

## A FONDO

### Avances en la terapia de la leucemia infantil

Dr. Riccardo Masetti

Oncología ed Ematología Pediatrica “Lalla Seràgnoli”. U.O. Pediatria Pession. Azienda Ospedaliero-Universitaria Sant’Orsola Malpighi. Bologna, Italia.

En esta revisión se describen las características generales de las formas más frecuentes de leucemia, especialmente de la leucemia infantil, que ha sido el modelo de estudio para la biología de la enfermedad. Además, se presentan nuevos abordajes terapéuticos para el tratamiento de este tipo de leucemia: inhibidores de las proteínas tirosina-quinasa, anticuerpos específicos frente a los antígenos expresados por el clon leucémico e inhibidores del proteosoma y de las enzimas ADN metiltransferasas. El artículo concluye con la revisión de la eficacia de las denominadas células *CAR-T* (células T con Receptores de Antígenos Quiméricos) frente a las células cancerígenas de leucemia.

**Palabras clave:** ADN metiltransferasas, células *CAR-T*, leucemia infantil, proteínas tirosina-quinasa, proteosoma.

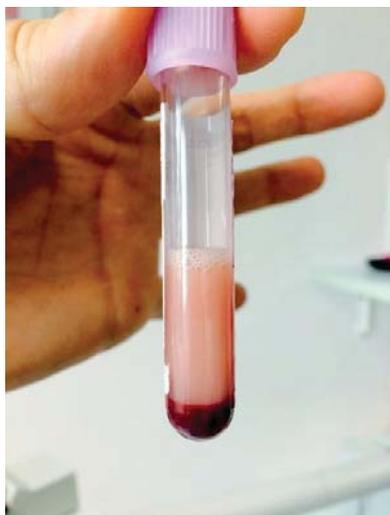
#### Introducción

“La llegada de un paciente con leucemia aguda todavía hace temblar a todo el personal del Hospital, desde el Departamento de oncología, en los pisos más altos, hasta el laboratorio clínico sepultado en el subterráneo. La leucemia es el cáncer de los glóbulos blancos, el cáncer en una de sus manifestaciones más explosivas y violentas. Las enfermeras dicen que con esa enfermedad, hasta un pequeño corte se convierte en una emergencia. La rapidez de su desarrollo, su gravedad, su inexorable crecimiento, es capaz de dejar sin aliento al personal sanitario, lo que implica tomar decisiones rápidas y con frecuencia drásticas. Es terrible para quien la padece, tremenda para quien la estudia y para quien debe tratarla”. Es así como empieza la descripción de la leucemia que el Dr. Mukherjee, premio Pulitzer en el 2011, hace en su ensayo “*The Emperor of All Maladies: A Biography of Cancer*”.

Por muy dura que sea, la leucemia ha cruzado la historia del siglo pasado, ha marcado el ritmo de los descubrimientos médicos más emocionantes y ha revolucionado para siempre nuestra forma de pensar al enfrentarnos al cáncer. Su nombre procede del griego clásico *leukos* (λευκός-bianco) *aima* (αἷμα-sangre)

Forma de mencionar este artículo: Masetti, R. 2017, Avances en la terapia de la leucemia infantil. AmbioCiencias, 15, 5-20. ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

que señala fácilmente su sintomatología, o lo que es lo mismo una abundancia desmesurada de glóbulos blancos que modifica el color de la sangre. El proceso proliferativo incontrolado tiene lugar en la médula ósea, que pierde la posibilidad de producir células sanguíneas en número correcto y con funciones normales. Fue un joven investigador alemán de 24 años, Rudolf Virchow, quien publicó en 1845 el caso de una cocinera de 50 años, cuyos leucocitos habían invadido la sangre de forma explosiva, terminando por acumularse en el bazo. Durante la autopsia, Virchow no tuvo necesidad de utilizar el microscopio para distinguir el estrato espeso y lechoso de los glóbulos blancos que flotaban sobre los rojos (tal y como se observa en la **Fig. 1**). Virchow fue el primero en preguntarse si no sería un estado anormal de la propia sangre en lugar de un proceso “supurativo” externo.



**Figura 1.** Muestra de sangre periférica procedente de un bebé con leucemia inicial. Sobre los eritrocitos flota una capa abundante de leucocitos (blastos de leucemia).

Hablar de leucemia implica abordar una historia de genes, moléculas, anticuerpos y fármacos. Una enfermedad que, más que el resto de tumores, reúne en sí un largo camino de descubrimientos, desilusiones, desafíos y victorias. Victorias celebradas bajo la mirada atenta de la biología, de la genética, de la química y de la medicina, y donde las historias de los enfermos corren paralelas a la historia de las personas que, con gran coraje, han empeñado su vida en el laberinto de la ciencia.

A día de hoy, en 2017, es bastante sencillo explicar que la leucemia se produce por modificación de ciertas secuencias del genoma en determinadas células, lo que conduce a la alteración de mecanismos biológicos fundamentales para las mismas, de modo que “enloquecen”, convirtiéndose en los llamados blastos leucémicos que proliferan sin control. Todos comprendemos que los fármacos quimioterápicos destruyen esas células “enloquecidas” con alteraciones genéticas y nos resulta sencillo entender que los linfocitos, o los anticuerpos transfe-

ridos a un enfermo, cooperan con la quimioterapia para destruir los blastos leucémicos. Pero la historia real no ha sido así de ordenada, ni secuencial, ni así de clara. Las piezas del puzzle, que a nuestros ojos aparecen perfectamente ordenadas, muchas veces se organizaron de manera confusa a lo largo del camino turbulento que la medicina de las leucemias ha seguido en los últimos 50 años. Todo esto, a los ojos de un joven biólogo o médico de hoy día parecería casi una locura.

