

# Leucemias Agudas – Un modelo para la terapia guiada por el diagnóstico - (Miguel A. Sanz)

Resumen realizado por Mauricio Lema Medina

## Introducción a la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las leucemias agudas.

En las leucemias agudas existen diferentes aberraciones del proceso normal de hematopoyesis que causan un bloqueo en la diferenciación, combinado con un estado proliferativo o de supervivencia aumentados. Dentro de la patogénesis de las leucemias agudas, se ha postulado la cooperación de las mutaciones **clase I** que **bloquean la diferenciación**, e impiden la apoptosis; y las mutaciones **clase II** que estimulan la **proliferación** y confieren ventajas en la supervivencia.

La historia natural de las LA se inicia con la aparición en la médula ósea de la célula leucémica (LC), que inicia una expansión clonal, que culmina con una falla medular pues los elementos hematopoyéticos normales son remplazados por los descendientes de la LC original. Las consecuencias clínicas de la falla medular surgen por las deficiencias de las tres líneas hematopoyéticas que producen eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Se reflejan clínicamente por anemia, susceptibilidad a infecciones y hemorragias. En las fases posteriores, la LA tiene manifestaciones extramedulares que incluyen leucocitosis en sangre periférica, infiltración de órganos como el sistema nervioso central, pulmones, riñón y otros sitios (incluyendo los denominados santuarios como el testículo). La hiperleucocitosis puede dar origen a complicaciones “mecánicas” como la leucostasis, y “metabólicas” como síndrome de lisis tumoral, con impacto clínico dramático.

### ***Diagnóstico de la LA***

La falla de la médula ósea o la evidencia de infiltración extramedular por LC induce la búsqueda del diagnóstico, en la médula ósea. La presencia de más de 20% de blastos en la médula ósea establece el diagnóstico de LA. El paso siguiente es establecer el linaje Mieloide o Linfoide; para posteriormente establecer el subtipo. Todos estos aspectos son importantísimos para establecer el manejo y las categorías de riesgo pronóstico. Algunos de ellos pueden ser predictivos de respuesta al tratamiento. Es así que para establecer el diagnósticos de las LA se requiere de la participación de una combinación de tecnologías que se complementan entre sí. La morfología, la citoquímica, la inmunohistoquímica, la citogenética (incluyendo el FISH), y los análisis moleculares son importantes para la adecuada caracterización diagnóstica de las LA. La morfología como la herramienta principal para la caracterización de las LA ya es historia (Lowenberg B, N Engl J Med 2008;358:1960-1962). El uso de citometría de flujo multiparamétrica ha permitido la identificación precisa de los inmunofenotipos leucémicos como las leucemias linfoides agudas B o T, leucemia mieloide aguda, etc. Sin embargo, para poder caracterizar las LA, y asignarle una categoría nosológica de la clasificación de la OMS, se requiere de la información que nos dan los estudios

citogenéticos y el análisis molecular, ya que se han detectado gran cantidad de leucemias agudas mieloides y linfoides con anormalidades genéticas recurrentes.

### ***Leucemia mieloides agudas***

Se consideran factores pronósticos relevantes para la leucemia mieloide aguda: edad; desempeño; comorbilidades: historia de trastornos hematológicos previos como quimioterapias previas con antraciclinas o etopósido (leucemias secundarias, también denominadas t-AML) o mielodisplasia; citogenética, estado mutacional, recuento de leucocitos; y la calidad de la respuesta al tratamiento inicial. Por ejemplo: los pacientes mayores, con pobre desempeño (PS 3, o más), comorbilidades graves e hiperleucocitosis se han asociado a mortalidad temprana durante la inducción. La existencia de antecedentes de hemopatía previa o si se trata de una t-AML, así como citogenética desfavorable o presencia de mutaciones como FLT3+ o MLL+ confieren RESISTENCIA a la terapia de inducción.

