

Células troncales en leucemias mieloides

María Antonieta Chávez-González*

Laboratorio de Enfermedades del Sistema Hematopoyético, Grupo de Investigación en Hematopoyesis y Células Troncales,
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología,
Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México D. F., México

RESUMEN

Todas las células presentes en la circulación sanguínea son originadas a partir de una pequeña subpoblación de células troncales, mediante un estricto mecanismo denominado hematopoyesis. En la etapa postnatal más del noventa por ciento de la actividad hematopoyética se realiza en el estroma de la médula ósea, dentro del tejido esponjoso de los huesos, en lo que se ha denominado microambiente hematopoyético. Hematopoyesis y microambiente se encuentran en interacción constante durante la vida, la pérdida de la regulación entre uno y otro conlleva a alteraciones hematológicas, principalmente a leucemias mieloides agudas y crónicas.

Palabras clave:

Hematopoyesis, células troncales,
leucemia mieloblástica aguda

SUMMARY

All blood cells originate from a small subpopulation of stem cells through a strict mechanism known as hematopoiesis. During the postnatal period >90% of the activity is performed in the hematopoietic stroma of the bone marrow, the spongy tissue inside the bones, in what has been referred to as hematopoietic microenvironment. Hematopoiesis and microenvironment are in constant interaction throughout life. Loss of regulation between the two leads to hematological disorders, mainly acute and chronic myeloid leukemia.

Key words:

Hematopoiesis, stem cells, acute myeloblastic
leukemia

Hematopoyesis

La hematopoyesis para su estudio ha sido dividida en tres compartimientos:

1. El primero corresponde a células troncales hematopoyéticas (CTH) que representan aproximadamente 1 de cada 10^4 células contenidas en la médula ósea. Las CTH tienen morfología linfoblastoide, son capaces de autorrenovarse y son multipotenciales, es decir tienen la capacidad de dar origen a los diferentes tipos de células sanguíneas.¹ Fenotípicamente presentan los antígenos CD34, CD133, CD90 y CD117, y carecen de la expresión de CD38, CD45-RA y HLA-DR.²
2. El segundo compartimiento incluye a las Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH), que constituyen 0.3% del total de las células presentes en la médula ósea. Estas células mantienen la expresión del antígeno CD34 y adquieren la expresión de los antígenos CD38, CD45RA, y CD71. Las CPH son capaces de formar colonias hematopoyéticas en cultivos semisólidos y su potencial de proliferación es variable, pudiendo ser alto, intermedio

o bajo.³ Las CPH dan lugar a células precursoras hematopoyéticas reconocibles por su morfología, mismas que finalmente originan a las células sanguíneas circulantes.

3. En la etapa postnatal más de 90% de la actividad hematopoyética se realiza en el estroma de la médula ósea, dentro del tejido esponjoso de los huesos, en lo que se ha denominado microambiente hematopoyético (MH). Dicho microambiente está constituido por elementos de la matriz extracelular, células estromales y células accesorias, quienes en conjunto son capaces de producir citocinas y factores de crecimiento que hacen del MH el nicho indispensable para la supervivencia, proliferación, diferenciación, expansión e incluso muerte, de las células troncales y progenitoras hematopoyéticas.

Pérdida de la regulación hematopoyesis-microambiente

A pesar de la estricta regulación existente en el microambiente y sistema hematopoyéticos, existen situaciones en donde la

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: María Antonieta Chávez-González. Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores. 06720 México D, F., México. Tel: (55) 5627 6900, Ext. 21959 Tel: (55) 5627 6959, Fax. (55) 5761 0952. Correo electrónico. achavez_g@yahoo.com.mx

regulación se pierde conduciendo a diversas alteraciones, entre las que se incluyen las leucemias mieloides.¹

Las leucemias mieloides se consideran trastornos clonales originados en las células seminales y/o progenitoras hematopoyéticas. De acuerdo con el número de blastos encontrados en sangre periférica y médula ósea, las leucemias mieloides se clasifican en crónicas y agudas.

