

## EL SINDROME DEL ACIDO RETINOICO

CARLOS PONZINIBBIO

*Cátedra de Patología B, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata*

**Resumen** El Síndrome del Ácido Retinoico (SAR) aparece como la mayor complicación del tratamiento de diferenciación de la LPA con ATRA. Hasta la fecha la patogenia de este síndrome no ha sido debidamente aclarada. Frecuentemente asociado a la hiperleucocitosis vinculada al tratamiento, ésta no parecería ser condición *sine qua non* para su desarrollo. El signo cardinal del SAR es una dificultad respiratoria, a la que se asocian: fiebre, ganancia de peso, edemas y efusiones serosas, con eventual fallo renal. Autopsias de pacientes con SAR evidenciaron infiltración pulmonar intersticial por células granulocíticas. El distress respiratorio se ha señalado como complicación de estados de hiperleucocitosis (LMA o LMC), o de activación leucocitaria con leucostasis pulmonar (pulmón de shock). En consideración a los últimos hallazgos cabría postular al SAR como determinado por una estimulación de las células leucémicas en camino de diferenciación inducida por el ATRA. La unión del ATRA al receptor, a través de pasos de señalización mediados por la proteína de fusión anormal PML-RAR $\alpha$ , determinaría un incremento de expresión de ARNm para CD 18 (LFA 1 $\beta$ ) y de una transglutaminasa t. II intracelular. Se atribuye a esta proteína un papel regulador del crecimiento celular, con aumento de producción de mediadores químicos solubles: factores de crecimiento (G CSF) y citoquinas estimulantes de la función celular y con capacidad quimioattractiva (IL 1 $\beta$ , IL 6, IL 8 y TNF  $\alpha$ ). El aumento de síntesis de interleuquinas proinflamatorias y quimioattractivas, así como el aumento de expresión de moléculas de adhesión celular, promotoras de una adhesión anormal al endotelio vascular, serían los protagonistas que explicarían la mayor parte de los síntomas de este síndrome que tendría como blanco principal de lesión a las células endoteliales.

**Palabras clave:** ácido retinoico, síndrome retinoico, leucemia promielocítica aguda

### El sueño casi cumplido del tratamiento de la Leucemia Aguda

Desde el advenimiento del conocimiento de la Biología celular, se ha observado que, en Leucemia Aguda, la célula hemopoyética transformada presenta dos atributos fundamentales: persistencia de la capacidad de proliferación, y bloqueo de la diferenciación celular. Este concepto trata de describir la proliferación de células *congeladas* por la transformación neoplásica en un estadio de diferenciación determinado. La consecuencia de esta perturbación de la homeostasis celular normal es la disminución en la sangre circulante de células maduras, funcionalmente útiles,

### GLOSARIO:

LA:	Leucemia Aguda
LAPRO:	Leucemia Aguda Promielocítica
ATRA:	Ácido all-trans retinoico
SAR:	Síndrome del Ácido retinoico
SDRA:	Síndrome de Dificultad Respiratoria del Adulto
SE:	Shock Endotóxico
STC:	Síndrome de Trasudación Capilar
PCI:	Prostaglandina
ON:	Oxido Nítrico
PAF:	Factor Activador de Plaquetas
TNF:	Factor de Necrosis Tumoral
IL-1/4/6/8/10:	Interleuquinas 1/4/6/8/10
FGF:	Factor de crecimiento Fibroblástico
PDGF:	Factor de crecimiento derivado de Plaquetas
IL-GF:	Factor de crecimiento similar insulina
LFA:	Antígeno de Función Leucocitaria (molécula de adhesión)
ICAM-1:	Molécula de adhesión intercelular 1
LPS:	Lipopolisacáridos
IRO:	Intermediarios reactivos del oxígeno
IRN:	Intermediarios reactivos del nitrógeno
vWF:	Factor von Willebrand
F-XII:	Factor 12 de coagulación
PMNs:	Polimorfonucleares
Lktbs:	Leucotrienos
G-CSF:	Factor de crecimiento granulocítico
RiC3b:	Receptor del inhibidor del C3
PML/RAR $\alpha$	Gen químérico para la proteína PML y el Receptor alfa del ácido retinoico

Recibido: 28-XI-96

Aceptado: 10-II-97

Dirección postal: Dr. Carlos Ponzinibbio, Cátedra de Patología B, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, 60 y 120, 1900 La Plata, Argentina

que en última instancia es la determinante de las múltiples complicaciones del paciente, que incluyen hasta la muerte.

Naturalmente, la pregunta surgida fue si era posible alcanzar a desbloquear las células transformadas, induciendo su diferenciación<sup>1</sup>. Esta pregunta contiene una enorme importancia terapéutica.

En el intento de contestar a esta pregunta se plantearon diversos acercamientos experimentales y se establecieron líneas celulares tanto murinas como humanas para poder analizar el efecto de diversos compuestos sobre las células separadas. En estos sistemas se observó que diésteres de forbol, algunos agentes citostáticos (pirimidinas, actinomicina, metotrexate), así como factores de crecimiento celular que se empezaban a conocer, y derivados de la Vitamina A (retinoides) eran capaces de inducir la diferenciación celular, siendo la línea HL 60 (promielocitos) la que ofrecía mayores respuestas<sup>2</sup>. Posteriormente, Breitmann y cols demostraron la diferenciación terminal *in vitro* de células derivadas de dos pacientes portadores de Leucemia Promielocítica Aguda (LAPRO)<sup>3</sup>. En otro trabajo posterior se puso en evidencia la posibilidad de obtener la diferenciación celular en un paciente portador de LAPRO suministrándole el isómero *cis* del ácido retinoico<sup>4</sup>. También se realizaron varios ensayos con citostáticos empleados a bajas dosis, el principal entre ellos la citosinarabinósido, con resultados que podrían caracterizarse como anecdóticos<sup>5, 6, 7</sup>. En síntesis, estos trabajos perseguían el ideal de una posibilidad teórica, ocasionalmente demostrada.

La puerta al ensueño se abrió, recién en 1988 con el trabajo pionero de Huang en China<sup>8</sup>, en el que puso en evidencia la posibilidad concreta de obtener la diferenciación celular en la mayor parte de los 24 pacientes portadores de LAPRO tratados con el isómero *trans* del ácido retinoico (ATRA).

La Leucemia Promielocítica Aguda (LAPRO) con su tradición de severas hemorragias durante el tratamiento quimioterápico clásico, aparecía entonces como una entidad única entre las Leucemias Agudas en sentido de permitir el descongelamiento de las células transformadas, casi como cumpliendo un viejo anhelo del hematólogo: lograr destrabar del congelamiento

—sin matarlas— de las células neoplásicas transformadas.

Cuando, posteriormente el grupo del Hospital St. Louis de París, en conjunto con el de Lilley, publicó en 1990 su primera experiencia<sup>9</sup> con el tratamiento con ATRA, de un grupo de 22 pacientes portadores de LAPRO, señaló el desarrollo de una notable hiperleucocitosis en algunos de los enfermos. Más aún cuando presentó su experiencia actualizada en el Congreso de la ISH en Boston, en noviembre del mismo año<sup>10</sup>, descartaba que fuera la posibilidad de diferenciar las células leucémicas un *cuento chino* confirmando la observación de la posibilidad cierta de inducir la diferenciación en la mayor parte de los pacientes portadores de LAPRO tratados con ATRA, pero agregando a la historia un condimento desagradable: una cuarta parte de los 40 pacientes, habían mostrado una elevación inusual de los leucocitos, a medida que se sucedía la diferenciación, hasta que 7 de ellos murieron, por lo que se interpretó como un cuadro de leucostasis y fiebre y/o hemorragias.