Haciendo historia, en 1948 Farber había visto remitir la leucemia de un niño suministrando el agente quimioterapéutico aminopterina (Farber *et al.*, 1948), años antes de que Watson y Crick, en 1953 y basándose en los trabajos de Rosalind Franklin, presentaran la estructura del ADN (Crick y Watson, 1953). No fue hasta 1958 cuando Sanger ganó el premio Nobel por haber determinado la secuencia de aminoácidos de la proteína insulina y décadas después cuando desarrolló un método de secuenciación del ADN, que le valió su segundo Nobel en 1980, lo que permitió un avance significativo en el conocimiento de las bases genéticas de las enfermedades. Sin embargo, ya en 1957, Don Thomas había realizado el primer trasplante de médula ósea (Thomas *et al.*, 1957) sin conocer los mecanismos básicos que hoy nos parecen indispensables. La leucemia cierra en sí toda esta increíble coincidencia de eventos, que hablan de genes, moléculas, virus y bacterias, pero sobre todo hablan de hombres, de científicos y de enfermos, así como de sus increíbles historias que han llegado hasta nuestros días.

A veces estas historias se entrecruzan de formas insospechadas; Carl June, es uno de los inmunólogos más famosos del mundo por sus investigaciones con células modificadas genéticamente: las llamadas *CAR-T cells* (Grupp *et al.*, 2013); estas son linfocitos T con un receptor antigénico quimérico. En este artículo hablaremos mucho de la utilización de *CAR-T cells*, ya que se ha revelado como una de las terapias de nueva generación más eficaces en la cura de las leucemias refractarias a los tratamientos convencionales. La carrera del Dr. June hasta la edad de 41 años estuvo centrada en la investigación básica, hasta que en 1996 a su mujer le diagnosticaron un tumor de ovario. El Dr. June trató desesperadamente de encontrar una compañía que dispusiese de la instrumentación necesaria para el desarrollo de una inmunoterapia eficaz, pero su mujer falleció en 2001, antes de haberlo conseguido. Con su perseverancia, el Dr. June continuó la lucha para desarrollar una inmunoterapia contra el cáncer, tratando de encontrar un equilibrio entre la investigación académica y los intereses de las compañías farmacéuticas. Su tratamiento ha revolucionado la historia de las leucemias por los impresionantes resultados obtenidos y, en agosto de 2017, casi mientras se escribe este artículo, Novartis ha anunciado la aprobación por parte de la *Food and Drug Administration* (FDA, USA) para suministrar *CAR-T cells* como fár-

maco de inmunoterapia ya disponible en clínicas y hospitales especialmente autorizados en USA. Veinte centros americanos comenzarán en breve un ensayo en el que aplicarán *CAR-T cells* a centenares de pacientes con leucemia resistente a tratamientos convencionales y donde se evaluará su seguridad en el tratamiento a largo plazo.

En esta revisión trataremos de describir brevemente las características generales de las formas más frecuentes de leucemia, especialmente de la leucemia infantil, que ha sido el modelo de estudio para la biología de la enfermedad y, especialmente para afrontar el tema de las nuevas fronteras terapéuticas.

### Las leucemias infantiles

El tumor de mayor incidencia en edad pediátrica es la leucemia linfocítica aguda (LLA). Las leucemias agudas suponen el 33% de todas las neoplasias y la LLA representa el 80% de las mismas. El pico de mayor frecuencia se produce entre los 2 y los 5 años de vida, siendo la relación entre sexos es de 1:1.

La terapia de la LLA infantil representa uno de los mayores éxitos de la medicina moderna. En cuanto a las tasas de supervivencia, se ha pasado de valores del 20% en los años 50 del pasado siglo, a casi el 90% en nuestros días (Pui *et al.*, 2006). La LLA es una enfermedad linfoproliferativa sistémica, originada por una transformación neoplásica imputable a mutaciones somáticas de células madre hematopoyéticas de la línea linfóide, con proliferación clonal de los linfoblastos (células linfoides inmaduras). En realidad esta definición tendría que ser actualizada, ya que está demostrado que aunque originalmente los blastos, (“*omnis cellula e cellula*” como decía Virchow), derivan de una sola célula, y por ello se han definido como “clonales”, se diferencian a partir de la población inicial mediante sucesivas modificaciones genéticas, produciendo numerosas subpoblaciones, denominadas subclones.

A pesar de los avances realizados en este campo, la patogénesis de la LLA no está bien definida y se atribuye a una interacción entre predisposición genética y exposición a factores ambientales. Gracias a los nuevos métodos de secuenciación del ADN se ha podido estudiar la predisposición genética de los individuos a la enfermedad. Además de la conocida relación con el síndrome de Down, se han identificado numerosos polimorfismos genéticos asociados a un mayor riesgo de desarrollar LLA. Algunas variantes alélicas de los genes *PAX5* y *ETV6* están asociadas a LLA familiar. También se ha tratado de relacionar la enfermedad con ciertas variables ambientales, especialmente las radiaciones ionizantes (rayos gamma) y no ionizantes (campos electromagnéticos), pero las conclusio-

nes de los estudios son controvertidas. Desde el punto de vista molecular, una hipótesis que tiene gran credibilidad es la del “doble hit”, que postula que a una predisposición genética se superpone un segundo daño genético (causado por ejemplo por una respuesta inmune anómala a infecciones comunes post-natales), que puede determinar el origen de la leucemia.

