

Received: 2013.01.31
Accepted: 2013.09.24
Published: 2013.11.25

Ostra białaczka promielocytowa – nowe podejście do patogenezy choroby i terapii różnicującej

Acute promyelocytic leukemia – modern approach to disease pathogenesis and differentiation treatment

Monika Podhorecka, Arkadiusz Macheta

Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Streszczenie

W ciągu ostatnich lat rokowanie w grupie chorych z ostrą białaczką promielocytową (OBP) uległo radykalnej zmianie, a choroba z nieuleczalnej jeszcze dwadzieścia lat temu, stała się przykładem białaczki o bardzo dobrym rokowaniu. Przemiana ta wiąże się z wprowadzeniem do terapii nowych leków o mechanizmie działania ukierunkowanym na patogenezę choroby, takich jak kwas all-trans retinowy (ATRA), stosowany w leczeniu pierwszoliniowym i trójtlenek arsenu (ATO), którego zastosowanie prowadzi do remisji u chorych z nawrotową postacią białaczki. Klasyczny model OBP uznawał indukcję różnicowania blastów białaczkowych za podstawowy mechanizm prowadzący do wyleczenia choroby. Jednakże wiele badań, zarówno *in vivo* jak i *ex vivo*, rzuca nowe światło na terapię różnicującą w OBP, a końcowe różnicowanie blastów białaczkowych wydaje się nie być konieczne do pełnego wyleczenia. Takie podejście do patogenezy OBP otwiera nowe możliwości do udoskonalenia terapii – poszukiwanie leków o działaniu ukierunkowanym na niszczenie komórek macierzystych białaczki czy też degradację onkogenu PML-RARa, stanowiącego kluczowy element jej patogenezy, może okazać się bardziej efektywne klinicznie niż terapia różnicująca.

Słowa kluczowe:

ostra białaczka promielocytowa • terapia różnicująca • PML-RARa • komórki LIC

Summary

During last decades acute promyelocytic leukemia, once considered the deadly disease, has evolved to the most treatable of all subtypes of acute myeloid leukemias. The intense clinical and basic research has led to a rational approach to treatment in which the use of the differentiating agent all-trans-retinoic acid has proven to be effective first-line therapy. Arsenic trioxide, used for relapsed disease, further improved the survival rate of patients. The classical model presented the therapeutic success as a result of over-coming of the differentiation block characteristic of neoplastic cells. However, the recent *in vivo* and *ex vivo* studies, seem to show that the induction of differentiation process is not required to cure acute promyelocytic leukemia. Rather than inducing differentiation, targeting clonogenic leukemia initiating cells or destroying PML-RARa fusion protein may represent a more effective therapeutic goal in this type of leukemia.

Key words:

acute promyelocytic leukemia • differentiation treatment • PML-RARa • LIC cells

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1077467>

Word count: 2085
Tables: –
Figures: 3
References: 55

Adres autorki: dr hab. n. med. Monika Podhorecka, Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. S. Staszica 11, 20-081 Lublin; e-mail: monika.podhorecka@onet.pl

Wykaz skrótów: **ATO** - trójtlenek arsenu, **ATRA** - kwas all-trans retinowy, **LIC** - komórki macierzyste białaczki, **OBP** - ostra białaczka promielocytowa, **OBSz** - ostra białaczka szpikowa, **PML** - gen ostrej białaczki promielocytowej, **PML-RARa** - gen fuzyjny *PML* i *RARa*, **RA** - kwasu retinoinowego a, **RXR** - receptor retinoidu X, czynnik transkrypcyjny.

WPROWADZENIE

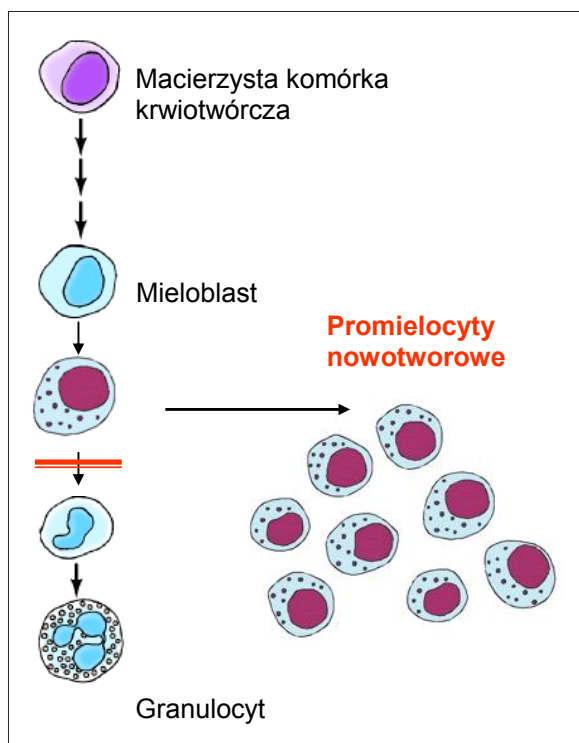
Ostra białaczka promielocytowa (OBP) jest szczególnym podtypem ostrej białaczki szpikowej (OBSz) o specyficznych cechach klinicznych, morfologicznych, immunofenotypowych i genetycznych. Nie należy do zbyt częstych typów OBSz stanowiąc 10-15% tej grupy chorób. Jest bardzo rzadko rozpoznawana u dzieci w wieku poniżej 10 lat, większość przypadków dotyczy osób w wieku 15-60 lat. W przeciwieństwie do pozostałych podtypów OBSz nie obserwuje się wzrostu zachorowań u starszych chorych w porównaniu z grupą osób poniżej 60 roku życia [39]. Początkowo OBP uważana była za jeden z typów białaczki związany z największą śmiertelnością w chwili diagnozy lub w czasie leczenia indukującego remisję, co spowodowane było towarzyszącymi chorobie groźnymi powikłaniami krwotocznymi, prowadzącymi niejednokrotnie do śmiertelnego krwotoku do centralnego układu nerwowego [40,43]. W okresie po zakończeniu leczenia indukującego, rokowanie w tej chorobie było lepsze w porównaniu z pozostałymi typami OBSz [43]. W ciągu ostatnich lat rokowanie w grupie pacjentów z OBP uległo radykalnej zmianie, a choroba z nieuleczalnej jeszcze dwadzieścia lat temu stała się typem białaczki o bardzo dobrym rokowaniu. Przemiana ta wiąże się z wprowadzeniem do terapii nowych leków o mechanizmie działania ukierunkowanym na patogenezę choroby, takich jak kwas all-trans retinowy (ATRA) i trójtlenek arsenu (ATO). Celem pracy jest przedstawienie najnowszych doniesień dotyczących istoty zmian patogenetycznych leżących u podstaw OBP, a także roli jaką w tym typie choroby odgrywa leczenie różnicujące z zastosowaniem ATRA i ATO.

