Universidad de Alcalá
COMISIÓN DOCENTE

FACULTAD DE FARMACIA
Campus uniersitario
Carretera Madrid-Barcelona, Km. 33,600
28871 Alcalá de Henares (Madrid)
Telf. (+34) 918 854 680
FAX (+34) 918 854 680
E-mail: decanato.farmacia@uah.es
http:/www.uah.es/farmacia

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ, PATRIMONIO DE LA HUMANIDAD

Universidad de Alcalá

TRABAJO DE FIN DE GRADO
GRADO EN FARMACIA

TRASTORNO MIELOPROLIFERATIVO TRANSITORIO Y LEUCEMIA MEGACARIOBLÁSTICA AGUDA ASOCIADA AL SÍNDROME DE DOWN.

LEUCEMOGÉNESIS Y TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO.

Autora:
DIANA TAPIA SOLASCASAS.

Tutora:
MARÍA DEL CARMEN BOYANO ADÁNEZ.

Curso:
2015-2016.

Universidad de Alcalá
COMISIÓN DOCENTE

FACULTAD DE FARMACIA
Campus universitario
Carretera Madrid-Barcelona, Km. 33,600
28871 Alcalá de Henares (Madrid)
Telf. (+34) 918 854 680
FAX (+34) 918 854 680
E-mail: decanato.farmacia@uah.es
http:/www.uah.es/farmacia

AUTORIZACIÓN E INFORME PARA LA DEFENSA PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE GRADO

(Segunda Página de Memoria del Trabajo Fin de Grado)

D/Dª
Profesor del Departamento de
como tutor del Trabajo de Fin de Grado en Farmacia de
D/Dª

Titulado:

INFORMA: Que ha sido realizado y redactado por el/la mencionado/a alumno/a bajo mi dirección y con esta fecha autorizo a su presentación y defensa pública

Alcalá de Henares …. de …… de 20….

Fdo.:

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ, PATRIMONIO DE LA HUMANIDAD

ÍNDICE.

Página.

RESUMEN…….....1

PALABRAS CLAVE……..……2

1. INTRODUCCIÓN…….....3

1.1. La hematopoyesis……...3

- Regulación de la hematopoyesis: factores de transcripción……...4

1.2. Leucemias……5

- Leucemias agudas (AL)…….....5
  - Leucemias mieloides agudas (AML)……6
    - Clasificación de las AML……...6

1.3. El Síndrome de Down (DS) y la leucemia……..7

- Trastorno mieloproliferativo transitorio (TMD)…….....7
  - Leucemia megacarioblástica aguda asociada al Síndrome de Down (DS-AMKL)……8

2. OBJETIVOS……...……...8

3. METODOLOGÍA……...……9

4. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS……..….....9

4.1. Leucemogénesis de la DS-AMKL……9

- Hito 1: trisomía del cromosoma 21 (T21)……10
- Hito 2: mutación del gen GATA1……11
  - GATA1 y GATA1s……11
    - GATA1……12
    - GATA1s……..12
  - GATA1s y leucemia……12

- Hitos adicionales……..13
  - Antígeno tumoral PRAME……...14
  - Oncogenes del cromosoma 21……..14
  - Otras mutaciones: JAK3……..14
  - Proteína p53……..15
  - miR-125b-2……15

4.2. Tratamiento farmacológico actual del TMD y la DS-AMKL……...16

- Tratamiento del TMD……...16
- Tratamiento de la DS-AMKL……...17

5. CONCLUSIONES……19

- Perspectivas futuras……19

BIBLIOGRAFÍA…….....21

RESUMEN.

Los niños con Síndrome de Down (DS) tienen un riesgo mayor de padecer leucemia. En concreto, tienen una probabilidad particularmente elevada de sufrir leucemia megacarioblástica aguda (AMKL), cuyo desarrollo está estrechamente relacionado con un estado preleucémico llamado trastorno mieloproliferativo transitorio (TMD). Tradicionalmente, se han señalado la trisomía 21 (T21) y mutaciones congénitas del gen GATA1 que dan como resultado la expresión exclusiva de la isoforma proteica GATA1s como las causas que propician el desarrollo de estas enfermedades. No obstante, en la actualidad se sabe que dichas alteraciones son suficientes para producir el TMD, pero no para que éste progrese a DS-AMKL, de tal forma que un tercer evento sería necesario para dar lugar a la leucemia. Por tanto, se puede describir la leucemogénesis de la DS-AMKL como un proceso en el que son imprescindibles 3 hitos, que cooperan entre sí estableciendo relaciones de sinergia.

Esta revisión bibliográfica se centra en las alteraciones que hacen que se produzca el TMD y que dicho trastorno evolucione a la DS-AMKL, a la vez que se describe el tratamiento actual de ambas patologías y las posibles implicaciones que podría tener el conocimiento de este proceso de leucemogénesis en la futura terapia farmacológica tanto del TMD como de la DS-AMKL.

ABSTRACT.

Children with Down Syndrome (DS) have a increased probability of suffering leukemia. Specially, they are at particular risk of acute megakaryoblastic leukemia (DS-AMKL), whose development is closely linked to a preleukemic state called transient myeloproliferative disorder (TMD). To date, trisomy 21 (T21) and constitutional gene GATA1 mutations that lead in the exclusive expression of the protein isoform GATA1s has been fixed as the cause of this diseases. However, nowadays it is known that those alterations are enough for producing the TMD, but not for this to progress to DS-AMKL, so that a third event would be necessary for giving rise to the leukemia. Therefore, the leukemogenesis of DS-AMKL can be described as a process in wich 3 hits that cooperate by synergism relationships, are indispensable.

This review focuses on the alterations that lead to the TMD and that make this disorder progress to DS-AMKL, while describing the actual treatment for this two diseases and the possible implications that the understanding of this leukemogenic process could have in the future pharmacological therapy for both TMD and DS-AMKL.

PALABRAS CLAVE.

Down syndrome, megakaryoblastic leukaemia, transient myeloproliferative disorder, GATA1.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. La hematopoyesis.

La hematopoyesis es el proceso fisiológico de formación, desarrollo y maduración de las células sanguíneas a partir de un precursor celular común, denominado célula madre hematopoyética (HSC). Las HSC se caracterizan por tener capacidad de autorrenovación y por su multipotencialidad, ya que son capaces de generar cualquier tipo de célula sanguínea.

Estas HSCs se diferencian hacia el linaje mieloide o hacia el linaje linfoide, dando lugar al progenitor mieloide común (CMP) y al progenitor linfoide común (CLP). Estos progenitores madurarán dando los distintos precursores, que se diferenciarán en la médula ósea (a excepción de los linfocitos T, que lo hacen en el timo), para producir las distintas células sanguíneas[1] **(figura 1):**

- CMP: su diferenciación dará lugar a eritrocitos, megacariocitos y plaquetas, leucocitos polimorfonucleares o granulocitos, células dendríticas y macrófagos.
- CLP: su diferenciación dará lugar a los distintos tipos de linfocitos (linfocitos B, linfocitos T, células natural-killer y células dentríticas).