Más detalles aparecen publicados por el mismo grupo francés al año siguiente —Chomienne<sup>7</sup>—, donde refieren como complicación más significativa del tratamiento con ATRA a la hiperleucocitosis observada durante las primeras dos semanas en 4 pacientes, tres de los cuales murieron, uno por dificultad respiratoria, y uno por hipertensión endocraneana.

Un análisis coincidente, evidenciando también la capacidad de inducir la diferenciación de las células de pacientes portadores de LAPRO, fue publicado por otro grupo americano en el mismo año<sup>11</sup>. Sin embargo, en este informe, si bien se señala el desarrollo de hiperleucocitosis durante el tratamiento, no se hace referencia a un cuadro equiparable al referido como síndrome de dificultad respiratoria.

El conjunto de síntomas y signos inducido por la administración de ATRA fue definido como un síndrome específico —nombrado como *Síndrome del Ácido Retinoico (SAR)*— asociado al tratamiento de la LAPRO por Frankel y cols, quienes señalaron<sup>12</sup> en un grupo de pacientes con diagnóstico de LAPRO el desarrollo entre los días 2 y 21 de un síndrome caracterizado por fiebre y disnea con infiltrado pulmonar intersticial sin desarrollo de gérmenes patógenos en los cultivos ni

signos de infarto. A esto se asoció, en casos, la ganancia de peso por retención líquida, y eventualmente hipotensión y fallo renal (Fig. 1). En ese análisis 6 de los 14 pacientes que tuvieron leucocitosis desarrollaron el síndrome, y 3 pacientes con menos de  $20 \times 10^9/l$  también, poniendo en evidencia por primera vez una falta de correlación uniforme entre la hiperleucocitosis y el desarrollo del síndrome. El estudio post mortem mostró infiltración orgánica extensa por las células leucémicas, sin signos de infección. En un paciente se vió hemorragia intraalveolar con edema e infiltración intersticial por células granulocíticas maduras.

Quedó, a partir de entonces definido el SAR, y naturalmente, surge entonces la pregunta: cual es la patogenia de este síndrome, que si bien muestra una tendencia a desarrollarse siguiendo a la hiperleucocitosis, ésta no aparece como una condición imprescindible para su desarrollo?<sup>13</sup> A esto se agrega el hecho curioso que en las poblaciones orientales la incidencia de este síndrome es notablemente menor que en mundo occidental<sup>14</sup>.

En base a lo expuesto se podría graficar la situación de la siguiente manera (Fig. 2). Pero en este sintético puzzle parecería faltar una pieza.

¿Cómo describir a esa pieza faltante?

## Análisis patogénico

Si se analizan los signos y síntomas presentes en el SAR<sup>10, 12, 13, 15, 16, 17</sup>, se puede ver que los mismos se distribuyen y comparten entre tres síndromes, dos de ellos de presentación algo más frecuentes y conocidos: El Síndrome de Dificultad Respiratoria del Adulto (SDRA) y el shock endotóxico (SE), y un tercero caracterizado más recientemente en protocolos de inmunoterapia adoptiva: el síndrome de trasudación capilar (STC), (Fig. 3).

Se puede entonces, realizar un análisis a partir de los elementos conocidos en la patogenia de estos síndromes, de manera que se haga posible imaginar una vía de acceso para esbozar una patogenia para el SAR.

En los tres casos el blanco de la agresión es el mismo: *el endotelio vascular*

Si es así, ¿cómo se lesiona el endotelio?

Nada menos pasivo, ni simple barrera de contención para la circulación que el endotelio vascular<sup>18</sup>. De naturaleza multifuncional, éste se encuentra conformado por células altamente especializadas, funcionantes y flexibles, capaces de responder variadamente a diversos insultos, con respuestas frecuentemente contrapuestas: en contra y a favor de la trombosis, mediando vasoconstricción o vasodilatación, modulando en más o en menos al proceso inflamatorio, y estimulando o inhibiendo el crecimiento celular<sup>19</sup> (Fig. 4).

La naturaleza antitrombótica endotelial está mediada por la integridad de la capa celular, con más, la capacidad de síntesis de prostaciclina (PCI) y de óxido nítrico (ON) —antiagregantes plaquetarios<sup>20</sup>. Por el contrario, durante la sepsis, se revierte esta situación<sup>21</sup> y el factor tisular producido por las células endoteliales parecería ser el protagonista.

El endotelio tiene también capacidad de regular el tono vascular de la microcirculación, modificando el tono del músculo liso. Los mediadores de relajación más importantes son la PCI y el ON,

### SINDROME RETINOICO

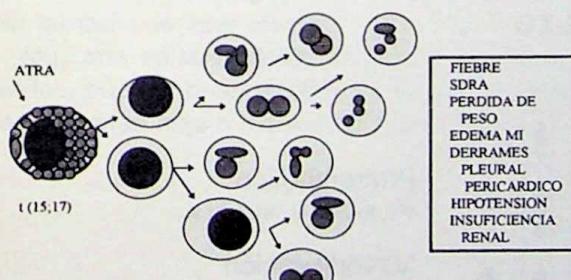


Fig. 1.

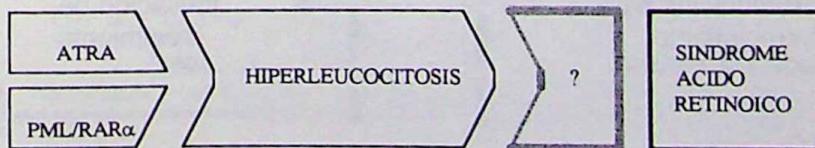


Fig. 2.

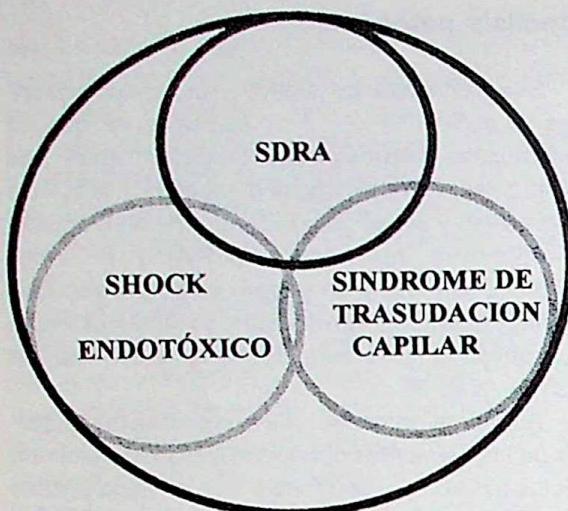


Fig. 3.

mientras que el vasoconstrictor principal es la endotelina 1<sup>22</sup>. Por otro lado es conocido que endotoxinas pueden perturbar la respuesta de la pared arteriolar a la norepinefrina y vasopresina<sup>23</sup>.

Las células endoteliales interactúan con las células sanguíneas durante la inflamación<sup>24</sup>, desarrollándose cascadas de acontecimientos por estimulación mediada por mediadores químicos liberados in situ y sistémicos. Aquí participan los sistemas de proteasas plasmáticas, eicosanoïdes

(PAF) y varias citoquinas, particularmente TNF e IL-1<sup>21</sup>. A la liberación de mediadores se agrega la expresión de moléculas de adhesión. Esta estimulación puede adquirir un carácter de círculo autocrino<sup>19</sup>.