### ***El paradigma de la leucemia promielocítica aguda en la transición del enfoque terapéutico de las LA.***

Aquí el doctor Sanz hace un periplo por un tema apasionante en el que él ha sido protagonista. Se utiliza como ejemplo de los réditos que dan el entendimiento de las bases moleculares de las enfermedades neoplásicas, y su potencial impacto terapéutico. Antes de 1979 todas las AML se trataban igual. La leucemia promielocítica aguda (APL) era la más fatal de las leucemias agudas con el fallecimiento del 100%. En 1979 se identificó la t(15;17) en la APL, y desde entonces se empezó a pensar en terapia dirigida a la APL. En 1988 se identificó el ácido All-trans retinoico (ATRA) como eficaz en la APL.

En la APL se evidencia la t(15;17)(q22;q12-21) que se traduce en la fusión del PML del cromosoma 15 con el RARalfa del cromosoma 17. Esta fusión se observa en el 99% de las APL. El PML puede tener varios sitios de ruptura denominados bcr1, bcr2 o bcr3, con frecuencias de 45%, 10% y 45%, respectivamente. A modo de información, se han descrito variantes de APL que fusionan el gen RAR alfa con genes diferentes al PML. Son raras.

La proteína PML/RAR es un factor transcripcional que actúa sobre los RARE (elementos de respuesta al ácido retinoico) que reclutan otras proteínas como NCoR, mSin3 y HDAC, causando un bloqueo en la transcripción, y en la diferenciación. Cuando el ATRA interactúa con el RAR, se contrarresta el bloqueo a la transcripción dando origen a la diferenciación celular, permitiendo la apoptosis. Recapitulando, El PML/RAR causa bloqueo en la diferenciación. Con el ATRA se produce un DESBLOQUEO de la diferenciación, que permite su eventual muerte celular.

Otros agentes también se pueden utilizar en APL como el Trióxido de Arsénico (ATO), antraciclinas, inhibidores de la FLT3, etc.

Aproximadamente el 90% de los APL se curan con ATRA, quimioterapia y/o trióxido de Arsénico. La investigación clínica en APL se centra en cuál es la mejor estrategia ATRA + Quimio vs ATRA + Arsénico. Ya se sabe que la combinación ATRA + Arsénico es equivalente a ATRA + Quimioterapia en pacientes de riesgo bajo/intermedio (Leucocitos de menos 10k/mm<sup>3</sup>). Otra línea de investigación es la búsqueda de la combinación óptima de las 3 estrategias: quimioterapia, ATRA, Arsénico. (Hu J, PNAS 2009).

## **Estado actual del tratamiento en la leucemia mieloide aguda (LMA) y en la leucemia linfocítica aguda (LLA).**

### **Leucemia mieloide aguda**

Ya saliéndose del tema de la APL, regresa el Dr. Sanz al estado del arte del tratamiento de las AML. Clásicamente (léase, desde hace demasiado tiempo), el tratamiento de la AML se hace con esquema 3 + 7 (Antraciclina por 3 días + Citarabina por 7 días). Aproximadamente el 70% entra en remisión completa. Posteriormente, se entra en consolidación / intensificación con alotrasplante (donde el donante NO es el paciente) o quimioterapia. La decisión del tipo de consolidación / intensificación de tratamiento se basa en el riesgo de recaída de la AML, ya que el alotrasplante conlleva una elevada morbimortalidad, *per-se*.

### ***AML como múltiples entidades nosológicas***

Los análisis más exhaustivos de los pacientes con AML han permitido identificar que hay muchas anomalías genéticas recurrentes con implicaciones pronósticas. Ya vimos la t(15;17) que esencialmente es otra enfermedad, con un manejo totalmente divorciado del de otras AML, como vimos. Otras anomalías recurrentes incluyen t(8;21), Inv(16), MLL (11q23) que se fusiona con más de 50 partners distintos, -7/-7q, -5/-5q, abn(3q), alteraciones numéricas o estructurales de los cromosomas, etc. Otros pacientes con AML tienen un cariotipo de apariencia NORMAL. Los estudios de Grimwade (Blood 1998;92(7):2322-2333) permitió la identificación de grupos con riesgo favorable o desfavorable al compararlo con el cariotipo normal. Las citogenéticas favorables incluyen t(8;21) e Inv(16)), así como la t(15;17). Por otro lado, las anomalías de cromosoma 5, 7, 3q, o complejas exhiben un pronóstico desfavorable con supervivencias medianas muy cortas.