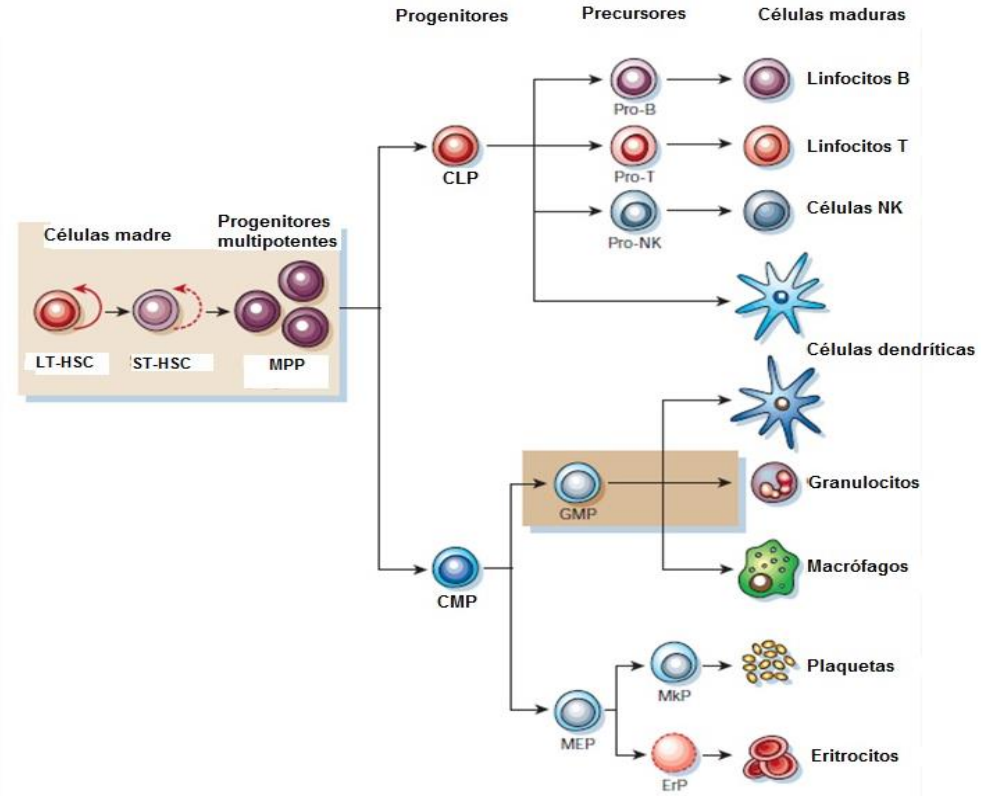

Figura 1. El sistema hematopoyético: diferenciación desde la célula madre hematopoyética (HSC) hacia las distintas células maduras. (Adaptado de Reya et al., [1]).

- **Regulación de la hematopoyesis: factores de transcripción.**

La diferenciación de una HSC hacia los progenitores de un linaje o de otro, y la posterior diferenciación y maduración de estos progenitores, está regulada principalmente por señales celulares intrínsecas, que se corresponden con los factores de transcripción.

Los factores de transcripción regulan, por un lado, el crecimiento y maduración de las HSCs,y, por otro, la proliferación y diferenciación hacia un linaje específico[2].

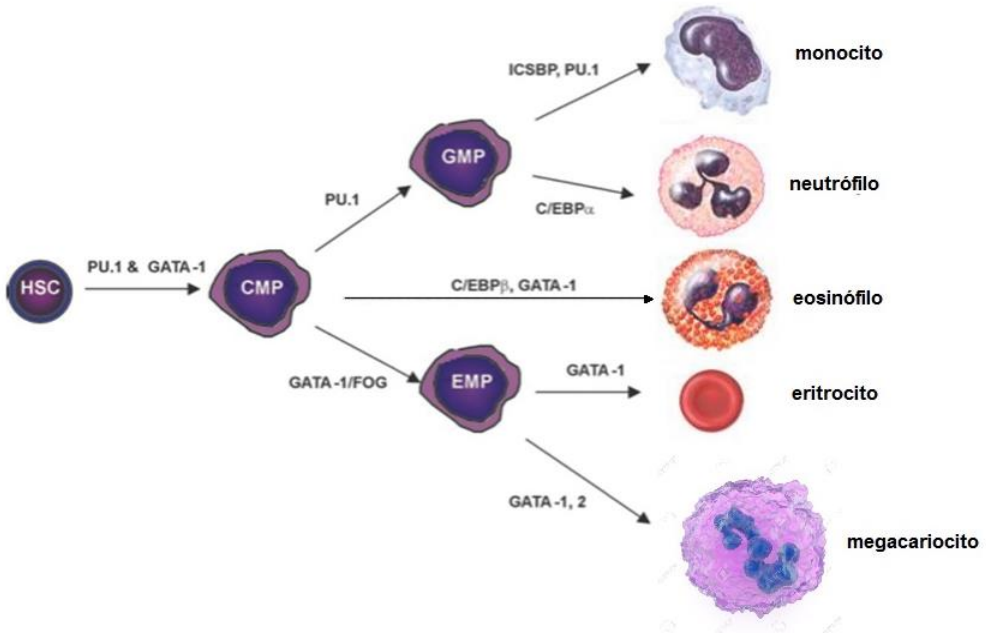

Figura 2: Regulación transcripcional del linaje mieloide: principales factores de transcripción implicados y etapas en las que intervienen en la hematopoyesis de las principales células maduras mieloides. (Adaptado de Zhu and Emerson [3]).

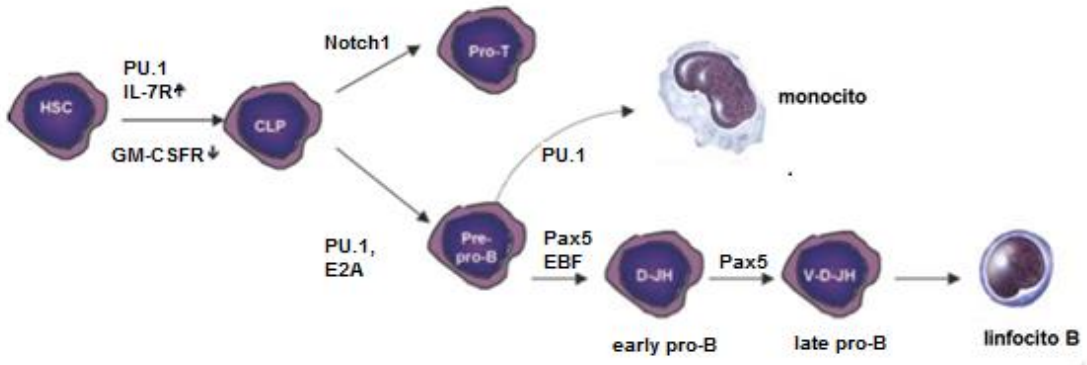

Figura 3: Regulación transcripcional del linaje linfoide: principales factores de transcripción implicados y etapas en las que intervienen en la diferenciación de monocitos y linfocitos. (Adaptado de: Zhu and Emerson [3]).