Las leucemias mieloides agudas (LMA) representan el 13% de todas las leucemias pediátricas. A diferencia de LLA, LMA tienen un pronóstico mucho más desfavorable, en gran parte debido a una mayor probabilidad de recidiva (repetición de la enfermedad tras la convalecencia), aspecto que ocurre casi en el 30% de los pacientes. A pesar de los grandes progresos llevados a cabo con novedosos protocolos terapéuticos y del perfeccionamiento de los trasplantes de células madre hematopoyéticas, que están indicados para muchas LMA, el grado de supervivencia libre de enfermedad a los 5 años es del 60%.

Existen otras formas de leucemia en los niños, pero en porcentajes muy bajos y constituyen enfermedades raras que necesitan ser tratadas específicamente en centros acreditados y especializados.

### **Nuevos fármacos y nuevas fronteras terapéuticas en el tratamiento de la leucemia infantil**

Como se ha dicho antes, en los últimos años los pacientes afectados por leucemia aguda en edad pediátrica han alcanzado porcentajes de supervivencia superiores al 90% en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) y de casi el 60% en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda (LMA). Aunque los resultados obtenidos hasta ahora sean muy esperanzadores, el pronóstico para este grupo de pacientes con recidivas de la enfermedad o refractarios al tratamiento (Pui *et al.*, 20015; Pession *et al.*, 2013) no es demasiado optimista.

En la actualidad una intensificación de la quimioterapia convencional no comportaría una mayor eficacia en términos de supervivencia, por el contrario, expondría al paciente a riesgos derivados de la toxicidad del tratamiento. Por estos motivos es necesario encontrar nuevas estrategias terapéuticas, que permitan actuar de modo preciso sobre los mecanismos de desarrollo, supervivencia y proliferación de las células tumorales. Todo esto requiere de un enfoque terapéutico diferente basado en los siguientes aspectos:

1. Identificar subgrupos específicos de pacientes con alteraciones genéticas y moleculares conocidas, que puedan beneficiarse de una reducción o una intensificación del tratamiento.
2. Profundizar en el conocimiento de la biología de las células madre de la leucemia (CML).
3. Progresar en la identificación/caracterización de nuevas alteraciones

genéticas y/o epigenéticas, claves para la patogénesis de estas enfermedades y que sean objetivos potenciales para el desarrollo de nuevos fármacos (Brown *et al.*, 2009).

## **Inhibidores de las proteínas tirosina-quinasa (ITQ)**

### **Gen *BCR-ABL***

Las proteínas tirosina-quinasa son conocidas por tener un papel fundamental en los procesos de transducción de las señales de proliferación y diferenciación celular. Tales procesos frecuentemente se encuentran alterados en las células leucémicas, debido a que algunas de estas proteínas pierden el control que realizan sobre los procesos celulares y se mantienen activas sin ninguna regulación, provocando un ritmo de división descontrolado. El desarrollo de inhibidores de tirosina-quinasa (ITQs) ha contribuido a mejorar el pronóstico de los pacientes afectados por Leucemia Mieloide Crónica (LMC) (patología muy frecuente en individuos adultos o ancianos) y de los afectados por LLA que muestran el cromosoma Philadelphia (*Ph+*), alteración genética frecuente en estos enfermos, tanto en edad adulta como en edad pediátrica.

El cromosoma Philadelphia es el resultado de una translocación cromosómica entre los cromosomas 9 y 22 generándose el gen *BCR-ABL*, (fusión de genes *BCR* y *ABL*), cuyo producto es una proteína tirosina-quinasa activa que interviene en numerosos mecanismos de crecimiento y proliferación de las células tumorales. El agente Imatinib es un ITQ que ha revolucionado completamente el tratamiento de esta patología, dado que al inhibir el producto del cromosoma Philadelphia, es capaz de frenar la proliferación e inducir la apoptosis de la célula leucémica *Ph+*. El uso de este inhibidor a lo largo de los años, ha permitido curar muchas formas de LMC y LLA *Ph+* que anteriormente tenían que ser tratadas con trasplantes de células madre hematopoyéticas.

La aparición de nuevas mutaciones ha generado una ineficacia del tratamiento con Imatinid, haciendo necesario el desarrollo de ITQs de segunda generación, como Dasatinib y Nilotinib, que evitasen los mecanismos de resistencia descritos. Además de la tirosina quinasa *BCR-ABL*, Dasatinib inhibe otras quinasas oncogénicas, como la quinasa familiar *Src*, o quinasas de clase 3 tales como *c-Kit* o el receptor de factores de crecimiento derivados de plaquetas. A pesar de los progresos obtenidos con los ITQs de segunda generación, han vuelto a identificarse clones leucémicos resistentes a estas terapias entre los pacientes con el gen *BCR-ABL* que presenta la mutación *T315I*. Recientemente se ha aprobado un ITQ de tercera generación, el Ponatinib, que ha permitido mejorar la supervivencia global de pacientes que habían desarrollado resistencia y eran refracta-