BIOLOGIA OSTREJ BIAŁACZKI PROMIELOCYTOWEJ

Ostra białaczka promielocytowa charakteryzuje się akumulacją komórek blastycznych odpowiadających stadium promielocyta w szeregu mielopozy [1]. Zablockowane lub nieprawidłowe różnicowanie w tym szeregu jest przyczyną nagromadzenia nowotworowych promielocytów oraz zahamowania dojrzewania prawidłowych komórek

linii granulocytarnej (ryc. 1) [1]. Zmianą genetyczną leżącą u podstaw choroby jest zrównoważona wzajemna translokacja między chromosomem 15 a 17, prowadząca do powstania białka fuzyjnego PML-RARa, którego obecność wpływa zarówno na proces różnicowania komórek, jak i ich samoodnawianie się i wzrost [1,36]. Postać OBP z t(15;17)(q22;q21), gen fuzyjny *PML-RARa* uważana jest za klasyczną postać choroby występującą u 98% pacjentów. Bardzo rzadko diagnozowane są postaci z obecnością innych translokacji, tj. t(11;17)(q23;q21), gen fuzyjny *PLZF-RARa*, t(5;17)(q35;q21), gen fuzyjny *NPM-RARa*, t(11;17)(q13;q21), gen fuzyjny *NuMA-RARa*, t(7;17)(q11;q21), gen fuzyjny *STAT5b-RARa*, w które zawsze jednak zaangażowany jest gen *RARa* znajdujący się na chromosomie 17. Dodatkowe aberracje chromosomowe stwierdzane są u chorych na OBP w 30-40% przypadków. Najczęstsze z nich to trisomia chromosomu 8, obecność izochromosomu 17, delecja 9q, translokacja [8;21]. Nie wykazano jednak ich znaczenia patogenetycznego czy prognostycznego w tym typie białaczki [1,12,36].

Na podstawie obrazu morfologicznego komórek białaczkowych wyróżniono dwa główne typy choroby – postać klasyczną hipergranularną z obecnością licznych dużych ziarnistości w cytoplazmie i pałeczek Aurea oraz postać hipogranularną z ubogo- lub bezzziarnistymi promielocytami, często z dwupłatowym jądrem [2,7]. Bardzo rzadko rozpoznawany jest wariant bazofilny OBP z obecnością ubogo- lub bezzziarnistych komórek blastycznych o silnie zasadochłonnej cytoplazmie [12]. Charakterystyczną cechą immunofenotypu komórek nowotworowych OBP jest brak ekspresji antygenów HLA klasy II, silna ekspresja CD33 i na ogół CD13, brak w większości przypadków ekspresji CD34. W klasycznej postaci choroby stwierdza się na komórkach blastycznych słabą ekspresję CD15, natomiast w postaciach wariantowych ekspresję CD2. Ocena fenotypowa komórek białaczkowych jest szczególnie ważna u chorych z drobnoziarnistą postacią wariantową, która może przysparzać trudności diagnostycznych w czasie oceny morfologicznej [12,13].



Ryc. 1. Komórki nowotworowe odpowiadają stadium promielocyta w szeregu mielopozy

FUZJA *PML-RARa* W OSTREJ BIAŁACZCE PROMIELOCYTOWEJ

Translokacja $t(15;17)(q22;q21)$ typowa dla OBP prowadzi do fuzji genów *PML* i *RARa* zlokalizowanych odpowiednio na chromosomie 15 i 17. *PML* (promyelocytic gene) to gen ostrej białaczki promielocytowej, kodujący białko jądrowe należące do tzw. „ciałek jądrowych”. W warunkach prawidłowych białko to pełni funkcję antyonkogenu działając jako supresor procesów nowotworowych przez m.in. kontrolę stabilności genomu, działanie proapoptotyczne, regulację cyklu komórkowego [4,10,17]. *RARa* to gen dla receptora kwasu retynoinowego α (*RA*) zlokalizowany na chromosomie 17. *RARa*, po utworzeniu ze swoim kofaktorem *RXR* (receptor retinoidu X, czynnik transkrypcyjny) heterodimeru *RXR/RARa*, łączy się z fragmentem DNA określanym jako *RARE* (*RA response elements*), co reguluje odpowiedź komórki na obecność kwasu retynoinowego. Przy braku *RA* dochodzi do zahamowania transkrypcji w jądrze komórkowym, natomiast obecność *RA* aktywuje procesy transkrypcji [3,36].