### ***Terapia de AML guiada por riesgo: citogenética favorable o desfavorable***

La evaluación de riesgo citogenético tiene implicaciones terapéuticas así: pacientes con citogenética favorable son tratados sin alotrasplante, sino que se hace un consolidación con altas dosis de Ara-C. Sólo se recomienda alotrasplante en pacientes con citogenética favorable con enfermedad mínima residual por citometría de flujo mayor de 0.1%, mutación del kit, o que requirieron de más de una inducción. Vamos a ver más adelante como esta recomendación se refina. Para citogenéticas desfavorables se recomienda consolidación con alotrasplante, por su pobre pronóstico con quimioterapia.

### ***Terapia de AML guiada por riesgo: citogenética normal***

Para citogenética normal, hay dudas de cómo proceder. Se han descubierto muchas mutaciones recurrentes como FLT3, NPM1, CEBPA, MLL1, NRAS, WT1, que muestra la gran heterogeneidad molecular de la AML (Döhner K. et al., Blood 2005). En el 2010 se adiciona NRAS y los el WT1 a la lista de genes importantes en la AML con citogenética normal (Döhner H et al. Blood 2010;115:453-474). Además de las mutaciones, puede haber alteraciones epigenéticas como hipermetilación de DNA, acetilación de histonas, miRNA con implicaciones cada vez mejor entendidas en la patogénesis de la enfermedad. También puede haber expresión aberrante de genes como WT1 (como veremos).

### ***NPM1+ (con FLT3 negativo) y CEBPA son variantes de AML con citogenética normal con buen pronóstico***

NPM1+/FLT3- o CEBPA son de buen pronóstico, y se puede tratar SIN alotrasplante. Se homologan a cariotipo favorable, y se pueden consolidar con Ara C de altas dosis. Es más, se ha observado que las AML NPM1+/FLT3- no se beneficiaban de alotrasplante. La supervivencia libre de enfermedad y global son muy bajas en las leucemias FLT3-ITD+ y las “triple negativas” que se definen como NPM1-, CEBP- y FLT3-ITD- (Schlenk RF et al. N Engl J Med 2008;358:1909-1918).

### **Algoritmo (provisional) de tratamiento para pacientes menores de 65 años con LMA estratificado por riesgo citogenético y perfil mutacional**

En el grupo PETHEMA que el Dr. Sanz lidera se ha definido un algoritmo para pacientes con AML candidatos a todas las opciones terapéuticas (típicamente, los menores de 65 años), así: Todos los pacientes reciben una inducción con 3 + 7. Si tienen cariotipo favorable, o cariotipo normal con NPM1+/FLT3+, o cariotipo normal con CEBPA, se consolidan con Citarabina de altas dosis. Todos los demás, se consolidan con alotrasplante. Este algoritmo es **casi** el definitivo, como veremos.

### **Progresos en el tratamiento dirigido a dianas -*qué tratamientos nuevos hay en AML?***

Hay varios agentes en investigación en AML que se pueden clasificar como: **nuevas formulaciones** (doxorubicina liposomal, citarabina liposomal), **análogos de nucleósidos** (clofarabina, elacitarabina, sapacitabina), **agentes alquilantes** (laromustina), **oligonucleóticos antisentido Bcl-2** (oblimersen), **anticuerpos monoclonales** (gemtuzumab ozogamicin), **inhibidores de la adhesión celular** (perixaflor), **inmunomoduladores** (IL-2, IL-6, GM-CSF, WT1, GVAX, células dendríticas), **agentes antiangiogénicos** (lenalidomida).

## **Terapia dirigida en AML**

La terapia dirigida (o TT) se refiere a medicamentos que bloquean el crecimiento y la diseminación de las células tumorales al interferir con moléculas específicas (denominadas dianas moleculares) que son necesarias para la carcinogénesis y que están involucradas en el crecimiento tumoral y la progresión de las células tumorales. La TT se distingue de las terapias, como la quimioterapia tradicional que simplemente interfiere con las células que se dividen rápidamente. En teoría, la TT puede ser más efectiva contra las células tumorales y menos tóxica a las células normales.