1.2. Leucemias.

La hematopoyesis es un proceso complejo, y cualquier alteración en ella puede dar lugar a trastornos hematológicos, como mielomas, linfomas o leucemias.

Las leucemias son neoplasias malignas producidas por la proliferación descontrolada de las células hematopoyéticas progenitoras en la médula ósea. El crecimiento de las células leucémicas es mayor con respecto al que presentan las células normales, lo que se puede deber a un exceso de proliferación de una población monoclonal concreta, a un fallo de la apoptosis durante el proceso de renovación celular, o a ambos[4].

Las leucemias se pueden clasificar en función del estadio de maduración de las células neoplásicas en:

- Leucemias agudas (AL): presentan en sangre periférica células inmaduras y poco diferenciadas, llamadas blastocitos, células blásticas o blastos. Si se trata de mieloblastos, será una leucemia mieloide aguda (AML), y si son linfoblastos, será una leucemia linfoide aguda (ALL).
- Leucemias crónicas (CL): aparecen células más maduras y con mayor grado de diferenciación en sangre periférica. A su vez, se clasifican en leucemia mieloide crónica (CML) o en leucemia linfoide crónica (CLL), en función del linaje afectado.

- **Leucemias agudas (AL).**

Las AL, ya sean AML o ALL, son el resultado de una mutación somática en una única célula madre hematopoyética, que desencadena una proliferación clonal de células leucémicas inmaduras. La célula en la que se produce la transformación leucémica es un precursor que pierde la capacidad de seguir su proceso normal de maduración[5].

En las AL, las células blásticas proliferan en la médula ósea y reemplazan a su celularidad normal, provocando fallo en la médula ósea. Este fallo se suele caracterizar por la aparición de pancitopenia, una situación que consiste en la disminución de las tres series hematopoyéticas en sangre periférica, dando como resultado anemia, neutropenia y trombocitopenia[5].

En cuanto a la etiología, la mayoría de las leucemias agudas son idiopáticas o *de novo*, mientras que otras, denominadas leucemias secundarias, son

consecuencia de exposiciones a agentes mutagénicos, de trastornos hematológicos previos o de predisposiciones congénitas, como es el caso del Síndrome de Down[4].

- **Leucemias mieloides agudas (AML).**

Las AML derivan de las células progenitoras mieloides. Estas células, en condiciones normales darían lugar a todas las células del linaje mieloide[4]. Dentro de las AML, se encuentra la leucemia megacarioblástica aguda (AMKL), un subtipo de leucemia que se produce mayoritariamente en pacientes con Síndrome de Down (DS) en la etapa neonatal o durante la infancia[5].

La AML se desarrolla y progresa rápidamente. Los pacientes que la padecen, presentan signos y síntomas de anemia (fatiga, disnea, palidez, taquicardia y taquipnea), trombocitopenia (epistaxis, sangrado de encías y petequias), neutropenia (que favorece las infecciones bacterianas o por hongos) o leucocitosis (disnea, alteración de la cognición)[4].

- **Clasificación de las AML.**

En la actualidad, la clasificación más aceptada y utilizada de las leucemias es la del Grupo Cooperativo Franco-Americano-Británico FAB[6], redactada por primera vez en el año 1976, y que permite subclasificar las AML en 8 categorías **(Tabla 1).**

1.3. El Síndrome de Down (DS) y la leucemia.

El DS es la anomalía congénita más común en recién nacidos, y se caracteriza por la trisomía en el cromosoma 21 (T21). Los niños con DS tienen un riesgo mayor de desarrollar leucemia durante la infancia en comparación con niños sin DS, concretamente entre un 15 y un 30%[7]. Estas leucemias son, en su mayoría, mieloides, y el ratio frente a las linfoides es de 7/1, mientras que en la población general es de 5/6[8]. Dentro de las leucemias mieloides, el riesgo de desarrollar AMKL aumenta 500 veces en niños con DS en comparación con los que no padecen este trastorno[7].

Tabla 1: Clasificación del grupo FAB de las leucemias agudas mieloides (Adaptada de Wu et al., [4]).

Subtipo FAB	Denominación	Asociaciones citogenéticas	Características clínicas
AML0	Leucemia mieloide aguda mínimamente diferenciada	inv(3q26), t(3;3)	
AML1	Leucemia mieloide aguda sin maduración.		
AML2	Leucemia mieloide aguda con maduración.	t(8,21)	Mieloblastomas o cloromas
AML3	Leucemia promielocítica aguda	t(15,17)	Coagulación intravascular diseminada
AML4	Leucemia mielomonocítica aguda	11q23, inv3, t(3,3), t(6,9), inv16	Hiperleucocitosis, afectación del SNC, infiltración piel y encías
AML5	Leucemia monocítica aguda	11q23, t(9,11), t(8,16)	Hiperleucocitosis, afectación del SNC, infiltración en la piel y las encías
AML6	Leucemia eritroide aguda	del5, del7	
AML7	Leucemia megacarioblástica aguda	t(1,22)	Síndrome de Down.

- **Trastorno mieloproliferativo transitorio (TMD).**

El trastorno mieloproliferativo transitorio (TMD) se produce en el útero durante la megacariopoyesis. Es una enfermedad que afecta principalmente a la estirpe megacariocítica y eritroide, y que padecen entre el 10-20% de los niños con DS en la etapa neonatal[9]. Este trastorno se caracteriza por la presencia de un número anormal de blastos en sangre periférica[10]. El TMD constituye un estado preleucémico que puede dar lugar en aproximadamente el 20-30% de los casos a una AMKL, generalmente al cabo de 2 a 4 años[10].

En cerca del 90% de los casos, el TMD se resuelve, tanto espontáneamente como tras el tratamiento[11]**.** No obstante, dicho trastorno presenta una tasa de mortalidad que asciende al 20%[10], y que normalmente es debida a fallo multiorgánico, producido como consecuencia de hiperleucocitosis, fibrosis hepática y fallo en la remisión espontánea del TMD[11].

- **Leucemia megacarioblástica aguda asociada al Síndrome de Down (DS-AMKL).**

Como se ha indicado, aproximadamente una cuarta parte de los recién nacidos con DS que padecen TMD, desarrollarán en los primeros años de vida una AMKL, denominada AMKL asociada al DS (DS-AMKL). Este tipo de leucemia se caracteriza por la presencia de niveles elevados de megacarioblastos, derivados de precursores mieloides, y que son prácticamente idénticos a los presentes en el TMD. Los megacarioblastos normales continúan su diferenciación hacia los megacariocitos, que darán lugar a las plaquetas. En cambio, los megacarioblastos anormales presentes en la DS-AMKL, saturan la producción normal de la médula ósea, reduciendo la producción de las demás estirpes celulares, como son los leucocitos y los eritrocitos[8].