Powstanie białka fuzyjnego *PML-RARa* zmienia zarówno funkcje ciałek jądrowych *PML*, jak również receptora *RARa* [24,32,38]. *PML-RARa* destabilizuje ciałka jądrowe - *PML*, a także inne białka należące do tej grupy m.in. *RB*, *p53*, *p300/CBP*, *DAXX*, co prowadzi do ich przemieszczenia w inne niż w warunkach prawidłowych, części jądra i zablokowanie ich prawidłowej funkcji. W wyniku tych zmian dochodzi do promowania wzrostu i przeżycia komórek nowotworowych oraz destabilizacji genomu. Utworzenie kompleksu *PML-RARa* prowadzi do zaburzenia budowy *RARa*, czego następstwem jest oporność komórek na fizjologiczne stężenia kwasu re-

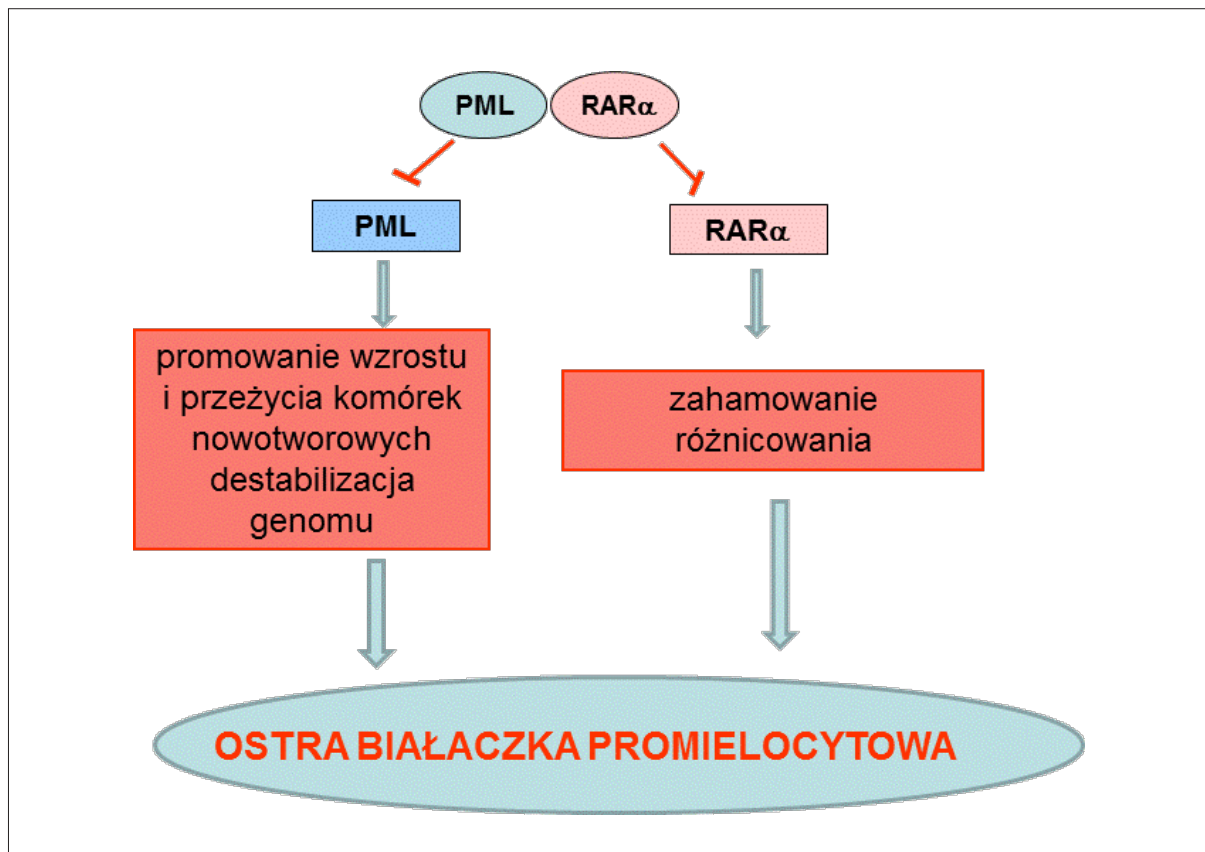
tynoinowego. Przy braku lub fizjologicznym stężeniu *RA* heterodimery *RXR/RARa* hamują transkrypcję genów poprzez aktywację represorów i deacetylaz histonowych m.in. *DAXX* (death domain - associated protein), *SMRT* (silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptors), *NCCR* (nuclear receptor corepressor), *HDAC3* (histone deacetylase) [19,31,36]. Do dojrzewania komórek potrzebne są znacznie wyższe niż fizjologiczne stężenia *RA*. Przyjmuje się, że pojawienie się bloku różnicowania w przebiegu OBP jest konsekwencją zahamowania transkrypcji genów podstawowych w procesie różnicowania mieloidalnego [33]. Wyniki ostatnich badań wykazały, że w bloku różnicowania związanego z obecnością białka *PML-RARa*, oprócz tworzenia homodimerów *RARa-RARa*, ważną rolę odgrywają również inne procesy, takie jak sumoilacja *PML* (przyłączenie białek *SUMO* - small ubiquitin related modifier), łączenie kofaktora *RXR* oraz przyciąganie białek układu polycomb [5,45,48,53,54]. Mechanizmy leżące u podstaw patogenezy OBP związane z obecnością fuzji *PML-RARa* zobrazowano na ryc. 2.

TERAPIA RÓŻNICUJĄCA W OSTREJ BIAŁACZCE PROMIELOCYTOWEJ

Zastosowanie w leczeniu chorych na OBP leków różnicujących początkowo *ATRA*, a później również *ATO*, zrewolucjonizowało przebieg i rokowanie w tej grupie pacjentów, a stosowanie tych leków w połączeniu z chemioterapią, a nawet bez leków cytostatycznych, prowadzi do niespotykanych w innych typach ostrych białaczek wyników klinicznych [39].