Se han desarrollado varios tipos de TT como: **TT que bloquean enzimas o receptores de factores de crecimiento específicos** como TK, mTOR, VEGF, etc. **TT que modifican la función de proteínas que regulan la expresión génica y otras funciones** como inhibidores del HDAC, y ATRA. **TT que inducen a las células leucémicas a apoptosis** como los inhibidores de los proteasomas. **TT antiangiogénicos**, **TT que son anticuerpos monoclonales que sirven de vehículo para moléculas tóxicas** como el gemtuzumab ozogamicin.

La lista de agentes de TT que están siendo estudiados en AML es larga. Incluye inhibidores de tirosina kinasas como imatinib, dasatinib, nilotinib, sorafenib; inhibidores de aurora kinasa como denusrtib, barsertib, inhibidores de VEGF como bosutinib; inhibidores de FLT3 como lesturtinib, midostarin, tandutinib, quizartinib; inhibidores de mTOR como rapamicina, temsirolimus, everolimus; inhibidores de la histona deacetilasa como vorinostat, ácido valproico, depsipeptid; inhibidores de la HSP90 como ... a quién le importa; inhibidores de los proteasomas como bortezomib, carfilzomib, ONX 0912; inhibidores del JAK2 como lestaurtinib, ruxolitinib; inhibidores de la farnesyl transferasa como tipifarnib (que aparece en todas las tablas del futuro desde hace 15 años), agentes hipometilantes como decitabina y azacitidina.

### ***Mutaciones del FLT3 en AML, una oportunidad para terapia dirigida en AML***

El FLT3 es un receptor de membrana con actividad tirosina kinasa expresada en las células progenitoras hemaotopoyéticas. La FLT3 está sobre-expresada en la mayoría de las AML, y está mutada en una gran proporción de pacientes con AML (con citogenética normal). Existen dos tipos de anomalías recurrentes: la más común es la FLT3-ITD (internal tandem duplication del asa de activación) y la FLT3-TKD. En las AML de adultos aproximadamente un 25% son FLT3-ITD, y 10% son FLT3-TKD. También se observa en las AML pediátricas pero en menor proporción. Los pacientes con mutaciones activantes del FLT3 tienen un pronóstico muy malo. Hay varios inhibidores del FLT3 en estudio. Al que le apostó el Dr. Sanz, lestaurtinib (CEP701), fue un fracaso. Hay estudios con otros anti FLT3-ITD como el quizartinib que han tenido una respuesta muy satisfactorias.

### ***Conclusiones sobre TT en AML***

A diferencia de APL o CML, AML es una enfermedad heterogénea con múltiples vías activas, y por ello el tratamiento continúa siendo difícil. Existe una amplia gama de agentes nuevos de TT que son promisorio y que ofrecen nuevas oportunidades. Sin embargo, sus roles no ha sido establecidos. Hay agentes que son efectivos en pacientes

que NO exhiben la diana molecular indicando que pueden haber otros mecanismos de acción. Termina con esta frase de cajón “Further studies to identify relevant molecular targets are warranted”, qué pena ajena me da!

## **Leucemia linfoide aguda**

La ALL ocurre en niños y adultos. En niños tiene mejor pronóstico. Los pediatras dicen que es porque ellos los tratan bien (y nos tratan con algo de desdén, seguramente merecido). Además de tratarlos bien, puede haber un elemento de biología que distinga a las ALL pediátricas de las adultos. Por ejemplo: en pediatría son comunes los LC hiperdiploides (30%), la fusión TEL-AML1 t(12;21) (20%), que son de buen pronóstico. Las translocaciones de mal pronóstico como bcr-abl (también conocida como Ph+, por Philadelphia) son comparativamente raras (4%). En adultos sólo el 6% son hiperdiploides, sólo el 2% son TEL-AML1+, y casi el 25% son bcr-abl+. La TT ha permitido que ciertos subgrupos de ALL mejoren sus desenlaces como: inhibidores de tirosina kinasa (ie, imatinib) en Ph+ ALL; la adición de Rituximab a la quimioterapia de alta intensidad en las leucemias de Burkitt (con la t(8;14) que involucra el myc y el gen pesado de la inmunoglobulina), y que son CD20+ por ser de linfocitos maduros.