En las paredes de los vasos sanguíneos el control de la regulación del crecimiento celular está ejercido por las células endoteliales y del músculo liso. En condiciones fisiológicas ambos tipos celulares sintetizan factores inhibitorios del crecimiento. Por el contrario, en situaciones de estrés, se pueden sintetizar factores con alta capacidad estimulante de crecimiento, como FGF, PDGF e IL-GF<sup>19, 25</sup>.

Las células endoteliales permiten el libre desplazamiento de las células habitantes de la sangre circulante, pero ante un requerimiento inflamatorio, se estimula la expresión de moléculas de adhesión que reconocen moléculas que se expresan constitutivamente en granulocitos: son estas las selectinas<sup>24</sup>. Cuando la célula endotelial es estimulada por TNF y/o IL-1<sup>26</sup>, los dos mediadores químicos proinflamatorios más importantes<sup>26, 27, 28</sup> y responsables de la fiebre, esta célula responde expresando en superficie E y P selectinas, que reconocen a las L selectinas leucocitarias, estableciendo una unión lábil, pero que inicia el fenómeno de rodamiento leucocitario por la pared endotelial, a modo de cremallera con uniones lábiles sucesivas en el espacio.

## ENDOTELIO

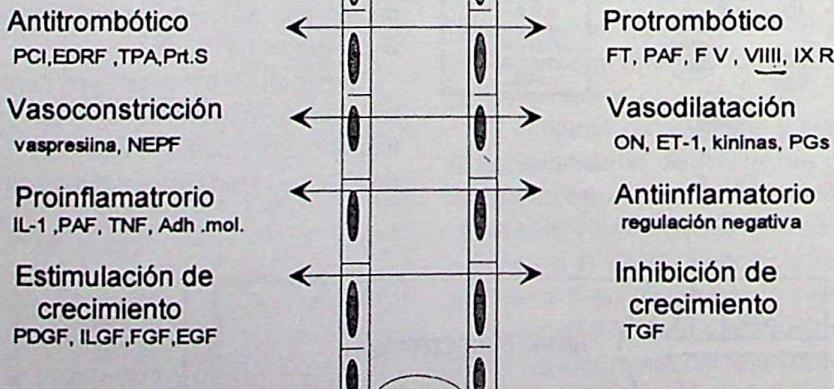


Fig. 4.

Claro que el estímulo inflamatorio, desencadenado a través de la activación del complemento, de eicosanoídes o de IL-8 también actúa sobre los leucocitos, estimulando a éstos a regular activamente la expresión de otras moléculas de adhesión, las integrinas<sup>29</sup>, la principal de ellas la LFA<sup>30</sup>, heterodímero de la familia de las inmunoglobulinas, formado por dos cadenas, CD 11a y CD 18, y regulando en menor medida la expresión de selectinas. A su vez, la persistencia de los mismos mediadores químicos proinflamatorios, TNF e IL-1 activa la expresión endotelial de otras moléculas de adhesión, pertenecientes también a la superfamilia de las inmunoglobulinas, la principal entre ellas ICAM-1. Entre ésta y LFA se establece una unión firme que da origen a la transmigración endotelial del leucocito para concurrir al sitio donde el estímulo inflamatorio lo requiere<sup>24</sup> (Fig. 5).

Cuando la inflamación es puntual, este mecanismo de respuesta es eficiente y beneficioso, limitándose al sitio de origen de los factores quimiotácticos y proinflamatorios, cumpliendo con el objetivo natural básico del proceso inflamatorio: contener la noxa a un punto determinado del tejido conectivo vascular. La limitación de la extensión del proceso inflamatorio se produce por mediación de antiproteasas, antioxidantes y algunos mediadores químicos que regulan en menor medida el proceso inflamatorio<sup>31</sup>. La IL-10 aparece como eje de este proceso<sup>32</sup>, y es capaz de bloquear la producción de TNF inducida por la unión de LPS a monocitos-macrófagos. IL-4 parecería participar también de este efecto.

Muy otra es la situación en los síndromes referidos, pues el proceso deja de estar localizado para hacerse más o menos extendido en la eco-

nomía, aun hasta el punto sistémico, pudiendo adquirir un patrón de *síndrome de respuesta inflamatoria sistémica -SRIS*<sup>19</sup>.

Se analizan a continuación algunos elementos cardinales en los tres síndromes de referencia.

#### Shock Endotóxico

En el caso del shock endotóxico<sup>33</sup>, por ejemplo, el gatillo para la activación celular parecería estar constituido por la unión de LPS bacterianos al receptor CD 14 de macrófagos<sup>34</sup>. Esta unión estimularía a los macrófagos a sintetizar activamente y liberar mediadores químicos solubles como TNF, IL-1, PAF e IRN entre los principales<sup>35</sup>. Estos mediadores actuarían sobre las células endoteliales las que responderían con los efectos descriptos más arriba, liberando también factor tisular, IL-6 y vWF. Los mismos LPS mediarían también el inicio de activación en cascada de los sistemas de proteasas plasmáticas, a través de la activación del F-XII<sup>31</sup>. Los PMNs se constituyen en blanco de la activación por productos del Complemento, anafilatoxinas: C5a y C3a, Lkts<sup>36</sup> e IL 8, que los estimularía, además de promover la adhesión al endotelio, a liberar elastas, más eicosanoídes e IRO, todos productos deletéreos para la célula endotelial y la matriz extracelular de la membrana basal<sup>37</sup>. De esta forma, se generaría una cascada autocatalítica y de progresión incontrolada que conduce a un daño endotelial generalizado con trasvasamiento líquido al espacio extravascular. A esto se agrega la pérdida de la capacidad de resistencia vascular, en buena medida mediada por la liberación inducida de ON por las células endoteliales estimuladas. La pérdida de resistencia periférica y la

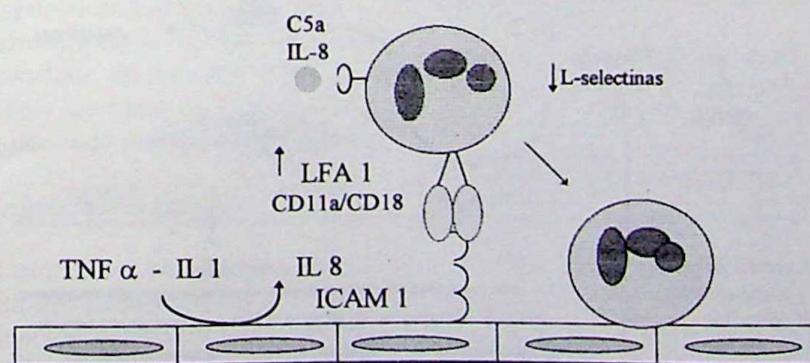


Fig. 5.

extravasación líquida son las determinantes principales del shock que sigue, signado por una incapacidad para liberar adecuadamente oxígeno a los órganos vitales<sup>33</sup> (Fig. 6).

La IL-8 pertenece al subgrupo alfa de la denominada superfamilia de las quimoquininas<sup>38, 39</sup>, moléculas solubles promotoras de la quimiotaxis leucocitaria. Este grupo actúa directamente sobre los PMNs, mientras que los mediadores del subgrupo beta reconocen como blanco a monocitos y macrófagos, promoviendo una actividad similar a la descripta para los PMNs. Se ha visto que plaquetas activadas pueden inducir a las células endoteliales a secretar IL-8. Es probable que la actividad de la IL-8 en la microcirculación pueda explicar el secuestro granulocítico y no la emigración al espacio extravascular.