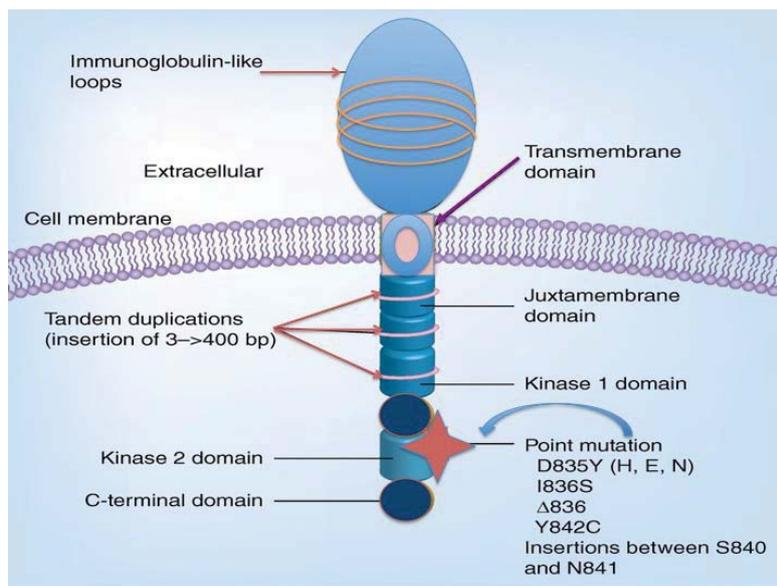
rios o intolerantes a los ITQs de primera y segunda generación (Price *et al.*, 2013; Sasaki *et al.*, 2016).

### **FLT3 (FMS-like tyrosine kinase 3)**

La proteína FLT3 (**Fig. 2**) pertenece a la familia de las tirosina-quinasas de clase 3, de las que forman parte c-Kit y el receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Esta proteína tirosina-quinasa es una proteína transmembrana unipaso, cuyo extremo carboxilo terminal es intracelular y contiene dos dominios con actividad quinasa. Cerca del 30% de los pacientes afectados por LMA en edad pediátrica presenta una mutación en el gen *Flt3*. La sobreexpresión de *Flt3* silvestre (no mutado) (**Fig. 2**) se observa además en otros casos como consecuencia de reorganizaciones en otros genes responsables de su regulación. Así, entre los pacientes que presentan una reorganización del gen *MML*, el 80% de los enfermos que desarrollan LLA en los primeros 12 meses de vida y el 5% de los que la desarrollan en edades posteriores, sobreexpresan *Flt3* (Meshinchi *et al.*, 2006).

Las mutaciones más frecuentes en el gen *Flt3* son duplicaciones en tándem (aparecen en dos tercios de los casos de pacientes con LMA) que afectarán a la región citoplasmática de la proteína próxima a la membrana. En los casos restantes se han observado mutaciones puntuales en la zona que codifica los dominios con actividad tirosina-quinasa. La señalización por FLT3 es fundamental en los mecanismos de desarrollo de las células madre hematopoyéticas, activando la proliferación, reduciendo la apoptosis e inhibiendo la diferenciación de las células leucémicas. La aparición de nuevas mutaciones en el gen *Flt3* ha provocado, en los últimos años, la falta de éxito de la terapia con los ITQs en diversos pacientes, por lo que resulta necesario identificar las mutaciones más frecuentes para aplicar el fármaco más adecuado en cada caso (Nguyen *et al.*, 2017).

Algunos de los inhibidores de FLT3 de primera generación, ya han sido empleados en estudios clínicos con pacientes de LMA adultos y pediátricos en fase I (Lestaurtinib; Pui *et al.*, 2006; Pui *et al.*, 20015; Winters *et al.*, 2017) o fase I/II (Midostaurin; Strati *et al.*, 2015; Cooper *et al.*, 2015; Stone *et al.*, 2015), mostrando una eficacia moderada. Un inhibidor de segunda generación, Quizartinib, mucho más potente y selectivo para FLT3 que otros fármacos anteriores, ha mostrado resultados más satisfactorios (Cooper *et al.*, 2016). Sorafenib es otro fármaco inhibidor de FLT3 que interviene también en otras vías de transducción de señal (Hu *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Estructura de la proteína FLT3 y mutaciones en pacientes con LAM (modificado de Patnaik, 2017).

### ***m-TOR***

m-TOR es la diana del inmunosupresor rapamicina en células de mamífero; se trata de una proteína con actividad serina-tirosina quinasa que interviene en diversas vías de transducción de señales como PI<sub>3</sub>K/AKT, RAS, TCL1, BCR-ABL, promoviendo la síntesis proteica, el crecimiento y la proliferación celular (Teachey *et al.*, 2009).

La inhibición de mTOR por parte de la rapamicina ha mostrado una actividad antitumoral discreta en los estudios preclínicos. En adultos con LMA recidivante, la monoterapia con este compuesto ha producido resultados intermedios. Sin embargo, en otros ensayos clínicos la utilización de algún inhibidor de m-TOR junto con otros agentes quimioterapéuticos ha demostrado una actividad significativamente mayor que su administración en monoterapia. Por lo tanto el uso de los inhibidores de m-TOR en el tratamiento de la LLA en edad pediátrica es otra opción a considerar (Wei *et al.*, 2006).

### ***GLIS2***

El 17% de las leucemias megacarioblásticas agudas (un subtipo de las LAM), y el 1,8% de las LMA citogenéticamente normales, presentan el gen de fusión *CBFA2T3-GLIS2*. El producto de este gen genera la sobreexpresión de algunos genes relacionados con la ruta de transducción de señal llamada “Hedgehog”. Esta ruta aparece alterada frecuentemente en distintos procesos de carcinogénesis, por ejemplo en tumores cerebrales. GANT61 es un inhibidor específico de esta ruta de señalización. En un estudio reciente se ha demostrado

como GANT61 reduce fuertemente la expresión de los genes ligados a “Hedgehog” en estudios *in vitro*, paralizando el ciclo celular de las células leucémicas con esta alteración genética; en otro estudio, se pudo ver que el efecto se amplifica suministrando GANT61 junto con inhibidores de la quinasa AURKA (Aurora Kinase A). Estos estudios *in vitro* suponen una importante base para la futura utilización de estos fármacos en ensayos clínicos *in vivo*, donde se valorará la eficacia y la tolerancia de dicho fármaco (Masetti *et al.*, 2017; Thiollier *et al.*, 2012).