La Leucemia Mieloide Aguda (LMA) involucra, la presencia de mas de 5% de blastos en sangre periférica y más del 20% en médula ósea; mientras que la Leucemia Mieloide Crónica (LMC) presenta menos de 5% de blastos en sangre periférica y médula ósea, y además se caracteriza por la presencia del cromosoma Philadelphia y su producto proteico BCR-ABL.⁴

Dichas patologías son originadas en médula ósea, en donde al igual que en la hematopoyesis normal, la hematopoyesis leucémica se encuentra jerarquizada, e inicia en una "Célula Troncal Leucémica (CTL)". Dicho término se refiere a un pequeño número celular (que puede ser una célula troncal, un progenitor restringido a algún linaje en particular o incluso una célula diferenciada), que mantiene o readquiere la capacidad de autorrenovarse y acumular mutaciones adicionales que le permiten generar un comportamiento y descendencia anormales.^{5,6} Cabe hacer notar que aunque las CTL poseen características que las distinguen de su contraparte normal, mantienen un fenotipo semejante a éstas.

En el caso de la LMA, la CTL es CD34⁺CD38⁺LIN⁻ y dependiendo de las alteraciones genéticas adicionales la clona leucémica seguirá un determinado patrón de comportamiento, mismo que dictará sus características clínicas, para finalmente reagruparla en alguno de los 8 diferentes subtipos de LMA (M0 - M7).⁷⁻⁹ Una mención especial merece el subtipo M3, que es el único que ha mostrado originarse en una subpoblación hematopoyética comprometida al linaje promielocítico con fenotipo CD34⁺LIN⁻.¹⁰

Características de las CTL en la LMC

En cuanto a la LMC, se ha propuesto que el padecimiento se origina en una CTL altamente quiescente CD34⁺Ph⁺Bcr-Abl⁺Hst^{low}Py^{low} capaz de generar progenie leucémica positiva para Bcr-Abl en ratones inmunodeficientes.¹¹

Algunas características que nos permiten distinguir a las CTL de su contraparte normal son:

- A. Incremento en la actividad tirosina-cinasa celular. Todas las vías de señalización celular convergen en la expresión de genes que modulan de forma positiva o negativa la respuesta hematopoyética. En el caso de las CTL, se ha descrito que diversas moléculas que actúan como factores de transcripción se encuentran alteradas y tienen como consecuencia final el mandar constitutivamente señales que en la mayoría de los casos inducen proliferación celular.¹²
- B. Deficiente adhesión a los componentes del estroma medular. Es conocido, que las CTH normales se mantienen adheridas al estroma medular mediante la interacción de diversas moléculas, mecanismo que les permite regular su proliferación, diferenciación y autorrenovación.¹³ Sin embargo, en el caso de las CTL se ha descrito que tienen deficiente

adhesión a los componentes del estroma (integrinas, selectinas, etc.), lo que favorece la prematura maduración y la excesiva proliferación de las células troncales y progenitoras hematopoyéticas.¹⁴ Aunado a ello, se ha descrito que la presencia de Bcr-Abl es capaz de modular rearrreglos en el citoesqueleto, induciendo con ello motilidad celular.¹⁵

- C. Estimulación autócrina de la proliferación: Debido a su estado de inmadurez, las CTH más primitivas responden a un número limitado de citocinas, el cual se amplía conforme avanzan en su proceso de maduración. En el caso de las CTL, se ha demostrado que son capaces de inducir su propia proliferación mediante la secreción de factores de crecimiento como: Factor de Células Troncales (del inglés SCF), Ligando de la Tirosina Fetal 3 (del inglés FLT-3), Interleucina 3 (IL-3), Factor de Crecimiento de Granulocitos y Monocitos (del inglés GM-CSF) y Factor de Crecimiento de Fibroblastos (del inglés FGF), quienes favorecen el incremento en número de la clona anormal.¹⁶
- D. Quiescencia celular y ciclos celulares cortos: Una de las principales características de las células troncales normales, es su estado de quiescencia, lo que permite que el número de células troncales no se agote a lo largo de la vida y sólo proliferen y/o se expandan cuando el organismo lo requiere. No obstante, las CTL también permanecen en estado de quiescencia e incluso se ha demostrado que al transplantarlas en ratones inmunodeficientes, son capaces de generar comportamientos anormales en receptores primarios y secundarios, lo que indica que aunque las células son quiescentes, también pueden proliferar en respuesta a las necesidades del organismo. Este estado de quiescencia celular es el responsable de la falla al tratamiento en los diversos tipos de leucemias. Aunado a lo anterior, se ha demostrado que una vez que las CTL inician su proliferación, tienen ciclos celulares más cortos que su contraparte normal, lo que favorece el incremento en el número de células leucémicas presentes en el organismo.¹¹