Como ejemplo de las interacciones celulares se puede agregar que el TNF producido por macrófagos estimulados con LPS estimula a los PMNs a liberar PAF, el que produce cambios deletéreos en las células endoteliales, particularmente desorganizando el citoesqueleto y aumentando su permeabilidad<sup>37</sup>. Esta secuencia se puede amplificar por la misma habilidad del PAF para estimular la síntesis de más TNF por los macrófagos. A esto se agrega la capacidad del TNF de estimular la liberación de Catepsina G por parte de PMNs<sup>19</sup>.

En la defensa frente a esta situación participa un grupo de proteínas de stress, conocidas como Heat Shock Proteins. Estas proteínas tienen la capacidad de resguardar y replegar traslocando proteínas esenciales para la supervivencia de la célula y la reparación vascular<sup>40</sup>.

### Síndrome de Dificultad Respiratoria del Adulto

La barrera alveolocapilar normal está constituida por una capa de células endoteliales, la membrana basal compartida con las células epiteliales de revestimiento alveolar y los neumocitos tipo 1, y es a través de la cual se realiza la hematosis normal. En la luz alveolar se encuentran también neumocitos secretorios tipo 2, encargados de la síntesis del surfactante (fosfatidilcolina) y macrófagos.

El SDRA es una entidad, reconocida inicialmente por los médicos militares en Vietnam, en la que diferentes estímulos (shock hipovolémico, traumatismos severos, pancreatitis aguda, infecciones masivas, inhalación de tóxicos, circulación con bomba) conducen a un daño severo y generalizado de esta barrera<sup>41</sup>. El mecanismo patogénico principal estaría dado por una activación masiva de PMNs, y eventuales macrófagos alveolares, por parte del complemento, eicosanoides o IL-8, con estimulación de expresión de moléculas de adhesión leucocitarias y endoteliales, que desembocaría, por mediación de elastinas, IRO e IRN<sup>42</sup> en un severo daño endotelial, con disrupción de la MB, infiltración leucocitaria del intersticio y edema intersticial y alveolar que perturba gravemente la hematosis<sup>43</sup> (Fig. 7). El TNF alfa contribuiría al desarrollo del SDRA por medio de la inducción de inhibición de síntesis del fosfatidilcolina por neumocitos tipo II<sup>44</sup>, que contribuiría a la formación de membranas hialinas y a la restricción pulmonar. Como efecto de contrabalanceo, disminuyendo el nivel de inflamación, actuaría la IL-10<sup>45</sup>.

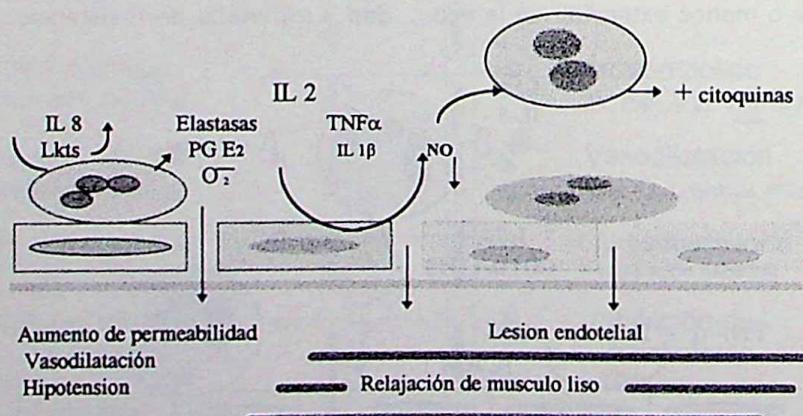


Fig. 6.

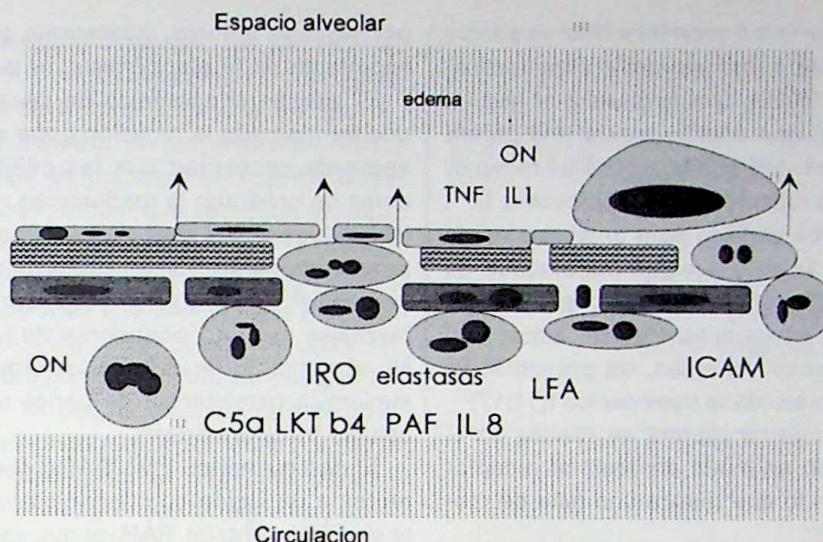


Fig. 7.

Se pueden citar algunos datos de observaciones que contribuyen a abonar la hipótesis propuesta. Por ej.: El nivel plasmático elevado de elastasas leucocitarias en pacientes con traumatismo severo se correlaciona positivamente con desarrollo del SDRA<sup>47</sup>. También el empleo de un antagonista del receptor del leucotrieno B4 limita el efecto tóxico mediado por la activación por endotoxinas en un sistema experimental<sup>48</sup>. Teniendo en cuenta la posible participación de quimioquinas en este síndrome, se correlacionó el nivel de IL 8 obtenida en lavado broncoalveolar de pacientes con riesgo alto de SDRA, y se observó que lo desarrollaban aquellos con niveles más elevados<sup>49</sup>.

En síntesis, el conjunto de la evidencia disponible actualmente apunta al rol protagónico de PMN's y macrófagos activados en la patogenia del daño del SDRA actuando como agentes de lesión de la barrera epitelio-endotelial pulmonar.

El comportamiento clínico de los enfermos con el síndrome instalado es de gran gravedad y la progresión puede ser hasta la muerte probable, aun con una adecuada asistencia ventilatoria<sup>41</sup>.

#### Síndrome de trasudación capilar

Es este un síndrome, con mucho menos frecuente, y no de aparición espontánea. Se puede considerar como iatrogénico y fue inicialmente referido en pacientes neoplásicos tratados con altísimas dosis de IL-2, como adyuvante en in-

tentos de tratamiento con inmunoterapia adoptiva<sup>50</sup>. En este caso, las altas dosis perfundidas de IL-2 parecen actuar aumentando anormalmente la permeabilidad endotelial<sup>51, 52</sup>, con un mecanismo similar al descripto en el shock endotóxico<sup>53</sup>, que conlleva la extravasación líquida al espacio extravascular con una importante perturbación hemodinámica.

Ahora bien, teniendo en cuenta estas consideraciones patogénicas en los tres síndromes tomados como referencia, cómo se puede postular la patogenia para el desarrollo del SAR durante el tratamiento de pacientes portadores de LAPRO. En primer término se debe considerar la biología de la respuesta de las células leucémicas al retinoide, para, trazar luego los elementos de una patogenia hipotética.

#### Biología de la respuesta al ATRA

La mayor ventaja de contar con un tratamiento capaz de inducir la diferenciación en la LAPRO, sería la de evitar el síndrome hemorrágico inducido por la lisis de las células leucémicas al utilizar agentes citostáticos<sup>15</sup>. Estas células leucémicas son muy ricas en contenido con capacidad proteolítica, que degradan al fibronógeno así como una variedad de sustratos.