En la actualidad, se sabe que para el desarrollo del TMD y su posterior evolución hacia la DS-AMKL, se tienen que producir una serie de eventos o hitos genéticos y epigenéticos, prenatales y postnatales. Este es el caso de los dos hitos más estudiados y definidos: la presencia de la T21 característica del DS y la mutación en el gen que codifica el factor de transcripción GATA1. Ambos eventos ocurren antes del nacimiento, y están relacionados directamente con el desarrollo del TMD. No obstante, un tercer hito, aún sin definir con exactitud pero posiblemente relacionado con diversas alteraciones genéticas postnatales, podría contribuir a la evolución del TMD hacia la DS-AMKL, siendo clave en la leucemogénesis de dicha enfermedad.

2. OBJETIVOS.

El objetivo principal de este trabajo es describir el proceso de leucemogénesis implicado en el desarrollo de la DS-AMKL. Para ello, se desarrollarán los siguientes puntos concretos, que constituyen los objetivos específicos del trabajo:

- Analizar el papel de la T21 y de la mutación del gen GATA1 en el desarrollo del TMD.
- Definir las posibles alteraciones que pueden constituir el tercer hito en el progreso del TMD hacia la DS-AMKL.

- Describir el tratamiento farmacológico actual del TMD y la DS-AMKL.
- Identificar posibles dianas terapéuticas para el tratamiento del TMD y la DS-AMKL, derivadas de los hitos descritos.

3. METODOLOGÍA.

La metodología utilizada para llevar a cabo este trabajo de revisión bibliográfica ha sido la búsqueda en las bases de datos PubMed y WebOfScience. Para ello, en el periodo de tiempo comprendido entre septiembre de 2015 y abril de 2016, se han realizado diversas búsquedas en dichas bases de datos, utilizando distintas combinaciones de las palabras clave: *leukemia, myeloid leukemia, megakarioblastic leukemia, transient myeloproliferative disorder, down syndrome, trisomy 21*. Tras esta búsqueda, se seleccionaron aquellos artículos que otorgaban información general del tema a tratar.
Finalmente, se realizaron nuevas búsquedas más concretas sobre cada uno de los apartados del trabajo para desarrollar así los objetivos específicos propuestos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Leucemogénesis de la DS-AMKL.

En la leucemogénesis que desemboca en la DS-AMKL, se distinguen varios hitos. Los dos primeros, la T21 y la mutación del gen GATA1, darían lugar al TMD. No obstante, el TMD constituye un estado preleucémico de la DS-AMKL únicamente en un 20-30% de los pacientes, como se ha indicado previamente, mientras que en el resto de los casos, se resuelve. Debido a este motivo, parece que la combinación de DS con la mutación de GATA1 no es suficiente para desencadenar la leucemia, y un tercer agente o hito sería necesario.
A continuación, se va a describir la leucemogénesis de la DS-AMKL como la sucesión de 3 hitos identificados hasta la fecha, detallando el papel que ejerce cada uno en el desarrollo del TMD y su progreso hacia la DS-AMKL **(figura 4)**.

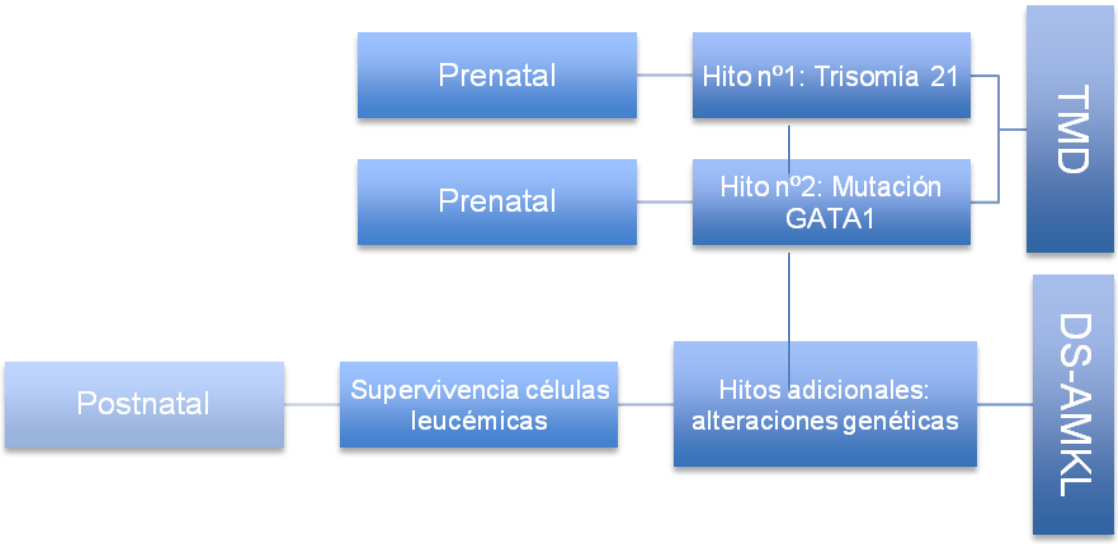

Figura 4: Esquema de los diferentes hitos implicados en la leucemogénesis del TMD y de la DS-AMKL así como su relación con los diferentes trastornos y el momento respecto al nacimiento en que se producen. (Adaptado de Mateos et al., [7]).

- **Hito 1: trisomía en el cromosoma 21 (T21).**

El primer hito consiste en la presencia de la T21 característica del DS[10]. Diversos autores[12] se han centrado en observar las consecuencias de esta alteración sobre las células hematopoyéticas fetales, en situaciones previas a la adquisición de la mutación del gen GATA1.

En este estudio, se ha podido observar que la alteración de los CMP en el hígado fetal humano con T21, anterior a la adquisición de las mutaciones en GATA1, se caracteriza por la expansión de los progenitores eritro-megacariocíticos y el aumento de la clonogenicidad del linaje mieloide. Todo esto sugiere que la población progenitora responsable del inicio de la leucemogénesis de la DS-AMKL, está presente en el hígado de todos los fetos con DS[12].

Por otro lado, en otro estudio se realizaron comparaciones respecto a las HSC de hígado fetal con T21 e hígado fetal sin esta trisomía. De esta forma, se ha podido demostrar que la T21 afecta a las HSC, aumentando sus niveles, su clonogenicidad y la producción eritromegacariocítica[13]. Por tanto, se puede concluir que la copia extra del cromosoma 21 es suficiente para perturbar el crecimiento y diferenciación de las HSC, incluso en ausencia de otras alteraciones genéticas[14].

Las bases moleculares implicadas en esta alteración en la hematopoyesis aún no están aún bien definidas, pero se sabe que diversos genes del cromosoma 21 que codifican factores de transcripción pueden afectar a la hematopoyesis fetal[10].

- **Hito 2: mutación del gen GATA1.**

El segundo hito necesario para el desarrollo del TMD y la DS-AMKL consiste en la mutación del gen GATA1[10], que da lugar a la expresión de la proteína GATA1s.

No obstante, las mutaciones del gen GATA1 en ausencia de DS no se relacionan con el desarrollo de leucemia en los pacientes[7]. En su lugar, son responsables de otras alteraciones hematopoyéticas, como la anemia de Diamond-Blackfan, citopenias o displasias de médula ósea[7]. Por tanto, se deduce que esta mutación representa el segundo hito en la leucemogénesis de la DS-AMKL, pero siempre en presencia del primero, la T21.