Zarówno *ATRA*, jak i *ATO*, wykazują bezpośredni wpływ na funkcje kompleksu białkowego *PML-RARa*, indukując różnicowanie promielocytów, a pod względem klinicznym remisję choroby. Pierwsze badania przeprowadzone w latach 80 ub.w. wykazały, że zastosowanie *ATRA* prowadzi do wyraźnych zmian w fenotypie komórek białaczkowych OBP, które w szybkim tempie przekształcają się z niedojrzałych promielocytów do krótko żyjących, w pełni zróżnicowanych granulocytów, zarówno w warunkach *ex vivo* jak i *in vivo* [11,23]. *ATRA* w dawkach stosowanych terapeutycznie prowadzi do zmian w konformacji białka fuzyjnego *PML-RARa* poprzez bezpośrednie połączenie z *RARa*, co prowadzi do uwolnienia korepresorów i aktywacji koaktywatorów transkrypcji. Tego typu „przesunięcie” w układzie białka fuzyjnego pozwala na aktywację transkrypcji genów, wcześniej zablokowanych przez *PML-RARa*, czego rezultatem jest różnicowanie promielocytów, a pod względem klinicznym remisja choroby [1]. Dodatkowym mechanizmem działania *ATRA* wydaje się także aktywacja proteasomów w pobliżu domeny *AF2* fragmentu *RARa*, co sprzyja degradacji białka *PML-RARa* [26,51]. Donoszono też o związanej z terapią *ATRA* degradacji *PML-RARa* przez aktywne kaspazy [36]. Procesy te mają jednak jedynie drugorzędne znaczenie w mechanizmie działania *ATRA*.

W badaniach na modelach mysich, *ATRA* powodował różnicowanie promielocytów w ciągu 48 godzin, a całkowite zniknięcie komórek białaczkowych w ciągu około tygodnia [35]. Z powodu wyraźnego związku między różnicowaniem komórek białaczkowych i regresją choroby, terapia *ATRA* była historycznie uznana za modelową terapię różnicują-



Ryc. 2. Rola fuzji PML-RARa w patogenezie ostrej białaczki promielocytowej. Powstanie białka fuzyjnego PML-RARa zmienia zarówno funkcje ciałek jądrowych PML, jak i receptora RARa. Zaburzenie prawidłowego działania PML prowadzi do promowania wzrostu i przeżycia komórek nowotworowych oraz destabilizacji genomu. Zaburzenie budowy RARa, wynikające z powstania kompleksu PML-RARa, wywołuje oporność komórek nowotworowych na fizjologiczne stężenia kwasu retynoinowego, co prowadzi do zahamowania ich różnicowania

całą ukierunkowaną na odblokowanie transkrypcji genów [14,22]. Późniejsze obserwacje dotyczące leczenia ATRA niosły jednak ze sobą pewne kontrowersje. Stosowanie ATRA w monoterapii u chorych na OBP powodowało w większości przypadków jedynie przejściową remisję choroby, a nie pełne jej wyleczenie. Zauważono, że dopiero ATRA w połączeniu z chemioterapią prowadzi do wyleczenia choroby. Zastosowanie np. ATRA z cyklami chemioterapii opartymi na antracyklinach prowadzi do remisji u ponad 90% chorych, a 5-letnie przeżycie sięga 75% [39].

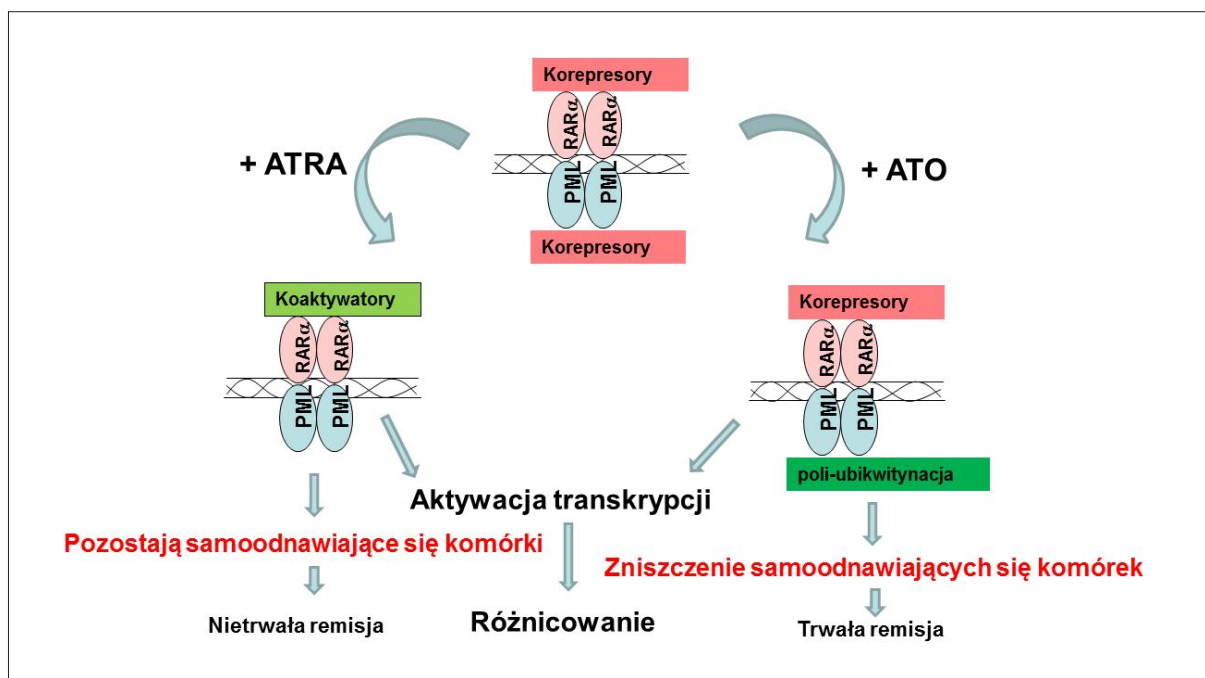
Trójtlenek arsenu (ATO) będący jedną z najstarszych substancji stosowanych w medycynie, został ponownie wprowadzony do leczenia na początku lat 90 ub.w., po udowodnieniu jego korzystnego działania u chorych na OBP [36,50]. Liczne badania wykazały, iż zastosowanie tej substancji w przypadku odpornej lub nawrotowej białaczki poprawia znacząco rokowanie pacjentów, powodując całkowitą remisję u 85-90% [14,42]. Na poziomie komórkowym ATO w wysokich stężeniach powoduje apoptozę, w niższych stężeniach indukuje różnicowanie się komórek [8,9]. W przeciwieństwie do ATRA, który działa na fragment RARa białka fuzyjnego PML-RARa, ATO łączy się bezpośrednio z fragmentem PML. Prowadzi to do przyłączenia do PML cząsteczki SUMO, a w rezultacie aktywacji białek odpowiedzialnych za degradację

kompleksu PML-RARa [18,28,44]. Mechanizm działania ATRA i ATO przedstawiono na ryc. 3.