Al considerar la capacidad del ATRA de inducir la diferenciación de las células leucémicas en la LAPRO, la alteración citogenética adquiere un

papel protagónico: la LA promielocítica se asocia en forma constante a una alteración citogenética, la traslocación t(15;17), que involucra al gen en el cromosoma 15 que codifica para una proteína PML, y al gen que codifica para el receptor alfa para el ácido retinoico en el cromosoma 17<sup>54</sup>. Este gen químérico codifica para una proteína de fusión que sería la determinante del bloqueo de la diferenciación<sup>55</sup>, conservando la capacidad de ligar el ATRA a su receptor nuclear específico RAR $\alpha$ <sup>56</sup>. En algunas variantes, de presentación excepcional, se presenta la traslocación t(11;17)<sup>57</sup>, o en otros el punto de ruptura se realiza en el exon 6, afectando en modo diferente al receptor y al gen PML, de lo que resulta una falta de respuesta al ATRA<sup>58</sup>.

Normalmente, en todas las células de la serie mieloide, la proteína PML se encuentra dispuesta en el núcleo celular con un patrón moteado de distribución integrando los llamados cuerpos nucleares<sup>58</sup>, gránulos ultraestructuralmente definidos presentes particularmente en células en división. En los blastos de la LAPRO esta proteína se encuentra dispuesta con un patrón micropunteado, distribuido entre el núcleo y el citoplasma celular. El tratamiento con AR determina la relocalización de la proteína PML que vuelve a adquirir el patrón nuclear moteado, acompañando la diferenciación celular<sup>59</sup>. Esta disruptión del patrón normal de la PML, considerada como un dominio oncogénico

por algunos autores, aparecería como un factor importante en la patogénesis de la LAPRO<sup>60</sup>.

El estudio citogenético de pacientes tratados que han logrado la remisión pone en evidencia la aparente necesidad que las células se dividan antes de continuar la maduración, y que las células derivadas del clon desbloqueado se pierdan progresivamente por un putativo mecanismo de apoptosis<sup>61, 62</sup>, para ser reemplazadas por células normales —ej. no portadoras de la traslocación. No obstante, la recaída de los enfermos tratados sugiere la persistencia de por lo menos algunas células transformadas<sup>60</sup>.

El gen químérico PML/RAR $\alpha$  codifica para una proteína de fusión con dominios funcionales tanto de PML como de RAR, el que es capaz de unir el AR y actuar como un factor transcripcional. El RAR $\alpha$  debe dimerizarse con el RXR para unirse efectivamente al ADN y realizar la transactivación. En los blastos de la LAPRO la proteína de fusión codificada exhibe una capacidad de transactivación alterada en comparación con el RAR $\alpha$  normal<sup>63, 64</sup>. Aparentemente, durante el proceso de diferenciación inducido por ATRA, las células sintetizarían una cantidad exagerada de mediadores químicos solubles: IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , G-CSF<sup>65-70</sup>.

Experimentalmente, se ha observado que en una variedad de células, los retinoides inducen la activación de una proteína Ca dependiente con

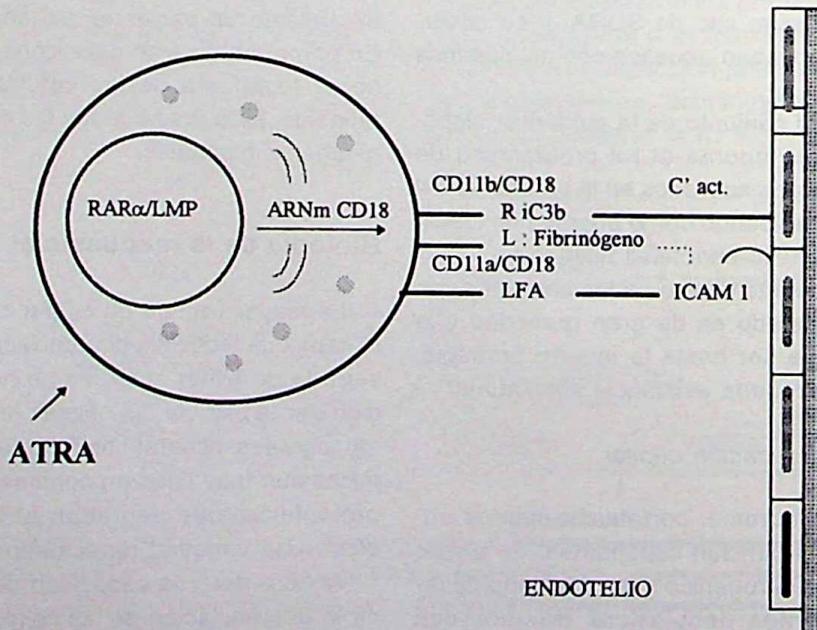


Fig. 8.

actividad de transglutaminasas<sup>64</sup>. En LAPRO, el tratamiento con AR causa un aumento dramático en la expresión de transglutaminasa de tipo II, mediado por el sistema de señalización PML/RAR $\alpha$ , seguido de un aumento de expresión de ARNm para CD 18<sup>63</sup>, hecho que parecería revestir particular importancia para explicar, por lo menos en parte, la patogenia del SAR (Fig. 8). La molécula CD 18 corresponde a la cadena beta 2 de las beta integrinas. Así es constituyente de unas 21 moléculas de adhesión<sup>71</sup>. Además de integrar la LFA, en el caso del RiC3b, estimula la adhesión endotelial a células endoteliales activadas por complemento. Actuaría también como receptor para el fibrinógeno como ligando, el que formaría un puente entre el Receptor y el ICAM 1.

### Hipótesis sobre la fisiopatología del Síndrome del Ácido Retinoico (SAR)

Si bien la hiperleucocitosis se asocia al desarrollo del SRA, ésta no reviste condición de *sine qua non* para su desarrollo, ni existe una relación uniforme entre ambas observaciones.

Si no se considera a la leucostasis pulmonar como el gatillo principal de este síndrome, tal como se encuentra descripto en otras formas de leucemia granulocítica, es necesario postular un estado de activación celular particular (teoría de la pieza faltante en el rompecabezas) (Fig. 9).

Este estado de activación celular particular, provocado en las células granulocíticas leucémicas durante el proceso de diferenciación celular inducida por el tratamiento con ATRA, implicaría tanto un aumento exagerado de liberación de citoquinas y moléculas proinflamatorias, así como un aumento de expresión de moléculas de adhesión, constituyendo así la pieza faltante del puzzle. La interacción de moléculas de adhesión leucocitarias y endoteliales y la tormenta desatada por la liberación de citoquinas y mediadores solubles proinflamatorios en una reacción en cadena indetenible, reconocerían como blanco de daño principal a las células del endotelio vascular, que se verían finalmente completamente perturbadas en su función, en modo similar a lo que ocurre en el síndrome de dificultad respiratoria del adulto a nivel pulmonar, o en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, terminando en un daño parenquimatoso grave de múltiples órganos vitales (Fig. 10).

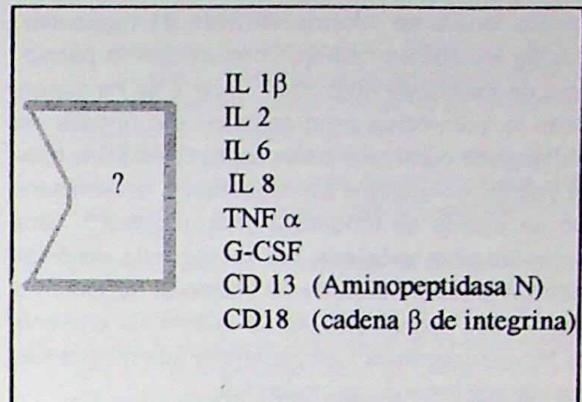


Fig. 9.