  - **GATA1 y GATA1s.**

GATA1 es un gen localizado en el cromosoma X[16], que codifica un factor de transcripción homónimo perteneciente a la familia de proteínas GATA. Este factor de transcripción regula la expresión de la mayoría de los genes eritromegacariocíticos conocidos, promoviendo la diferenciación eritromegacariocítica y siendo por tanto esencial para la eritropoyesis y la megacariopoyesis[15].

Se han descrito dos isoformas de la proteína codificada por GATA1: GATA1 (isoforma larga) y GATA1s (isoforma corta) **(figura 5)**.

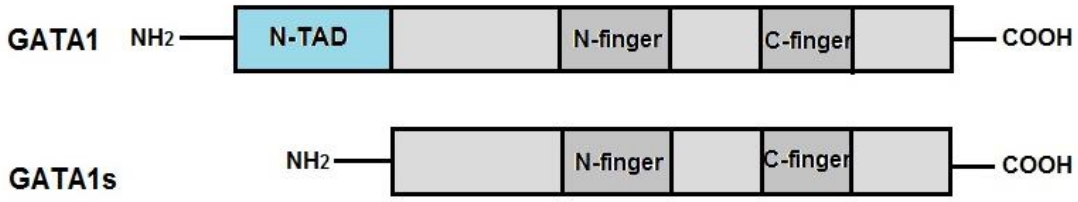

Figura 5: Comparación entre la estructura de las isoformas proteicas GATA1 y GATA1s, proteínas codificadas por el gen GATA1. N-TAD: dominio de transactivación; N-*finger*: dedo de zinc amino terminal; C-*finger*: dedo de zinc carboxilo terminal.

- **GATA1.**

La isoforma larga de la proteína GATA1 contiene tres dominios funcionales[17] **(figura 5):**

- Un dominio amino-terminal (N-TAD) de transactivación, responsable de la inducción de la expresión de los genes a los que se una la proteína.
- Un dominio dedo de zinc, próximo al extremo amino-terminal (N-*finger*), responsable de la interacción con el cofactor FOG1 (para facilitar la maduración eritromegacariocítica) y de la asociación al DNA.
- Un dominio dedo de zinc, próximo al extremo C-terminal (C-*finger*), esencial para unirse a GATA box, con actividad reguladora. GATA box se encuentra en el núcleo de la región de DNA denominada potenciador hematopoyético de GATA1 (G1HE).

- **GATA1s.**

GATA1s, en cambio, es una proteína que se caracteriza por la ausencia del dominio N-TAD debido a un procesamiento alternativo entre los exones 1 y 3 del mRNA, pero que, no obstante, mantiene los dos dominios dedos de zinc (C-*finger* y N-*finger*) **(figura 5)**. Las principales mutaciones que presenta el gen GATA1 y que se relacionan con la traducción exclusiva de la isoforma corta, GATA1s, son mutaciones puntuales, deleciones e inserciones entre los exones 1 y 3 del mRNA de GATA1, que hace que el codón de inicio de la traducción cambie, pasando a ser el codón 84[15].

Diferentes regiones presentes en el dominio N-TAD de GATA1 son esenciales para la diferenciación terminal de los megacariocitos y el control del crecimiento de los precursores inmaduros, y dichas regiones se encuentran ausentes en la proteína GATA1s, por lo que estas funciones se ven alteradas cuando aparecen estas mutaciones[18].

- **GATA1s y leucemia.**

Diversos estudios demuestran que la expresión de la proteína GATA1s está implicada en el desarrollo de TMD y DS-AMKL[15], y se sabe que, en dichas patologías, a diferencia de lo que ocurre en otros tipos de leucemias, aparecen mutaciones en el gen GATA1, limitadas exclusivamente a los clones leucémicos, debido posiblemente a que dichas mutaciones son adquiridas y

seleccionadas como consecuencia del mayor crecimiento que muestran estas células[15].

Estas mutaciones no son detectables en leucemias que no están asociadas al DS o en aquellas que sí están asociadas pero que son diferentes de la DS-AMKL, enfatizando así la necesidad de la cooperación específica entre la mutación de GATA1 y la T21 en el desarrollo de la DS-AMKL[19].

Entre la DS-AMKL y la AMKL, se han encontrado diferencias significativas relacionadas en primer lugar con el aumento de la expresión de GATA1s producido por la mutación del gen GATA1. En segundo lugar, se sabe que la isoforma larga GATA1 ejerce una acción reguladora sobre otros factores de transcripción, inhibiéndolos[20]. Entre estos factores de transcripción se encuentran GATA2, IKAROS, Myb y Myc, que se caracterizan por estimular el crecimiento celular hematopoyético[20]. GATA1s, no obstante, no es capaz de inhibir correctamente estos factores de transcripción, por lo que su acción estimuladora sobre la proliferación hematopoyética se ve aumentada, favoreciendo así el desarrollo de la enfermedad[20].

Un paso clave para entender el proceso que da lugar al TMD y a la DS-AMKL, es conocer la naturaleza de la interacción entre la T21 y la mutación de GATA, y que constituye un ejemplo de sinergia. Así, la T21, por su lado, es capaz de aumentar la producción de precursores eritromegacariocíticos, dando lugar a una gran cantidad de células sobre las cuales la mutación de GATA1 es más selectiva debido a su mayor capacidad de crecimiento[10].

- **Hitos adicionales.**

A pesar de la clara implicación conjunta de la T21 y de la mutación de GATA1 en el desarrollo del TMD, estos dos hitos no parecen ser suficientes para que dicho trastorno evolucione a la DS-AMKL, ya que en la mayoría de los casos, dicho trastorno transitorio se resuelve. Por este motivo, otros hitos adicionales que ocurren tras el nacimiento resultan esenciales[21]. Estos hitos aún no se han definido claramente, pero se han identificado una serie de posibles candidatos que contribuirían a la supervivencia de las células pre-leucémicas del TMD tras el nacimiento, y que aumentarían, por tanto, el riesgo de que dicho trastorno evolucione a la DS-AMKL.

Los principales hallazgos en la investigación de este posible tercer hito implicado en el progreso a DS-AMKL, se describen a continuación.

- **Antígeno tumoral PRAME.**

En primer lugar, mediante el estudio comparativo de la expresión génica de los megacarioblastos presentes en TMD y DS-AMKL, se detectó que el antígeno tumoral PRAME se expresa únicamente en los blastos de la DS-AMKL[22]. Por tanto, PRAME podría ser de gran utilidad como marcador para predecir el desarrollo de la enfermedad tras el nacimiento.

- **Oncogenes del cromosoma 21.**

Se han identificado como posibles oncogenes diversos genes del cromosoma 21 que codifican factores de transcripción. Entre ellos, se incluyen: runx1, BACH1, ETS2 y ERG[15].