W przeciwieństwie do ATRA, ATO w niewielkim stopniu indukuje transkrypcję w komórkach białaczkowych. Nie wydaje się też wywierać wpływu, na które działa ATRA, przede wszystkim nie działa na RARa [49]. Wyraźny efekt terapeutyczny ATO, przy braku wpływu na aktywację transkrypcji, wydaje się pozostawać w sprzeczności z hipotezą, mówiącą o podstawowym znaczeniu terapii różnicującej w leczeniu OBP. Potwierdzają to badania w warunkach *ex vivo*, gdzie ATO wywołuje przede wszystkim apoptozę komórek, a tylko w ograniczonym stopniu ich różnicowanie dopóki hodowle stymulowane są cytokinami lub cyklicznym adenozyνομonofosforanem [9,21,34,55]. Wprawdzie w warunkach *in vivo* powolne różnicowanie blastów pojawia się po początkowej indukcji apoptozy, ale kinetyka tego procesu jest znacznie wolniejsza w porównaniu z ATRA, co dodatkowo potwierdza fakt, iż mechanizm indukcji różnicowania nie stanowi istotny terapeutyczny efekt działania ATO.

KOMÓRKI LIC

Obserwacje mechanizmów działania i efektów klinicznych ATO i ATRA, które poddawały w wątpliwość główną rolę



Ryc. 3. Mechanizmy działania kwasu all-trans retinowego (ATRA) i trójtlenku arsenu (ATO) w ostrej białaczce promielocytowej. Zarówno ATRA, jak i ATO, wykazują bezpośredni wpływ na funkcje kompleksu PML-RAR α , indukując różnicowanie promielocytów, a pod względem klinicznym remisję choroby. Zastosowanie ATRA zmienia konformację fuzji PML-RAR α przez bezpośrednie połączenie z RAR α , co prowadzi do uwolnienia korepresorów i aktywacji koaktywatorów transkrypcji. Pozwala to na aktywację transkrypcji genów, wcześniej zablokowanych przez PML-RAR α . W rezultacie pojawia się różnicowanie promielocytów, a pod względem klinicznym remisja choroby, która okazuje się jednak nietrwała ze względu na brak degradacji komórek macierzystych białaczki. ATO łączy się bezpośrednio z fragmentem PML, co prowadzi do aktywacji białek odpowiedzialnych za degradację kompleksu PML-RAR α . Zniszczeniu ulegają komórki macierzyste białaczki, a uzyskana remisja choroby jest trwała

aktywacji transkrypcji jako strategii leczenia w OBP, zapoczątkowały poszukiwanie nowych modeli terapeutycznych w tym typie białaczki. Jeden z tych modeli powstał w oparciu o koncepcję komórek LIC, a omówiono go niżej.

Podobnie jak w prawidłowej hematopoezie również w ostrych białaczkach szpikowych obserwowana jest pewna hierarchia komórek [15]. Tylko niewielki odsetek blastów białaczkowych ma zdolność tworzenia w pełni rosnącego guza po przeszczepieniu *in vivo* lub tworzenia kolonii i rozmnażania się w hodowlach komórkowych *ex vivo*. Komórki te nazwano komórkami macierzystymi białaczki (LIC – clonogenic leukemia initiating cells), a ich odsetek jest różny w różnych typach białaczek. W mysim modelu OBP komórki LIC stanowią około 1% blastów. Wykazują one zwiększoną zdolność do samoodnawiania się, jakkolwiek fenotyp mają podobny do komórek blastycznych [20,47]. Ponieważ tylko leczenie skierowane bezpośrednio na komórki LIC daje możliwość eradykacji guza, odkrycie istnienia tych komórek, wywołało dyskusję, co powinno być uznane za końcowy efekt terapii nowotworu. Przetrawanie komórek LIC prowadzi bowiem do nawrotów choroby i nie może być uznane za pełne jej wyleczenie. Hipoteza związana z komórkami LIC pozwala wyjaśnić różnice w efekcie działania dwóch podstawowych leków stosowanych w leczeniu OBP – ATRA i ATO. Wywoływane działaniem ATRA różnicowanie komórek nie jest wystarczające do indukowania remisji choroby zarówno u chorych na OBP, jak i w modelach mysich białaczki [36,51,37,42]. W

badaniach na myszach ze zmutowanym genem PML-RAR α działanie ATRA nie prowadzi do efektów terapeutycznych pod postacią regresji białaczki, jakkolwiek pojawia się różnicowanie blastów podobne do obserwowanego w przypadkach OBP z niezmutowanym PML-RAR α [42]. Zjawisko to ujawnia brak zależności między indukcją różnicowania i eradykacją klonu białaczkowego, obserwowanych w przypadku działania ATRA [1]. ATO natomiast, który stymuluje w mniejszym stopniu niż ATRA różnicowanie komórek, ma zdolność eradykacji LIC, a co za tym idzie wywołania trwałej remisji choroby [1]. Tak więc zniszczenie komórek LIC wydaje się mieć bardzo istotne znaczenie dla remisji i wyleczenia chorych [14,25,30].

