

Detección de anticuerpos contra los antígenos de diferenciación tumoral proteinasa 3 (PR3) y mieloperoxidasa (MPO) en la leucemia promielocítica

Detection of antibodies to antigens of proteinase 3 (PR3) tumor differentiations and myeloperoxidase (MPO) in cases of promyelocytic leukemia

Lic. Ada A. Arce Hernández^I; DrC. Rinaldo Villaescusa Blanco^I; Lic. Ana M. Guerreiro Hernández^I; Lic. Julio C. Merlín Linares^I; Lic. Beatriz Socarrás Ferrer^I; Lic. Lázaro O. del Valle Pérez^I; DraC. Consuelo Macías Abraham^I; Dra. Rosa M. Lam Díaz^I; Prof. Porfirio Hernández Ramírez^I

^IInstituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

La leucemia promielocítica (LPM) subtipo M₃ representa del 5-15 % en la clasificación FAB de las leucemias mieloides agudas (LMA). Está asociada con características genéticas únicas que incluyen la translocación recíproca t(15;17)(q22;q12). El mecanismo por el que ocurre la t(15;17) no se conoce. Las leucemias de estirpe mieloides expresan diversos antígenos de diferenciación tumoral como son la proteinasa 3 (PR 3) y la mieloperoxidasa (MPO) que se encuentran sobreexpresados en el promielocito. Se plantea que participan en la maduración y en la regulación de la división celular. Existe poca información acerca de la respuesta inmune de pacientes con LPM dirigida contra las células tumorales. En nuestro trabajo se detectó la presencia de anticuerpos contra los antígenos de diferenciación tumoral PR3 y MPO en diferentes fases del tratamiento de la enfermedad, mediante inmunofluorescencia indirecta. Los anticuerpos anti PR3 y anti MPO se detectaron en aquellos pacientes sin tratar y en fase de inducción, no así en la consolidación y mantenimiento, de ahí su posible utilidad como marcadores de diferenciación celular.

Palabras clave: antígenos de diferenciación tumoral, leucemia promielocítica, mieloperoxidasa, proteinasa 3.

ABSTRACT

Promyelocytic leukemia (PML) subtype M3 represents the 5-15 % in the FAB classification of acute myeloid leukemias (AML). It is associated with the unique genetic features including the reciprocal t-translocation (15;17) (q22;q12). The mechanism of t is unknown. The myeloid leukemias express different tumoral differentiation antigens such as the proteinase 3 (PR 3) and myeloperoxidase (MPO) which are over-expressed in promyelocyte. It is involved in maturation and regulation of cell division. There is scarce information on the immune response of patients with PLM against tumor cells. In our paper we detected presence of antibodies to RP3 and MPO tumor differentiation antigens in different phases of disease treatment by indirect immunofluorescence. Anti-MPO and anti-PR3 antibodies were detected in those patients without treatment and in induction phase but not in the consolidation and maintenance, thus its potential usefulness as cellular differentiation markers.

Key words: Tumoral differentiation antigens, promyelocytic leukemia, myeloperoxidase, proteinase-3.

INTRODUCCIÓN

La leucemia promielocítica (LPM) ha devenido la enfermedad más curable de todos los subtipos de LMA.¹ Los tratamientos actuales que combinan el ácido trans retinoico (ATRA), el trióxido de arsénico y las antraciclinas, resultan en una sobrevida a largo plazo y la cura potencial del 70 al 80 % de los pacientes.²⁻⁴ Entre los antígenos de diferenciación tumoral presentes en la LPM se destacan la proteinasa 3 (PR3) y la mieloperoxidasa (MPO), proteína estrictamente mielóide, los que se encuentran sobreexpresados en el citoplasma en el estadio de promielocito^{5,6} y se plantea que participan en la maduración y en la regulación de la división celular.⁷ Dichas proteínas de diferenciación tumoral son una fuente de antígenos específicos asociados con el tumor y resultan una diana potencial de la respuesta inmune. Teniendo en cuenta la escasa información acerca de la respuesta inmune dirigida contra las células tumorales en estos pacientes, nos propusimos la búsqueda de la posible presencia de anticuerpos anti PR3 y anti MPO en diferentes fases del tratamiento de diferenciación en la LPM.

MÉTODOS

Se estudiaron 19 pacientes provenientes de los servicios de clínica de adultos y pediátrica del Instituto de Hematología e Inmunología, con diagnóstico de LMA-M3, de acuerdo con el criterio morfológico y citológico establecido en la clasificación FAB.

La detección de los anticuerpos anti PR3 y anti MPO en el suero de los pacientes con LPM se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta empleando como

sustrato neutrófilos obtenidos a partir de individuos sanos.⁸ Como controles positivos se utilizaron sueros de enfermos con vasculitis y como controles negativos, sueros de donantes sanos.

RESULTADOS

Se demostró la presencia de anticuerpos anti PR3 en 8 enfermos con LPM y de anti MPO en 7, fundamentalmente en la fase de inducción, y en 3 pacientes sin tratamiento; no así en las fases de tratamiento de consolidación y mantenimiento (tabla).