La joya de la corona, sin embargo, es el blinatumomab que es un nuevo anticuerpo monoclonal biespecífico anti CD19 y Anti CD3. Con el Blinatumomab se obtiene una respuesta espectacular de casi 70% en pacientes con recaídas, con una alta tasa de remisión molecular. Es el agente único MÁS activo en B-ALL. El Blinatumomab reconoce el CD19 de la B-Cell ALL y el CD3 de las células T efectoras creando una estrecha conexión intercelular que acentúa la citotoxicidad mediada por anticuerpo sobre la célula CD19+ (conocido como mecanismo BiTE) (Bassan R Blood 2012;120:5094-5095).

## **Conclusiones sobre la ALL**

“Las alteraciones genéticas son consideradas el más importante factor pronóstico en la ALL. Las mutaciones y alteraciones en la expresión génica no sólo determinan el fenotipo de las células leucémicas, sino que también influyen en la respuesta al tratamiento. La incorporación de estos conocimientos en los algoritmos de decisión terapéutica son actualmente una realidad, especialmente en la ALL con t(9;22) y en la t(8;14). Blinatumomab puede revolucionar el tratamiento de la ALL.”

## **Enfermedad residual mínima del AML**

Una médula ósea morfológicamente normal puede aún albergar niveles variables de células leucémicas residuales. Puede haber persistencia de células leucémicas por debajo del umbral establecido para la respuesta completa por morfología convencional (que es < 5% blastos en la médula ósea).

**La velocidad de la remisión y la cantidad de enfermedad mínima residual (MRD) determinan el riesgo de recaída.** Cuando hay remisión rápida y profunda, se puede producir la curación. Cuando la remisión es lenta y superficial, la recaída es la

regla. Para establecer la profundidad del MRD se requieren de técnicas altamente sensibles como el estudio de inmunofenotipos y el análisis molecular. Se pueden analizar los genes de fusión, mutaciones o hiperexpresiones.

Para evaluar la MRD se pueden analizar los **genes de fusión** como el PML-RARA, CFB-MUH11, RUNX1-RUNX1T1, MLL-fusion partner, etc; las **mutaciones** como NPM1, FLT3, CEBPA, MLL-PTD, RUNX1; o la **hiperexpresión** de genes como el WT1, BAALC, ERG, MN1. La forma más usual de evaluar la MRD es por citometría de flujo en donde se conceptúa que la presencia de **menos de 0.1% del inmunofenotipo de LC** significa que no va a haber recaída (San Miguel J F et al. Blood 2001;98:1746-1751)

En la **APL** se ha establecido que el pronóstico del tratamiento de pacientes que reciben ATO de rescate en recaída molecular es mejor que cuando se realiza en recaída hematológica. Se pueden hacer RQ-PCR del PML-RAR (Grimwade, JCO, 2009). Los alemanes han demostrado que la persistencia de **NPM1** (más de 200 NPM1mut/10 a la 4) en la evaluación de MRD tienen peor pronóstico, pues tienen una tasa de recaída del 100%. (Krönke J et al. JCO 2011;29:2709-2716). La **hiperexpresión del WT1** predicen recaída en el 100% de los pacientes con AML (lo normal es menos de 20 copias por 10.000 células. (Cilloni et al, Haematologica 2008)

#### **Algoritmo (definitivo, por ahora) de tratamiento para pacientes menores de 65 años con LMA estratificado por riesgo citogenético y perfil mutacional**

En el grupo PETHEMA que el Dr. Sanz lidera se ha definido un algoritmo para pacientes con AML candidatos a todas las opciones terapéuticas (típicamente, los menores de 65 años), así: Todos los pacientes reciben una inducción con 3 + 7. Si tienen cariotipo favorable, o cariotipo normal con NPM1+/FLT3+, o cariotipo normal con CEBPA, se consolidan con Citarabina de altas dosis. Todos los demás, se consolidan con alotrasplante (excepto los de riesgo intermedio – verdaderamente - que no tienen donante HLA idéntico que se consolidan con Ara C de altas dosis). Incorpora, además, la MRD al final de la inducción así: **los pacientes con riesgo favorable que NO obtienen MRD de menos de 0.1%, pasan a considerarse de riesgo desfavorable, y candidatos a alotrasplante.**