DEGRADACJA ONKOGENU *PML-RAR α*

Kolejną nową koncepcją wyjaśniającą efekty terapeutyczne w OBP oparto się zjawisku degradacji białka odpowiedzialnego za chorobę. Ponieważ istotną rolę w patogenezie OBP odgrywa PML-RAR α , można przypuszczać, że jego zniszczenie będzie prowadziło do wyleczenia chorych, a jednym z efektów utraty jego funkcji może być bezpośrednia aktywacja różnicowania nowotworowych promielocytów. W badaniach doświadczalnych na liniach komórkowych wykazano, że wyciszenie PML-RAR α przez interferujące z nim RNA, prowadzi do spontanicznego różnicowania blastów białaczkowych, co może potwierdzać to, iż proces różnicowania jest jedynie efektem zniesienia blokującego transkrypcję wpływu PML-RAR α [1]. Analizując, w oparciu o tę hipotezę, mechanizmy

działania ATRA i ATO, można przypuszczać, iż wywołane przez ATRA szybkie i całkowite różnicowanie blastów przynajmniej częściowo wynika z reaktywacji mechanizmów zależnych od prawidłowego, endogennego RARA po degradacji PML-RARA, a nie z bezpośredniego wpływu PML-RARA na aktywację transkrypcji. Podobnie degradacja PML-RARA wywołana działaniem ATO, powoduje przede wszystkim przywrócenie funkcji genów, które tłumiał ten kompleks [49,50]. Warto zauważyć, że niszczące PML-RARA działanie ATRA i ATO przebiega pod wpływem dwóch różnych mechanizmów. ATRA indukuje degradację PML-RARA poprzez działanie na RARA, natomiast ATO poprzez działanie na fragment PML [9,29,41,52]. Na tej podstawie można wnioskować synergistyczne działanie obu leków, co udowodniono w badaniach na mysich modelach białaczki oraz badaniach klinicznych, które wykazały wpływ takiej kombinacji leków na eradykację klonu białaczkowego, nawet bez stosowania leków cytotoksycznych [6,16,27,46].

PIŚMIENNICTWO

[1] Ablain J., de Thé H.: Revisiting the differentiation paradigm in acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 2011; 117: 5795-5802

[2] Avvisati G., Lo Coco F., Mandelli F.: Acute promyelocytic leukemia: clinical and morphologic features and prognostic factors. *Semin. Hematol.*, 2001; 38: 4-12

[3] Bernardi R., Pandolfi P.P.: Structure, dynamics and functions of promyelocytic leukaemia nuclear bodies. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 1006-1016

[4] Borrow J., Solomon E.: Molecular analysis of the t(15;17) translocation in acute promyelocytic leukaemia. *Baillieres Clin. Haematol.*, 1992; 5: 833-856

[5] Boukarabila H., Saurin A.J., Batsche E., Mossadegh N., van Lohuizen M., Otte A.P., Pradel J., Muchardt C., Sieweke M., Duprez E.: The PRC1 Polycomb group complex interacts with PLZF/RARA to mediate leukemic transformation. *Genes Dev.*, 2009; 23: 1195-1206

[6] Breitman T.R., Collins S.J., Keene B.R.: Terminal differentiation of human promyelocytic leukemic cells in primary culture in response to retinoic acid. *Blood*, 1981; 57: 1000-1004

[7] Castoldi G., Cuneo A.: Special cytological subtypes of acute myeloid leukaemias and myelodysplastic syndromes. *Baillieres Clin. Haematol.*, 1996; 9: 19-33

[8] Chen G.Q., Shi X.G., Tang W., Xiong S.M., Zhu J., Cai X., Han Z.G., Ni J.H., Shi G.Y., Jia P.M., Liu M.M., He K.L., Niu C., Ma J., Zhang P. i wsp.: Use of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): I. As₂O₃ exerts dose-dependent dual effects on APL cells. *Blood*, 1997; 89: 3345-3353

[9] Chen G.Q., Zhu J., Shi X.G., Ni J.H., Zhong H.J., Si G.Y., Jin X.L., Tang W., Li X.S., Xiong S.M., Shen Z.X., Sun G.L., Ma J., Zhang P., Zhang T.D., Gazin C., Naoe T., Chen S.J., Wang Z.Y., Chen Z.: In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia. As₂O₃ induces NB4 cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR alpha/PML proteins. *Blood*, 1996; 88: 1052-1061

[10] Chen Z., Chen S.J.: RARA and PML genes in acute promyelocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 1992; 8: 253-260

[11] Chomienne C., Ballerini P., Balitrand N., Daniel M.T., Fenaux P., Castaigne S., Degos L.: All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemias: II. In vitro studies: structure-function relationship. *Blood*, 1990; 76: 1710-1717

PODSUMOWANIE

Podsumowując, wiele badań zarówno *in vivo* jak i *ex vivo* rzuca nowe światło na terapię różnicującą w OBP. Końcowe różnicowanie blastów białaczkowych jest nie tylko niewystarczające, ale nawet niekonieczne do pełnego wyleczenia. Wydaje się więc mało prawdopodobne, że właśnie ono odpowiada za kliniczny sukces leczenia OBP. Całkowite i szybkie różnicowanie obserwowane w czasie leczenia ATRA może być związane z odwróceniem blokowania transkrypcji przez PML-RARA, jednak dopiero pełna degradacja PML-RARA prowadzi do zahamowania samoodnawiania się komórek i eradykacji LIC.

Takie nowe podejście do patogenezы OBP otwiera nowe możliwości do udoskonalenia terapiy – poszukiwanie leków o działaniu ukierunkowanym na degradację PML-RARA może okazać się bardziej efektywne klinicznie niż terapia różnicująca.