En primer lugar, BACH1 es un gen que codifica una proteína con el mismo nombre, y cuya acción consiste en suprimir la diferenciación megacariocítica[10]. Por otro lado, ETS2 y ERG son dos proteínas de la familia de factores de transcripción ETS (*E-Twenty-Six)*, cuya sobreexpresión induce la expansión de los megacariocitos, y puede tener cierta relación de sinergismo con la mutación de GATA1[23] aumentando el riesgo de desarrollar la DS-AMKL. Por último, se encuentra el gen runx1, que codifica el factor de transcripción RUNX-1[24], sobreexpresado en individuos con DS debido a la trisomía del cromosoma 21, en el que se encuentra dicho gen. Esta proteína ejerce un papel importante en el desarrollo de la hematopoyesis, y está relacionada con la diferenciación del linaje megacariocítico[10].

A pesar de que los mecanismos de acción de estas proteínas aún no han sido descritos con claridad, los resultados de estos estudios indican que la sobreexpresión de estos factores de transcripción podría favorecer la progresión del TMD hacia la DS-AMKL[10].

- **Mutaciones en la proteína quinasa Janus 3 (JAK3).**

En los últimos años, se han identificado además diversas mutaciones que parecen estar relacionadas con el progreso del TMD hacia la DS-AMKL. Entre

dichas mutaciones, destaca esencialmente la de la proteína quinasa Janus 3 (JAK3)[10].

La familia de quinasas JAK incluye una serie de proteínas tirosinas quinasas, cuya función se basa en regular la proliferación, diferenciación y apoptosis celular[25]. Para ello, activan a las proteínas STAT, transductores de señal y activadores de la transcripción, y se ponen en marcha las vías de señalización JAK/STAT.

Se han descrito casos de pacientes con TMD y DS-AMKL que, además de la T21 y la mutación de GATA1, presentaban mutaciones que activaban la transcripción de la proteína JAK3[25]. De esta forma, dichas mutaciones ocasionarían como consecuencia la activación de la vía de señalización JAK/STAT[25], estimulando así la proliferación y diferenciación del clon del células leucémicas presentes en el TMD, y colaborando con los dos hitos descritos en el desarrollo de la DS-AMKL.

- **Proteína p53.**

La proteína supresora de tumores p53 ejerce un importante papel en la respuesta de las células ante daño o mutaciones del DNA, induciendo la detención del ciclo celular y activando las enzimas reparadoras, o regulando la apoptosis de las células irreparables.

Una mutación en el gen TP53, que codifica esta proteína, puede conducir a la inactivación de la misma, creando una inestabilidad genómica capaz de inducir la proliferación clonal de las células anormales[26], que no serían capaces de responder ante el daño, de repararse o de entrar en apoptosis. Debido a que las mutaciones de este gen se han detectado únicamente en pacientes con DS-AMKL, y en ningún caso han aparecido en pacientes con TMD, se puede deducir que la proteína p53 es importante en la evolución de esta enfermedad[26], al igual que para el desarrollo de otros tipos de leucemia[25].

- **miR-125b-2.**

Por último, otra posible explicación para el progreso del TMD hacia la DS-AMKL, se basa en el papel que ejerce el microRNA miR-125b-2. Se han identificado cuatro microRNAs codificados en el cromosoma 21 y que se expresan en las células del linaje megacariocítico[10]. Estos microRNAs son:

miR-99a, miR-let-7c, miR-125b-2, miR-155, y miR-802, y están sobreexpresados en individuos con DS debido a la trisomía[10]. Los microRNAs son RNAs de cadena corta, no codificantes, implicados en la proliferación, diferenciación y apoptosis mediante la regulación de la expresión génica[27]. Se sabe que la sobreexpresión de miR-125b-2 aumenta la proliferación de los progenitores eritromegacariocíticos, pero sin afectar a su diferenciación, y que, junto con la mutación de GATA1, dicha proliferación se podría ver todavía más aumentada debido a una relación de sinergismo[27].

4.2. Tratamiento farmacológico del TMD y la DS-AMKL.

La terapia farmacológica empleada en la actualidad en el tratamiento del TMD y la DS-AMKL es diferente, y, debido a los avances en el conocimiento de dichas enfermedades, se encuentra en constante mejora, especialmente en el caso de la DS-AMKL.

- **Tratamiento del TMD.**

El tratamiento de elección en pacientes con TMD es la Citarabina o Arabinósido de citocina (Ara-C) a dosis bajas, concretamente a dosis de 1mg/kg/día durante 7 días[11]. Ara-C es un antimetabolito análogo de pirimidinas que interfiere en la síntesis del DNA. Cuando Ara-C se transporta al interior de la célula, se fosforila, pasando a la forma trifosfato, denominada Ara-CTP y que constituye el metabolito activo **(figura 6)**. Cuando Ara-CTP se incorpora a la replicación del DNA, daña dicho DNA, por lo que se detiene el ciclo celular en la fase S, disminuyendo así la proliferación y división celulares[28].

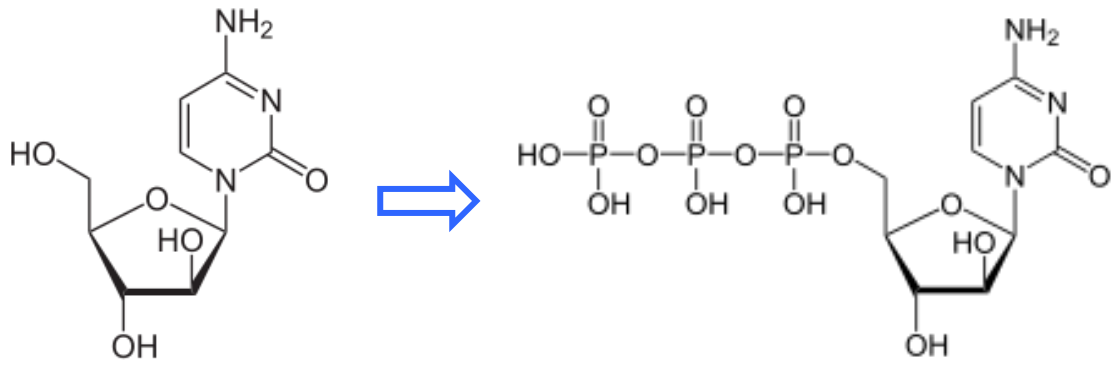

Figura 6: Paso de Ara-C a Ara-CTP. Estructuras de ambos compuestos.