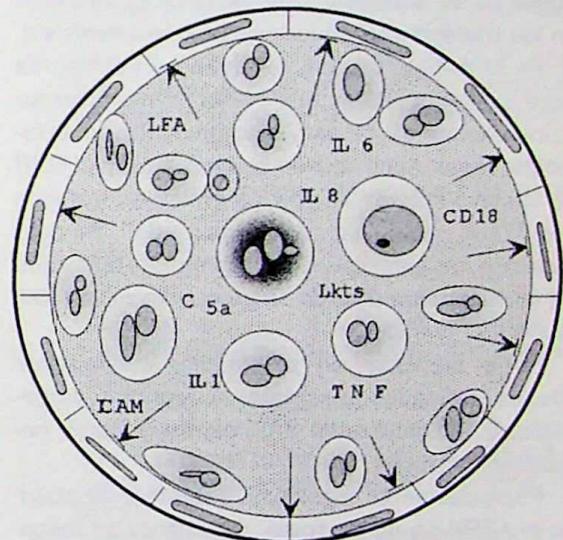


Fig. 10.

### Estrategias para la profilaxis del SAR

Si bien la evaluación actual parece arrojar un resultado final favorable al uso del ATRA como tratamiento de inducción a la remisión de la LAPRO<sup>17, 72, 73, 74</sup>, disminuyendo el clásico riesgo de sangrado excesivo de estos pacientes durante el tratamiento de inducción —atribuido a una exagerada degradación del fibrinógeno, o eventual CID—, el SAR constituye aún la causa de pérdida de un número considerable de pacientes portadores de LAPRO durante la primera fase del tratamiento. A este síndrome, como complicación iatrogénica del tratamiento con ácido retinoico, debería agregarse el informe de eventuales trombosis aparecidas también en asociación con el

mismo, como se informa en 3 de 31 pacientes, dos de los cuales murieron con evidencia patológica de trombosis múltiples<sup>75</sup>. In vivo se ha observado la corrección progresiva de los niveles de fibrinógeno durante el tratamiento con ATRA, hasta valores normales o supranormales, determinando un estado de tendencia protrombótica<sup>76</sup>. Otra complicación señalada fue la necrosis medular que se presentó cuando se asoció al tratamiento con ATRA hydroxiurea en un intento de prevenir la hiperleucocitosis<sup>77</sup> en pacientes que mostraban un rápido ascenso granulocítico.

Quedaría, como punto oscuro para las consideraciones precedentes, la variación en la frecuencia de presentación del síndrome según el origen de las series publicadas, pues es casi nulo en los trabajos realizados por grupos orientales<sup>7-62</sup>. En el trabajo original de Huang y col.<sup>8</sup> no se hace alusión a signos que pudieran interpretarse como elementos de este síndrome. En un estudio del Japan Adult Leukemia Study Group el SAR se observó sólo en 7% de los enfermos tratados con ATRA, y uno sólo entre ellos murió<sup>11</sup>. Se destaca que en este estudio el agregado temprano de quimioterapia cuando se presentan  $> 3,0 \times 10^9/l$  leucocitos al inicio.

Por el contrario, en los estudios previamente citados realizados por grupos europeos y americanos la incidencia del SAR es, en general, notablemente mayor.

Particularmente significativo aparecería cuando el ATRA se utiliza como tratamiento de rescate en pacientes recaídos o refractarios al tratamiento quimioterápico: en un estudio presentado por Cortes y cols<sup>72</sup>, la utilización de ATRA condujo al desarrollo de SAR en 4 de 17 pacientes.

A partir del conocimiento de la posibilidad de desarrollo del síndrome del ácido retinoico, se buscaron factores predictivos de su desarrollo, con el fin de intentar una profilaxis adecuada del mismo, teniendo en cuenta que si bien la hiperleucocitosis juega un papel cardinal, no es en modo alguno el factor determinante único. En este sentido se puede señalar que ningún factor analizado fue consistente en predecir el desarrollo del SAR. Sin embargo, los pacientes que desarrollaron SAR tenían picos elevados de GB aunque no se evidenció una relación uniforme. La expresión basal de CD 13 (aminopeptidasa N) se asoció en forma significativa con el desarrollo del

síndrome, así como también un nivel alto de leucocitos<sup>78</sup>.

El uso de corticoides en el SDRA mejora la sintomatología, posiblemente a través de una disminución de expresión de moléculas de adhesión. También la dexametasona inhibe la síntesis inducida de ON. Si la inducción de diferenciación por ATRA determina aumento de expresión de mRNA para CD 18<sup>66</sup> cabe postular un aumento de expresión de moléculas de adhesión, inhibible también de alguna manera por la dexametasona; con este fundamento, en algunos protocolos americanos se incluyó a esta droga para la prevención de SAR. Considerando que la hiperleucocitosis pudiera participar en modo protagónico, se ha intentado también evitarla.

Se han propuesto entonces tres vías principales para intentar la profilaxis del SAR:

1. La leucaferesis, que ha perdido vigencia por falta de efectividad en los ensayos originales<sup>10</sup>.
2. El grupo norteamericano propone la instauración precoz de dexametasona<sup>10</sup>.
3. El grupo europeo, liderado por los franceses propone la quimoterapia cuando la cifra de GB supera los 5,0<sup>13</sup>.

Los japoneses emplean como línea de corte a los 3,0 GB. Con este sistema se disminuyó en varios estudios la incidencia del SAR y la mortalidad asociada, sin embargo como desventaja se señala la presencia de citopenias tempranas, aunque menos persistentes que cuando se emplea quimioterapia sola<sup>11</sup>.

El grupo australiano de Leucemia propone una situación intermedia, combinando Dexametasona con quimoterapia. Agrega la dexametasona en forma precoz y reserva la quimoterapia sólo para cuando aparecen signos de disfunción pulmonar<sup>79</sup>.

Es posible postular que, en función de las propuestas en curso, posiblemente en breve tiempo se tenga una respuesta concerniente a la mejor prevención de este grave síndrome.

No obstante, pese a la poco estimulante frase de Stanley Frankel cuando se refiere en su artículo de 1994<sup>13</sup> a los resultados finales del análisis del tratamiento con ATRA de Leucemia promielocítica diciendo que: «...estos resultados parecen deberse a un reemplazo de la muerte causada por hemorragia intracraniana por aquella causada por el Síndrome del Ácido retinoico», se puede decir que, en el campo de la biología

celular de la leucemia, estamos frente a uno de los más fascinantes experimentos que la naturaleza nos propone.

## Summary

### *Retinoic acid syndrome*

Retinoic acid syndrome still remains as the most significant complication of the differentiation treatment of acute promyelocytic leukemia. Of unknown pathogenesis this syndrome is close but not absolutely related to hyperleukocytosis developed during treatment. It shares clinico-biological characteristics with three other known syndromes: adult respiratory distress syndrome, endotoxic shock and capillary leak syndrome. It can be hypothesized that as in these cases, the main target is the endothelial cell. Some observations contribute to support this hypothesis. An interleukin storm is probably triggered by retinoic acid treatment as well as an increase in adhesion molecules, both contributing to an autocatalytic injury in patients developing the retinoic acid syndrome.

