casos atípicos de bcr1 con puntos de corte localizados corriente abajo del intrón 6 de PML. Además, eliminaciones parciales del exón 3 de RAR α también se han observado tanto en las transcripciones de bcr1 atípicas como en las de bcr3. Estas isoformas raras de bcr3 se originan a partir de puntos de corte ubicados debajo del exón 4 de PML, que es luego comúnmente involucrado en el empalme con el exón 3 de RAR α . En este caso, como para bcr2 y variantes de bcr1, las inserciones de secuencias de Ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico también pueden ocurrir en la unión entre PML y genes RAR α .⁽¹¹⁾

Variantes moleculares

En aproximadamente del 1 % al 2 % de los pacientes con LPM, nuevas translocaciones distintas de t (15;17) se han identificado a niveles citogenéticos o moleculares. Hasta la fecha más de 30 variantes de fusión molecular se han descrito, todas ellas relacionadas con el gen RAR α . La variante molecular de LPM más frecuente es la PLZF/ RAR α , la cual se detectó en al menos 30 pacientes. Aunque la detección de estas variantes moleculares puede escapar del diagnóstico molecular estándar, su caracterización es fundamental para el adecuado manejo y tratamiento de los pacientes, ya que se ha informado una sensibilidad variable al tratamiento.⁽¹²⁾

Eventos moleculares adicionales

Aunque el reordenamiento de PML/RAR α es el sello citogenético de la LPM, los estudios in vitro realizados en ratones transgénicos apoyan la hipótesis de que los eventos genéticos secundarios cooperantes acumulados a lo largo del tiempo son esenciales para desencadenar finalmente todo el fenotipo leucémico. Se han asociado un gran número de alteraciones genómicas en la LPM, pero solo algunas de ellas ocurren de forma recurrente. Esto se vincula con la morfología peculiar y las características clínicas distintivas. Casi la mitad de los pacientes con LPM pediátricos y adultos albergan más alteraciones cromosómicas adicionales (ACA) además de la t (15; 17) identificada por la citogenética convencional. Como en otros subtipos de LMA la delección 7q y la trisomía 8 son las alteraciones más prevalentes. La ganancia de material adicional por el cromosoma 8 conduce a la desregulación de MYC (protooncogen homólogo al virus de la mielocitomatosis, por sus siglas inglés) en células LPM que pueden actuar en cooperación con el gen de fusión PML/RAR α . Con la probable excepción de cariotipos complejos con tres o más ACA, se acepta que los ACA no afectan el pronóstico de los pacientes con LPM.^(3,10)

Además, los estudios llevados a cabo por herramientas de matriz de polimorfismos de un solo nucleótido han demostrado que las variaciones crípticas (es decir, submicroscópicas) citogenéticas no recurrentes adquiridas son relativamente frecuentes y repercuten negativamente en el resultado de los pacientes con LPM. También se ha reportado que las alteraciones en la vía SUMO (modificador pequeño relacionado con la ubiquitina) y en la autofagia celular contribuyen al proceso leucemogénico y en la cooperación para la supervivencia del clon tumoral.^(13,14)

Mutaciones genéticas en el momento del diagnóstico, la recaída y la resistencia

Las características genéticas de LPM se han analizado mediante enfoques de secuenciación de próxima generación (NGS), mostrando un paisaje mutacional diferente al de otras neoplasias mieloides malignas.

Este perfil molecular está definido por alteraciones recurrentes en genes asociados con vías de señalización, supresión tumoral, organización de la cromatina, oncogenes y mutaciones más raras en otras vías de LMA, incluida mutaciones de NMP1 (gen de la nucleofosmina 1), metilación del ADN o regulación epigenética. Aunque las mutaciones en genes modificadores epigenéticos como DNMT3A, TET2, IDH1, IDH2 y ASXL1 representan en conjunto menos del 6 % de los casos de LPM, estos se han asociado con un mal pronóstico con respecto a la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad.^(3,6,9,10)

Las mutaciones en el gen FLT3 son los eventos concurrentes más frecuentes a PML/RAR α tanto en LPM pediátrica como adulta, representando hasta el 40 % de los casos, principalmente asociados con recuentos elevados de glóbulos blancos. Sin embargo, la implicación pronóstica de estas mutaciones sigue siendo controvertida.⁽¹⁵⁾

En el momento del diagnóstico, alrededor del 70 % de los pacientes con LPM tienen una media de 0,96 mutaciones somáticas (rango 0-2) además de la transposición de PML/RAR α . Sin embargo, este promedio es mayor en recaída, con una media de tres mutaciones somáticas adicionales (rango 0-61), en su mayoría adquiridas a través del curso de la enfermedad. Estas mutaciones rara vez se encuentran en la LPM recién diagnosticada, lo que sugiere su posible papel como marcadores predictores de recaída. Más recientemente, se han detectado mutaciones puntuales en el gen de fusión PML/RAR α descrito hasta en el 30 % de los casos en recaída. Estos estudios sugirieron que las mutaciones ocurridas en los dos restos del PML/RAR α podría contribuir al 10-15 % de los pacientes que recaen o los que finalmente se resisten al tratamiento mediante terapia dirigida con ATRA y trióxido de arsénico (TOA).^(2,3)

Enfoques moleculares para estudiar la enfermedad mínima residual

Aunque aproximadamente el 90 % de los pacientes con LPM recién diagnosticados logran una remisión a largo plazo con terapia dirigida, una proporción considerable de esos pacientes recaen sin evidencia de parámetros clínicos predictivos. La detección rápida de PML/RAR α en la fase posterior a la consolidación mediante técnicas modernas basadas en la reacción en cadena de la

polimerasa (PCR) podría mejorar el resultado predictivo mediante la evaluación rápida y precisa de la respuesta al tratamiento.