### **Anticuerpos monoclonales**

Los anticuerpos monoclonales constituyen uno de los capítulos más fascinantes de la llamada inmunoterapia anti-tumores. La inmunoterapia dirigida se basa en el uso de anticuerpos específicos contra antígenos expresados en la superficie de células malignas. Compuestos adicionales (por ejemplo, citotoxinas o isótopos radiactivos) pueden conjugarse con los anticuerpos para mejorar su actividad antitumoral. En la leucemia, los antígenos diana ideales son los expresados por el clon leucémico, pero que no se expresan en otros tejidos sanos y en particular en células madre hematopoyéticas normales.

### **Anti-CD33**

CD33 es una sialoglicoproteína presente en la superficie de las células cancerígenas en el 85-90% de los casos de LMA de adultos y niños (Walter *et al.*, 2012). "Gemtuzumab" ozogamicina (GO) es un anticuerpo monoclonal anti-CD33, humanizado y conjugado con calicheamicina, una potente citotoxina que actúa rompiendo la doble cadena de ADN e induciendo apoptosis celular. Aunque en 2010 el fármaco fue retirado del mercado de los EE.UU debido a un aumento de la mortalidad en la terapia de inducción, estudios posteriores tanto en niños como en adultos afectados por LMA, demostraron la tolerancia al tratamiento con GO en una dosis reducida (Castaigne *et al.*, 2012). El primer estudio pediátrico se realizó en 2003, y se trataron niños con LMA refractaria o recurrente, observando una respuesta importante al tratamiento (Kell *et al.*, 2003). Un estudio en Fase III del COG (Children Oncology Group) también demostró la eficacia del tratamiento, en términos de supervivencia libre de enfermedad y de prevención de la recidiva en pacientes con LMA, cuando el tratamiento se asociaba con la quimioterapia convencional (Gamis *et al.*, 2014; Annesley y Brown, 2015).

### **Anti CD22**

CD22 es una proteína de la superficie de los linfocitos B en la etapa inicial de desarrollo y está presente en un porcentaje superior al 90% en casos de leucemia linfoblástica aguda, lo que convierte a esta proteína en un antígeno de superficie susceptible de ser tratado con anticuerpos (Shah *et al.*, 2015).

"Epratuzumab" es un anticuerpo monoclonal humanizado (IgG1) dirigido contra CD22 que se une al dominio extracelular en una rápida internalización del complejo anti-CD22-CD22, lo que comporta una modulación de la activación celular, más que la determinación de una actividad citotóxica directa. Estudios en fase II han demostrado una actividad en su administración en monoterapia durante la fase de reinducción de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda refractaria/recurrente (Raetz *et al.*, 2015; Pierro *et al.*, 2017)

A diferencia de "Epratuzumab", el anticuerpo monoclonal "Inotuzumab" se une a CD22 permitiendo la internalización de un agente sintético derivado del agente calicheamicina (antibiótico con actividad antitumoral) que interfiere con la doble hebra de ADN y conduce a la célula leucémica a la apoptosis. La incorporación celular del fármaco conjugado con el anticuerpo anti-CD22 permite no solo la muerte de las células en proliferación, sino también la muerte de las células quiescentes.

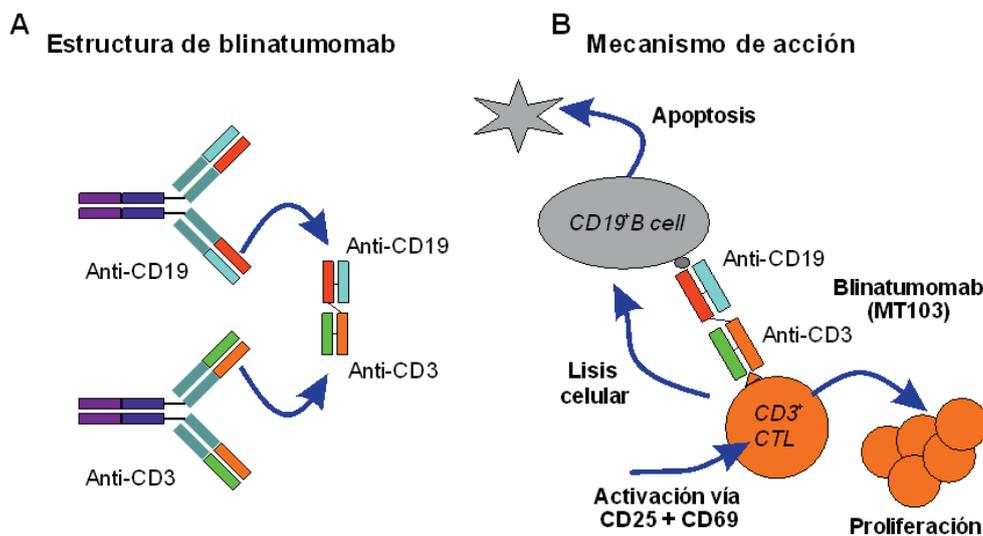
### **Anticuerpos "BiTe"**

"Blinatumomab" es el primer anticuerpo monoclonal de una nueva clase conocida como BiTe. Está compuesto por dos subunidades de anticuerpo scFv (*single chain fraction variable*) unidas por una cadena de aminoácidos; esto es, una subunidad CD3 $\epsilon$  específica (anti-CD3; expresada en linfocitos T CD8+, CD4+ y reguladores) y la otra específica para CD19 (anti-CD19; expresada en linfocitos B), de forma que enlaza los linfocitos T a los linfocitos B tumorales. El enlace entre ambos induce un fuerte estímulo de las células T, activando los mecanismos directos de lisis que provocan la apoptosis de la célula tumoral (Ribera *et al.*, 2015); ver **Fig. 3**.