- **Tratamiento de la DS-AMKL.**

Para el tratamiento de la DS-AMKL se han ido introduciendo nuevas terapias menos intensas que las empleadas normalmente para la AMKL, evitando o disminuyendo así los efectos adversos tóxicos que producían[29]. Estos protocolos especiales incluyen tratamiento quimioterápico con Ara-C, Daunorubicina, Tioguanina, L-asparraginasa y Etopósido[29] (**figura 7).**

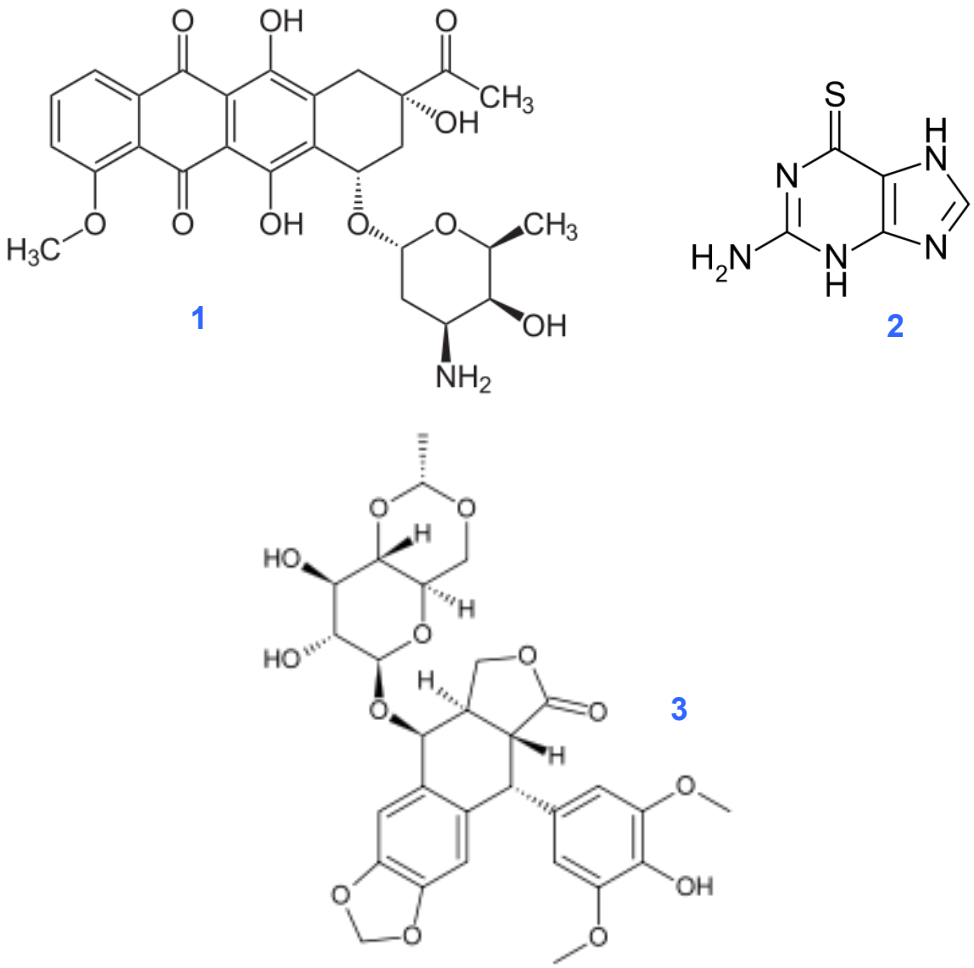

Figura 7: Estructuras de algunos de los fármacos empleados en el tratamiento de la DS-AMKL. 1. Danorubicina; 2. Tioguanina; 3. Etopósido.

La Danorubicina es un agente quimioterapéutico de la familia de las antraciclinas, que actúa formando un complejo con el DNA, bloqueando la síntesis de DNA y RNA, y, en definitiva, la síntesis proteica. La Tioguanina es un antimetabolito de la purina, que inhibe la síntesis de purina e interfiere en la

síntesis del DNA. La L-asparraginasa, por su parte, es una enzima que ejerce su efecto antineoplásico mediante la hidrólisis del aminoácido asparragina, que las células tumorales necesitan captar del medio extracelular para sobrevivir, provocando así su apoptosis. El Etopósido es un fármaco obtenido por semisíntesis a partir de la podofilotixina producida por la planta *Podophyllum notatum*, que actúa durante el ciclo celular como inhibidor de la topoisomerasa II, por lo que bloquea la replicación del DNA de las células en fase de división, entre las que se encuentran las células tumorales.

No obstante, la terapia farmacológica de esta enfermedad está en continua mejora, con el fin de aumentar en mayor medida los ratios de supervivencia y disminuir los de recaída. Por ejemplo, ya que se conoce el papel que las proteínas de la familia JAK podrían ejercer en el desarrollo de la DS-AMKL, se está investigando la efectividad de los fármacos inhibidores de JAK en el bloqueo de la progresión del TMD a DS-AMKL. Entre estos fármacos se encuentran Ruxolitinib (inhibidor de JAK1 y JAK2) y Tofacinib (inhibidor de JAK1 y JAK3)[29].

Otra alternativa al tratamiento convencional podría ser la llamada terapia diferenciadora, capaz de estimular la inducción de la maduración megacariocítica y la poliploidización. Actualmente, todavía no se ha desarrollado ningún fármaco de este tipo, pero hay ciertos candidatos que están demostrando cierta eficacia. Entre ellos, los más destacables son, en primer lugar, MLN8237, que actuaría inhibiendo la proteína aurora A quinasa, un oncogén, que parece ser especialmente efectivo en el tratamiento de la AMKL[30]. En segundo lugar, se encuentra anti-miRNA-125b, un inhibidor del miRNA-125b-2, que podría ser capaz de frenar el progreso del TMD a DS-AMKL[27].

5. CONCLUSIONES.

El estudio de los mecanismos implicados en la leucemogénesis del TMD y la DS-AMKL, proporciona importante información acerca de cómo estos mecanismos, que en condiciones normales regulan la hematopoyesis, se ven truncados y terminan originando una enfermedad.

La propia T21 está implicada en el desarrollo de la enfermedad, tanto por sí misma favoreciendo el origen del TMD, como a través de la sobreexpresión de diversos genes presentes en el cromosoma 21, que codifican factores de transcripción que podrían actuar como oncogenes dando lugar a la DS-AMKL.

La mutación del gen GATA1 también está directamente relacionada con el desarrollo del TMD en neonatos, y podría establecer relaciones de sinergismo con otras mutaciones, favoreciendo la evolución de este trastorno a leucemia.

El estudio del tercer hito, en que se incluyen, entre otros, mutaciones de JAK3 ó del gen que codifica la proteína p53, no sólo otorga información sobre la DS-AMKL, sino que puede permitir conocer más a fondo los mecanismos por los que dichas alteraciones pueden desencadenar otros tipos de cáncer.

PRAME se ha identificado como un posible marcador tumoral, que permitiría predecir el posible desarrollo de la enfermedad y detectar de forma precoz los casos de DS-AMKL, de manera que se pueda optimizar la terapia y mejorar en lo posible el pronóstico de la enfermedad.

Los avances en el conocimiento de las implicaciones genéticas relacionadas con la DS-AMKL, han permitido la sustitución paulatina de terapias basadas en el empleo de fármacos quimioterápicos tradicionales, como la citarabina o el etopósido, por otros más selectivos, reduciendo así los efectos secundarios y mejorando la calidad de vida de los pacientes que, en este caso, son niños.