[12] Cioch M.: Ostra Białaczka promielocytowa – postępy w diagnostyce i leczeniu. *Acta Haematol. Pol.*, 2003; 34: 313-323

[13] De Rossi G., Avvisati G., Coluzzi S., Fenu S., LoCoco F., Lopez M., Nanni M., Pasqualetti D., Mandelli F.: Immunological definition of acute promyelocytic leukemia (FAB M3): a study of 39 cases. *Eur. J. Haematol.*, 1990; 45: 168-171

[14] Degos L., Dombret H., Chomienne C., Daniel M.T., Micolé J.M., Chastang C., Castaigne S., Fenaux P.: All-trans-retinoic acid as a differentiating agent in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 1995; 85: 2643-2653

[15] Dick J.E.: Acute myeloid leukemia stem cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2005; 1044: 1-5

[16] Estey E., Garcia-Manero G., Ferrajoli A., Faderl S., Verstovsek S., Jones D., Kantarjian H.: Use of all-trans retinoic acid plus arsenic trioxide as an alternative to chemotherapy in untreated acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 2006; 107: 3469-3473

[17] Frankel S.R.: Acute promyelocytic leukemia. New insights into diagnosis and therapy. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, 1993; 7: 109-138

[18] Geoffroy M.C., Hay R.T.: An additional role for SUMO in ubiquitin-mediated proteolysis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2009; 10: 564-568

[19] Grignani F., de Matteis S., Nervi C., Tomassoni L., Gelmetti V., Ciocce M., Fanelli M., Ruthardt M., Ferrara F.F., Zamir I., Seiser C., Grignani F., Lazar M.A., Minucci S., Pelicci P.G.: Fusion proteins of the retinoic acid receptor α recruit histone deacetylase in promyelocytic leukaemia. *Nature*, 1998; 391: 815-818

[20] Guibal F.C., Alberich-Jorda M., Hirai H., Ebralidze A., Levantini E., Di Ruscio A., Zhang P., Santana-Lemos B.A., Neuberg D., Wagers A.J., Rego E.M., Tenen D.G.: Identification of a myeloid committed progenitor as the cancer-initiating cell in acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 2009; 114: 5415-5425

[21] Guillemain M.C., Raffoux E., Vitoux D., Kogan S., Soilhi H., Lallemand-Breitenbach V., Zhu J., Janin A., Daniel M.T., Gourmel B., Degos L., Dombret H., Lanotte M., De Thé H.: In vivo activation of cAMP signaling induces growth arrest and differentiation in acute promyelocytic leukemia. *J. Exp. Med.*, 2002; 196: 1373-1380

[22] Hu J., Liu Y.F., Wu C.F., Xu F., Shen Z.X., Zhu Y.M., Li J.M., Tang W., Zhao W.L., Wu W., Sun H.P., Chen Q.S., Chen B., Zhou G.B., Zelent A., Waxman S., Wang Z.Y., Chen S.J., Chen Z.: Long-term efficacy and safety of all-trans retinoic acid/arsenic trioxide based therapy in newly

- diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 3342-3347
- [23] Huang M.E., Ye Y.C., Chen S.R., Chai J.R., Lu J.X., Zhao L., Gu L.J., Wang Z.Y.: Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 1988; 72: 567-572
- [24] Kamashev D., Vitoux D., De Thé H.: PML-RARA/RXR oligomers mediate retinoid and rexinoid/cAMP cross-talk in acute promyelocytic leukemia cell differentiation. *J. Exp. Med.*, 2004; 199: 1163-1174
- [25] Kogan S.C.: Curing APL: differentiation or destruction? *Cancer Cell.*, 2009; 15: 7-8
- [26] Kopf E., Plassat J.L., Vivat V., de Thé H., Chambon P., Rochette-Egly C.: Dimerization with retinoid X receptors and phosphorylation modulate the retinoic acid-induced degradation of retinoic acid receptors alpha and gamma through the ubiquitin-proteasome pathway. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 33280-33288
- [27] Lallemand-Breitenbach V., Guillemain M.C., Janin A., Daniel M.T., Degos L., Kogan S.C., Bishop J.M., de Thé H.: Retinoic acid and arsenic synergize to eradicate leukemic cells in a mouse model of acute promyelocytic leukemia. *J. Exp. Med.* 1999; 189: 1043-1052
- [28] Lallemand-Breitenbach V., Jeanne M., Benhenda S., Nasr R., Lei M., Peres L., Zhou J., Zhu J., Raught B., de Thé H.: Arsenic degrades PML or PML-RAR alpha through a SUMO-triggered RNF4/ubiquitin-mediated pathway. *Nat. Cell Biol.*, 2008; 10: 547-555
- [29] Lallemand-Breitenbach V., Zhu J., Puvion F., Koken M., Honoré N., Doubeikovskaya A., Duprez E., Pandolfi P.P., Puvion E., Freemont P., de Thé H.: Role of promyelocytic leukemia (PML) sumoylation in nuclear body formation, 11S proteasome recruitment, and As2O3-induced PML or PML/retinoic acid receptor α degradation. *J. Exp. Med.*, 2001; 193: 1361-1371
- [30] Licht J.D.: Acute promyelocytic leukemia: weapons of mass differentiation. *N. Engl. J. Med.*, 2009; 360: 928-930
- [31] Lin R.J., Nagy L., Inoue S., Shao W., Miller W.H.Jr., Evans R.M.: Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature*, 1998; 391: 811-814
- [32] Meani N., Minardi S., Licciulli S., Gelmetti V., Coco F.L., Nervi C., Pelicci P.G., Müller H., Alcalay M.: Molecular signature of retinoic acid treatment in acute promyelocytic leukemia. *Oncogene*, 2005; 24: 3358-3368
- [33] Melnick A., Licht J.D.: Deconstructing a disease: RAR alpha, its fusion partners and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 1999; 93: 3167-3215
- [34] Muto A., Kizaki M., Kawamura C., Matsushita H., Fukuchi Y., Umezawa A., Yamada T., Hata J., Hozumi N., Yamato K., Ito M., Ueyama Y., Ikeda Y.: A novel differentiation - inducing therapy for acute promyelocytic leukemia with a combination of arsenic trioxide and GM-CSF. *Leukemia*, 2001; 15: 1176-1184
- [35] Nasr R., Guillemain M.C., Ferhi O., Soilihi H., Peres L., Berthier C., Rouselot P., Robledo-Sarmiento M., Lallemand-Breitenbach V., Gourmel B., Vitoux D., Pandolfi P.P., Rochette-Egly C., Zhu J., de Thé H.: Eradication of acute promyelocytic leukemia-initiating cells through PML-RARA degradation. *Nat. Med.*, 2008; 14: 1333-1342
- [36] Nasr R., Lallemand-Breitenbach V., Zhu J., Guillemain M.C., de Thé H.: Therapy-induced PML/RARA proteolysis and acute promyelocytic leukemia cure. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 6321-6326
- [37] Nervi C., Ferrara F.F., Fanelli M., Rippon M.R., Tomassini B., Ferrucci P.F., Ruthardt M., Gelmetti V., Gambacorti-Passerini C., Diverio D., Grignani F., Pelicci P.G., Testi R.: Caspases mediate retinoic acid-induced degradation of the acute promyelocytic leukemia PML/RAR α fusion protein. *Blood*, 1998; 92: 2244-2251
- [38] Perez A., Kastner P., Sethi S., Lutz Y., Reibel C., Chambon P.: PML/RAR homodimers: distinct binding properties and heteromeric interactions with RXR. *EMBO J.*, 1993; 12: 3171-3182
- [39] Sanz M.A., Grimwade D., Tallman M.S., Lowenberg B., Fenaux P., Estey E.H., Naoe T., Lengfelder E., Büchner T., Döhner H., Burnett A.K., Lo-Coco F.: Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemia Net. *Blood*, 2009; 113: 1875-1891
- [40] Sanz M.A., Montesinos P.: Open issues on bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia. *Thromb. Res.*, 2010; 125, Suppl. 2: S51-S54
- [41] Shao W., Fanelli M., Ferrara F.F., Riccioni R., Rosenauer A., Davison K., Lamph W.W., Waxman S., Pelicci P.G., Lo Coco F., Avvisati G., Testa U., Peschle C., Gambacorti-Passerini C., Nervi C., Miller W.H. Jr.: Arsenic trioxide as an inducer of apoptosis and loss of PML/RAR α protein in acute promyelocytic leukemia cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1998; 90: 124-133
- [42] Takahashi Y., Lallemand-Breitenbach V., Zhu J., de Thé H.: PML nuclear bodies and apoptosis. *Oncogene*, 2004; 23: 2819-2824
- [43] Tallman M.S., Altman J.K.: Curative strategies in acute promyelocytic leukemia. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, 2008: 391-399
- [44] Tatham M.H., Geoffroy M.C., Shen L., Plechanovova A., Hattersley N., Jaffray E.G., Palvimo J.J., Hay R.T.: RNF4 is a poly-SUMO-specific E3 ubiquitin ligase required for arsenic-induced PML degradation. *Nat. Cell Biol.*, 2008; 10: 538-546
- [45] Villa R., Pasini D., Gutierrez A., Morey L., Occhionorelli M., Viré E., Nomdedeu J.F., Jenuwein T., Pelicci P.G., Minucci S., Fuks F., Helin K., Di Croce L.: Role of the polycomb repressive complex 2 in acute promyelocytic leukemia. *Cancer Cell.*, 2007; 11: 513-525
- [46] Wang G., Li W., Cui J., Gao S., Yao C., Jiang Z., Song Y., Yuan C.J., Yang Y., Liu Z., Cai L.: An efficient therapeutic approach to patients with acute promyelocytic leukemia using a combination of arsenic trioxide with low-dose all-trans retinoic acid. *Hematol. Oncol.*, 2004; 22: 63-71
- [47] Wojcisi S., Guibal F.C., Kindler T., Lee B.H., Jesneck J.L., Fabian A., Tenen D.G., Gilliland D.G.: PML-RAR alpha initiates leukemia by conferring properties of self-renewal to committed promyelocytic progenitors. *Leukemia*, 2009; 23: 1462-1471
- [48] Zeisig B.B., Kwok C., Zelent A., Shankaranarayanan P., Gronemeyer H., Dong S., So C.W.: Recruitment of RXR by homotetrameric RAR α fusion proteins is essential for transformation. *Cancer Cell*, 2007; 12: 36-51
- [49] Zheng P.Z., Wang K.K., Zhang Q.Y., Huang Q.H., Du Y.Z., Zhang Q.H., Xiao D.K., Shen S.H., Imbeaud S., Eveno E., Zhao C.J., Chen Y.L., Fan H.Y., Waxman S., Auffray C., Jin G., Chen S.J., Chen Z., Zhang J.: Systems analysis of transcriptome and proteome in retinoic acid/arsenic trioxide-induced cell differentiation/apoptosis of promyelocytic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 7653-7658
- [50] Zhu J., Chen Z., Lallemand-Breitenbach V., de Thé H.: How acute promyelocytic leukemia revived arsenic. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 705-713
- [51] Zhu J., Gianni M., Kopf E., Honoré N., Chelbi-Alix M., Koken M., Quignon F., Rochette-Egly C., de Thé H.: Retinoic acid induces proteasome-dependent degradation of retinoic acid receptor α (RAR α) and oncogenic RAR α fusion proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 14807-14812
- [52] Zhu J., Koken M.H., Quignon F., Chelbi-Alix M.K., Degos L., Wang Z.Y., Chen Z., de Thé H.: Arsenic-induced PML targeting onto nuclear bodies: implications for the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 3978-3983
- [53] Zhu J., Nasr R., Peres L., Riaucoux-Lormière F., Honoré N., Berthier C., Kamashev D., Zhou J., Vitoux D., Lavau C., de Thé H.: RXR is an essential component of the oncogenic PML/RARA complex in vivo. *Cancer Cell*, 2007; 12: 23-35
- [54] Zhu J., Zhou J., Peres L., Riaucoux F., Honoré N., Kogan S., de Thé H.: A sumoylation site in PML/RARA is essential for leukemic transformation. *Cancer Cell.*, 2005; 7: 143-153
- [55] Zhu Q., Zhang J.W., Zhu H.Q., Shen Y.L., Flexor M., Jia P.M., Yu Y., Cai X., Waxman S., Lanotte M., Chen S.J., Chen Z., Tong J.H.: Synergic effects of arsenic trioxide and cAMP during acute promyelocytic leukemia cell maturation subtends a novel signaling cross-talk. *Blood*, 2002; 99: 1014-1022

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.