### **Inhibidores del proteosoma: Bortezomib y Carfilzomib**

Los inhibidores del proteosoma son una clase de fármacos de nueva generación que actúan mediante la inhibición de la vía de transducción de la señal NF-kB, implicada en los mecanismos anti-apoptóticos. Los proteosomas estructuralmente activados, son capaces de favorecer la supervivencia de los blastocitos leucémicos en la LMA, ya que mantienen la señal NF-kB activa. Bortezomib fue el primer inhibidor de proteosoma aprobado por la Administración de Ali-

mentos y Medicamentos (FDA) de EE.UU. en el tratamiento del mieloma y en la recurrencia de linfomas no Hodgkin. La eficacia en estudios preclínicos *in vitro* en la LLA fue la justificación para su uso en monoterapia en adultos y niños con resultados muy prometedores (Cortes *et al.*, 2004; Horton *et al.*, 2007).



**Figura 3.** Blinatumomab: estructura y mecanismo de acción (Queudeville *et al.*, 2017).

Carfilzomib es otro inhibidor del proteosoma que se distingue estructural y mecánicamente del Bortezomib. Se ha demostrado que alcanza niveles más altos de inhibición de los proteosomas respecto a Bortezomib en modelos preclínicos (Lee *et al.*, 2016). En base a estos datos alentadores, se están llevando a cabo estudios en Fase I para evaluar la toxicidad y la eficacia del tratamiento con Carfilzomib en pacientes pediátricos con leucemia aguda recurrente o refractaria, en asociación con la quimioterapia convencional (Annesley *et al.*, 2015).

### Dianas epigenéticas

Las modificaciones epigenéticas, incluida la metilación de las islas CpG de la región promotora del gen diana y la modificación de la cromatina por acetilación de la histona, juegan un papel crucial en el silenciamiento transcripcional de los genes oncosupresores, favoreciendo, de hecho, la transformación maligna de la célula tumoral.

Estas modificaciones pueden contrarrestarse mediante la inhibición de las enzimas ADN metiltransferasas o mediante la desacetilación de las histonas (llevada a cabo por las desacetilasas de histonas), de tal manera que se evite el silenciamiento de los genes oncosupresores, que son fundamentales en la regulación del ciclo celular.

En la edad pediátrica, los resultados preliminares de los ensayos clínicos en curso, han demostrado que la Azacitadina y la Decitabina, en combinación con agentes quimioterápicos, son eficaces en el tratamiento de niños con LLA recidiva/refractaria.

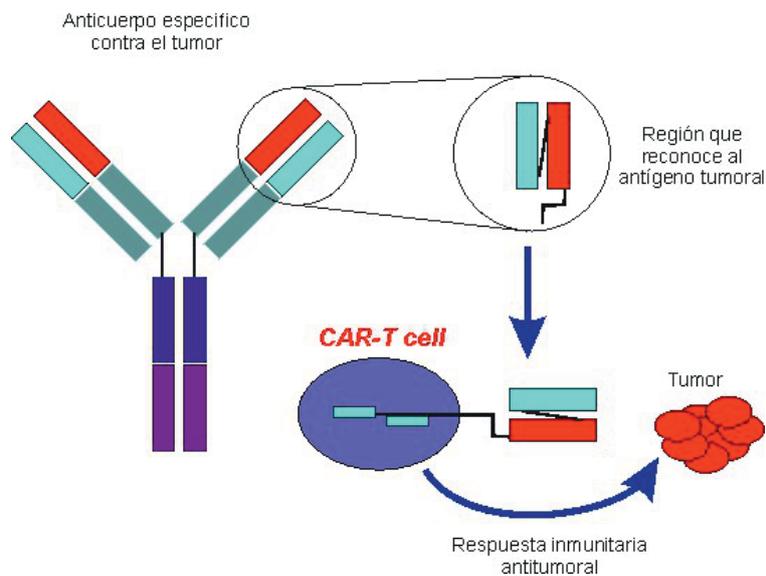
En base a los resultados obtenidos *in vitro* se están efectuando estudios en fase I en adultos y niños afectados de LLA con reordenamiento del gen *MLL*, para evaluar la eficacia del tratamiento con inhibidores de DOTL1, una metiltransferasa que al unirse en un complejo de activación con proteínas de fusión *MLL* (Annesley *et al.*, 2015), provoca un patrón de metilación alterado en los promotores de algunos genes, desencadenando el proceso leucémico.