Tabla. Detección de anticuerpos antiproteinasa 3 (PR3) y antimieloperoxidasa (MPO) en el suero de pacientes con leucemia promielocítica

Paciente	Sexo/edad	bcr	Fase del tratamiento	Anti-PR3	Anti-MPO
1	F/42	1	TI	-	+
2	F/50	1	TM	-	-
3	M/46	3	TI	+	+
4	F/43	1	TC	-	-
5	F/40	3	ST	+	+
6	F/62	1	RM	+	+
7	M/16	1	TI	-	-
8	M/9	1	TI	+	+
9	M/43	3	TM	-	-
10	F/60	1	TC	-	-
11	M/39	1	TI	+	-
12	F/25	3	ST	+	+
13	M/23	3	TM	-	-
14	F/29	1	ST	+	+
15	M/30	1	TC	-	-
16	F/37	2	TM	-	-
17	M/25	3	TI	+	-
18	M/38	1	TM	-	-
19	F/32	3	TC	-	-

ST: sin tratamiento; TI: tratamiento de inducción; TC: tratamiento de consolidación; TM: tratamiento de mantenimiento; RM: recaída molecular.

DISCUSIÓN

Las leucemias de estirpe mieloide expresan un número de antígenos de diferenciación tumoral asociados con la formación de gránulos citoplasmáticos entre los que se encuentra la PR3, una serin proteasa neutral de 26 kDa aumentada significativamente en la etapa de promielocito de la diferenciación mieloide. Su expresión está mediada por factores de transcripción como el PU.1 implicado en la deficiente diferenciación de las células leucémicas.⁹ La PR3 participa en el mantenimiento del fenotipo leucémico deteniendo la división celular.⁷

La MPO es una proteína exclusiva de la serie mieloide que es sintetizada en fases muy tempranas de la diferenciación mieloide y constituye el componente principal de los gránulos azurofílicos del neutrófilo.^{10,11} La expresión de la MPO, al igual que la PR3, está aumentada en los promielocitos de pacientes con LPM y participa en la maduración y en la regulación de la división celular.

Las proteínas de diferenciación tumoral, PR3 y MPO, representan una fuente de antígenos específicos asociados con el tumor y una diana potencial de la respuesta inmune. En nuestro estudio se detectó la presencia de anticuerpos contra la PR3 y MPO en diferentes fases del tratamiento de diferenciación. Los anticuerpos se detectaron en aquellos pacientes sin tratar y en fase de inducción, no así en la de consolidación y mantenimiento, de ahí su posible utilidad como marcadores de la expresión de antígenos de diferenciación tumoral en la célula leucémica. La no presencia de los antígenos tumorales puede provocar la disminución en la síntesis de anticuerpos específicos en estos pacientes. No se demostró correlación entre las diferentes isoformas del complejo de fusión PML-RAR α , bcr1, bcr2, bcr3 y la presencia de anticuerpos específicos anti PR3 y anti MPO.

Resultaría de interés profundizar en la evaluación de la respuesta inmune en la LPM con el aumento del número de pacientes, así como el estudio longitudinal que permita establecer un posible efecto favorecedor de los anticuerpos estudiados en la diferenciación celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Avvisati G, Lo Coco F, Mandelli F. Acute promyelocytic leukemia: Clinical and morphologic features and prognostic factors. *Sem Hematol* 2001;38:4-12.
2. Degos L, Wang ZY. All trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *Oncogene* 2001;20:7140-5.
3. Jing Y. The PML-RAR alpha fusion protein and targeted therapy for acute promyelocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2004;45:639-48.
4. Tallman MS. What is the role of arsenic in newly diagnosed APL? *Best Practice and Research Clinical Haematology* 2008;21:659-66.
5. Chen T, Meier R, Ziemiecki A, Fey MF, Tobler A. Myeloblastin/proteinase 3 belongs to the negatively regulated primary response genes expressed during in vitro myeloid differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;200:1130-5.
6. Muller-Berst N, Minowada J, Tsuji-Takayama K. The phylogeny of proteinase 3/ myeloblastin, the autoantigen in Wegener's granulomatosis and myeloperoxidase as shown by immunohistochemical studies on human leukemic cell lines. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;70:51-9.
7. Bories D, Raynal MC, Solomon DH, Darzynkiewics Z, Cayre YE. Down-regulation of a serine protease, myeloblastin, causes growth arrest and differentiation of promyelocytic leukemia cells. *Cell* 1989;59:959.
8. Franseen CF, Stegeman CA, Kallenberg CG. Antiproteinase 3 and antimyeloperoxidase associated vasculitis. *Kidney Int* 2000;57:2195-2206.

9. Zhang P, Nelson E, Radomska HS. Induction of granulocytic differentiation by 2 pathways. *Blood* 2002;99:4406-12.
10. Borregaard N, Cowland JB. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood* 1997;89:3503-21.
11. Heslop HE, Freda K, Molldrem S, Molldrem JJ. Immunotherapy of hematologic malignancy. *Hematology* 2003;1:331-51.

Recibido: 28 de enero de 2010.

Aprobado: 2 de febrero de 2010.

Lic. *Ada A. Arce Hernández*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800. Ciudad de La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8695, 643 8268, Fax (537) 644 2334. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu Website: <http://www.sld.cu/sitios/ih>