Un aspecto importante en la biología de las CTL tanto de leucemia mieloide aguda como crónica, es que son capaces de coexistir en médula ósea con una población residual normal e incluso se ha descrito que *in vitro* (utilizando sistemas de cultivo en presencia de estroma) y después de seis semanas, las CTL desaparecen mientras su contraparte normal permanece en el cultivo.^{17,18} Sin embargo, y a pesar de que existe abundante literatura sobre las leucemias mieloides tanto *in vivo* como *in vitro*, existen importantes huecos sobre la biología básica de las CTL, razón por la cual diversos grupos de trabajo (incluido el nuestro), han enfocado sus esfuerzos en caracterizar diversas subpoblaciones hematopoyéticas provenientes de LMA y LMC.

Estudios recientes *in vitro*

Datos recientes generados por nuestro grupo de trabajo, indican que a pesar de que las células troncales y progenitoras hematopoyéticas de LMA y LMC provienen de una condición tumoral (en donde *in vivo* se detecta una elevada tasa proliferación y expansión celular), *in vitro* tienen serias alteraciones numéricas y funcionales, debido a que son incapaces de responder a la estimulación con citocinas.^{19,20} Esta falta de respuesta *in vitro*, sugirió inicialmente una deficiencia en la expresión de los

receptores a las citocinas utilizadas. Los datos generados hasta el momento señalan alteraciones en los niveles de expresión de CD135 (receptor para FLT-3), CD131 (receptor β -común para GM-CSF e IL-3) y CD110 (receptor para Trombopoyetina (TPO); y aunque el análisis del resto de los receptores se encuentra en proceso, se hace necesario analizar algunas otras moléculas que nos permitan distinguir a las células troncales normales de su contraparte leucémica.

Aunado a lo anterior, nuestro grupo de trabajo ha estado interesado en encontrar alguna condición de cultivo que nos permita enriquecer a la población residual normal presente en las diferentes leucemias mieloides. Particularmente en el caso de LMC, hemos encontrado que muestras provenientes de pacientes que han sido tratados *in-vivo* con diferentes agentes, tienen potenciales de proliferación y expansión diferentes. Llama la atención que las muestras provenientes de sujetos tratados con Imatinib tienen comportamientos biológicos muy parecidos a su contraparte normal, lo que sugiere que estamos trabajando con muestras enriquecidas en células troncales normales. Sin embargo, después de algunos días se detecta la presencia del rearreglo Bcr-Abl, lo que también indica que la clona anormal no ha sido eliminada, y una vez que la población prolifera, también se incrementan las células leucémicas.²¹

Actualmente, nos encontramos caracterizando la respuesta de células progenitoras leucémicas a diferentes citocinas inhibitorias de la proliferación, tanto en cultivos líquidos como en cultivos en presencia de estroma; esto con la finalidad de establecer un sistema de cultivo que permita alcanzar dos importantes metas: la primera, aportar información a la literatura científica que de a conocer a fondo la biología de las células troncales leucémicas, y segunda, detectar a la población residual normal, presente en las leucemias mieloides y tratar de expandirla *in-vitro*, para que a mediano-largo plazo estemos en posibilidades de proponer una purga biológica con fines de trasplante.