- **Perspectivas futuras.**

Basándose en el proceso de leucemogénesis de ambas enfermedades, una posible estrategia terapéutica a desarrollar en el futuro, podría estar

relacionada con el papel que ejerce la mutación de GATA1. Esta alteración está implicada tanto en el desarrollo del TMD como en su evolución hacia la DS-AMKL, y, por tanto, podría servir para el tratamiento de ambas enfermedades. De esta forma, ya que se sabe que la proteína truncada GATA1s, producida a consecuencia de dicha mutación, es incapaz de inhibir diversos factores de transcripción estimulantes de la proliferación celular hematopoyética, como son GATA2 e IKAROS, se podrían desarrollar fármacos capaces de inhibir dichas proteínas de forma externa, frenando así el crecimiento descontrolado de los blastos, y, como consecuencia, el progreso de la leucemia.

De igual manera, los futuros avances que se hagan acerca de las implicaciones genéticas relacionadas con el desarrollo de ambos trastornos, podrían servir para continuar diseñando nuevos fármacos más selectivos para el tratamiento de los pacientes que los padecen.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature. 2001;414:105-111.

2. Teitell MA, Mikkola H. Transcriptional activators, repressors, and epigenetic modifiers controlling hematopoietic stem cell development. Pediatric Research. 2006;59:33R-39R.

3. Zhu J, Emerson S. Hematopoietic cytokines, transcription factors and lineage commitment. Oncogene. 2002;21:3295-3313.

4. Wu H, Bubalo J, Rathbun C. Leucemias agudas en adultos. Pharmacotherapy Self-Assessment Program Hematología y Oncología. 2006;1:1-14.

5. Merino A. Clasificación de las leucemias agudas mieloides. Revista del Laboratorio Clínico. 2010;3:139-147.

6. Bennett J, Catovsky D, Daniel M, Flandrin G, Galton D, Gralnick H et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias French-American-British (FAB) co-operative group. British Journal of Haematology. 1976;33:451-458.

7. Mateos MK, Barbaric D, Byatt SA, Sutton R, Marshall GM. Down syndrome and leukemia: insights into leukemogenesis and translational targets. Translational Pediatrics. 2010;4:76–92

8. Gruber T, Downing J. The biology of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. Blood. 2015;126:943-949.

9. Vyas P, Crispino J. Molecular insights into Down syndrome-associated leukemia. Current Opinion in Pediatrics. 2007;19:9-14.

10. Roy A, Roberts I, Norton A, Vyas P. Acute megakaryoblastic leukaemia (AMKL) and transient myeloproliferative disorder (TMD) in Down syndrome: a multi-step model of myeloid leukaemogenesis. British Journal of Haematology. 2009;147:3-12.

11. Klusmann JH, Creutzig U, Zimmermann M, et al. Treatment and prognostic impact of transient leukemia in neonates with Down syndrome. Blood 2008;111:2991-8.

12. Tunstall-Pedoe O, Roy A, Karadimitris A, de la Fuente J, Fisk N, Bennett P et al. Abnormalities in the myeloid progenitor compartment in Down syndrome fetal liver precede acquisition of GATA1 mutations. Blood. 2008;112:4507-4511.

13. Roy A, Cowan G, Mead A, Filippi S, Bohn G, Chaidos A et al. Perturbation of fetal liver hematopoietic stem and progenitor cell development by trisomy 21. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012;109:17579-17584.
14. Roy A, Cowan G, Vyas P, Roberts I. The impact of trisomy 21 on early human hematopoiesis. Cell Cycle. 2013;12:533-534.
15. Rainis L, Bercovich D, Strehl S, Teigler-Schlegel A, Stark B, Trka J et al. Mutations in exon 2 of GATA1 are early events in megakaryocytic malignancies associated with trisomy 21. Blood. 2003;102:981-986.
16. Zon L, Tsai S, Burgess S, Matsudaira P, Bruns G, Orkin S. The major human erythroid DNA-binding protein (GF-1): primary sequence and localization of the gene to the X chromosome. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1990;87:668-672.
17. Kaneko H, Kobayashi E, Yamamoto M, Shimizu R. N- and C-terminal transactivation domains of GATA1 protein coordinate hematopoietic program. Journal of Biological Chemistry. 2012;287:21439-21449.
18. Kuhl C, Atzberger A, Iborra F, Nieswandt B, Porcher C, Vyas P. GATA1-mediated megakaryocyte differentiation and growth control can be uncoupled and mapped to different domains in GATA1. Molecular and Cellular Biology. 2005;25:8592-8606.
19. Khan I, Malinge S, Crispino J. Myeloid Leukemia in Down Syndrome. Critical Reviewsin Oncogenesis. 2011;16:25-36.
20. Li Z, Godinho FJ, Klusmann JH, Garriga-Canut M, Yu C, Orkin SH. Developmental stage- selective effect of somatically mutated leukemogenic transcription factor GATA1. Nature Genetics. 2005;37:613–9.
21. Marshall G, Carter D, Cheung B, Liu T, Mateos M, Meyerowitz J et al. The prenatal origins of cancer. Nature Reviews Cancer. 2014;14:277-289.
22. McElwaine S, Mulligan C, Groet J, Spinelli M, Rinaldi A, Denyer G et al. Microarray transcript profiling distinguishes the transient from the acute type of megakaryoblastic leukaemia (M7) in Down's syndrome, revealing PRAME as a specific discriminating marker. British Journal of Haematology. 2004;125:729-742.
23. Stankiewicz M, Crispino J. ETS2 and ERG promote megakaryopoiesis and synergize with alterations in GATA-1 to immortalize hematopoietic progenitor cells. Blood. 2009;113:3337-3347.

24. Elagib K, Racke F, Mogass M, Khetawat R, Delehanty L, Goldfarb A. RUNX1 and GATA-1 coexpression and cooperation in megakaryocytic differentiation. Blood. 2003;101:4333-4341.
25. Sato T, Toki T, Kanezaki R, Xu G, Terui K, Kanegane H et al. Functional analysis of JAK3 mutations in transient myeloproliferative disorder and acute megakaryoblastic leukaemia accompanying Down syndrome. British Journal of Haematology. 2008;141:681-688.
26. Malkin D, Brown E, Zipursky A. The role of p53 in megakaryocyte differentiation and the megakaryocytic leukemias of Down Syndrome. Cancer Genetics and Cytogenetics. 2000;116:1-5.
27. Klusmann J, Li Z, Bohmer K, Maroz A, Koch M, Emmrich S et al. miR-125b-2 is a potential oncomiR on human chromosome 21 in megakaryoblastic leukemia. Genes & Development. 2010;24:478-490.
28. Vries JF, Falkenburg JH, Willemze R, Barge RM. The mechanisms of Ara-C-induced apoptosis of resting B-chronic lymphocytic leukemia cells. Haematologica. 2006;91:912–919.
29. Seewald L, Taub J, Maloney K, McCabe E. Acute leukemias in children with Down syndrome. Molecular Genetics and Metabolism. 2012;107:25-30.
30. Wen J, Silver S, Lewis T, Ponduru S, Dancik V, Goldenson B et al. A kinome shRNA screen to identify pathways that regulate megakaryocyte polyploidization and new targets for differentiation therapy. Blood. 2010;116:89.