### **Inmunoterapia celular: las células CARs**

CARs (Receptores de Antígenos Quiméricos) son receptores sintéticos modificados por ingeniería genética que reconocen con alta especificidad y afinidad moléculas diana específicas de la superficie celular en sus configuraciones sencillas. Estos receptores pueden ser específicamente "insertados" o mejor, modificados genéticamente, en células del sistema inmune como los linfocitos T, que por lo tanto se convierten en células CARs o *CAR-T cells*. A diferencia de los linfocitos T normales, que poseen receptores TCR y actúan mediante los mecanismos clásicos de presentación del antígeno y de reconocimiento del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), las *CAR-T cells* son capaces de unirse a las estructuras moleculares determinadas por los receptores quiméricos que contienen.

La intuición lógica es combinar en el receptor quimérico un dominio de reconocimiento de las células tumorales con el dominio intracelular que inicia la señalización en las células T, las células de nuestro sistema inmunitario que atacan las sustancias extrañas. De este modo, las células malignas se convertirían en la diana de los linfocitos T modificados y éstos serían "educados" para reconocer los organismos nocivos y potenciar su respuesta defensiva (**Fig. 4**). Las *CAR-T cells* representan, por lo tanto, una clase de sistema inmunitario diseñado para ser muy específico en la unión con los antígenos expresados por las células cancerosas.

Las diversas generaciones de CARs hacen referencia a la mayor o menor presencia de moléculas co-estimulantes (Chmielewski y Abken, 2015; Fan *et al.*, 2017).



**Figura 4.** Mecanismo de acción de las células CAR-T.

La presencia constante de CD19 en la superficie de los linfocitos B en patologías hematológicas malignas, como la leucemia linfocítica crónica, el linfoma folicular, la leucemia linfocítica aguda y varios casos de mieloma, hacen de este antígeno un blanco terapéutico ideal para la terapia con el sistema *CAR-T cells*. De hecho, los primeros ensayos clínicos se realizaron en 2011 con la inyección de *CAR-T* específica para la diana CD19 (Savoldo *et al.*, 2011).

Con los años se han ido sucediendo muchos estudios dirigidos a valorar la proliferación y eficacia de las inyecciones con *CAR-T cells* (Brentjens *et al.*, 2011). Los resultados preliminares obtenidos administrando *CAR-T cells* específicas para CD19 en pacientes pediátricos con LLA recurrente/refractaria dieron como resultado una remisión completa en el 90% de los casos seleccionados un mes después de la administración y una supervivencia libre de enfermedad del 60% a los seis meses. Resultados similares se encontraron previamente en un estudio con 53 pacientes pediátricos afectados de LLA recurrentes o refractarias, que fueron tratados con *CAR-T cells* específicas de CD19, mostrando una remisión completa de la enfermedad en el 94% de los casos y una supervivencia del 78% un año después de la administración.

Haciendo el seguimiento de estos pacientes, se demostró que las recidivas encontradas con el tiempo eran debidas al desarrollo de mecanismos de escape celular mediante la selección de clones celulares CD19 negativas o mediante la regresión de la leucemia B-LLA a una leucemia mieloide (Davila *et al.*, 2016).

## Bibliografía

- Annesley, C.E. y Brown, P. 2015. Novel agents for the treatment of childhood acute leukemia. *Therapeutic Advances in Hematology* 6:61-79.
- Brentjens, R.J., Rivière, I., Park, J.H., et al. 2011. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood* 118:4817-4828.
- Brown, P., Hunger, S.P., Smith, F.O., Carroll W.L. y Reaman G.H. 2009. Novel targeted drug therapies for the treatment of childhood acute leukemia. *Expert Review of Hematology* 2:145-158.
- Castaigne, S., Pautas, C., Terre, C., et al. 2012. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 379:1508-1516.
- Chmielewski, M. y Abken, H. 2015. TRUCKs: the fourth generation of CARs. *Expert Opinion on Biological Therapy* 15:1145-1154.
- Cortes, J., Thomas, D., Koller, C., et al. 2004. Phase I study of bortezomib in refractory or relapsed acute leukemias. *Clinical Cancer Research* 10:3371-3376.
- Crick, F. y Watson, J. 1953. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171:3.
- Cooper, B.W., Kindwall-Keller, T.L., Craig, M.D., et al. 2015. A phase I study of midostaurin and azacitidine in relapsed and elderly AML patients. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia* 15:428-32.e2.
- Cooper, T.M., Cassar, J., Eckroth, E., et al. 2016. A phase I study of quizartinib combined with chemotherapy in relapsed childhood leukemia: a therapeutic advances in childhood leukemia & lymphoma (TACL) study. *Clinical Cancer Research* 22:4014-4022.
- Davila, M.L. y Brentjens, R.J. 2016. CD19-Targeted CAR T cells as novel cancer immunotherapy for relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Clinical Advances in Hematology & Oncology* 14:802-828.
- Fan, M., Li, M., Gao, L., et al. 2017. Chimeric antigen receptors for adoptive T cell therapy in acute myeloid leukemia. *Journal of Hematology & Oncology* 10:151.
- Farber, S., Diamond, L.K., Mercer, R.D., Sylvester, R.F.J. y Wolff, J.A. 1948. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin). *The New England Journal of Medicine* 238:787-793.
- Gamis, A.S., Alonzo, T.A., Meshinchi, S., et al. 2014. Gemtuzumab ozogamicin in children and adolescents with de novo acute myeloid leukemia improves event-free survival by reducing relapse risk: results from the randomized phase III Children's Oncology Group trial AAML0531. *Journal of Clinical Oncology* 32:3021-3032.
- Grupp, S.A., Kalos, M., Barrett, D., Aplenc, R., Porter, D.L. y Rheingold SR. 2013. Chimeric antigen receptor–modified T cells for acute lymphoid leukemia. *The New England Journal of Medicine* 368: 1509-1518.