## Bibliografía

- Sachs L. Control of normal cell differentiation and the phenotypic reversion of malignancy in myeloid leukemia. *Nature* 1978; 274: 535-72.
- Koeffler P. Induction of differentiation of human acute myelogenous leukemia cells: Therapeutic implications. *Blood* 1983; 62: 709-21.
- Breitman T, Collins S, Keene B. Terminal differentiation of human promyelocytic leukemic cells in primary culture in response to retinoic acid. *Blood* 1981; 57: 1000-4.
- Fontana J, Rogers J, Durham J. The role of 13 cis-retinoic acid in the remission induction of a patient with acute promyelocytic leukemia. *Cancer* 1986; 57: 209-17.
- Wisch J, Griffin J, Kuff D. Response of preleukemic syndromes to continue infusion of low dose cytarabine. *N Engl J Med* 1983; 309: 1599-602.
- Shtairid M, Lotem J, Sachs L, Berrebi A. Review of clinical and haematological response to low dose cytosine arabinoside in acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol* 1987; 38: 3-11.
- Chommienne C. Low dose chemotherapy and differentiating agents. *Bailliers Clin Hematol* 1991; 4: 47-68.
- Huang Meng-er, Ye Yu Chen, Chen Shu rong, et al. Use of all trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988; 72: 567-72.
- Castaigne S, Chommienne C, Daniel MT, et al. All-trans retinoic acid as differentiation therapy for acute promyelocytic leukemia: 1, clinical results. *Blood* 1990; 76: 1704-9.
- Castaigne S, Chommienne C, Fenaux P, Daniel MT, Degos L. Hyperleucocytosis during all trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1990; 76: supp 1: 260a.
- Warrel R, Frankel S, Miller W, et al. Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans retinoic acid) *N Engl J Med* 1991; 324: 1385-93.
- Frankel S, Eardley A, Lauwers G, Weiss M, Warrel R. The retinoic acid syndrome in acute promyelocytic leukemia. *Ann Int Med* 1992; 117: 292-6.
- Frankel S, Eardley A, Heller G, et al. All-trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia. Results of the New York study. *Ann Int Med* 1994; 120: 278-86.
- Kanamaru A, Takemoto Y, Tanimoto M, et al. and «the Japan Adult Study Group. All-trans retinoic acid for the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1995; 85: 1202-6.
- Fenaux P. Management of acute Promyelocytic leukemia. *Eur J Hematol* 1993; 50: 65-73.
- Degos L, Dombret H, Chommienne C, et al. All trans retinoic acid as differentiating agent in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1995; 85: 2643-53.
- Fenaux P, Degos L. Treatment of acute promyelocytic leukemia. *Bailliers Clin Hematol* 1996; 9: 107-28.
- Lampugnani MG, Caveda L, Breviario F, Del Maschio A, Dejana E. Endothelial cell to cell junctions. Structural characteristics of functional role in the regulation of vascular permeability and leukocyte extravasation. *Bailliers Clin Hematol* 1993; 6: 539-76.
- Kirkpatrick J, Bittinger F, Klein C, Hauptmann S, Klosterhalfen B. The role of the microcirculation in multiple organ dysfunction syndrome (MODS): a review and perspective. *Virchows Arch* 1996; 427: 461-76.
- Pearson J. Endothelial cell function and thrombosis. *Bailliers Clin Hematol* 1994; 7: 441-52.
- Esmon C. Possible involvement of cytokines in diffuse intravascular coagulation and thrombosis. *Bailliers Clin Hematol* 1994; 7: 453-68.
- Chabrier P. The role of endothelin in the vessel wall. *Bailliers Clin Hematol* 1993; 6: 577-91.
- Baker CH, Shutton E, Dietz T. Endotoxin alteration of muscle microvascular renin-angiotensin response. *Cir Shock* 1992; 36: 224-30.
- Carlos T, Harlan J. Leucocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; 84: 2068-101.
- Totani I, Piccoli A, Pellegrini G, DiSanto A, Lorenzetti R. Polymorphonuclear leukocytes enhance release of growth factors by cultured endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 125-32.
- Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1994; 334: 1717-25.
- Dinarello C. Interleukin 1 and interleukin 1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-32.
- Janssen P, Boermeester M, Fisher E, et al. Contribution of interleukin 1 to activation of coagulation and fibrinolysis, neutrophil degranulation, and the

- release of secretory type phospholipase A<sub>2</sub> in sepsis: studies in non human primates after interleukin 1 $\alpha$  administration and during lethal bacteremia. *Blood* 1995; 86: 1027-34.
29. Petty H, Todd R. Integrins as promiscuous signal transduction devices. *Immunol Today* 1995; 17: 209-12.
30. Lub M, van Kooyk, Fidgor C. Ins and outs of LFA-1. *Immunol Today* 1995; 16: 479-81.
31. Turner N. Acute Inflammation, In Oxford Textbook of Pathology, Oxford, Oxford Univ. Press, 1992; 349-89.
32. de Waal Malefyt R, Yssel H, Roncarolo M, Spits H, de Vries J. Interleukin-10. *Curr Op Immunol* 1992; 4: 314-20.
33. Munford R. Sepsis y shock séptico en Harrison's: Principios de Medicina Interna, 13 Ed, Madrid: Interamericana, 1994; 595.
34. Natanson C, Hoffman W, Suffredini A, Eichacker P, Danner R. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Ann Int Med* 1994; 120: 771-83.
35. Parrillo J, Parker M, Natanson C, et al. Septic shock in humans: Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction and therapy. *Ann Int Med* 1990; 113: 227-42.
36. Serhan C. Eicosanoids in leukocyte function. *Curr Op Hematol* 1994; 1: 69-77.
37. Lehr HA, Arfors K. Mechanisms of tissue damage by leukocytes. *Curr Op Hematol* 1994; 1: 92-9.
38. Oppenheim JJ, Zacharie C, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene intercrine cytokine family. *Ann Rev Immunol* 1991; 9: 617.
39. Rot A. Endothelial cell binding of NAP/IL-8: role in neutrophil emigration. *Immunol Today* 1992; 1: 291-4.
40. Lindquist S, Craig E. The heat shock proteins. *An Rev Genet* 1988; 22: 631-77.
41. Ingram R. Síndrome de dificultad respiratoria del adulto, en «Harrison's, Principios de Medicina Interna» 13a ED, Madrid, Interamericana, 1994; 1425-9.
42. Dugas B, Mossalyi D, Damais C, Kolb J. Nitric Oxide production by human monocytes: evidence for a role of CD 23. *Immunol Today* 1995; 16: 574-80.
43. Chollet-Martin S, Montravers P, Gibert C, et al. Subpopulation of hyperresponsive polymorphonuclear neutrophils in patients with adult respiratory distress syndrome. Role of cytokine production. *Am Rev Resp Dis* 1992; 146: 990-6.
44. Arias-Díaz J, Vara E, Gracia E, Balibrea J. Tumor necrosis factor -alpha- induced inhibition of phosphatidylcholine synthesis by human type II pneumocytes is partially mediated by prostaglandins. *J Clin Invest* 1994; 94: 244-50.
45. Balibrea-Cantero J, Arias Díaz J, García C, et al. Effect of pentoxifylline on the inhibition of surfactant synthesis induced by TNF $\alpha$  in human type II pneumocytes. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 699-706.
46. Donnelly S, Strieter R, Reid P, et al. The association between mortality rates and decreased concentrations of interleukin 10 and interleukin 1 receptor antagonist in the lung fluids of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Ann Int Med* 1996; 125: 191-6.
47. Donnelly S, MacGregor Y, Zamani A, et al. Plasma elastase levels and the development of the adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1428-33.
48. Wollert S, Menconi M, O'Sullivan B, Wang H, Larkin V, Fink M. LY 255283, a novel leukotriene B4 receptor antagonist, limits activation of neutrophils and prevents acute lung injury induced by endotoxin in pigs. *Surgery* 1993; 114: 191-8.
49. Donnelly S, Strieter R, Kunkel S, et al. Interleukin 8 and the development of adult respiratory distress syndrome in at risk patient groups. *Lancet* 1993; 341: 643-7.
50. Rosenberg S. Inmunoterapia adoptiva del cáncer mediante células killer activadas con linfoquina e interleukina-2 recombinante. Avances en Oncología Barcelona. Ed. Espaxs 1986: 75.
51. West W, Tauer K, Yannelli J, et al. Constant infusion of IL-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer. *N Engl J Med* 1987; 316: 898-906.
52. Smith K. Lowest dose interleukin-2 Immunotherapy. *Blood* 1993; 81: 1414-23.
53. Marolda R, Belli F, Parada A, et al. A phase 1 study of recombinant interleukin 2 in melanoma patients. Toxicity and clinical effects. *Tumori* 1987; 73: 575-84.
54. Borrow J, Solloman E. Molecular analysis of the t(15; 17) in acute promyelocytic leukemia. *Balliers Clin Hematol* 1992; 5: 833-56.
55. Grignani F, Fagioli M, Alcalay M, et al. Acute promyelocytic leukemia: From genetics to treatment. *Blood* 1994; 83: 10-25.
56. Wang Z, Sun G, Shen ZX, Chen SJ, Chen Z. Differentiation therapy in acute promyelocytic leukemia. Education Programme, XXVI Congress of the ISH, Singapore 1996; 285.
57. Licht J, Chommienne C, Goy A, et al. Clinical and molecular characterization of a rare syndrome of acute promyelocytic leukemia associated with traslocation (11;17). *Blood* 1995; 85: 1083-94.
58. Gallagher R, Ping Li Y, Rao S, et al. Characterization of acute promyelocytic leukemia cases with PML-RAR $\alpha$  break/fusion sites in PML exon 6: identification of a subgroup with decreased in vitro responsiveness to all trans retinoic acid. *Blood* 1995; 86: 1540-7.
59. Daniel MT, Koken M, Romagné O, et al. PML protein expression in hematopoietic and acute promyelocytic leukemia cells: *Blood* 1993; 82: 1858-67.
60. Vyas R, Frankel S, Agbor P, Miller W, Warrel R, Hittelmann W. Probing the pathobiology of response to all trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia: Premature Chromosome condensation/fluorescence in situ hybridization analysis: *Blood* 1996; 87: 218-26.
61. Bruel A, Benoit G, De Nay D, Brown S, Lanotte M. Distinct apoptotic responses in maturation sensitive