Referencias

- Mayani H, Alvarado-Moreno JA, Flores-Guzmán P. Biology of Human Hematopoietic Stem and Progenitors Cells Present in Circulation. *Archives of Medical Research* 2003;34:476-488.
- Engelhardt M, Lubbert M, Guo Y. CD34+ or CD34-: which is the more primitive? *Leukemia* 2002;16:1603-1608.
- Mayani H, Dragowska W, Lansdorp P. Characterization of functionally distinct subpopulations of CD34+ cord blood cells in serum-free cultures supplemented with hematopoietic cytokines. *Blood* 1993;82:2664-2672.
- Catovsky D. The leukemic cell. Churchill Livingstone. London, U.K. 1991:288-327.
- Clark M, Dick J, Dirks P, Eaves C, Jamieson C, Jones D, et al. Cancer Stem Cells- Perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on Cancer Stem Cells. *Cancer Res* 2006;9339-9344.
- Passegué E, Jamieson C, Ailes L, Weissman I. Normal and leukemic hematopoiesis: Are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cells characteristics? *PNAS* 2003;100:11842-11849.
- Bennett J, Catovsky D, Daniel M, Flandrin G, Galton D, Gralnick H, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia: a report of the French-American-British Cooperative group. *Ann Intern Med* 1985;103:620-625.
- Dick J. Assays for human leukemic stem cells. *American Society of Hematology Education Program Book* 1999:112-119.
- Haase D, Feuring M, Konemann S. Evidence for malignant transformation in acute myeloid leukemia at the level of early hematopoietic stem cells by cytogenetic analysis of CD34+ subpopulations. *Blood* 1995;86:2906-2911.
- Thurhan A, Lemoine F, Debort C. Highly purified primitive hematopoietic stem cell are PML-RAR negative and generate monoclonal progenitors in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1995;85:2154-2161.
- Holyoake T, Jiang X, Eaves C, Eaves A. Isolation of a highly quiescent subpopulation of primitive leukemic cells in chronic myeloid leukemia. *Blood* 1999;94:2056-2064.
- Bonnet D. Normal and leukemic stem cells. *British Journal of Haematology* 2005;130:469-479.
- Rizo A, Vellenga E, Haang G, Schuringa J. Signaling pathways in self-renewing hematopoietic and leukemic stem cells: do all stem cells need a niche? *Human Molecular Genetics* 2006;15:210-219.
- Catovsky D. The leukemic cell. Churchill Livingstone. London, U.K. 1991:288-327.
- Zheng X, Güller S, Beissert T, Puccetti E, Rutharth M. BCR and its mutants, the reciprocal t (9;22)- associated ABL/BCR fusion proteins, differentially regulate the cytoskeleton and cell motility. *BMC Cancer* 2006;262:1-11.
- Holyoake T, Jiang X, Jorgensen H, Graham S, Alcorn M, Laird C, et al. Primitive quiescent leukemic cells from patients with chronic myeloid leukemia spontaneously initiate factor-independent growth *in vitro* in association with up-regulation of expression of interleukin-3. *Blood* 2001;97:720-728.
- Coulombel L, Eaves C, Kalousek D, Gupta C, Eaves C. Long-term marrow culture of cells from patients with acute myelogenous leukaemia. Selection in favour of normal phenotypes in some but not all cases. *J Clin Invest* 1985;96:1-969.
- Coulombel L, Kalousek D, Eaves C, Gupta C, Eaves A. Long-Term marrow culture reveals chromosomally normal hematopoietic progenitor cells in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1983;308:1493-1498.
- Chávez-González A, Rosas A, Vela-Ojeda J, González J, Mayani H. Severe quantitative and functional alterations *in vitro* in primitive hematopoietic progenitors from patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research* 2004;28:634-647.
- Dorantes-Acosta E, Chávez-González A, Santos J, Medina-Sanson A, Mayani H. Defective *in vitro* growth of primitive hematopoietic cells from pediatric patients with acute myeloid leukemia. *Pediatric Blood Cancer* 2008;51:741-746.
- Chávez-González A, Rosas A, Vela-Ojeda J, González J, Mayani H. Severe quantitative and functional alterations *in vitro* in primitive hematopoietic progenitors from patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research* 2004;28:634-647.