Varios estudios retrospectivos han señalado que la recaída molecular es un factor pronóstico independiente que precede a la reaparición de los blastos. Estudios sucesivos establecieron que ensayos de PCR longitudinal negativos realizados en la médula ósea después de completar la terapia están fuertemente relacionados con remisión a largo plazo.⁽¹⁶⁾

Además, dadas las bajas tasas de recaída observadas en pacientes que presentan riesgo bajo e intermedio de enfermedad, el análisis de la EMR en estos pacientes debe realizarse hasta que el paciente alcanza la negativización del gen y luego debe interrumpirse. Solo los pacientes con LPM de alto riesgo deben continuar con la monitorización secuencial de la EMR después de completar la terapia, durante al menos 2 años.^(3,17)

Referencias bibliográficas

1. Ryan MM. Acute Promyelocytic Leukemia: A Summary. *J Adv Pract Oncol*. 2018;9(2):178-87. PMID: 30588352
2. Noguera NI, Catalano G, Banella C, Divona M, Faraoni I, Ottone T, *et al*. Acute Promyelocytic Leukemia: Update on the Mechanisms of Leukemogenesis, Resistance and on Innovative Treatment Strategies. *Cancers (Basel)*. 2019;11(10):1591. DOI: <https://10.3390/cancers11101591>
3. Liquori A, Ibañez M, Sargas C, Sanz MÁ, Barragán E, Cervera J. Acute Promyelocytic Leukemia: A Constellation of Molecular Events around a Single PML-RARA Fusion Gene. *Cancers (Basel)*. 2020;12(3):624. DOI: <https://10.3390/cancers12030624>
4. Barroso Sánchez G, Hernández Padrón C. Terapia dirigida a dianas moleculares: perspectiva actual en la leucemia promielocítica. *Rev cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2021 [acceso 19/07/2021];37(3). Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1481>
5. Jimenez JJ, Chale RS, Abad AC, Schally AV. Acute promyelocytic leukemia (APL): a review of the literature. *Oncotarget*. 2020;11(11):992-1003. DOI: <https://10.18632/oncotarget.27513>
6. Wang Y, Wu N, Liu D, Jin Y. Recurrent Fusion Genes in Leukemia: An Attractive Target for Diagnosis and Treatment. *Curr Genomics*. 2017;18(5):378-84. DOI: <https://10.2174/138920291866617032911034979>

7. Hsu KS, Kao HY. PML: Regulation and multifaceted function beyond tumor suppression. *Cell Biosci.* 2018;8:5. DOI: <https://10.1186/s13578-018-0204>
8. De Thé H, Pandolfi PP, Chen Z. Acute Promyelocytic Leukemia: A Paradigm for Oncoprotein-Targeted Cure. *Cancer cell.* 2017;32(5):552–60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.10.002>
9. Cingam SR, Koshy NV. Acute Promyelocytic Leukemia (APL, APLM). In: StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 29083825.
10. Geoffroy MC, de Thé H. Classic and Variants APLs, as Viewed from a Therapy Response. *Cancers (Basel).* 2020;12(4):967. DOI: <https://10.3390/cancers12040967>
11. Mannan A, Muhsen IN, Barragán E. Genotypic and Phenotypic Characteristics of Acute Promyelocytic Leukemia Translocation Variants. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2020;S1658-3876(20)301059. DOI: <https://10.1016/j.hemonc.2020.05.007>
12. Sobas M, Talarn-Forcadell MC, Martínez-Cuadrón D. PLZF-RAR α , NPM1-RAR α , and Other Acute Promyelocytic Leukemia Variants: The PETHEMA Registry Experience and Systematic Literature Review. *Cancers (Basel).* 2020;12(5):1313. DOI: <https://10.3390/cancers12051313>
13. Moosavi MA, Djavaheri-Mergny M. Autophagy: New Insights into Mechanisms of Action and Resistance of Treatment in Acute Promyelocytic leukemia. *Int J Mol Sci.* 2019;20(14):3559. DOI: https://10.3390/ijms20143559_110
14. Boulanger M, Paolillo R, Piechaczyk M, Bossis G. The SUMO Pathway in Hematomalignancies and Their Response to Therapies. *Int J Mol Sci.* 2019;20(16):3895. DOI: https://10.3390/ijms20163895_111
15. Picharski GL, Andrade DP, Fabro ALMR. The Impact of Flt3 Gene Mutations in Acute Promyelocytic Leukemia: A Meta-Analysis. *Cancers (Basel).* 2019;11(9):1311. DOI: https://10.3390/cancers11091311_113
16. Coccaro N, Tota G, Anelli L, Zagaria A, Specchia G, Albano F. Digital PCR: A Reliable Tool for Analyzing and Monitoring Hematologic Malignancies. *Int J Mol Sci.* 2020;21(9):3141. DOI: https://10.3390/ijms21093141_115
17. Cilloni D, Petiti J, Rosso V, Andreani G, Dragani M, Fava C, *et al.* Digital PCR in Myeloid Malignancies: ¿Ready to Replace Quantitative PCR? *Int J Mol Sci.* 2019;20(9):2249. DOI: <https://10.3390/ijms20092249>

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Gustavo Barroso Sánchez: *recopilación y selección de las referencias bibliográficas relevantes para la revisión. Contribuyó en la confección y redacción del artículo, en el análisis científico de su contenido y en la revisión y aprobación de la versión final a publicar.*

Carlos Hernández Padrón: *realizó aportes importantes en el análisis científico del contenido y en la revisión crítica y aprobación de la versión final a publicar.*

Heidys Garrote Santana: *realizó aportes importantes en el análisis científico del contenido y en la revisión crítica y aprobación de la versión final a publicar.*