- and resistant t(15;17) acute promyelocytic leukemia NB4 cells. 9 n cis-retinoic acid induces apoptosis independent of maturation and Bcl-2 expression. *Leukemia* 1995; 9: 1173-84.
62. Delia D, Aiello A, Formelli F, et al. Regulation of apoptosis induced by the retinoid n-(4-hydroxyphenyl) retynamide and effect of deregulated bcl-2. *Blood* 1995; 85: 359-67.
  63. Benedetti L, Grignani F, Cicchitano B, et al. Retinoid induced differentiation of Acute Promyelocytic Leukemia involves PML-RAR $\alpha$ -mediated increase of type II transglutaminase. *Blood* 1996; 87: 1939-50.
  64. Birckbichler S, Lee K, Conway E, Patterson M. Differential expression of transglutaminase in human erythroleukemia cells in response to retinoic acid. *Cancer Research* 1990; 50: 7830-4.
  65. Khanna-Gupta A, Kolibaba K, Zibello T, Berliner N. NB 4 cells show bilineage potential and an aberrant pattern of neutrophil secondary granule protein gene expression. *Blood* 1994; 84: 294-302.
  66. Dubois C, Slageter MH, Gentile A, et al. Hematopoietic Growth factor expression and ATRA sensibility in acute promyelocytic blast cells. *Blood* 1994; 83: 3264-70.
  67. Nakajima H, Kizaki M, Sonoda A, Mori S, Harigaya K, Ikeda S. Retinoids (all-trans and 9-cis retinoic acid) stimulate production of macrophage colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by human bone marrow stromal cells. *Blood* 1994; 84: 4107-15.
  68. Nakamaki T, Hino K-I, Yokoyama A, et al. Effect of cytokines on the proliferation and differentiation of acute promyelocytic leukemia cells: possible relationship to the development of «retinoic acid syndrome». *Anticancer Research* 1994; 14: 817-23.
  69. Gianni M, Terao M, Norio P, Barbui T, Rambaldi A, Garattini E. All-trans retinoic acid and cyclic adenosine monophosphate cooperate in the expression of leukocyte alkaline phosphatase in acute promyelocytic leukemia cells. *Blood* 1995; 85: 3619-35.
  70. Sarkar A, Yang P, Fan Y-H, et al. Regulation of the expression of annexin VIII in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1994; 84: 279-86.
  71. Austyn J, Wood K. Cell adhesion molecules, In: Principles of cellular and molecular immunology: Oxford, Oxford University Press. 1993; 218-34.
  72. Cortes J, Kantarjian H, O'Brien et al. All-trans retinoic acid followed by chemotherapy for salvage of refractory or relapsed acute promyelocytic leukemia. *Cancer* 1994; 73: 2946-52.
  73. Burnett A, Goldstone A, Wheatle K, and the MRC Adult Leukemia Working Party UK. Improved outcome of patients with APL following the introduction of all-trans retinoic acid (ATRA) to an intensive chemotherapy schedule, XXVI Congress of the ISH, Singapore, 1996; 819.
  74. Takeshita A, Sakamaki H, Miyawaki S, et al. and the Japan Adult Leukemia Study Group, Significant reduction of medical costs by differentiation therapy with all trans retinoic acid during remission induction of newly diagnosed patients with acute promyelocytic leukemia, *Cancer* 1995; 76: 602-8.
  75. Escudier S, Kantarjian H, Estey E. Thrombosis in patients with acute promyelocytic leukemia treated with and without all-trans retinoic acid. *Leukemia and Lymphoma* 1996; 20: 435-9.
  76. Dombret H, Scrobohaci ML, Daniel MT et al. In vivo thrombin and plasmin activities in patients with acute promyelocytic leukemia (APL); effect of all-trans retinoic acid (ATRA) therapy. *Leukemia* 1995; 9: 19-24.
  77. Limontani S, Pretell J, Potter D, et al. Bone marrow necrosis in two patients with acute promyelocytic leukemia during treatment with all trans retinoic acid. *Am J Hematol* 1994; 47: 50-5.
  78. Vahdat L, Maslak P, Miller W, et al. Early mortality and the retinoic acid syndrome in acute promyelocytic leukemia: Impact of leukocytosis, low dose chemotherapy, PMN-RAR $\alpha$  isoform and CD 13 expression in patients treated with All-transretinoic acid: *Blood* 1994; 84: 3843-9.
  79. Wiley J, Firkin F. Reduction of pulmonary toxicity by prednisolone prophylaxis during all trans retinoic acid treatment of acute promyelocytic leukemia. *Leukemia* 1995; 9: 774-8.

---  
*I never think of the future. It comes soon enough.*

Nunca pienso en el futuro. Llega bastante pronto.

Albert Einstein (1879-1955)