- Horton, T.M., Pati, D., Plon, S.E., et al. 2007. A phase 1 study of the proteasome inhibitor bortezomib in pediatric patients with refractory leukemia: a Children's Oncology Group study. *Clinical Cancer Research* 13:1516-1522.
- Hu, S., Niu, H., Inaba, H., et al. 2011. Activity of the multikinase inhibitor sorafenib in combination with cytarabine in acute myeloid leukemia. *Journal of the National Cancer Institute* 103:893-905.
- Kell, W.J., Burnett, A.K., Chopra, R., et al. 2003. A feasibility study of simultaneous administration of gemtuzumab ozogamicin with intensive chemotherapy in induction and consolidation in younger patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 102:4277-4283.
- Lee, S.J., Levitsky, K., Parlati, F., et al. 2016. Clinical activity of carfilzomib correlates with inhibition of multiple proteasome subunits: application of a novel pharmacodynamic assay. *British Journal of Haematology* 173:884-895.
- Masetti, R., Bertuccio, S.N., Astolfi, A., et al. 2017. Hh/Gli antagonist in acute myeloid leukemia with CBFA2T3-GLIS2 fusion gene. *Journal of Hematology & Oncology* 10:26.
- Meshinchi, S., Alonzo, T.A., Stirewalt, D.L., et al. 2006. Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML. *Blood* 108:3654-3661.
- Nguyen, B., Williams, A.B., Young, D.J., et al. 2017. FLT3 activating mutations display differential sensitivity to multiple tyrosine kinase inhibitors. *Oncotarget* 8:10931-10944.
- Patnaik MM. 2017. Midostaurin for the treatment of acute myeloid leukemia. *Future Oncology* 13:1853-1871.
- Pession, A., Masetti, R., Rizzari, C., et al. 2013. Results of the AIEOP AML 2002/01 multicenter prospective trial for the treatment of children with acute myeloid leukemia. *Blood* 122:170-178.
- Pierro, J., Hogan, L.E., Bhatla, T. y Carroll W.L. 2017. New targeted therapies for relapsed pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Expert Review of Anticancer Therapy* 17:725-736.
- Pui, C.H. y Evans, W.E. 2006. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine* 354:166-178.
- Pui, C-H., Yang, J.J., Hunger, S.P., et al. 2015. Childhood acute lymphoblastic leukemia: progress through collaboration. *Journal of Clinical Oncology* 33:2938-2948.
- Price, K.E., Saleem, N., Lee, G. y Steinberg, M. 2013. Potential of ponatinib to treat chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia. *OncoTargets and Therapy* 6:1111-1118.
- Queudeville, M., Handgretinger, R. y Ebinger, M. 2017. Immunotargeting relapsed or refractory precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia-role of blinatumomab. *OncoTargets and Therapy* 10:3567-3578.
- Raetz, E.A., Cairo, M.S., Borowitz, M.J., et al. 2015. Re-induction chemoimmunotherapy with epratuzumab in relapsed acute lymphoblastic

- leukemia (ALL): phase II results from children's oncology group (COG) study ADVL04P2. *Pediatric Blood & Cancer* 62:1171-1175.
- Ribera, J.-M., Ferrer, A., Ribera, J. y Genescà, E. 2015. Profile of blinatumomab and its potential in the treatment of relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *OncoTargets and Therapy* 8:1567-1574.
- Savoldo, B., Ramos, C.A., Liu, E. et al. 2011. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor–modified T cells in lymphoma patients. *The Journal of Clinical Investigation* 121:1822-1826.
- Shah, N.N., Stetler-Stevenson, M., Yuan, C.M., et al. 2015. Characterization of CD22 expression in acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Blood & Cancer* 62:964-969.
- Sasaki, K., Jabbour, E.J., Ravandi, F., et al. 2016. Hyper-CVAD plus ponatinib versus hyper-CVAD plus dasatinib as frontline therapy for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: A propensity score analysis. *Cancer* 122:3650-3656.
- Strati, P., Kantarjian, H., Ravandi, F., et al. 2015. Phase I/II trial of the combination of midostaurin (PKC412) and 5-azacytidine for patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *American Journal of Hematology* 90:276-281.
- Teachey, D.T., Grupp, S.A. y Brown, V.I. 2009. Mammalian target of rapamycin inhibitors and their potential role in therapy in leukaemia and other haematological malignancies. *British Journal of Haematology* 145:569-580.
- Thiollier, C., Lopez, C.K., Gerby, B., et al. 2012. Characterization of novel genomic alterations and therapeutic approaches using acute megakaryoblastic leukemia xenograft models. *The Journal of Experimental Medicine* 209:2017-2031.
- Thomas, E.D., Lochte, H.L.Jr., Lu, W.C. y Ferrebee, J.W. 1957. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *The New England Journal of Medicine* 257:491-96.
- Walter, R.B., Appelbaum, F.R., Estey, E.H. y Bernstein, I.D. 2012. Acute myeloid leukemia stem cells and CD33-targeted immunotherapy. *Blood* 119:6198-208.
- Wei, G., Twomey, D., Lamb, J., et al. 2006. Gene expression-based chemical genomics identifies rapamycin as a modulator of MCL1 and glucocorticoid resistance. *Cancer Cell* 10:331-42.
- Winters, A.C. y Bernt, K.M. 2017. MLL-rearranged leukemias—an update on science and clinical approaches. *Frontiers in Pediatrics* 5:4.